

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 47

SAYI / NUMBER : 6

YIL / YEAR : 2022

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör/ Editor-in Chief

ÇAKIR, İbrahim; *Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey*

Editörler / Editors

AVCI, Ayşe; *Sakarya University, Turkey*

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

DEMİRKESEN, Mert; *İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey*

DEMİROK SONCU, Eda; *Ankara University, Turkey*

ERİNÇ, Hakan; *Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey*

EYİLER, Esen; *Akdeniz University, Turkey*

KULEAŞAN, Şükran; *Mehmet Akif University, Turkey*

TABAN, Birce; *Ankara University, Turkey*

TORUN, Mehmet; *Akdeniz University, Turkey*

ÖZDEN, Özkan; *İstanbul University, Turkey*

YILMAZ, Merve Sılanır; *Bitlis Eren University, Turkey*

Yönetim Yeri

Adres / Address

Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey

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

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

URL: http://www.gidadernegi.org

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Hazırlayan / Prepared

Sim Ajans

19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara

Tel : (+90) 312 925 25 95

e-mail: simajans@simajans.com

Yayın Tarihi / Publication Date

15 12 2022

Danışma Kurulu / Advisory Board

Akköse, Ahmet; *Atatürk University, Turkey*

Ank, Gökşen G.; *Balıkesir University, Turkey*

Atalar, İlyas; *Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey*

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

Bezirtzoglou, Eugenia; *Democritus University of Thrace, Greece*

Bozkır, Hamza; *Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey*

Çilak, Gizem Ö.; *Hitit University, Turkey*

Draughon, Ann *Tennessee University, USA*

El Soda, Morsi *University of Alexandria, Egypt*

Erbay, Zafer; *Adana Bilim ve Teknik University, Turkey*

Evren, Mustafa; *Ondokuz Mayıs University, Turkey*

Fogliano, Vincenzo *University of Napoli Federico II, Italy*

Gerçekaslan, K. Emre; *Neşebir Hacı Bektaş Veli University, Turkey*

Ghosh, Bikash C. *National Dairy Research Institute, India*

Gollop, Natan *The Volcani Center, ARO, Israel*

Griffiths, Mansel *University of Guelph, Canada*

Güneşer, Onur; *Uşak University, Turkey*

Güven, Esra Ç.; *İstanbul Teknik University, Turkey*

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

Hoşoğlu, Müge İ.; *Gebze Teknik University, Turkey*

Hüner, İrem D.; *Trakya University, Turkey*

Kahraman, Kevser; *Abdullah Gül University, Turkey*

Karaca, Hakan; *Pamukkale University, Turkey*

Koçan, Deniz; *Aksaray University, Turkey*

Konuşkan, Dilşat B.; *Mustafa Kemal University, Turkey*

Kuleaşan, Hakan; *Süleyman Demirel University, Turkey*

Meral, Raciye; *Yüzüncü Yıl University, Turkey*

Mete, Aylin A.; *Mersin University, Turkey*

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

Mujtaba, Mustafa G. *Florida Gulf Coast University, USA*

Mutlu, Türkan K.; *Çukurova University, Turkey*

Öztürk, Fatma; *Kâtip Çelebi University, Turkey*

Paalme, Toomas *Tallinn University of Technology, Estonia*

Parlar, Harun *Technical University of Munich, Germany*

Raspor, Peter *University of Primorska, Slovenia*

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

Sarı, Ferda; *Cumhuriyet University, Turkey*

Şengün, İlkin Y.; *Ege University, Turkey*

Soyer, Yeşim; *Orta Doğu Teknik University, Turkey*

Toğay, Sine Ö.; *Bursa Uludağ University, Turkey*

Toker, Ömer S.; *Yıldız Teknik University, Turkey*

Velioglu, Murat; *Namık Kemal University, Turkey*

Yemiş, Gökçe P.; *Sakarya University, Turkey*

Yolaçaner, Elif; *Hacettepe University, Turkey*

Yorulmaz, Aslı; *Adnan Menderes University, Turkey*

Zorba, Murat; *Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey*

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Kugu, N. I., Yılmaz, K., Deniz-Şirinyıldız, D., Yorulmaz, A. *Analysis of RASFF notifications: 2021 food and food contact material data review / RASFF bildirimlerinin analizi: 2021 yılı gıda ve gıda ile temas eden madde verilerinin incelenmesi* **962-970**
- Adal, E. *Complex coacervation of chickpea protein isolate and pectin: Effect of biopolymer ratio and pH / Nohut proteini izolatu ve pektinin kompleks koaservasyonu: Biyopolimer oranı ve pH'nın etkisi* **971-979**
- Turan, E., Şimşek, A. (2022). *Determination of physicochemical, antioxidant, textural and sensory features of pastırma cemen paste produced by using different concentrations of black garlic / Farklı konsantrasyonlarda siyah sarımsak kullanılarak üretilen pastırma çemen macununun fizikokimyasal, antioksidan, tekstürel ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi* **980-991**
- Haskaraca, G., Arslan, Y., Ayhan, Z. (2022). *Evaluation of factors affecting consumers' poultry meat consumption habits and perceptions and poultry breeding processes / Tüketicilerin kanatlı eti tüketim alışkanlıklarını ve algısını etkileyen faktörlerin ve kanatlı hayvan yetiştirme süreçlerinin değerlendirilmesi* **1014-1031**
- Kılmanoglu, H., Akbaş, M., Kumcuoglu, S., Tavman, Ş. (2022). *The effect of the use of fresh and lyophilized boza on bread quality properties / Taze ve liyofilize boza kullanımının ekmek kalite özelliklerine etkisi* **1083-1091**
- Urgu-Öztürk, M., Öztürk-Kerimoğlu, B. (2022). *Characterization of industrial bone broths formulated with various meat and non-meat ingredients / Çeşitli et ve et olmayan bileşenlerle formüle edilen endüstriyel kemik sularının karakterizasyonu* **1092-1103**
- Oskaybaş-Emlek, B., Özbey, A., Aydemir, L.Y., Kahraman, K. (2022). *Buckwheat starch-myristic acid complex formation: Effect of reaction temperature and myristic acid concentration on digestibility properties / Karabuğday nişastası-miristik asit kompleks oluşumu: Reaksiyon sıcaklığı ve miristik asit konsantrasyonunun sindirilebilirlik özellikleri üzerine etkisi* **1168-1179**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Uysal, İ.G., Çolak-Güneş, N., Koca, N. *Farklı peynir çeşitlerinin yaşam döngüsü analizi / Life cycle analysis of various cheese types* **941-961**
- Keskin-Uslu, E., Yılmaz, E. *Laurik asit oleojellerinin geliştirilmesi ve karakterize edilmesi / Development and characterization of lauric acid oleogels* **992-1004**
- Gökdemir, Ö., Yüce-tepe, A. (2022). *Kırmızı turp (Raphanus sativus L.) iç ve kabuklarından polifenoliklerin ultrases su banyosu ve ultrases prob destekli ekstraksiyonu: In vitro sindirim sırasında antioksidan aktivitedeki değişimin araştırılması / Ultrasound bath- and ultrasound probe-assisted extractions of polyphenolics from pulp and peel of red radish (Raphanus sativus L.): Investigation of changes in antioxidant activity during in vitro digestion* **1046-1058**
- Encu, Ş.B., Acar-Soykut, E., Çakır, İ. (2022). *Geleneksel yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin MALDI TOF MS biotyper sistemi ile tanımlanması ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi / Isolation of lactic acid bacteria from traditional yoghurts, identification by MALDI TOF MS biotyper system and determination of some starter culture properties* **1059-1082**
- Kit, İ., Kahyaoglu, L. N. (2022). *Kurkumin tabanlı biyopolimer filmlerin görünür ışık altında geliştirilmesi / Development of curcumin based biopolymer films under visible light irradiation* **1104-1117**
- Saygi, Y.B. (2022). *Meyve-sebze kayıplarında nedensel döngü diyagramı / Causal loop diagram in fruit-vegetable losses* . . **1118-1129**
- Özdemirli, N., Kamiloglu, S. (2022). *Kavun çekirdeği şerbetinde (sübye) fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi / Evaluation of bioaccessibility of phenolic compounds in melon seed sherbet (subye)* **1130-1139**

Derlemeler (English) / Reviews (English)

- Özcan Araç, F.Ö., Aldemir, O. *Aluminium and fluorine in drinking water as risk factors for human health / İnsan sağlığı için risk faktörleri olarak içme sularında alüminyum ve flor* **1005-1013**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Karşioğlu, B. (2022). *Et ve et ürünlerinde polisiklik aromatik hidrokarbonların oluşum mekanizmaları ve azaltıcı yaklaşımlar / Formation mechanisms and reduction strategies for polycyclic aromatic hydrocarbons in meat and meat products* . **1032-1045**
- El, S.N., Karakaya, S. (2022). *Süt, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) ve sağlık / Milk, insulin like growth factor (IGF-1) and health* **1140-1152**
- Koçan, D. (2022). *Aksaray Güzelıyurt Gelveri Ekmeği ve yassı ekmek üretimi / Aksaray Güzelıyurt's Gelveri Bread and production of flat bread* **1153-1167**

FARKLI PEYNİR ÇEŞİTLERİNİN YAŞAM DÖNGÜSÜ ANALİZİ

İpek Gülçin Uysal¹, Neslihan Çolak Güneş^{1,3}, Nurcan Koca^{2,3*}

¹ Ege Üniversitesi, Güneş Enerjisi Enstitüsü, Bornova, İzmir, Türkiye

² Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Bornova, İzmir, Türkiye

³ Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sürdürülebilir Tarım ve Gıda Sistemleri Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 14.05.2022; Kabul / Accepted: 21.09.2022; Online baskı / Published online: 19.10.2022

Uysal, İ.G., Çolak-Güneş, N., Koca, N. (2022). Farklı peynir çeşitlerinin yaşam döngüsü analizi. *GIDA* (2022) 47 (6) 941-961 doi: 10.15237/ gida.GD22062

Uysal, İ.G., Çolak-Güneş, N., Koca, N. (2022). *Life cycle analysis of various cheese types*. *GIDA* (2022) 47 (6) 941-961 doi: 10.15237/ gida.GD22062

ÖZ

Nüfus artışı, teknolojik gelişmeler ve ormanların azalması, dünyada hem ekolojik hem sağlıkla ilgili olumsuz sonuçlara yol açmaktadır. Tarım-gıda sanayii tüm dünyadaki sera gazı emisyonlarının üçte birinden sorumludur. Bu nedenle, gıda ürünlerinin çevresel etkilerinin incelenerek üretimin daha sürdürülebilir hale getirilmesi oldukça önemlidir. Süt sektöründe hem dünya genelinde hem de ülkemizde peynir üretim hacminin oldukça fazla olması, süt endüstrisindeki sürdürülebilirliğin peynir üretimi üzerinden değerlendirilebilmesinin önemini vurgulamaktadır. Yaşam Döngüsü Analizi (YDA), ürünlerin ve süreçlerin çevresel etkilerini inceleyen, küresel olarak kabul edilen, ISO tarafından standartlaştırılmış bir yöntemdir. Bu derleme çalışmasında, dünyada üretilen farklı peynir çeşitlerinin çevresel etkilerinin YDA ile incelendiği çalışmalar detaylı olarak incelenmiştir. Çiğ süt üretimi, başta küresel ısınma potansiyeli olmak üzere pek çok çevresel etki kategorisinden sorumlu olarak ilk sırada yer alırken; arkasından enerji tüketiminin geldiğini ve ambalajlama, nakliye ve tüketici kullanımı gibi basamakların çoğunlukla minimum düzeyde katkısı olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca, peynir üretiminin çevresel etkilerinin azaltılması için çeşitli öneriler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Yaşam Döngüsü Analizi (YDA), peynir, sürdürülebilirlik, karbon ayak izi

LIFE CYCLE ANALYSIS OF VARIOUS CHEESE TYPES

ABSTRACT

Overpopulation, technological developments and deforestation have ecological and health consequences for the world. The agro-food industry is responsible for one-third of the global greenhouse gas emissions. So, it is crucial to make this industry more sustainable by examining the environmental effects related to food products. The fact that cheese production volume is high in the dairy industry, emphasizes the importance of evaluating the sustainability of cheese production in the dairy industry. Life Cycle Analysis (LCA), a globally accepted and ISO standardized method, examines the environmental impact of products and processes. In this study, studies which evaluated the environmental effects of cheese production in the world by LCA were reviewed. This study

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding Author

✉: nurcan.koca@ege.edu.tr,

☎: (+90) 232 311 3029

☎: (+90) 232 342 7592

İpek Gülçin Uysal; ORCID no: 0000-0002-0225-2311

Neslihan Çolak Güneş; ORCID no: 0000-0002-0868-0448

Nurcan Koca; ORCID no: 0000-0002-0733-4500

reveals that raw milk production has the greatest impact in many impact categories and is followed next by energy consumption. Packaging, transportation and consumer use stages primarily affect the impact categories minimally. In addition, suggestions to reduce environmental impacts of cheese production have been presented.

Keywords: Life Cycle Assessment (LCA), cheese, sustainability, carbon footprint

GİRİŞ

Nüfusun hızlı bir şekilde artması, teknolojiye gelişmeler, aşırı sanayileşme, ormanların azalması gibi değişimlerin doğurduğu başta iklim değişiklikleri olmak üzere ciddi çevresel sorunlar; insan sağlığını tehdit etmekte olup, günümüz bilim insanlarının çalışma odağındadır. 1987 yılında Birleşmiş Milletler Dünya Çevre ve Gelişme Komisyonu tarafından yayınlanan raporda sürdürülebilirlik *“bugünkü neslin ihtiyaçlarının gelecek nesillerin kendi ihtiyaçlarını karşılayabilmelerini tehlikeye atmaksızın karşılanması”* şeklinde tanımlanmıştır. Sosyal, çevresel ve ekonomik sürdürülebilirliğin eş zamanda gerçekleştiği durumlarda sürdürülebilirlikten bahsedilebilir.

Gıda endüstrisinin en önemli ve en büyük kollarından biri süt endüstrisidir. Bu endüstri alanında çiğ süt birçok süt ürününe (içme sütü, peynir, yoğurt, tereyağı, süt tozu vb.) işlenmektedir. Süt ürünleri yüksek besin değerleri ve enerji içerikleriyle protein, yağ, laktoz, kalsiyum, magnezyum, selenyum, B2, B5 ve B12 vitaminlerinin kaynağıdır. Ekonomik açıdan değerlendirildiğinde, her ne kadar süt ürünleri pahalı olarak algılsa da et, kanatlı, balık ve sebze-meyve ürünlerine kıyasla 100 kcal başına düşen maliyetin süt ürünlerinde daha düşük olduğu bildirilmiştir (Westenhöfer, 2013). Bunun yanında, son yıllarda küresel boyutlarda meydana gelen ekonomik gelişmelerle birlikte kişi başına düşen süt ve süt ürünleri tüketimi artmış ve bu durum süt endüstrisi ürünlerinin ulusal ve uluslararası ticaretinin de artmasıyla sonuçlanmıştır (Terin, 2014). Günümüz süt endüstrisinde dünyanın başta gelen ihracatçıları Yeni Zelanda, Avrupa Birliği ve Amerika Birleşik Devletleri iken en büyük ithalatçısı Çin’dir (FAO ve OECD, 2020). Sosyal bağlamda ise gelişmiş, gelişmekte olan ve gelişmemiş ülkeler için süt sektörü sayısız iş fırsatı sunmaktadır (Dairy Australia, 2015). Ancak, süt ürünleri üretiminde hayvansal hammadde, yoğun enerji ve su

kullanımı ve ortaya çıkan atıklar nedeniyle olumsuz çevresel etkiler söz konusudur. Bu sebeplerden dolayı, bu sektördeki çevresel sürdürülebilirlik son yıllarda gündemde olan önemli bir konu başlığıdır (Finnegan vd., 2018a).

Süt ve süt ürünlerine olan talep dünya genelinde her geçen gün artmaktadır. 2019 yılında dünya süt üretiminin yıllık %1.3 artarak 852 Mt’a ulaştığı görülmekle birlikte önümüzdeki 10 yıllık süreçte bu sayının yıllık 997 Mt’a çıkması beklenmektedir (FAO ve OECD, 2020). Çiğ sütün hammadde olarak kullanıldığı ürünler çok çeşitli olup, kullanılan sütlerin %81’i inek, %15’i manda ve %4’ü keçi, koyun ve deve sütü şeklinde sıralanmaktadır (Cabral vd., 2020). Elde edilen sütün büyük bir kısmı işletmelerce içme sütü, peynir, yoğurt vb. ürünlere işlenmekte olup, bu operasyonlar dahilinde yüksek miktarlarda enerji ve su tüketimleri gerçekleşmektedir. Bu tüketim hem insan sağlığını hem de doğal dengeyi doğrudan veya dolaylı şekilde etkileyerek çevresel tahribata sebep olmaktadır.

Ürünlerin ve proseslerin çevresel etkilerinin göstergesi olarak ortaya atılan ayak izi kavramı sürdürülebilirlikle iç içe olup, 3 temel alt başlıktan oluşmaktadır: Ekolojik ayak izi, karbon ayak izi ve su ayak izi. Ekolojik ayak izi kullanılan kaynakları üretmek için ihtiyaç duyulan üretken toprakların toplam alanını ve dünyanın neresinde olursa olsun toprağın bulunduğu yerde, tanımlanmış bir nüfus tarafından üretilen atıkları sindirmek için gereken alanı ifade etmektedir (Dam vd., 2017). Karbon ayak izi, canlıların faaliyetleri sonucu oluşan sera gazı miktarının CO₂ eşd olarak ton cinsinden belirlenmesidir (Fakher, 2019). İnsan faaliyetlerine bağlı karbon emisyonları incelendiğinde hayvancılık sektörü çok büyük yer tutmaktadır. FAO (2022) verilerine göre 2010 yılında hayvancılık tedarik zinciri toplam 8.1 Gt CO₂ eşd emisyon gerçekleştirmiştir. Su ayak izi ise, yaşam döngüsü boyunca çevresel etkilerle bağlantılı su miktarı şeklinde tanımlanmıştır (ISO, 2014). Süt

endüstrisi besinsel, ekonomik ve sosyal yararlarının yanında tüm gıda endüstrisinin en fazla ayak izine sahip koludur (Munir vd., 2014). Reijnders ve Soret (2003) tarafından gerçekleştirilen çalışmada vejetaryen olmayan besinlerin çevresel etkilerinin vejetaryen olanlara kıyasla 1.5-2 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, süt endüstrisindeki peynir üretiminin çevresel etkilerinin taşıdığı öneme dikkat çekmektedir. Süt endüstrisinin çevresel etki alanlarından bazıları asidifikasyon potansiyeli, ötrofikasyon potansiyeli, arazi kullanımı ve küresel ısınma potansiyelidir. Tüm bunların içinde iklim değişikliğine etki etmesi sebebiyle küresel ısınma potansiyeli ve ona bağlı olarak sera gazı emisyonu en dikkat çeken etki kategorisidir (Mottet vd., 2017). Buna ek olarak, işletmelerdeki elektrik ve fosil yakıt tüketimi; iklim değişikliği, giderek artan enerji talebi, insan toksisitesi ve ekotoksisite ile doğrudan bağlantılıdır. Ayrıca ürünlerin dağıtımı/taşınması fotokimyasal oksidan oluşturma potansiyeli ile ve yerinde atık su uygulamaları da ötrofikasyon potansiyeli ile ilişkilendirilmektedir (Riva vd., 2017).

Son yıllarda sürdürülebilirlik üzerine tasarlanan metot ve teknikler gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu bağlamda, ürünlerin ve proseslerin çevresel etkilerinin incelendiği ve dünya çapında kabul görmüş en kapsamlı ve bütüncül yöntem Yaşam Döngüsü Analizidir. Yaşam Döngüsü Analizi (YDA), ISO 14040 ve 14044 kapsamında ürünlerin yaşam döngüleri boyunca sahip oldukları çevresel yükleri inceleyen bilimsel bir metodolojidir (ISO, 2006a,b). Başka bir ifadeyle ürünlerin, proseslerin ve hizmetlerin sera gazı emisyonu ve diğer çevresel etkilerinin ölçümünde sıkça tercih edilen bütünsel bir metottur. YDA metodolojisi, ürünlerin yaşam döngüleri boyunca tüm girdi ve çıktıların hesaplanması için tutarlı standartları kapsar (Milani vd., 2011).

Süt sektörü dünyanın en önemli tarım-gıda endüstrilerinden biridir. Süt endüstrisinin çevresel etkilerinin belirlenmesi; bu endüstrinin diğerleri arasındaki yeri, ekonomik ve toplumsal etkileri düşünüldüğünde birçok sektöre göre daha fazla önem arz etmektedir. Nitekim son yıllarda süt

endüstrisinin inovatif pazarda üst düzeylerde yer alması ve organik süt üretimi gibi alanlara talebin artması bu gerekliliği daha da ön plana çıkarmaktadır. Peynir, yüksek besin değerine sahip olmasının yanı sıra sütün değerlendirilmesinde stratejik bir üründür. Ulusal Süt Konseyi'nin 2021 yılında yayınladığı rapora göre, 2020 yılında ülkemizde toplam 767 000 ton peynir üretimi gerçekleşmiştir.

Üçtuğ (2019) tarafından gerçekleştirilen derlemede peynirin diğer süt ürünlerine kıyasla (süt, yoğurt, tereyağı vb.) çevresel etki kategorilerine en fazla etki ettiği bildirilmiştir. Bu durum, süt sektöründe peynir üretiminin sürdürülebilirliğini sağlamak ve çevresel etkilerini minimize edebilmek adına YDA çalışmaları üzerine odaklanılmasının gerekliliğini vurgulamaktadır. Bu çalışmada, dünyada farklı peynir çeşitleri için gerçekleştirilen YDA çalışmaları detaylı olarak incelenerek peynir üretimleri sonucu oluşan çevresel etkiler ortaya konulmuştur.

YAŞAM DÖNGÜSÜ ANALİZİ

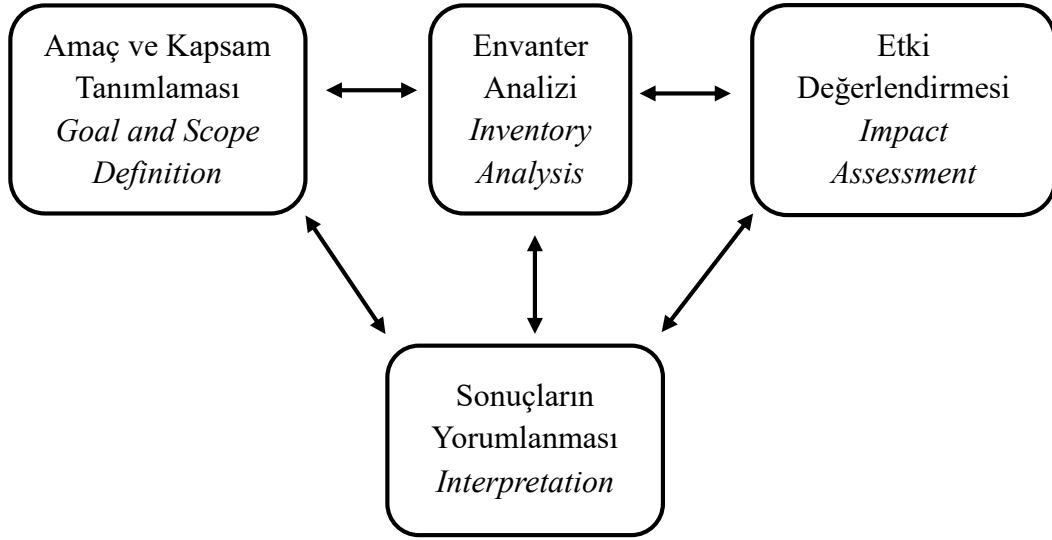
YDA dünya çapında kabul görmüş, standartlara bağlanmış ve ürünler ile proseslerin çevresel etkilerinin detaylıca incelendiği bir metottur. Çevresel etkiler hammadde alımından üretime, ürünün kullanımından yaşam sonu değerlendirmelerine ve geri dönüşüm ile nihai bertarafına kadar tüm basamakları kapsar. YDA ile bir ürün sisteminin çevresel etkilerini incelemek mümkün olup ekonomik ve sosyal etkiler kapsam dışında yer alır. Hem doğal çevre hem de insan sağlığı ve kaynaklar tüm boyutlarıyla incelendiğinden, YDA oldukça kapsamlı bir yöntemdir. Yaşam Döngüsü Analizi standartları ISO 14040 ve ISO 14044 çerçevesinde belirlenmiştir. Bir ürünün YDA metodolojisi Şekil 1'de görüldüğü gibi 4 temel basamaktan oluşur (ISO, 2006a).

Amaç ve Kapsam Tanımlaması

Yaşam Döngüsü Analizinde amaç ve kapsam tanımlaması, çalışmanın gerçekleştirilme ve elde edilecek sonuçların kullanılma amaçlarının belirtilmesini kapsar. Bu basamakta fonksiyonel birimler, sistem sınırları, uygulanacak tahsis

metotları, veri kaynakları, varsayımlar, sınırlamalar ayrıntılı olarak belirtilir. Ayrıca amaçlanan uygulamalar, hedef kitlesi ile incelenecek sistemin tanımlamasından oluşturulacak çalışmanın formatına kadar tüm detaylara yer verilir (ISO, 2006b). YDA kapsamında belirlenen sistem sınırları beşikten mezara, beşikten kapıya veya kapıdan kapıya olabilir. Beşikten mezara ifadesi

“bir ürünün üretimi için kullanılan hammaddelerin tedarikinden kullanımı, kullanım ömrü sonunda işlenmesi, geri dönüşümü ve nihai bertarafına kadar hayatı” şeklinde tanımlanmaktadır (ISO, 2006a). Beşikten kapıya ifadesi hammadde tedariki, nakliye, üretim aşamalarını kapsarken, kapıdan kapıya ifadesi üretim sürecini ifade eder.



Şekil 1. Yaşam Döngüsü Analizi basamakları

Figure 1. Phases of Life Cycle Assessment

Envanter Analizi

Envanter analizi, çalışılan sistem dahilindeki tüm girdi ve çıktıların envanterinin oluşturulmasını kapsar. Oluşturulan envanter, çalışmanın hedefinin gerçekleştirilmesi için gerekli tüm verileri içermelidir. Bu veriler, Şekil 2’de görüldüğü gibi temel olarak enerji ve hammadde girdileri; oluşan ürünler, yan ürünler ve atıklar; suya ve toprağa tüm deşarjlar ve tüm diğer çevresel boyutlar şeklinde sıralanabilir (ISO, 2006a). Bunlar haricinde hammadde üretimleri ve işletmeye getirilme şekilleri, getirilme mesafeleri, bu süreçte tüketilen yakıt, elektrik vb. miktarları; işletmede üretilen ürünün tüketiciye ulaştırılması sürecinde gerçekleştirilen tüm operasyonlar ile temizlik süreçlerinde tüketilen kimyasal çeşitleri ile miktarları da incelenmesi gereken verilere dahil edilir. Elde edilen verilerin tümü belirlenen fonksiyonel birim bazında incelenmelidir.

Etki Değerlendirmesi

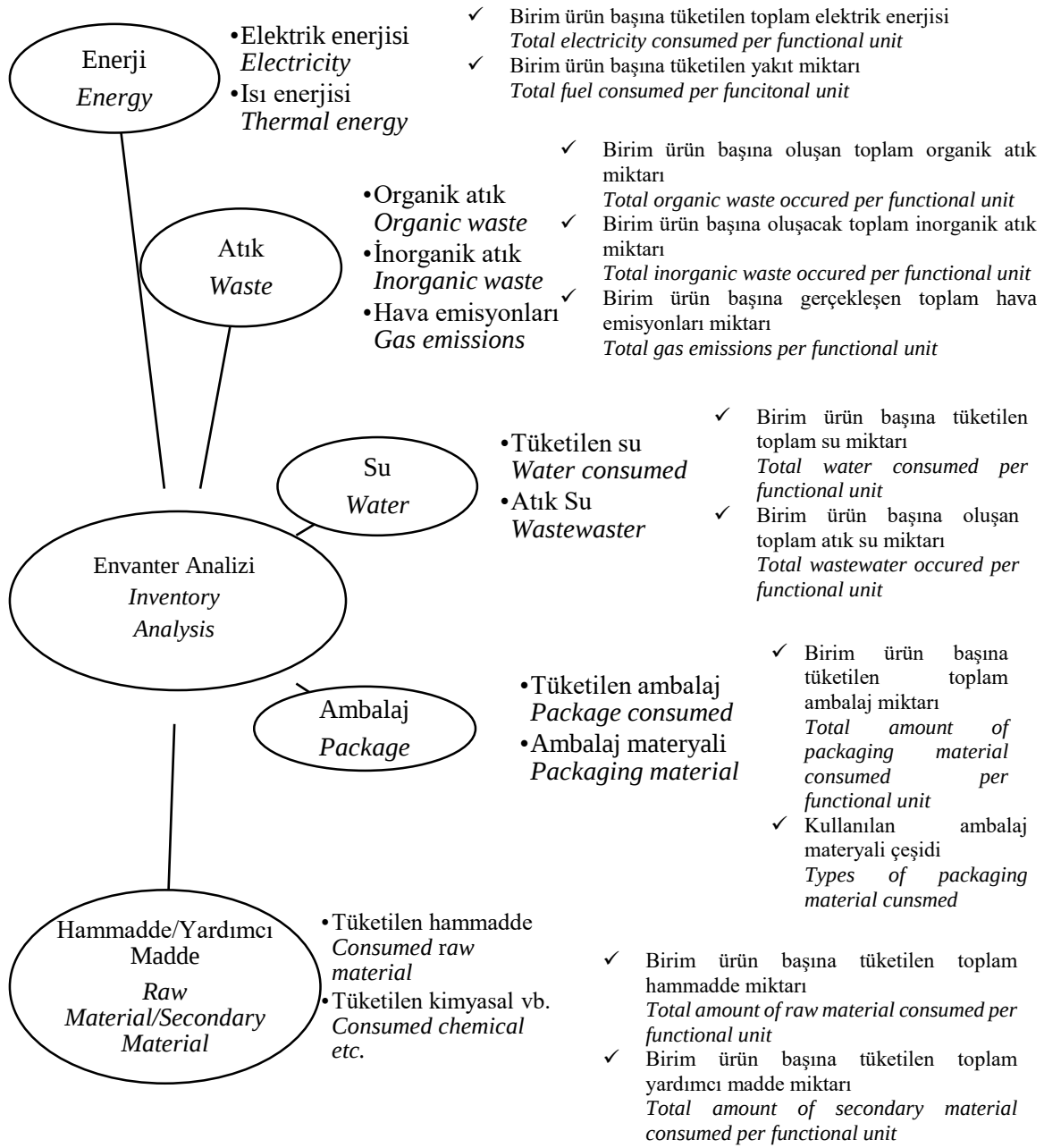
Etki değerlendirme, çevresel etkilerin önemini vurgulandığı ve envanter analizi sonuçlarını kapsayan ve sonuçların yorumlanması için gerekli bilgi kaynağı olan, YDA metodolojisinin üçüncü basamağıdır. Bu basamakta envanter verilerinin, belirli çevresel etki kategorilerinin kategori göstergeleriyle birleştirilmesi sağlanır. Etki değerlendirmesinin zorunlu ve isteğe bağlı unsurları mevcuttur (ISO, 2006a).

Zorunlu unsurlar;

- Etki kategorileri, kategori göstergeleri ve nitelendirme modellerinin seçimi,
- Envanter analizi sonuçlarının sınıflandırılması,
- Kategori gösterge sonuçlarının hesaplanması olarak sıralanabilir.

Etki değerlendirmesinin isteğe bağlı unsurları ise;

- Kategori gösterge sonuçlarının büyüklüğünün, referans bilgilere göre hesaplanması,
- Gruplandırma
- Önem belirleme olarak karşımıza çıkmaktadır.



Şekil 2. YDA basamaklarından olan Envanter Analizi için gereken verilere örnekler

Figure 2. Examples of data required for Inventory Analysis from LCA

YDA çalışmalarında incelenen etki kategorileri şu şekilde sıralanabilir:

-Küresel Isınma Potansiyeli

Karbon ayak izi, iklim değişikliği ve sera gazı emisyonları küresel ısınma potansiyeli kategorisi altında incelenmektedir. Fonksiyonel birim başına meydana gelen sera gazı emisyonu (CO_2 , CH_4 , N_2O vb.) miktarı olarak tanımlanmakta olup, $\text{kg CO}_{2\text{e}}\text{sd}$ birimi ile ifade edilmektedir (ISO, 2006b). Meydana gelen sera gazı emisyonları küresel ısınmaya sebebiyet vermektedir. Yakıt kullanımı ve ısı enerjisi tüketimi ile doğrudan bağlantılıdır.

-Asidifikasyon Potansiyeli

Çevrede asitlik etkisine ve asit yağmurlarına sebep olan emisyonların (sülfür oksitler, oksijen oksitler, amonyak vb.) ölçüsü şeklinde tanımlanmakta olup, $\text{kg SO}_{2\text{e}}\text{sd}$ birimi ile ifade edilmektedir (Reijnders ve Soret, 2003; Muthu, 2014).

-Ötrofikasyon Potansiyeli

Arazilerde gübre kullanımı gibi çevrede ötrofikasyona sebep olan emisyonların ölçüsü şeklinde tanımlanmaktadır. Genellikle doğrudan fosfat, nitrat, nitrojen, amonyak ve kimyasal oksijen gereksinimi yüksek madde emisyonları sonucunda oluşur (Garcia, 2013b). Ötrofikasyon sonucunda sucul fauna ve florada bulunan pek çok canlı türünde toplu kayıplar gerçekleşir. Alglerin ve siyanobakterilerin aşırı üremesi sonucunda fazla besin oluşumuyla ortaya çıkan ötrofikasyon, çevresel tahribatın yanında büyük ekonomik kayıplara da sebep olmaktadır (Morelli vd., 2018). Temiz su ötrofikasyonu fosfor emisyonları sonucunda oluşmakta olup, $\text{kg P}_{\text{e}}\text{sd}$ birimi ile ifade edilmektedir (Kim, 2014).

-Fotokimyasal Oksidan Oluşum Potansiyeli

Fotokimyasal ozon oluşumu bu kategori altında incelenmektedir. Ekosistemi, insan sağlığını ve mahsulleri etkileyen reaktif maddelerin, özellikle de ozon oluşumunun ölçüsü şeklinde tanımlanmakta olup, $\text{kg metan olmayan uçucu organik maddeler (kg NMVOC)}$ birimi ile ifade edilmektedir. Özellikle nakliye ve üretim basamaklarına bağlı yanma tepkimeleri sonucu gerçekleşen emisyonlardır (Kim vd., 2014). Atmosferde nitrojen oksitler ve uçucu organik maddeler bulunduğu, güneş ışığı varlığında

ozon oluşumu gerçekleşir. Düşük miktarlarda ozon üretimi mahsullerde zarara ve başta astım olmak üzere pek çok solunum rahatsızlığına yol açmaktadır (Üçtuğ vd., 2019).

-Ozon Tabakası Delinme Potansiyeli

Ozon tabakasını delme potansiyeline sahip gaz emisyonlarının ölçüsü şeklinde tanımlanmakta olup, $\text{kg CFC-11}_{\text{e}}\text{sd}$ (kloroflorokarbon) birimi ile ifade edilmektedir. Ozon tabakasının zarar görmesi sonucunda ultraviyole (UV) ışınlarının atmosfere ulaşması azaltılamaz ve kanserojenik etkiye sahip UVB ışınları yerküre yüzeyine ulaşır (Üçtuğ vd., 2019).

-Ekotoksosite

Temiz su, deniz ve kara ekotoksitesi bu kategori altında incelenmektedir. Ekotoksik madde konsantrasyonlarının artmasıyla canlı türlerinin etkilenmesini ifade eder (Fornasari, 2013). Kimyasal durum doğrudan emisyon noktaları bazında potansiyel toksik materyal emisyonlarının ölçüsü şeklinde tanımlanmakta olup, $\text{kg 1,4 diklorobenzen (kg 1,4-DCB}_{\text{e}}\text{sd})$ birimi ile gösterilmektedir. Ağır metal emisyonları ile pestisit ve herbisit kullanımlarıyla ilişkili olduğu söylenebilir (Doublet vd., 2013).

-İnsan Toksisitesi

İnsan sağlığı, kanserojen ve kanserojen olmayan insan sağlığı başlıkları bu kategori altında incelenmektedir. Materyallerin kimyasal içerikleri ve üretim akışlarındaki doğrudan emisyon noktaları kapsamındaki toksisite potansiyellerinin ölçüsü şeklinde tanımlanmakta olup, $\text{kg 1,4-DCB}_{\text{e}}\text{sd}$ birimi ile gösterilmektedir. İnsan toksisitesi ve ekotoksosite üzerindeki etkiler çoğunlukla elektrik tüketiminden kaynaklanmaktadır (kömür madenciliği faaliyetlerine bağlı olarak gerçekleşen arsenik ve diğer ağır metal emisyonları) (Kim vd., 2013).

-Kaynakların Kullanımı

Doğal kaynakların yenilenebilmelerinden daha hızlı bir şekilde tüketilmesini ifade eder ve $\text{kg Sb}_{\text{e}}\text{sd}$ birimi ile ifade edilmektedir (Mittal ve Gupta, 2015; Lovarelli vd., 2019). Doğal kaynaklar yenilenebilir veya yenilenemez olabilir. Kaynakların kullanımı genellikle çiftçilik,

balıkçılık, madencilik vb. aktiviteler ile doğrudan ilişkilidir.

-Arazi Kullanımı

Arazi kullanımı veya arazi kullanımındaki değişime bağlı olarak damarlı bitki türlerindeki kayıpları ifade etmekte olup, m² a birimi ile gösterilmektedir (Fornasari, 2013).

-Enerji Tüketimi

Kümülatif enerji gereksinimi bu kategori altında incelenmektedir. Belirlenen sistem sınırları içerisinde tüketilen toplam enerji miktarını, çoğunlukla elektrik ve ısı enerjisi miktarını ifade etmekte olup, MJ birimi ile gösterilmektedir. Doğal gaz, kömür vb. doğrudan kullanımıyla ilişkilidir.

-Su Tüketimi

Belirlenen sistem sınırları içerisinde gerçekleşen toplam su tüketimini ifade etmekte olup, m³ birimi ile gösterilmektedir.

-Temiz Su Tükeneşmesi

Aynı zamanda su ayak izini ifade eder. Su ayak izi, ürünlerin yaşam döngüleri boyunca çevresel etkilerle bağlantılı su miktarı şeklinde tanımlanmış olup, m³ birimi ile gösterilmektedir (ISO, 2014).

-Abiyotik Faktörlerin Tükeneşme Potansiyeli

İnorganik kaynakların (mineraller, torf, kil vb.) tükeneşmesinin ölçüsü şeklinde tanımlanmakta olup, kg Sb_{eqd} birimi ile ifade edilmektedir (Biron, 2016).

-İyonlaştırıcı Radyasyon Potansiyeli

İyonlaştırıcı radyasyon, atomlar tarafından elektromanyetik dalgalar (gama, X-Ray) veya parçacıklar (nötronlar, beta, alfa) şeklinde yayılan bir enerji çeşididir (WHO, 2016). İyonlaştırıcı Radyasyon Potansiyeli etki kategorisi kg U_{235eqd} birimi ile ifade edilmektedir (Pollaro vd., 2020). Elektrik üretimi için nükleer reaktörlerde kullanılan radyoaktif maddelerden kaynaklanan iyonize radyasyon da bu kategori dahilinde incelenmektedir (Canellada vd., 2018).

-Partikül Madde Oluşum Potansiyeli

Partikül madde oluşumu, atmosfere NO_x, NH₃, SO₂ veya PM_{2.5} emisyonları ile başlayıp bu

emisyonların havada dönüşümünü içeren reaksiyonlarla devam eder. PM_{2.5}'in insanoğlu tarafından solunmasının ölümlerle sonuçlanabilen sağlık sorunlarına yol açtığı belirtilmektedir (Zelm vd., 2016). Partikül Madde Oluşum Potansiyeli etki kategorisi kg PM_{2.5 eqd} birimi ile ifade edilmektedir.

Sonuçların Yorumlanması

Sistem sınırları dahilinde gerçekleştirilen tüm çalışmaların ve elde edilen sonuçların tanımlandığı, nitelendirildiği, denetlendiği ve değerlendirildiği prosedür olarak Yaşam Döngüsü Analizinin son basamağıdır. Yorum aşaması, amaç ve kapsam tanımlaması basamağı ile uyumlu olarak açıklamalar yapmak ve tavsiyelerde bulunmak için kullanılan sonuçları ortaya koyar (ISO 2006a).

PEYNİR ÜRETİMLERİNİN YAŞAM DÖNGÜSÜ ANALİZİ

Süt endüstrisi genelinde olduğu gibi peynir üretimi özelinde de su ve enerji tüketimi, atık yönetimi, kaynakların kullanımı vb. gibi konular, üretime bağlı çevresel etkilerin belirlenmesinde incelenmesi gereken konu başlıklarıdır. Üretim süreçleri boyunca meydana gelen CO₂ ve sera gazı emisyonları, çevresel etkilerle bağlantılı su miktarları ve tüketilen kaynakların üretimi ile atıkların bertarafı için gerekli kara ve su alanları, başka bir deyişle karbon ayak izi, su ayak izi ve ekolojik ayak izi kavramları, peynir üretimlerinin sebep olduğu çevresel etkilerin belirlenmesi noktasında oldukça önemlidir.

Peynir üretiminde ortak aşamalar olmakla birlikte, her peynirin üretimi kullanılan süt çeşitliliği ve miktarı, su tüketimi, uygulanan sıcaklık farklılıkları, farklı olgunlaştırma süre ve koşulları gibi kendine özgü nitelikler ve üretim aşamaları da içermektedir. Buna bağlı olarak peynir çeşitliliği bazında çevresel etkiler de birbirinden farklılıklar göstermektedir. Süt üretiminin dünya genelinde insan kaynaklı sera gazı emisyonlarının yaklaşık %4'ünü oluşturduğu bilinmesine karşın çiğ sütün ve işlendiği ürünlerin karbon ayak izi coğrafya, hayvan türü, üretim koşulları gibi pek çok parametreye bağlı olarak değişkendir (Laca vd., 2020). Çevresel kaygı ve düzenlemelerle süt endüstrisinin sebep olduğu çevresel etkilerin

düzenlenmesine çalışılmaktadır. Pek çok ülkenin gündeminde süt sektörünün sebep olduğu sera gazı emisyonlarının azaltılabilmesi için yapılabilecek düzenlemeler yer almaktadır. Hollanda, Danimarka ve Almanya gibi ülkelerde yapılan düzenlemeler sayesinde çiftliklerden kaynaklanan nitrojen ve fosfat emisyonlarının yarattığı çevresel etki azaltılmakta olup, bu durum dünya genelinde bahsi geçen konu üzerine yaratıcı ve etkili çözümler bulunması yönünde bir rekabet oluşturmaktadır (FAO ve OECD, 2020). Enerji ve su tüketimlerinin yanında, peynir üretimi sonucu oluşan peynir altı suyu oldukça ciddi çevresel etkilere sebep olmaktadır. Herhangi bir arıtıma tabi tutulmayan peynir altı suyu, evsel atık suyun yaklaşık 100 katı fazla organik içeriğe sahiptir (Gosalvitr, 2019). Pek çok akademik çalışmada peynir altı suyunun çeşitli işlemler neticesinde biyogaz ile elektrik ve ısı enerjilerine dönüştürülebileceği görülmektedir.

Dünya genelinde en fazla peynir tüketimi Avrupa ve Kuzey Amerika'da gerçekleşmektedir (FAO ve OECD, 2020). Peynir üretimlerini ele alan Yaşam Döngüsü Analizi çalışmalarının büyük kısmının da bu bölgelerde yapıldığı görülmektedir. Yaşam Döngüsü Analizi uygulanırken, ürünler arasındaki pay göz önünde bulundurulması gereken bir husustur. ISO 14044 standartlarına göre belirli bir ürüne ait tüm girdi ve emisyonlar, sistemi mümkün olduğunca alt sistemlere ayırarak paylaştırılmalıdır (Finnegan vd., 2018b). Villegas vd. (2012) tarafından yayınlanan çalışmada, küresel ısınma potansiyeli gibi etki kategorileri üzerinde tahsis metodunun oldukça önemli olduğu vurgulanmıştır. Fakat peynir üretiminde ürünler ve yan ürünler arasında ortak prosesler bulunduğu için alt sistemlere ayırarak tahsis metodunun uygulanmasında sorunlar yaşanmaktadır. Bu noktada sistem genişlemesi, fiziksel tahsis, fizikokimyasal tahsis gibi metotlar uygulanabilir (ISO, 2006b). Kullanılan tahsis metoduna bağlı olarak peynir üretim süreci sırasında tüketilen enerji miktarı değişiklik gösterebilmektedir (Villegas vd., 2012). Buna ek olarak malzeme seçimi ve kullanım miktarına bağlı olarak ambalajlama da çevresel etkileri yadsınamayacak bir başlıktır.

Süt endüstrisinde gerçekleştirilmiş YDA çalışmaları incelendiğinde, çalışmaların büyük çoğunluğunda en az bir peynir çeşidinin bulunduğu göze çarpmaktadır. Bu durumun en önemli sebebi, her bir peynir üretiminin bulunduğu coğrafyaya ait özellikleri yansıtarak kendine özgü özellikler göstermesi, dolayısıyla her peynir çeşidinin üretim sürecinde birbirinden farklı çevresel etkilere sebep olmasıdır. Peynirler üretildikleri coğrafyaya ait özellikler taşımakta ve bu özellikleri yansıtmaktadırlar. Ulusal Süt Konseyi'nin Dünya ve Türkiye'de Süt İstatistikleri Raporu'nda (2021) dünya genelinde 2000-4000 çeşit peynir üretimi gerçekleştirildiği öngörülmektedir. Her bir peynir türünün kendine ve bulunduğu coğrafyaya has özellikler taşıdığı göz önünde bulundurulduğunda, peynir üretimlerinin çevresel etkilerinin incelenmesinin bu denli dikkat çekmesi sağlam temellere oturmaktadır.

Dünyanın çeşitli bölgelerinde üretilen farklı türdeki peynirler için yapılmış olan Yaşam Döngüsü Analizi çalışmaları ve küresel ısınma potansiyeli açısından kıyaslamaları Çizelge 1'de verilmiştir. Bu çizelgede, dünyada kabul edilen en yaygın çevresel etki kategorisi olan karbon ayak izinin birim peynir miktarı için karşılaştırılabilmesi amaçlanmıştır. Seçilen fonksiyonel birim nedeniyle kıyaslanabilir olmayan çalışmalara bu çizelgede yer verilmemiş, metin içinde değinilmiştir. Çalışmaların %95'inde peynir üretimlerinin çevresel etkilerinin incelenmesine küresel ısınma potansiyeli etki kategorisinin dahil edildiği görülmektedir. Karbon ayak izi, iklim değişikliği ve sera gazı emisyonları bu kategori altında incelenmiştir.

YDA etki değerlendirmesi, çeşitli yazılımlar yardımıyla yapılmaktadır. Bunlar arasında SimaPro, GaBi, openLCA, Enviance, Earthsmart ve Umberto sayılabilir. openLCA, GaBi ve SimaPro yazılımları dünya genelinde akademik çalışmalarda oldukça yaygın kullanılmaktadır. Çizelge 1 incelendiğinde peynir üretimlerinin YDA çalışmaları için en fazla SimaPro yazılımının kullanıldığı görülmektedir. Bu yazılım, ürün ve hizmetlerin çevresel performansını ortaya koyan, hem özel sektörde hem de akademik alanda

kullanılan bir araçtır. GaBi ise YDA, Yaşam Döngüsü Maliyet Analizi, Yaşam Döngüsü Raporlaması gibi pek çok hizmetin sunulduğu; içinde kendi veri tabanlarını da barındıran bir araçtır. Bunların yanında openLCA çeşitli veri tabanlarının entegre edilebildiği ve YDA

uygulamaları için tasarlanmış bir araçtır. Bu yazılımların yanında Ecoinvent veri tabanının da sıklıkla kullanıldığı görülmektedir. Ecoinvent, dünya genelinde çevresel verilerin desteklenerek kullanımının teşvik edildiği bir veri tabanıdır.

Çizelge 1. Peynir üretimlerinin incelendiği Yaşam Döngüsü Analizi çalışmalarında incelenen etki kategorileri ve Küresel Isınma Potansiyeli açısından kıyaslanması (Fonksiyonel Birim: 1 kg peynir)
Table 1. Impact categories examined in Life Cycle Assessment studies analyzed cheese production and its comparison in terms of global warming potential (Functional Unit: 1 kg cheese)

Peynir Adı Cheese Type	Süt Türü Milk Type	Ülke Country	Sınır Boundary	Program & Veritabanı Software & Database	Etki Kategorileri Impact Categories															Kaynak Reference
					GWP	AP	EP	RD	EC	POCP	ET	LU	WU	ADP	ODP	HT	FD	IR	PMF	
Hushallsost Angsgarden	İnek Cow	İsveç Sweden	B-M	Literatür Literature	8.80	X	X	X	X	X	X				X					Berlin, 2002
Peynir Cheese	İnek Cow	İsveç Sweden	B-M	Literatür Literature	10.70		X			X										Berlin vd., 2008
Yarı-sert peynir Semi-hard cheese	İnek Cow	Hollanda Holland	B-K	Ecoinvent	8.50				X			X	X							Middelard vd., 2011
Mahon-Menorca	İnek Cow	İspanya Spain	K-K	GaBi 4.0	0.80		X						X							Sanjuan vd., 2011
Çedar Cheddar	İnek	ABD USA	K-K	GaBi 2008 Ecoinvent 2007 NREL 2008	0.80				X											Villegas vd., 2012
Krema peyniri Cream cheese	İnek Cow	Romanya Romain	B-K	Provac Impex SRL Ecoinvent data v2.2 Literatür ESU	3.24															Doublet vd., 2013
Taze peynir Fresh cheese					3.24															
Yarı yumuşak peynir Semi-soft cheese					7.76	X	X				X	X		X		X	X			
Yumuşak peynir Soft cheese					7.76															
San Simon da Costa	İnek Cow	İspanya Spain	B-M	SimaPro 7.3.2 Ecoinvent	10.44	X	X		X	X		X		X	X					Garcia vd., 2013a
Olgunlaştırılmış peynir Ripened cheese	İnek Cow	Portekiz Portuguese	B-K	SimaPro 7.3.2 Ecoinvent	7.49	X	X		X	X		X		X	X					Garcia vd., 2013b
Çedar Cheddar	İnek Cow	ABD USA	B-M	SimaPro 7.3 Ecoinvent	8.60												X	X		Kim vd., 2013
Mozarella Mozzarella					7.28		X	X	X	X										
Peynir Cheese	İnek Cow	Kanada Canada	B-M	SimaPro 7.3.2 Ecoinvent LCI v2.2	5.30															Verge vd., 2013
Parmigiano Reggiano	İnek Cow	İtalya Italy	B-M	Ecoinvent	0.09	X	X	X			X	X			X	X		X		Fornasari, 2013
Çedar Cheddar	İnek Cow	ABD USA	K-K	SimaPro 7.3 Ecoinvent	1.29												X	X		Kim vd., 2014
Mozarella Mozzarella					1.81		X		X	X	X									
Yarı olgun Gouda Semi-cured Gouda	İnek Cow	Almanya Germany	B-M	SimaPro 7.3.3 Blonk Consultants Agri-footprint LCA database	8.67	X	X	X				X						X		Broekema ve Kramer, 2014

Çizelge 1. Devam
Table 1. Continue

Peynir Adı <i>Cheese Type</i>	Süt <i>Milk</i>	Ülke <i>Country</i>	Sınır <i>Boundry</i>	Program& Veritabanı <i>Software& Database</i>	Etki Kategorileri <i>Impact Categories</i>															Kaynak <i>Reference</i>
					GWP	AP	EP	RD	EC	PO CP	ET	LU	W U	AD P	O DP	HT	FD	IR	PM F	
Peynir (Sarı, beyaz, küflü ve krema) <i>Cheese (Yellow, white, mold, cream)</i>	İnek <i>Cow</i>	Danimarka <i>Denmark</i>	B-K	SimaPro 7 Ecoinvent	6.50				X											Flysjö vd., 2014
Peynir <i>Cheese</i>	İnek <i>Cow</i>	Sırbistan <i>Serbia</i>	B-M	CcaLC 2013 Ecoinvent V2.2	8.10	X	X			X					X	X				Djekic vd., 2014
Çedar <i>Cheddar</i>	İnek <i>Cow</i>	Danimarka <i>Denmark</i>	B-K	Literatür <i>Literature</i>	10.50															Kristens en vd., 2015
Gouda peyniri <i>Gouda cheese</i>	İnek <i>Cow</i>	İsveç <i>Sweden</i>	B-K	Literatür <i>Literature</i>	8.48			X	X			X	X							Oulu, 2015
Çedar ve Mozzarella <i>Cheddar and Mozzarella</i>	İnek <i>Cow</i>	İrlanda <i>Ireland</i>	B-K	Ecoinvent Literatür <i>Literature</i>	7.20				X			X					X			Finnegan vd., 2017
Mozarella <i>Mozzarella</i>	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-M	SimaPro 8.1 Ecoinvent v3.2	6.66	X	X		X	X	X	X			X	X	X			Riva vd., 2017
Peynir <i>Cheese</i>	İnek <i>Cow</i>	Brezilya <i>Brazil</i>	B-K	SimaPro 8.0.5.13 Ecoinvent USLCI Industry data Agri-footprint	14.45	X	X	X		X					X		X		X	Santos Jr vd., 2017
Pecorino Romano	Koyun <i>Sheep</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	Ecoinvent v3.1 USLCI SimaPro	16.90	X	X			X	X			X	X	X				Vagnoni vd., 2017
Pecorino di Osilo					17.10															
Grana Padano	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	EFE-So Ecoinvent v3	10.30	X	X	X		X	X				X				X	Bava vd., 2018
Pecorino	Koyun <i>Sheep</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	SimaPro 8.0.2	22.13	X	X	X		X	X	X			X	X	X	X	X	Mondello vd., 2018
Franxon ve Casin	İnek <i>Cow</i>	İspanya <i>Spain</i>	B-K	SimaPro v8	10.20	X	X	X		X	X	X			X	X	X	X	X	Canellada vd., 2018
Asiago	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	SimaPro 8.1.1. Ecoinvent v3.1	10.10	X	X			X	X	X			X	X	X			Riva vd., 2018
Mozarella <i>Mozzarella</i>	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	Ecoinvent 3.0	9.73															Forleo vd., 2018
Çedar <i>Cheddar</i>	İnek <i>Cow</i>	İrlanda <i>Ireland</i>	K-K	Ecoinvent v3	0.48	X	X		X								X			Finnegan vd., 2018
Mozarella ve Minas frescal peyniri <i>Mozzarella and Minas frescal cheese</i>	Manda <i>Buffalo</i>	Brezilya <i>Brazil</i>	B-K	SimaPro v.8.5.2.0	8.17	X	X	X		X					X		X		X	Alves vd., 2019
Mozarella <i>Mozzarella</i>	Manda <i>Buffalo</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	SimaPro 8.5 Ecoinvent	31.80	X	X													Berlese vd., 2019
Grana Padano	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	Agribalyse v1.3 Agri-footprint v.4 Ecoinvent 3.4 ELCD v3.2 Swiss Input Output database Industry data 2.0 USLCI	12.50	X	X	X		X	X	X			X	X	X	X	X	Famiglietti vd., 2019
Grana Padano	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	SimaPro Ecoinvent v3	1.38	X	X	X		X		X								Lovarelli vd., 2019
Parmigiano Reggiano					1.46															

Peynir üretimlerinin yaşam döngüsü analizi

Çizelge 1. Devam
Table 1. Continue

Peynir Adı <i>Cheese Type</i>	Süt Türü <i>Milk Type</i>	Ülke <i>Country</i>	Sınır <i>Boundry</i>	Program& Veritabanı <i>Software& Database</i>	Etki Kategorileri <i>Impact Categories</i>																Kaynak <i>Reference</i>
					GWP	AP	EP	RD	EC	POCP	ET	LU	WU	ADP	ODP	HT	FD	IR	PMF		
İspanyol artisanal peynir <i>Spanish artisanal cheese</i>	İnek <i>Cow</i>	İspanya <i>Spain</i>	B-K	SimaPro v8. USLCI EcoInvent v3	15.65															Laca vd., 2020	
Keçi peyniri <i>Goat cheese</i>	Keçi <i>Goat</i>	Brezilya <i>Brazil</i>	B-K	Simapro 8.3.0.0 Ecoinvent 3.2	61.90	X	X	X		X		X			X	X	X	X	X	Cabral vd., 2020	
Caciocotta	Keçi <i>Goat</i>	İtalya <i>Italy</i>	K-K	openLCA v. 1.7.3 Ecoinvent database v. 3.1	19,00	X	X	X		X	X	X			X	X	X	X	X	Pollaro vd., 2020	
Cilentana					9.2	X	X	X		X	X	X			X	X	X	X	X		
Toma di Lanzo	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	SimaPro 8.5 Ecoinvent database	3.00		X	X				X					X			Verdun a vd., 2020	
Beira Baixa	Koyun <i>Sheep</i>	Portekiz <i>Portuguese</i>	B-M	Ecoinvent database GaBi	14.96	X	X													Nunes, 2020	
Keçi peyniri <i>Goat cheese</i>	Keçi <i>Goat</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	Simapro	14.16															Celozzi vd., 2020	
Taze peynir <i>Fresh cheese</i>	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	Ecoinvent database v3.1 Simapro software v8.0.5	10.10															Berton vd., 2021	
Orta-olgun peynir <i>Medium-ripened cheese</i>					10.90																
Olgun peynir <i>Ripened cheese</i>					11.70	X	X		X			X									
Caciotta					9.70																
Ricotta					4.30																
Oaxaca peyniri	İnek <i>Cow</i>	Meksika <i>Mexico</i>	K-K	Herarquista (H) v 1.01 SimaPro v.8.5.0.0 Ecoinvent v.3	15.60	X	X			X	X		X	X	X	X			X	Vargas vd., 2021	
Paneer	İnek <i>Cow</i>	Hindistan <i>India</i>	K-K	Ecoinvent v3.6 Ecoinvent v2 Simapro	0.39	X		X			X	X			X			X	X	Kumar vd., 2021	
Çedar <i>Cheddar</i>	İnek <i>Cow</i>	İngiltere <i>England</i>	K-K	Gabi v8.6 Ecoinvent	0.33	X	X			X	X	X		X	X	X	X	X	X	Gosalvi tr vd., 2021	
Parmigiano Reggiano	İnek <i>Cow</i>	İtalya <i>Italy</i>	B-K	SimaPro 9.1.1 EcoInvent 3.6 Agri-footprint	6.92												X			Borghesi vd., 2022	
İzmir tulum peyniri <i>İzmir tulum cheese</i>	İnek <i>Cow</i>	Türkiye <i>Turkey</i>	B-K	GaBi GaBi Professional Food&Feed	12.6	X	X			X	X			X		X				Uysal, 2022; Koca vd., 2022	

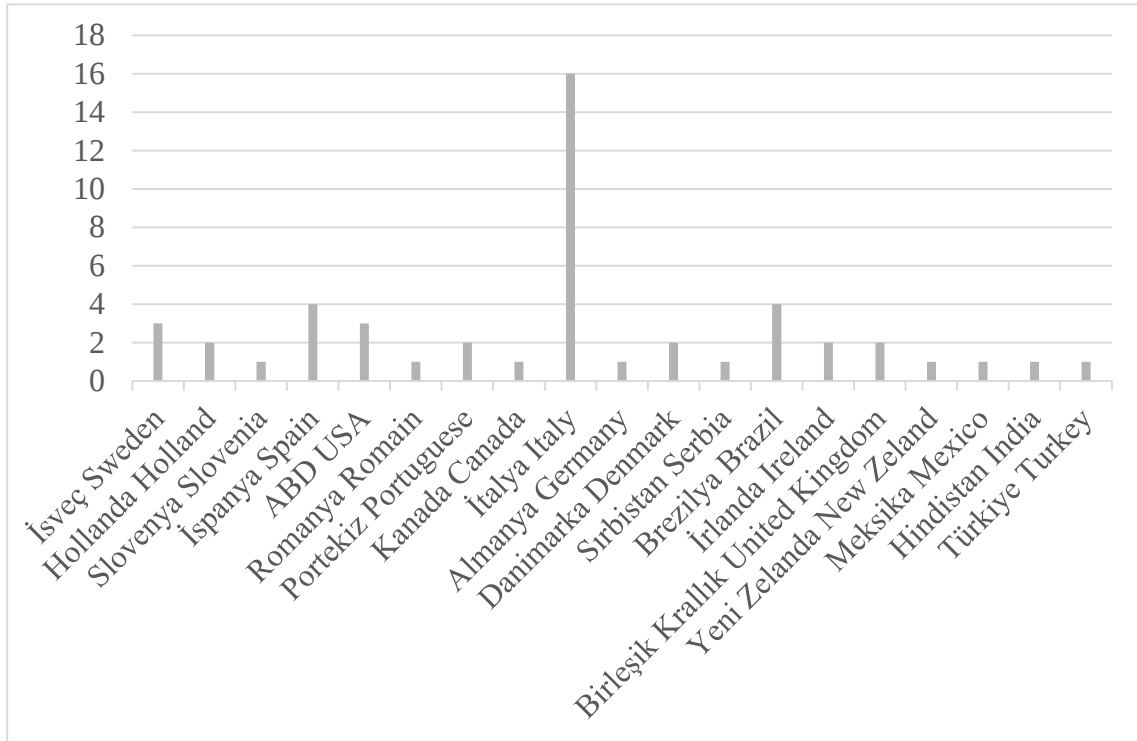
B-M: Beşikten Mezara, *Cradle to Grave* B-K: Beşikten Kapiya, *Cradle to Gate* K-K: Kapıdan Kapiya, *Gate to Gate*

X: Çalışmalarda incelenen etki kategorisi, *Impact category examined in the studies*

GWP: Küresel Isınma Potansiyeli (kg CO₂ eşd/kg peynir) *Global Warming Potential (kg CO_{2eq}/kg cheese)*, AP: Asidifikasyon Potansiyeli, *Acidification Potential* EP: Ötrofikasyon Potansiyeli, *Eutrophication Potential* RD: Kaynakların Tükenmesi, *Resource Depletion* EC: Enerji Tüketimi, *Energy Consumption* POCP: Fotokimyasal Ozon Oluşum Potansiyeli, *Photochemical Ozone Creation Potential* ET: Ekotoksosite, *Ecotoxicity* LU: Arazi Kullanımı, *Land Use* WU: Su Tüketimi, *Water Use* ADP: Abiyotik Kaynakların Tükenme Potansiyeli, *Abiotic Depletion Potential* ODP: Ozon Tabakası Delinme Potansiyeli, *Ozone Layer Depletion Potential* HT: İnsan Toksisitesi, *Human Toxicity* FD: Temiz Su Tükenmesi, *Freshwater Depletion* IR: İyonlaştırıcı Radyasyon Potansiyeli, *Ionizing Radiation* PMF: Partikül Madde Oluşum Potansiyeli, *Particulate Matter Formation*

Peynir üzerine ilk YDA çalışmaları 2000’li yılların başında yürütülmüş, yarı-sert İsveç peynirinin çevresel etkileri; kaynakların kullanımı, enerji tüketimi, küresel ısınma potansiyeli, asidifikasyon potansiyeli, ötrofikasyon potansiyeli ve fotokimyasal oksidan üretim potansiyeli etki kategorileri altında incelenmiştir (Berlin, 2002). Bunun yanı sıra, peynir üretiminin YDA çalışmalarının büyük bir kısmının İtalya’da yoğunlaştığı görülmektedir. Parmesan, Asiago, Pecorino, Grana Padano (Fornasari, 2013; Vagnoni vd., 2017; Riva vd., 2018; Mondello vd., 2018; Bava vd., 2018; Lovarelli vd., 2019; Famiglietti vd., 2019) gibi coğrafi işaretli İtalyan peynirlerinin çevresel etkilerinin incelenmesinin yanı sıra, mozzarella ve ricotta (Palmieri vd., 2017; Riva vd., 2017; Forleo vd., 2018; Berlese vd., 2019; Berton vd., 2021) gibi dünyada oldukça geniş üretim hacmine sahip İtalyan peynirlerinin

de çevresel performansı değerlendirilmiştir. Özellikle 2013 yılından sonra peynir üretiminin YDA çalışmaları dünya genelinde ivme kazanmış, süt endüstrisinin temel ürünlerinden olan peynirin çevresel performansının önemi birçok çalışmada vurgulanmıştır (Osojnik Crnivec ve Marinsek-Logar, 2009; Middelaar vd., 2011; Kim vd., 2013; Verge vd., 2013; Garcia vd., 2013a,b; Djekic vd., 2014; Nigri vd., 2014; Kristensen vd., 2015; Oulu, 2015; Santos Jr vd., 2017; Finnegan vd., 2017; Canellada vd., 2018; Gosaltvit vd., 2019; Alves vd., 2019; Tarighaleslami vd., 2020; Nunes, 2020; Celozzi vd., 2020). İncelenen çalışmaların ülkelere göre dağılımı Şekil 3’te gösterilmiştir. Oluşturulan grafik, yayın için gerçekleştirilen tüm literatür araştırması ve çalışmaların yayınlandığı ülkeler göz önünde bulundurularak oluşturulmuştur.



Şekil 3. Peynir üretimlerinin Yaşam Döngüsü Analizi çalışmalarının ülkelere göre dağılımı
Figure 3. Distribution of Life Cycle Assessment studies of cheese production by country

Yaşam Döngüsü Analizi ile üretimlerinin çevresel etkileri incelenen peynir türlerine bakıldığında çedar, mozzarella, Gouda gibi dünya genelinde sıkça tercih edilen peynirlerin yanı sıra Hushallsost

Angsgarden, Pecorino Romano, Pecorino di Osilo gibi yöresel peynirlere de yer verildiği göze çarpmaktadır. Bu durum, her bir peynir üretiminin bulunduğu coğrafyaya ait özellikleri

yansıtarak kendine özgü özellikler göstermesi, dolayısıyla birbirinden farklı çevresel etkilerle sonuçlanmasıyla doğrudan ilişkilidir.

Çizelge 1'e göre, çalışmalara en fazla dahil edilen etki kategorileri küresel ısınma potansiyeli, asidifikasyon potansiyeli ve ötrofikasyon potansiyeli iken, en az incelenen kategoriler su tüketimi, abiyotik faktörlerin tükenme potansiyeli, iyonlaştırıcı radyasyon potansiyeli ve parçacıklı madde oluşum potansiyelidir.

Beşikten mezara, beşikten kapıya yapılan farklı peynir çeşitlerinde yapılan çalışmalarda, küresel ısınma potansiyeline en çok etki eden aşamanın çiğ süt üretimi aşaması (yaklaşık %90'lara ulaşan değerler) olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, çiğ süt üretimi aşaması, asidifikasyon potansiyeli, ötrofikasyon potansiyeli, arazi kullanımı ve fotokimyasal oksidan oluşumu üzerinde de önemli etkilere sahiptir. Garcia vd. (2013), olgunlaştırılmış peynir üretiminde bu etkileri sırasıyla %91, %86, %99 ve %69 olarak belirtmiştir. Benzer şekilde, koyun peynir üretiminde, çiğ süt eldesinin asidifikasyon potansiyeline %96, temiz su ötrofikasyonuna %100 oranında etki ettiği saptanmıştır (Nunes vd., 2020). Keçi peynir üretiminde de keçi sütü eldesinin çevresel etkileri benzer bulunmuştur (Cabral vd., 2020). Bu benzerlik, YDA analizi ile çiğ süt eldesinin çevresel etkilerini ele alan çalışmaların çoğunda vurgulanmıştır. Bu sonuçlar, süt üretim çiftliklerinde çevresel etkilerin en aza indirilmesi için gerekliliklerin yerine getirilmesinin süt ürünleri üretiminde sürdürülebilirlik kavramı için önemini göstermektedir. FAO (2022) GLEAM (Global Livestock Environment Assessment Model) sonuçlarına göre, süt üretim çiftliklerinde oluşan emisyonlar üretici bazında önemli farklılıklar göstermektedir. Üreticiye bağlı bu farklılıkların temel nedenleri tarım-çevre etkileşimleri, üretim yöntemleri ve tedarik zinciri yönetiminde olan farklılıklardır. Hayvancılık tedarik zincirine ait emisyonlar, 4 temel başlıktan kaynaklanmaktadır: enterik fermentasyon (%44), gübre yönetimi (%10), yem üretimi (%41) ve enerji tüketimi (%5). Özellikle enterik metan gazının azaltılması ve

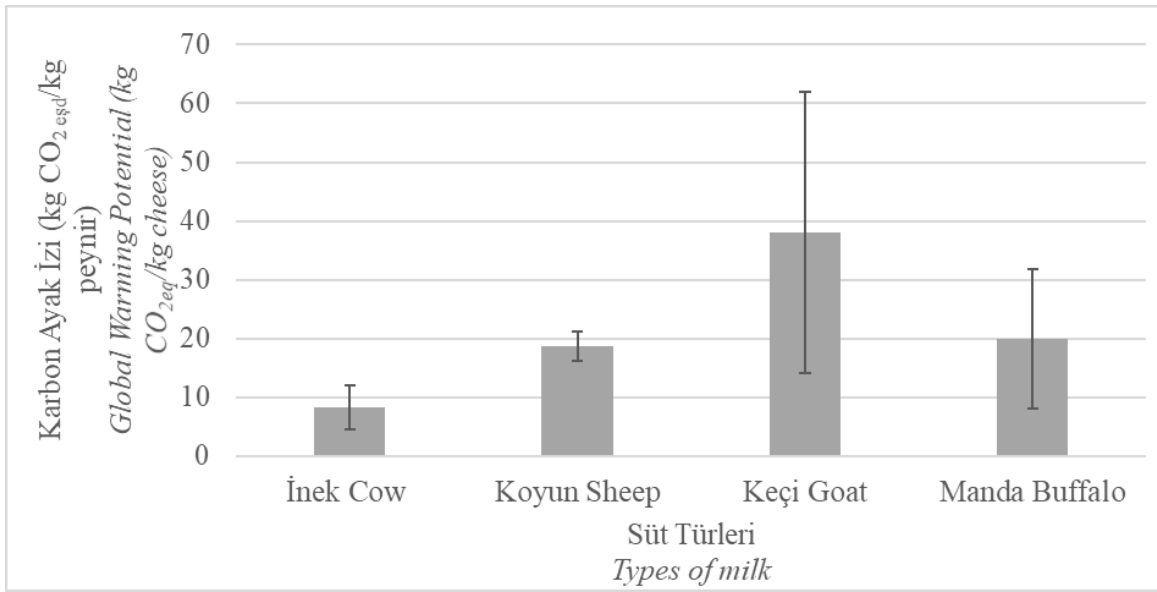
gübre yönetimi çiftlik aşamasında çevresel etkilerin azaltılması için büyük önem taşımaktadır.

Şekil 4'te, Çizelge 1 kapsamında incelenen çalışmalarda peynir üretimlerinde beşikten kapıya küresel ısınma potansiyelinin kullanıldığı süt türlerine göre dağılımı görülmektedir. Söz konusu şekil incelendiğinde, inek sütünden elde edilen peynirlerin karbon emisyonlarının ortalama değerlerinin kg peynir bazında diğer süt türlerine kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. FAO (2022) verilerine göre dünya genelinde hayvancılık sektör emisyonlarının %62'sini sığır, %9.5'ini manda ve %7.35'ini küçükbaş hayvan emisyonları oluşturmaktadır. En yüksek toplam emisyonlar dana eti ve inek sütüne aittir (sırasıyla 3.0 ve 1.6 Gt CO₂eqd), Buna karşın bu değerler, kg protein başına meydana gelen emisyon olarak ele alındığında süt türlerine ait sıralamada en düşük pay inek sütüne (87 kg CO₂eqd/kg protein) verilmiştir. Toplam emisyon değerleri olarak değerlendirildiğinde manda ve küçükbaş hayvan sütlerinin emisyon değerleri inek sütü toplam emisyon değerlerine kıyasla daha düşük olmasına karşın, kg protein başına değerlendirildiğinde manda (140 kg CO₂eqd/kg protein) ve küçükbaşlar (148 kg CO₂eqd/kg protein) için daha yüksek değerlerin olduğu tespit edilmiştir. Keçi ve koyun sütünden peynir üretiminde yapılan YDA çalışması çok sınırlıdır. Dolayısıyla, süt türleri arasında gerçek bir kıyas yapabilmek için keçi ve koyun sütünden peynir üretimi üzerine YDA çalışmalarının artırılması gereklidir.

Şekil 4'te aynı süt türünden üretilen peynirlerde özellikle keçi sütü kullanımında kg peynir başına oluşan küresel ısınma potansiyeli değerlerinde sapmaların yüksekliği dikkati çekmektedir. Pollaro vd. (2020) yaptıkları çalışmada keçi peyniri üreten iki farklı işletmede küresel ısınma potansiyelini kıyaslamışlardır. Çalışmada openLCA v. 1.7.3 yazılımı ve Ecoinvent database v. 3.1 kullanılmıştır. İlk işletmede keçiler çiftlikte kendi ürettikleri sebze ve tahıl ile beslenmiş ve peynir üretiminde elde edilen peynir suyunu ve gübreyi tekrar işletmede kullanmışlardır. İkinci işletmede ise beslemenin yarısı doğada yapılmış ve elde edilen gübre ve peynir suyu ise satılmıştır. İlk çiftlikte küresel ısınma potansiyeli (9.2 kg

CO₂eq/kg peynir), çalışmalarda inek sütü için elde edilen değerlere benzer bulunmuştur. Diğer işletmede ise küresel ısınma potansiyeli daha yüksek (19 kg CO₂ eq/kg peynir) tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Cabral (2020), keçi peyniri üretiminde kullanılan sütün eldesinde, keçilerin beslenmesinde soya konsantratının bir kısmının saman ve yeşil ot ile yer değiştirilmesinin çevresel etkileri azalttığını belirtmiştir. Buna ilaveten,

Çedar peyniri üretiminde Jersey ve Holstein inek sütü kullanımında karbon ayak izi değerlerinde farklılıklar olduğu, Jersey sütü kullanımının karbon ayak izini azalttığı bildirilmiştir (Canellada vd., 2018). Bu durum, süt verimliliğinin, besleme şekillerinin ve elde edilen yan ürün ve artıkların nasıl ve nerede değerlendirildiğinin küresel ısınma potansiyeli üzerinde önemini göstermektedir.



Şekil 4. Peynir üretimlerinde beşikten kapıya küresel ısınma potansiyelinin kullanılan süt türlerine göre dağılımı

Figure 4. Distribution of global warming potential from cradle to gate in cheese production by types of milk used

Küresel ısınma potansiyelinin dahil edilmediği çalışmaların ilki Osojnik Crnivec ve Marinsek-Logar (2009) tarafından gerçekleştirilmiş olup, sert-pişmiş Slovenya peyniri üretiminin çevresel etki noktaları belirleme analizi gerçekleştirilmiştir. Küresel ısınma potansiyelinin etki kategorilerinde incelenmediği bir diğer çalışma Reijnders ve Soret (2003) tarafından yapılmış ve Hollanda'da üretilen inek peyniri üretimi, arazi kullanımı, ekotoksiste, ötrofikasyon potansiyeli ve asidifikasyon potansiyeli kategorileri altında incelenmiştir.

Peynir üretiminde çiğ süt üretim aşamasından sonra elektrik tüketimi ve buhar eldesinin çevresel etki kategorilerine önemli etkileri bulunmaktadır. Bu kapsamda, peynir işletmesinde sütün pastörizasyonu, peynir altı suyu peyniri üretiminde ısıl işlemler, peynir altı suyuna

uygulanan ısıl işlemler (konsantrasyon, pastörizasyon, kurutma), soğutma işlemleri ele alınabilir. Diğer taraftan, Garcia vd. (2013) tarafından yayınlanan çalışmada peynir suyunun direkt atık sularla karıştırılması yerine, peynir altı suyu tozu üretimiyle değerlendirilmesi durumunda ötrofikasyon potansiyeli ve ozon tabakası delinme potansiyeli gibi etki kategorilerinde %15'e kadar iyileşme sağlanabildiği belirtilmiştir. Çalışmada SimaPro 7.3.2 yazılımı ve Ecoinvent veritabanı kullanılmıştır. Peynir altı suyunun hayvancılıkta kullanımı, abiyotik kaynakların tükenmesi, ozon tabakası delinmesi, fosil kaynakların tükenmesi gibi etki kategorilerinde olumlu sonuçlar vermiştir (Palmieri vd., 2017).

Peynirler yaygın olarak pastörize ya da termize sütten üretilmektedir. Buna karşın, çiğ sütten üretilen peynir çeşitleri de dikkate değerdir. Özellikle geleneksel peynirlerde çiğ sütten üretim ve sonrasında olgunlaştırma yaygındır. Nigri vd. (2014) Minas peynirinin artisanal ve endüstriyel üretimlerinin çevresel etkilerini YDA analizi ile incelemişlerdir. Endüstriyel üretimde sütün pastörize edilmesi nedeniyle daha fazla enerji kullanımı açısından daha fazla çevresel etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın, artisanal üretimde gıda güvenirliliği riskinin göz ardı edilmemesi gerektiği ve ayrıca düşük üretim kapasitesinin de market ihtiyacını karşılayamayacağı belirtilmiştir. Nakliye, temizleme ve paketlenme aşamalarında çiğ sütten üretim ile pastörize sütten üretimin çevresel etkileri benzer bulunmuştur.

Peynir üretiminde çiğ süt üretim aşaması da dahil olmak üzere su kullanımı ve temizlik amaçlı atık su oldukça fazladır. Başta ötrofikasyon potansiyeli olmak üzere çeşitli etki kategorileri su kullanımı ile doğrudan bağlantılıdır. Dolayısıyla, peynir üretiminde su yönetimi önemli bir unsurdur (Kim vd., 2013). Çedar ve mozzarella peynir üretiminde temiz su tüketimine en fazla etkinin %90.8 oranı ile CIP (yerinde temizlik uygulamaları) işlemi olduğu belirtilmiş (Kim vd., 2014) olmakla birlikte, bu değer daha küçük işletmelerde ve geleneksel üretimlerde CIP sistemlerinin daha az kullanılması sebebiyle daha düşük olacaktır.

Peynir üretiminde olgunlaştırma aşamasının çevresel etkileri de incelenmiştir. Kim vd (2013), çedar peynirinde 60 ay olgunlaştırmanın sera gazı emisyonlarını %22 artırdığını ve ayrıca soğutma işlemlerinde elektrik tüketimine bağlı insan toksisitesi ve ekotoksitesite kategorilerinde de artış olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada SimaPro 7.3 yazılımı ve Ecoinvent veritabanı kullanılmıştır.

Ülkemiz de dahil olmak üzere bazı ülkelerde peynir üretiminde pıhtının satın alınarak işlenmesi peynir üretiminde kullanılan bir yöntemdir. Ancak, pıhtı satın alınarak üretilen mozzarella peynirinin çevresel etkileri çiğ sütten üretilen mozzarella peynirinin çevresel etkilerinden daha yüksek bulunmuştur (Riva vd., 2017).

Ülkemizde peynir üretimlerinin YDA analizi ile incelenmesi süreci oldukça yenidir. İzmir tulum peyniri üretiminin çevresel etkileri YDA ile belirlenmiş; küresel ısınma potansiyeli, asidifikasyon potansiyeli, ötrofikasyon potansiyeli, abiyotik tükenmesi, temiz su ekotoksitesitesi potansiyeli, insan toksisitesi potansiyeli ve fotokimyasal ozon oluşum potansiyeli incelenmiştir (Uysal, 2022). Küresel ısınma potansiyeli 12.6 kg CO_{2eq}/kg peynir olarak tespit edilmiştir. Bunun %73.81'ini çiğ süt üretimi; onu takiben elektrik tüketimi %14.29'unu, buhar tüketimi %5.68'ini, paketlenme aşaması %2.1'ini ve atık yönetimi %1.33'ünü oluşturmaktadır. Ayrıca, İzmir tulum peynirinin çevresel etkileri beşikten kapıya YDA analizi ile üç farklı senaryo üzerinden senaryo analizi gerçekleştirilmiştir (Koca vd., 2022). Bu kapsamda çiğ sütün farklı mesafelerden işletmeye getirilmesi, tüketilen elektriğin çeşitli oranlarda güneş enerjisinden karşılanması ve ısı enerjisinin belirli bölümünün güneş ısı sistemlerden elde edilmesi durumları incelenmiştir. Çalışmada, çiğ sütün işletmeye nakliye mesafesi arttıkça küresel ısınma potansiyeli, temiz su ekotoksitesitesi potansiyeli, insan toksisitesi potansiyeli ve fotokimyasal ozon oluşum potansiyelinde gözle görülür bir artış olduğu, elektrik gereksiniminin %100 güneş enerjisinden karşılandığı durumda ise abiyotik tükenmesi (elementler) dışındaki tüm etki kategorilerinin en düşük seviyede olduğu saptanmıştır. Ayrıca, mayalama odası iklimlendirmesi için %50 oranında güneş ısı kolektörleri kullanılması durumunda abiyotik tükenmesi (elementler) ve temiz su ekotoksitesitesi potansiyeli hariç tüm çevresel etki kategorilerinde azalma sağlandığı tespit edilmiştir.

Partikül madde oluşum potansiyeli etki kategorisinin oldukça az çalışmaya dahil edildiği tespit edilmiştir (Çizelge 1). Ayrıca, bu etki kategorisi, diğerlerine kıyasla en geç incelenmeye başlanmış olup, ilk kez 2014 yılında Nigri vd. tarafından Minas peynirinin endüstriyel ve butik üretimlerinin YDA ile incelenerek çevresel etkilerinin karşılaştırıldığı Brezilya'da gerçekleştirilen çalışmada karşımıza çıkmaktadır. Gerçekleştirilen bu çalışma, Brezilya'da daha sonra gerçekleştirilen çalışmalar için öncü

niteliğindedir. İlerleyen yıllarda Brezilya, İtalya ve İspanya’da gerçekleştirilen çalışmalarda bahsedilen etki kategorisi detaylıca incelenmiş ve en fazla etki eden üretim basamakları tespit edilmiştir.

İyonlaştırıcı radyasyon potansiyeli peynir üretimlerinin çevresel etkilerinin oluşumunda diğer etki kategorileri kadar önem taşımamakla birlikte en fazla çiftlik aşamasından, en az nakliye ve tüketim ile olgunlaştırma aşamalarından etkilenmektedir. Mondello vd. (2018) ve Canellada vd. (2018)’e göre, güneş enerjisi kullanımıyla su tüketimi, fosil yakıt tüketimi, iyonlaştırıcı radyasyon potansiyeli gibi etki kategorilerinde %30'lara varan oranlarda iyileştirmelerin gerçekleştirilebilmesi mümkündür.

Ele alınan çalışmalarda belirlenen sistem sınırları ve fonksiyonel birimler detaylıca incelendiğinde, fonksiyonel birimlerin çoğunlukla 1 kg peynir olarak seçildiği görülmektedir. Bu seçim, çalışmalar neticesinde elde edilen verilerin kıyaslanması adına önemli olup bazı çalışmalarda (Verge vd., 2013; Famiglietti vd., 2019; Lovarelli vd., 2019; Verduna vd., 2020) seçilen fonksiyonel birimin sütün bileşenleri dikkate alınarak belirlendiği görülmektedir. Çok fazla peynir çeşidi ve karakteristiği bulunması nedeniyle, fonksiyonel birim tanımlamalarına çeşitli spesifikasyonların (kuru madde, yağ, protein gibi) dahil edilmesi sonuçların kıyaslanabilirliği açısından önemlidir. Nitekim taze peynirler ile olgun peynirler arasında ya da yumuşak peynir ve sert peynirler arasında kg peynir başına kuru madde ya da bileşen değerleri belirgin farklılıklar gösterebilmektedir. Çalışmaların gerçekleştirildiği sistem sınırlarına bakıldığında beşikten mezara analizler olmakla birlikte, sistem sınırlarının çoğunlukla beşikten kapıya olarak belirlendiği göze çarpmaktadır. Beşikten kapıya olarak ifade edilen sistem sınırları çiğ süt eldesinden yani çiftlik aşamasından, oluşan son ürünün işletme çıkış noktasına kadar şeklinde açıklanabilir.

Sanjuan vd. (2011) tarafından yayınlanan çalışmada Mahon-Menorca peynirinin çevresel etkilerinin analizi yanında ekonomik analizi de gerçekleştirilmiştir. YDA ile çevresel etkileri

incelenen peynire Veri Zarflama Analizi de uygulanarak eko verimliliği en yüksek üretim tekniğine karar verilmesine çalışılmıştır. Çalışma, iki farklı tekniğin bir arada kullanılarak hem çevresel hem de ekonomik bakış açısıyla daha sürdürülebilir üretim sistemlerinin oluşturulmasına ışık tutması açısından önem taşımaktadır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu derlemede, peynir üretimi üzerine yapılan Yaşam Döngüsü Analizi çalışmaları incelenmiş ve üretim aşamalarının çevresel etkileri değerlendirilmiştir. Çiğ süt üretimi aşaması, başta küresel ısınma potansiyeli olmak üzere etki kategorilerinin çoğuna en fazla etki eden basamaktır. Dolayısıyla, hayvancılık ve tarım ayağında yapılacak iyileştirmeler ile (kaynakların etkin kullanımı, dengeli besin alımı, çiftlikte yem üretimi ve gübrenin kullanımı, süt verimliliğinin artırılması, organik tarım, iyi tarım uygulamaları, tarım ilacı kullanımının azaltılması, bölge iklim ve coğrafyasına uygun yem türleri yetiştirilmesi, verimli sulama sistemlerinin kurulması, yenilenebilir enerji kullanımının artırılması vb.) çevresel etkilerde azalma sağlanması mümkündür. Peynir işletmesinin süt üretim tesislerine yakınlığı ve kurulum yerinin uygunluğu, hatta süt üretim çiftliklerini kapsaması çevresel etkilerin azaltılması için etkindir. Bu kapsamda, peynir işletmelerinin çevre dostu süt çiftlikleri ile çalışmaları, süt üretim aşamasında çevresel etkilerin en aza indirilmesi konusunda farkındalığı artıracaktır.

Elektrik tüketimi ve kazan emisyonları etki kategorilerine doğrudan etki etmektedir. Yanmaya ve fosil yakıt tüketimine bağlı başta küresel ısınma potansiyeli (karbon ayak izi) olmak üzere tüm çevresel etkilerin azaltılabilmesi için enerji verimliliği sağlanması ve fosil kaynaklı enerji yerine yenilenebilir enerji kaynaklarının yaygın olarak kullanılması oldukça önemlidir. Bu sebeple enerji verimliliği yüksek ekipmanlar ile güneş enerjisi, biyoenerji vb. yenilenebilir enerji kaynakları kullanılmalıdır. Çiftliklerden elde edilen gübrelerden enerji elde edilip işletme enerji ihtiyacına destek olabilmesi adına biyogaz üniteleri kurulabilir. Elde edilen metan gazı ocaklarda, aydınlatmada, ısıtmada vb. alanlarda

enerji ihtiyacını karşılayabilmektedir. Ayrıca, işletmelerde baca gazından çıkan atık ısı gerinin değerlendirilebilmesi için ısı geri kazanım sistemleri kurularak atık ısıdan işletme için gerekli sıcak su elde edilerek enerji tasarrufu sağlanabilir.

Süt işletmelerinin fiziki koşullarının da uygunluğu da dikkate alınarak hem çatılara hem de arazi içerisinde uygun noktalara konumlandırılacak güneş ısı kolektörleri ile ısı enerji ihtiyacının karşılanmasına destek olunabileceği gibi, fotovoltaik panellerle de elektrik enerjisi gereksiniminin bir kısmı karşılanabilir.

Peynir üretiminde, ambalajlama, nakliye ve tüketici kullanımı basamakları çoğunlukla etki kategorilerine minimum düzeyde etki etmektedir. Ozon tabakası delinme potansiyeli, nakliyeden en fazla etkilenen etki kategorisidir. İşletmelerde temizlik ve sanitasyon operasyonları için kimyasallar yerine ozon kullanımı veya ısı dezenfeksiyon yöntemi tercih edilerek temizlik ve sanitasyon operasyonlarına bağlı çevresel etkiler azaltılabilir.

Peynir altı suyu peynir üretiminde en önemli yan üründür. Bu yan ürün herhangi bir şekilde değerlendirilmeden atık olarak muamele edildiğinde başta ötrofikasyon potansiyeli olmak üzere ciddi çevresel tahribata sebep olmaktadır. Peynir altı suyu ülkemizde çoğunlukla lor üretiminin hammaddesi olarak kullanılmakta ve peynir altı suyu tozu üretilerek cips, bisküvi, içecek vb. pek çok üründe değerlendirilmektedir. Az miktarda da peynir altı suyu protein ürünleri üretilmektedir. Peynir altı suyunun gerek hayvan beslenmesinde gerekse yeni ürünlerin eldesinde kullanımı için alternatif değerlendirme yöntemlerinin yaygınlaştırılması ile çevresel etkilerin azaltılmasına önemli katkı sağlanacaktır. Peynir altı suyunun ürünlere değerlendirilmesi sonrasında, özellikle peynir suyu peynirleri üretimi sonrasında, ortaya çıkan atık suyun sahip olduğu yüksek BOD (biyolojik oksijen gereksinimi) ve COD (kimyasal oksijen gereksinimi) sebebiyle anaerobik arıtmaya uygundur. Atık suyun yarattığı etkinin azaltılması, biyo-çürütücülerin kullanımı gibi uygulamaların kullanımı ve iyileştirilmesi ile sağlanabilir.

Peynir üretiminde süt ve peynir kayıpları hem çevresel etkiler açısından önem arz etmekte hem de ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle, söz konusu kayıpların en aza indirileceği üretim ekipman ve yöntemlerinin seçilmesi kaynakların verimli kullanılması anlamında önemlidir. Ayrıca, insan sağlığını tehdit etmeyen, ancak kalite kusurları içeren üretim ve satışta olan peynirlerin atık yerine yeni ürünlere değerlendirilebilmesi için yasal kılavuzların oluşturulması atık açısından çevresel etkiyi azaltacak ve ekonomik dönüş sağlayacaktır.

Peynir üretimi, ürün çeşitliliği ve kullanılan süt türü bazında üretim aşamalarında önemli farklılıklar içerdiğinden çevresel etkilerinin ve Yaşam Döngüsü Analizinin her peynir çeşidi için ayrı olarak yapılması gerekmektedir. Ayrıca, yapılan çalışmalarda fonksiyonel birimin kg peynir bazında tanımlanması önemli olmakla birlikte, peynir çeşitlerinde bileşen farklılıkları dikkate alındığında gerçekçi kıyaslamalar yapabilmek için bileşen (kg kuru madde, kg protein, kg yağ) bazında da tanımlanması da önem arz etmektedir. Beşikten mezara çevresel etkiler ele alınarak daha bütüncül bir analizin gerçekleştirilmesi mümkündür.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (Proje Numarası: 22579) desteklenmiştir.

KAYNAKÇA

Alves, E. C., Soares, B. B., Neto, J. A. de A., & Rodrigues, L. B. (2019). Strategies for reducing environmental impacts of organic mozzarella cheese production. *Journal of Cleaner Production*, 223:226–237.

- Bava, L., Bacenetti, J., Gislon, G., Pellegrino, L., D'Incecco, P., Sandrucci, A., Zucali, M. (2018). Impact assessment of traditional food manufacturing: The case of Grana Padano cheese. *Science of the Total Environment*, 626:1200–1209.
- Berlese, M., Corazzin, M., Bovolenta, S. (2019). Environmental sustainability assessment of buffalo mozzarella cheese production chain: A scenario analysis. *Journal of Cleaner Production*, 238.
- Berlin, J. (2002). Environmental life cycle assessment (LCA) of Swedish semi-hard cheese. *International Dairy Journal*, 12:939–953.
- Berlin, J., Sonesson, U., Tillman, A.M. (2008). Product Chain Actors' Potential for Greening the Product Life Cycle: The Case of the Swedish Postfarm Milk Chain. *Journal of Industrial Ecology*, 12(1): 95–110.
- Berton, M., Bovolenta, S., Corazzin, M., Gallo, L., Pinterits, S., Ramanzin, M., Ressi, W., Spigarelli, C., Zuliani, A., Sturaro, E. (2021). Environmental impacts of milk production and processing in the Eastern Alps: A “cradle-to-dairy gate” LCA approach. *Journal of Cleaner Production*, 303:127056.
- Biron, M. (2016). *Material selection for thermoplastic parts*. Amsterdam, Elsevier, 603–653.
- Borghesi, G., Stefanini, R., Vignali, G. (2022) Life cycle assessment of packaged organic dairy product: A comparison of different methods for the environmental assessment of alternative scenarios. *Journal of Food Engineering*, 318:110902.
- Broekema, R., Kramer, G. (2014). LCA of Dutch semi-skimmed milk and semi-mature cheese, Blonk Consultants.
- Cabral, C. F. S., Veiga, L. B. E., Araujo, M. G., Souza, S. L. Q. (2020). Environmental Life Cycle Assessment of goat cheese production in Brazil: a path towards sustainability. *Food Science and Technology*, 129:109550.
- Canellada, F., Laca, A., Laca, A., Diaz, M. (2018). Environmental impact of cheese production: A case study of a small-scale factory in southern Europe and global overview of carbon footprint. *Science of the Total Environment*, 635:167–177.
- Celozzi, S., Mattiello, S., Battini, M., Bailo, G., Bava, L., Tamburini, A., Valsecchi, I., Zucali, M. (2020). Valutazione della sostenibilità ambientale della produzione di latte e formaggio caprino mediante approccio LCA. *Large Animal Review*, 26:293–298.
- Dairy Australia. (2015). Australia dairy industry in focus 2015. *Southbank: Dairy Australia Limited*.
- Dam, T. A., Pasche, M., Werlich, N. (2017). Trade patterns and the ecological footprint a theory-based empirical approach. *Jena Economic Research Papers*, 5:1–37.
- Djekic, I., Miocinovic, J., Tomasevic, I., Smigic, N., Tomic, N. (2014). Environmental life-cycle assessment of various dairy products. *Journal of Cleaner Production*, 68:64–72.
- Doublet, G., Jungbluth, N., Stucki, M., Schori, S. (2013). Life cycle assessment of Romanian beef and dairy products. Sense Project Number 288974.
- Fakher, H. A. (2019). Investigating the determinant factors of environmental quality (based on ecological carbon footprint index). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(10):10276–10291.
- Famiglietti, J., Guerci, M., Proserpio, C., Ravaglia, P., Motta, M. (2019). Development and testing of the Product Environmental Footprint Milk Tool: A comprehensive LCA tool for dairy products. *Science of the Total Environment*, 648:1614–1626.
- FAO, OECD. (2020). Dairy and dairy products. *OECD-FAO AGRICULTURAL OUTLOOK 2020-2029*
- FAO. (2022). GLEAM 2.0: Global livestock environmental assesment model. <https://www.fao.org/gleam/results/en/>.
- Finnegan, W., Goggins, J., Clifford, E., Zhan, X. (2017). Global warming potential associated with dairy products in the Republic of Ireland. *Journal of Cleaner Production*, 163:262–273.
- Finnegan, W., Goggins, J., Zhan, X. (2018a). Assessing the environmental of the dairy processing industry in the Republic of Ireland. *Journal of Dairy Research*, 85(3):1–4.

- Finnegan, W., Yan, M., Holden, N. M., Goggins, J. (2018b). A review of environmental life cycle assessment studies examining cheese production. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 23:1773–1787.
- Flysjö, A., Thrane, M., Hermansen, J. E. (2014). Method to assess the carbon footprint at product level in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 34:86–92.
- Forleo, M. B., Palmieri, N., Salimei, E. (2018). The eco-efficiency of the dairy cheese chain: an Italian case study. *Italian Journal of Food Science*, 30:362–380.
- Fornasari, L. (2013). Developing a model for the life cycle assessment of the Parmigiano, Reggiano cheese. *Progress In Nutrition*, 15:184–193.
- Garcia, S. G., Castanheira, E. G., Dias, A. C., Arroja, L. (2013a). Environmental performance of a Portuguese mature cheese-making dairy mill. *Journal of Cleaner Production*, 41:65–73.
- Garcia, S. G., Hospido, A., Moreira, M. T. (2013b). Environmental life cycle assessment of a Galician cheese: San Simon da Costa. *Journal of Cleaner Production*, 52:253–262.
- Gosalvittr, P., Cuellar-Franca, R. M., Smith, R., Azapagic, A. (2021). Integrating process modelling and sustainability assessment to improve the environmental and economic sustainability in the cheese industry. *Sustainable Production and Consumption*, 28:969–986.
- Gosalvittr, P., Cuellar-Franca, R., Smith, R., Azapagic, A. (2019). Energy demand and carbon footprint of cheddar cheese with energy recovery from cheese whey. *Energy Procedia*, 161:10–16.
- ISO. (2006a). ISO 14040: Environmental management—Life cycle assessment—Principles and framework. *International Organization for Standardization*, Geneva, Switzerland.
- ISO. (2006b). ISO 14044: Environmental management—Life cycle assessment, life cycle impact assessment. *International Organization for Standardization*, Geneva, Switzerland.
- ISO. (2014). ISO 14046: Environmental Management – Water Footprint – Principles, Requirements and Guidelines. *International Organization for Standardization*, Geneva, Switzerland.
- Kim, D., Thoma, G., Nutter, D., Milani, F., Ulrich, R., Norris, G. (2013). Life cycle assessment of cheese and whey production in the USA. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 18:1019–1035.
- Kim, D., Thoma, G., Ulrich, R., Nutter, D., Milani, F. (2014). Life Cycle Assessment of Cheese Manufacturing in the United States. Proceedings of the 9th International Conference on Life Cycle Assessment in the Agri-Food Sector, 634–640.
- Koca, N., Çolak Güneş, N., Uysal, İ. G. (2022). İzmir tulum peyniri üretiminde çevresel sürdürülebilirliğin Yaşam Döngüsü Analizi ile incelenmesi. Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğü, Genel Araştırma Projesi, Proje No:22579, İzmir.
- Kristensen, T., Soegaard, K., Eriksen, J., Mogensen, L. (2015). Carbon footprint of cheese produced on milk from Holstein and Jersey cows fed hay differing in herb content. *Journal of Cleaner Production*, 101:229–237.
- Kumar, M., Choubey, V. K., Deepak, A., Gedam, V. V., Raut, R. D. (2021). Life cycle assessment (LCA) of dairy processing industry: A case study of North India. *Trends In Food Science & Technology*, 118:207–229.
- Laca, A., Gomez, N., Laca, A., Diaz, M. (2020). Overview on GHG emissions of raw milk production and a comparison of milk and cheese carbon footprints of two different systems from northern Spain. *Environmental Science and Pollution Research*, 27:1650–1666.
- Lovarelli, D., Bava, L., Zucali, M., D'Imporzano, G., Adani, F., Tamburini, A. Sandrucci, A. (2019). Improvements to dairy farms for environmental sustainability in Grana Padano and Parmigiano Reggiano production systems. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1):1035–1048.
- Middelhaar, C. E. van, Berentsen, P. B. M., Dolman, M. A., Boer, I. J. M. de. (2011). Eco-efficiency in the production chain of Dutch semi-hard cheese. *Livestock Science*, 139:91–99.

- Milani, F. X., Nutter, D., Thoma, G. (2011). Invited review: Environmental impacts of dairy processing and products: A review. *American Dairy Science Association*, 94:4243–4254.
- Mittal, I., Gupta, R. K. (2015). Natural Resources Depletion and Economic Growth in Present Era. *SOCH- Mastnath Journal of Science & Technology*, 10(3).
- Mondello, G., Salomone, R., Neri, E., Patrizi, N., Bastianoni, S., Lanuzza, F. (2018). Environmental hot-spots and improvement scenarios for Tuscan “Pecorino” cheese using life cycle assessment. *Journal of Cleaner Production*, 195:810–820.
- Morelli, B., Hawkins, T. T., Niblick, B., Henderson, A. D., Golden, H. E., Compton, J. E., Cooter, E. J., Bare, J. C. (2018). Critical review of eutrophication models for life cycle assessment. *Environmental Science & Technology*, 52(17):9562–9578.
- Mottet A, de Haan C, Falcucci A, Tempio G, Opio C, Gerber P. (2017). Livestock: on our plates or eating at our table? A new analysis of the feed/food debate. *Global Food Security*, 14:1–8.
- Munir, M. T., Yu, W., Young, B. (2014). Can exergy be a useful tool for the dairy industry?. Proceedings of the 24th European symposium on computer aided chemical engineering, 24(33):1129–1134.
- Muthu, S. S. (2014). *Assessing the environmental impact of textiles and the clothing supply chain*. Amsterdam: Elsevier, Woodhead Publishing, 105–131.
- Nigri, E. M., Barros, A. C. de, Rocha, S. D. F., Filho, E. R. (2014). Assessing environmental impacts using a comparative LCA of industrial and artisanal production processes: “Minas Cheese” case. *Food Science and Technology*, 34(3):522–531.
- Nunes, O. S., Gaspar, P. D., Nunes, J., Quinteiro, P., Dias, A.C., Godina, R. (2020). Life-Cycle Assessment of Dairy-Products- Case Study of Regional Cheese Produced in Portugal. *Processes*, 8:1182.
- Osojnik Crnivec, I. G., Marinsek-Logar, R. (2009). Identification of Environmental impact hotspots in traditional food production lines. *Acta Agriculturae Slovenica*, 94(1):39–46.
- Oulu, M. (2015). The unequal exchange of Dutch cheese and Kenyan roses: Introducing and testing an LCA-based methodology for estimating ecologically unequal exchange. *Ecological Economics*, 119:372–383.
- Palmieri, N., Forleo, M. B., Salimei, E. (2017). Environmental impacts of a dairy cheese chain including whey feeding: An Italian case study. *Journal of Cleaner Production*, 140:881–889.
- Pollaro, N., Santagata, R., Ulgiati, S. (2020). Sustainability evaluation of sheep and goat rearing in Southern Italy. A life cycle cost/benefit assessment. *Journal of Environmental Accounting and Management*, 8(3):229–241.
- Reijnders, L., Soret, S. (2003). Quantification of the environmental impact of different dietary protein choices. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78 (suppl), 664S–8S.
- Riva, A. D., Burek, J., Kim, D., Thoma, G., Cassandro, M., Marchi, M. D. (2017). Environmental life cycle assesment of Italian Mozzarella cheese: Hotspots and improvement opportunities. *American Dairy Science Association*, 100:7933–7952.
- Riva, A. D., Burek, J., Kim, D., Thoma, G., Cassandro, M., Marchi, M. D. (2018). The environmental analysis of asiago PDO cheese: a case study from farm gate-to-plant gate. *Italian Journal of Animal Science*, 17(1):250–262.
- Sanjuan, N., Ribal, J., Clemente, G., Fenollosa, M. L. (2011). Measuring and improving eco-efficiency using data envelopment analysis: A case study of Mahon-Menorca cheese. *Journal of Industrial Ecology*, 15:614–628.
- Santos Jr., H. C. M., Maranduba, H. L., Neto, J. A. de A., Rodrigues, L. B. (2017). Life cycle assessment of cheese production process in a small-sized dairy industry in Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 24:3470–3482.
- Tarighaleslami, A. H., Ghannadzadeh, A., Atkins, M. J. (2020). Environmental life cycle assesment for a cheese production plant towards sustainable energy transition: Natural gas to biomass vs.

- natural gas to geothermal. *Journal of Cleaner Production*, 275:122999.
- Terin, M. (2014). Dünya Süt ve Süt Ürünleri Üretim, Tüketim, Fiyat ve Ticaretindeki Gelişmeler. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(3):53-63.
- Ulusal Süt Konseyi. (2021). Dünya ve Türkiye’de süt sektör istatistikleri: 2020 süt raporu.
- Uysal, İ. G. (2022). İzmir tulum peyniri üretiminde Yaşam Döngüsü Analizi ile çevresel etkilerin sürdürülebilirlik kapsamında incelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Sürdürülebilir Tarım ve Gıda Sistemleri Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bornova, İzmir.
- Üçtuğ, F. G. (2019). The environmental life cycle assessment of dairy products. *Food Engineering Reviews*, 11:104–121.
- Üçtuğ, F. G., Atluğkoyun, A. İ., İnaltekin, M. (2019). Environmental life cycle assessment of yoghurt supply to consumer in Turkey. *Journal Of Cleaner Production*, 215:1103–1111.
- Vagnoni, E., Franca, A., Porqueddu, C., Duce, P. (2017). Environmental profile of Sardinian sheep milk cheese supply chain: A comparison between two contrasting dairy systems. *Journal of Cleaner Production*, 165:1078–1089.
- Vargas, C. S., Perez, L. B., Ortiz, V. E. E., Garcia, C. G. M. (2021). Environmental impact of Oaxaca cheese production and wastewater from artisanal dairies under two scenarios in Aculco, State of Mexico. *Journal of Cleaner Production*, 311:127586.
- Verduna, T., Blanc, S., Merlino, V. M., Cornale, P., Battaglini, L. M. (2020). Sustainability of Four Dairy Farming Scenarios in an Alpine Environment: The Case Study of Toma di Lanzo Cheese. *Frontiers in Veterinary Science*, 7:569167.
- Verge, X. P. C., Maxime, D., Dyer, J. A., Desjardins, R. L., Arcand, Y., Vanderzaag, A. (2013). Carbon footprint of Canadian dairy products: Calculations and issues. *American Dairy Science Association*, 96:6091–6104.
- Villegas, H. A. A., Kraatz, S., Reinemann, D. J. (2012). Life cycle impact assessment and allocation methods development for cheese and whey processing. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 55(2):613-627.
- Westenhöfer, J. (2013). Energy density and cost of foods in Germany. *Ernaehrungs Umschau International*. 60(3):30–35.
- Zelm, R. V., Preiss, P., Dingenen, R. V., Huijbregts, M. (n.d.). Particulate Matter Formation. https://lc-impact.eu/doc/method/Chapter6_Part particulate-matter-formation.pdf (Erişim tarihi: 26.09.22).

ANALYSIS OF RASFF NOTIFICATIONS: 2021 FOOD AND FOOD CONTACT MATERIAL DATA REVIEW

Nil Irmak Kugu, Kübra Yılmaz, Derya Deniz Şirinyıldız, Aslı Yorulmaz*

Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Aydın, Türkiye

Received / Geliş: 27.07.2022; Accepted / Kabul: 11.10.2022; Published online / Online baskı: 22.10.2022

Kugu, N. I., Yılmaz, K., Deniz-Şirinyıldız, D., Yorulmaz, A. (2022). *Analysis of RASFF notifications: 2021 food and food contact material data review*. GIDA (2022) 47 (6) 962-970 doi: 10.15237/gida.GD22071

Kugu, N. I., Yılmaz, K., Deniz-Şirinyıldız, D., Yorulmaz, A. (2022). RASFF bildirimlerinin analizi: 2021 yılı gıda ve gıda ile temas eden madde verilerinin incelenmesi. GIDA (2022) 47 (6) 962-970 doi: 10.15237/gida.GD22071

ABSTRACT

Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) is a system that provides rapid information exchange to ascertain food safety. The aim of the current study is to prepare a detailed report of food and food contact material notifications of the year 2021 in RASFF portal. The related data in the internet tool were extracted and analyzed for subject, notification basis, notification type, products, notifying country, risk level, distribution status and measures taken. A total of 4438 notifications were identified and the most frequent hazard was pesticides. Alert, border rejection, information notification for attention, information notification for follow-up and news notification classes contained 1455, 1433, 972, 564 and 13 notices, respectively. The most frequently notifying country was Germany, followed by Spain. The mostly notified product category was fruits and vegetables and the majority of the cases had serious risk degree.

Keywords: Food safety, Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), RASFF notifications, pesticide

RASFF BİLDİRİMLERİNİN ANALİZİ: 2021 YILI GIDA VE GIDA İLE TEMAS EDEN MADDE VERİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZ

Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi (RASFF), gıda güvenliğinin tespiti için hızlı bilgi alışverişi sağlayan bir sistemdir. Mevcut çalışmanın amacı, RASFF portalında yer alan 2021 yılı gıda ve gıda ile temas eden madde kaynaklı bildirimlerin ayrıntılı bir raporunun hazırlanmasıdır. İnternet ortamındaki ilgili veriler konu, bildirim kaynağı, bildirim türü, ürün kategorisi, bildirimde bulunan ülke, risk derecesi, dağıtım bilgileri ve uygulanan yaptırımlar açısından sınıflandırılarak analiz edilmiştir. Toplam 4438 bildirim tespit edilmiştir ve ürünlerde en sık görülen tehlike pestisitler olmuştur. Alarm, sınır iadesi, dikkat gerektiren bilgi, takip gerektiren bilgi ve haber bildirim türleri sırasıyla 1455, 1433, 972, 564 ve 13 bildirimden oluşmaktadır. En sık bildirimde bulunan ülke Almanya olurken, onu İspanya izlemiştir. Hakkında en çok bildirimde bulunulan ürün kategorisi meyve ve sebzeler olmuştur ve bildirimlerin büyük bir bölümü ciddi risk derecesine sahiptir.

Anahtar kelimeler: Gıda güvenliği, Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi (RASFF), pestisit, RASFF bildirimleri

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: asliyorulmaz@adu.edu.tr

☎: (+90) 256 220 3738

Nil Irmak Kugu; ORCID no: 0000-0003-4565-1563

Kübra Yılmaz; ORCID no: 0000-0003-1257-8670

Derya Deniz Şirinyıldız; ORCID no: 0000-0002-6491-5512

Aslı Yorulmaz; ORCID no: 0000-0003-4446-6585

INTRODUCTION

Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) is a system established by European Union in 1979. The main purpose of the system is to provide rapid information exchange between member states for problems that may arise from risks in food and feed products, to take necessary precautions and to protect consumers. The member institutions and countries of the system include European Union countries, European Union Commission, European Food Safety Authority, European Space Agency, Norway, Liechtenstein, Iceland and Switzerland. RASFF notifications are the reports of the results found by examining the samples taken from food that are considered to pose a risk to food safety. There are four types of notifications: alert, information, border rejection and news (RASFF, 2021). An alert notification is sent when food product pose a significant risk to consumer health and rapid action is required. Information notifications do not require immediate action because the product is not available on the market at the time of notification. Information notifications are divided into two groups as information notification for follow-up and information notification for attention. Border rejection notifications are recorded when the product is rejected at the borders of EU. News include notifications that are not classified in other notification types (RASFF, 2016; RASFF, 2021).

The RASFF portal is a database that contains the detailed information about food and feed notifications. The database includes date of the case, notification type, notification basis, notifying country, the subject, the measure taken, risk decision and distribution status. A number of studies have analyzed the RASFF data in terms of mycotoxins (Pigłowski, 2019); veterinary drugs in fish and fish products (Guardone et al., 2022); *Listeria monocytogenes* (Lüth et al., 2019); seafood products (Amico et al., 2018); food contact materials (De Leo et al., 2021); dairy products (Postolache et al., 2020); food fraud (Beia et al., 2020); serious notifications (Papapanagiotou, 2021); biogenic amines (Leuschner et al., 2013) and allergens (Pádua et al., 2019). The aim of the current work was to prepare a detailed report of

food and food contact material notifications of the year 2021 in RASFF portal using Microsoft Office Excel 2010. For this purpose, the related data were extracted and analyzed for subject, notification basis, notification type, products, notifying country, risk level, distribution status and measures taken.

MATERIAL AND METHOD

The notifications that were recorded in the RASFF database under food and food contact materials were extracted for the period of 01/01/2021 to 31/12/2021. All notifications were taken from the portal, transferred to Microsoft Excel file and processed with Microsoft Excel (Microsoft Office Excel 2010) for further analysis. Each notification contains the following facts: reference of products, subject, notification type, notification basis, classification, risk decision, date of notification, notifying country, product, product category, distribution status, risk decision, hazards observed, number of persons affected, symptoms and measures taken.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 4438 notifications were recorded in the RASFF portal for food and food contact materials throughout the year of 2021. A percentage of 93.89% (n=4167) of the analyzed notices were related with foods whereas the remaining 6.11% (n=271) were about food contact materials.

Evaluation of the notifications according to subject

The evaluation of the number and ratio of the notifications according to their subjects were given in Table 1. The mostly notified hazard type was found to be the pesticides in food products. Similarly, Pigłowski (2020) defined the pesticide residues as the main problem that caused notifications in fruits and vegetables. The second notified hazard type was found to be the microbial problems in foods. The presence of *Salmonella* spp. was the major cause among microorganisms covering 66.19% of all. *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp., *Cronobacter* spp. were the other hazardous bacteria found in various foodstuffs.

Table 1. Numbers and rates of notifications by subject

Subject	Number	Rate (%)
Pesticide residues (residual level exceeds the limit)	1178	26.54
Microbial problems in foods	973	21.92
Aflatoxin or ochratoxin detection	426	9.60
Food additive, color matter or supplement (unauthorized, prohibited, above the limit value)	346	7.80
Packaging problems	206	4.64
Other	194	4.37
Allergens presence of allergen or not mentioned on the label, undeclared allergens	181	4.08
Presence of foreign bodies	147	3.31
Heavy metals	140	3.15
Detection of unauthorized a new food or food ingredient	104	2.34
Absence of analytical report, official document, declaration, residue monitoring system, marking or health certificate	89	2.01
Health claims	83	1.87
Poor temperature control, breaking the cold chain	66	1.49
Migration	63	1.42
Unauthorized coating agent or material	61	1.37
Process contaminants	36	0.81
Altered organoleptic properties	24	0.54
Polycyclic aromatic hydrocarbons	23	0.52
Withdrawal and recall from the market	20	0.45
Presence of mineral oil	13	0.29
The high amount of trans fatty acids	11	0.25
The high level of radioactivity	11	0.25
The high amount of vitamin	10	0.23
Absence of hygienic conditions	10	0.23
Genetically modified product	9	0.20
Incorrect or no expiration date	8	0.18
The high content of volatile components	6	0.14
Total	4438	100

The presence of mycotoxins mostly observed in dried figs and dried products were the other important hazards reported in RASFF portal. There were 382 notifications about aflatoxin B1, B2, G1, G2; 73 notifications about only aflatoxin B1 and 44 notifications about ochratoxin A in the system. In the study conducted by Banach et al. (2016) the major problem in spices and herbs was determined to be the presence of pathogenic microorganisms and mycotoxins. Particularly, mycotoxins had been the most reported hazard category for many years (Pigłowski, 2019). In the study of Deniz Şirinyıldız and Yorulmaz (2019), the dried fig notifications between 2004-2019 were evaluated and the presence of aflatoxins in

the products were determined as the main risk. Likewise, Çınar et al. (2017) designated the high aflatoxin level in dried products, nuts and seeds notified to RASFF portal between 2009 and 2016. The other abundant subject of the notifications was the “food additive, color matter or supplement (unauthorized, prohibited, above the limit value)” with 346 notices. Packaging problems (e.g. migration); presence of allergen or not mentioned on the label, undeclared allergens; presence of foreign bodies (e.g. piece of metal, plastic and glass); heavy metals (e.g. aluminum, cadmium, mercury, iron, zinc, arsenic); detection of unauthorized a new food or food ingredient; absence of analytical report, official document,

declaration, residue monitoring system, marking or health certificate; health claims (e.g. poisoning, epidemic, suffocation); poor temperature control, breaking the cold chain; unauthorized coating agent or material; process contaminants (3-MCPD and glycidyl esters); altered organoleptic properties; polycyclic aromatic hydrocarbons; withdrawal and recall from the market; presence of mineral oil; the high amount of *trans* fatty acids; the high level of radioactivity; the high amount of vitamin; absence of hygienic conditions; genetically modified product; incorrect or no expiration date and the high content of volatile components were the different hazards determined in different products.

Notification basis

The number of notifications by notification basis is given in Figure 1. Nearly one third of the

notifications were recorded as a result of official control in the market. Similarly, in the study carried out by Çiftçi et al. (2022), it was reported that most of the notifications were created as the result of official control in the market. The other important parts were border control (consignment detained) and company's own check. These were followed by consumer complaint, border control (consignment released), monitoring of media, border control (forwarded to destination), food poisoning, surveillance programme/monitoring sample, official control in non-member country, whistleblower information, information notification for attention, request and no distribution from notifying country.

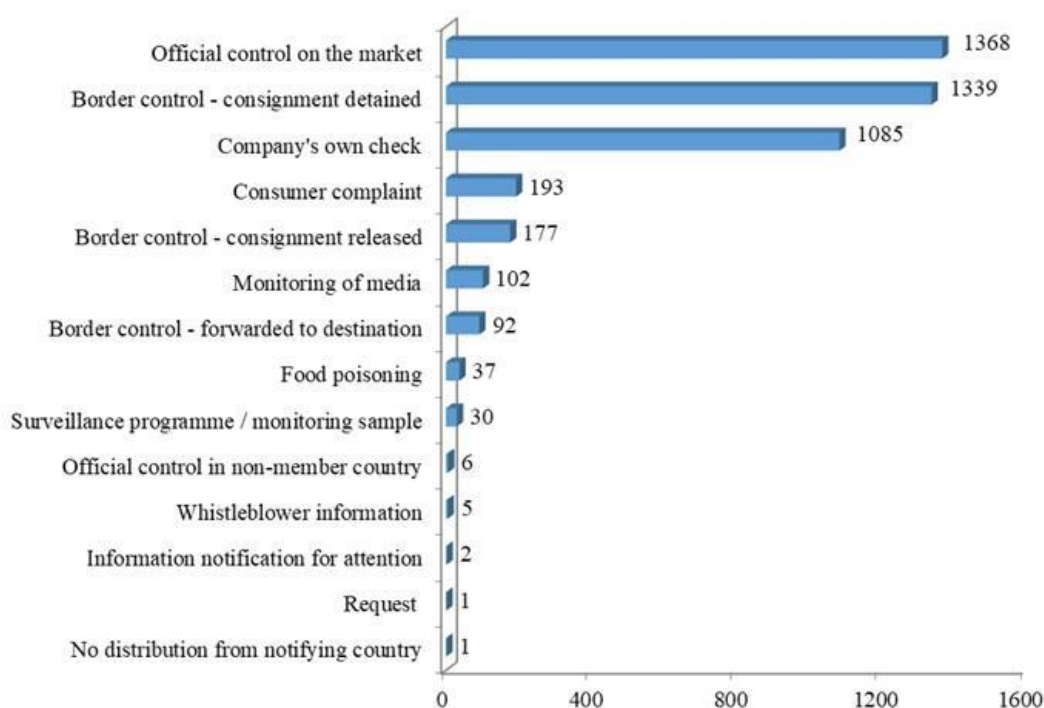


Figure 1. The number of notifications by notification basis

Notification type and products

The classification of the notifications was given in Figure 2. Concerning the different classes; 32.79% of the notices were alert, 32.29% were border rejections, 21.90% were information

notification for attention, 12.71% were information notification for follow-up and 0.29% were news. No information was provided about the type of one notification.

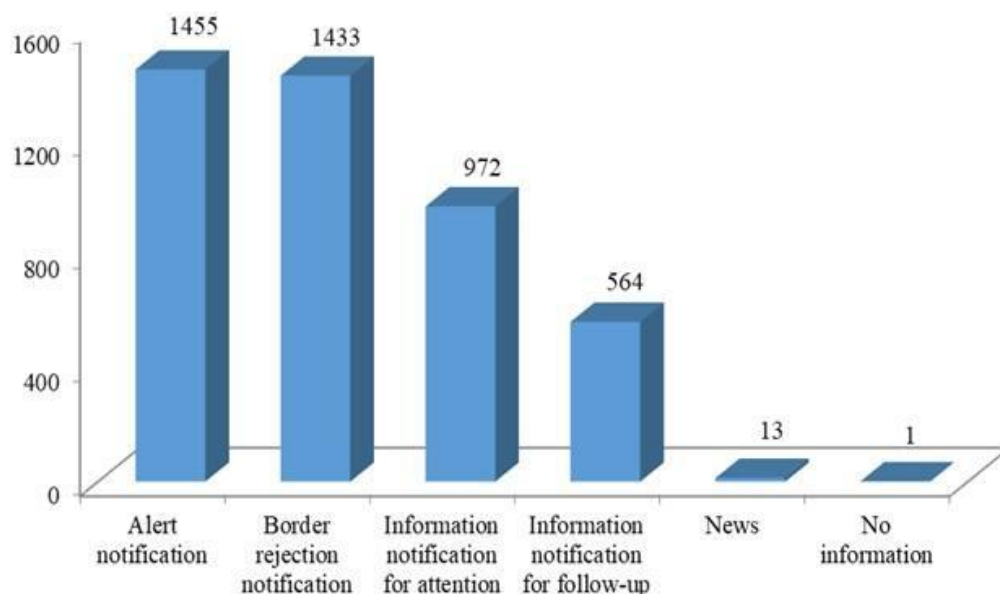


Figure 2. Classification of notifications

The distribution of notifications of different classes based on product category is given in Table 2. The most recorded product group in RASFF portal for 2021 was fruits and vegetables (21.45%).

The nuts, nut products and seeds (10.39%) and the poultry meat, poultry meat products (8.38%) were the other frequently recorded product groups. The other products were herbs and spices (8.07%); dietetic foods, food supplements and fortified foods (7.30%); fish and products thereof (6.26%); food contact materials (6.11%); cereals and bakery products (5.50%); meat and meat products (other than poultry) (4.46%); other food product/mixed (4.42%); milk and milk products (2.34%); prepared dishes and snacks (2.07%); food additives and flavourings (1.76%); bivalve molluscs and products thereof (1.64%); crustaceans and products thereof (1.55%); confectionery (1.33%) and cocoa and cocoa preparations, coffee and tea (1.33%). The product groups with 50 or less notifications were soups, broths, sauces and condiments; non-alcoholic beverages; fats and oils; ices and desserts; cephalopods and products thereof; eggs and egg

products; natural mineral waters; honey and royal jelly; alcoholic beverages; gastropods; wine and water for human consumption (other).

Notifying country

A wide variety of contributions to the RASFF portal were observed when considering the notifying country. Germany was the most notifying country with 725 cases followed by Spain with 526 notifications. Netherlands (n=444), Italy (n=386), Belgium (n=322), Poland (n=318), Bulgaria (n=276), France (n=250), Denmark (n=161), Finland (n=118), Sweden (n=99), Slovenia (n=77), Romania (n=70), Switzerland (n=65), Czech Republic (n=63), Croatia (n=58), Lithuania (n=55), Austria (n=51), Greece (n=47), Portugal (n=45), Norway (n=43), Luxembourg (n=39), Latvia (n=37), Estonia (n=32), Slovakia (n=31), Ireland (n=27), Cyprus (n=23), Hungary (n=19), Malta (n=14), European Commission (n=12) and Iceland (n=4) were the other notifying countries. Country information about a notification was not provided.

Table 2. Notifications of different classes based on product category

Product Category	Alert	Border rejection	Information for attention	Information for follow-up	News
Fruits and vegetables	149	545	195	60	3
Nuts, nut products and seeds	114	293	43	11	-
Poultry meat and poultry meat products	141	13	169	49	-
Herbs and spices	129	173	45	11	-
Dietetic foods, food supplements and fortified foods	129	23	79	92	1
Fish and products thereof	58	85	103	29	3
Food contact materials	28	60	81	102	-
Cereals and bakery products	135	36	30	43	-
Meat and meat products (other than poultry)	86	20	48	43	1
Other food product / mixed	118	36	26	15	1
Milk and milk products	69	2	15	16	2
Prepared dishes and snacks	57	10	13	12	-
Food additives and flavourings	61	1	4	11	1
Bivalve molluscs and products thereof	27	4	40	2	-
Crustaceans and products thereof	8	27	28	6	-
Cocoa and cocoa preparations, coffee and tea	17	22	9	11	-
Confectionery	29	9	9	12	-
Soups, broths, sauces and condiments	22	15	4	6	-
Non-alcoholic beverages	9	18	4	14	-
Fats and oils (1 non-compliance notification)	16	13	9	5	-
Ices and desserts	31	2	2	1	-
Cephalopods and products thereof	7	17	10	-	-
Eggs and egg products	6	-	2	4	1
Natural mineral waters	1	5	1	5	-
Alcoholic beverages	3	-	2	1	-
Honey and royal jelly	3	2	-	1	-
Gastropods	2	1	1	-	-
Water for human consumption (other)	-	-	-	1	-
Wine	-	1	-	-	-
No information	-	-	-	1	-

Risk decision

Concerning risk decisions, 58.29% of the cases were recorded as serious (n=2587), 23.77% of were undecided (n=1055), 17.01% were not serious (n=755), 0.90% had no risk (n=40) and

0.02% had no information (n=1). Risks are notified as “serious” when important health risks are determined; as “not serious” when risks which are not serious for public health are determined; as “no risk” when there is no risk; as “undecided”

when a decision was not made about the risk degree.

Distribution status

The number of notifications by distribution status is given in Figure 3. In the biggest portion of the cases, the product not was not (yet) placed on the market (27.56%). 24.63% of the products were distributed to other member countries, 14.74% were not distributed from notifying country, 10.21% of the products were (presumably) no longer on the market, 9.64% of the cases the

distribution of the products were restricted to notifying country, 4.69% of the products were traded online, 3.56% were forwarded to destination, about 2.43% of the goods information on distribution was not (yet) available, 1.31% were distribution to non-member countries only. The other important parts were no distribution to other member countries, product allowed to travel to destination under customs seals, no distribution and no information. The remaining 0.23% were registered as unknown.

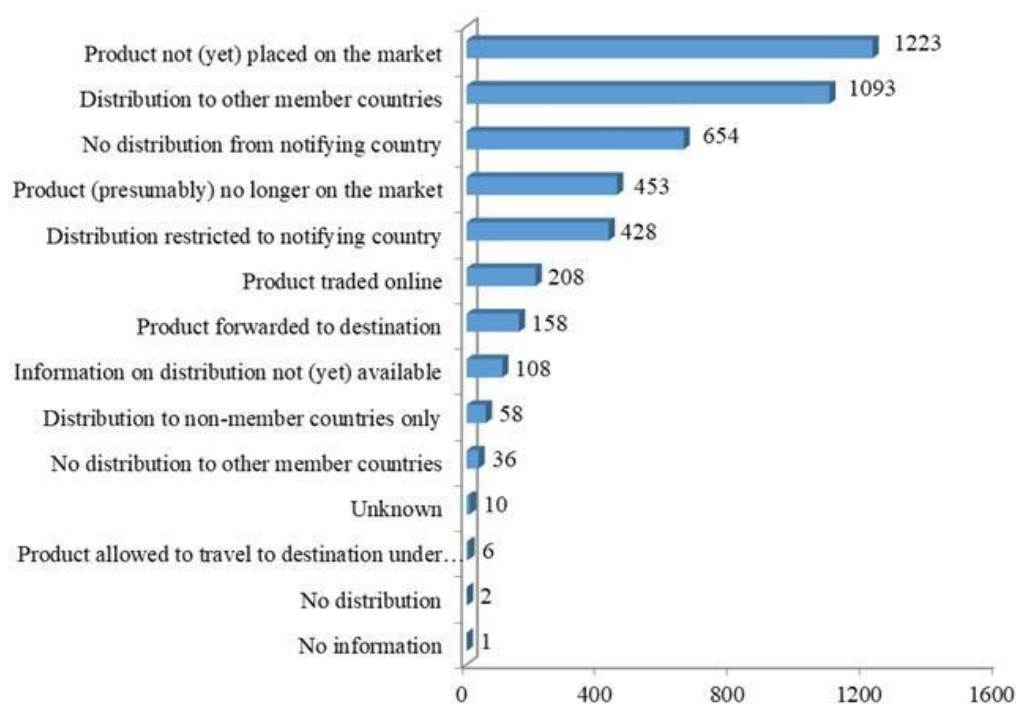


Figure 3. The number of notifications by distribution status

Measures taken

The distribution of the measures taken upon notifications was given in Figure 4. The most frequently taken measure was withdrawal from the market (13.59%) followed by destruction (12.21%), official detention (11.87%), informing recipient(s) (8.97%), recall from consumer (8.16%), no measures found for this notification (7.75%), informing authorities (6.76%), re-dispatch (5.30%), withdrawal from recipient(s) (3.67%), detained by operator (2.61%), other measures taken (2.59%), return to consignor (2.52%), informing consignor (2.28%), no stock

left (2.07%), placed and product under customs seals (1.87%), public warning-press release (1.67%), no information (1.67%), no action taken (1.62%), reinforced checking (1.51%) and not applicable (1.31%). Those with 50 or less notifications were grouped as “other measures taken”. This group consisted of (requested) removal of online offer (n=24), seizure (n=17), monitoring of the recall/withdrawal (n=17), chemical treatment and physical treatment (n=15), prohibition to trade-sales ban (n=14), relabeling (n=9), product under custom seals (n=5), use for other purpose than food/feed

(n=5), transformation (n=3), release to the market (n=3), product traded online (n=1),

distribution restricted to notifying country (n=1) and (requested) removal of online offer (n=1).

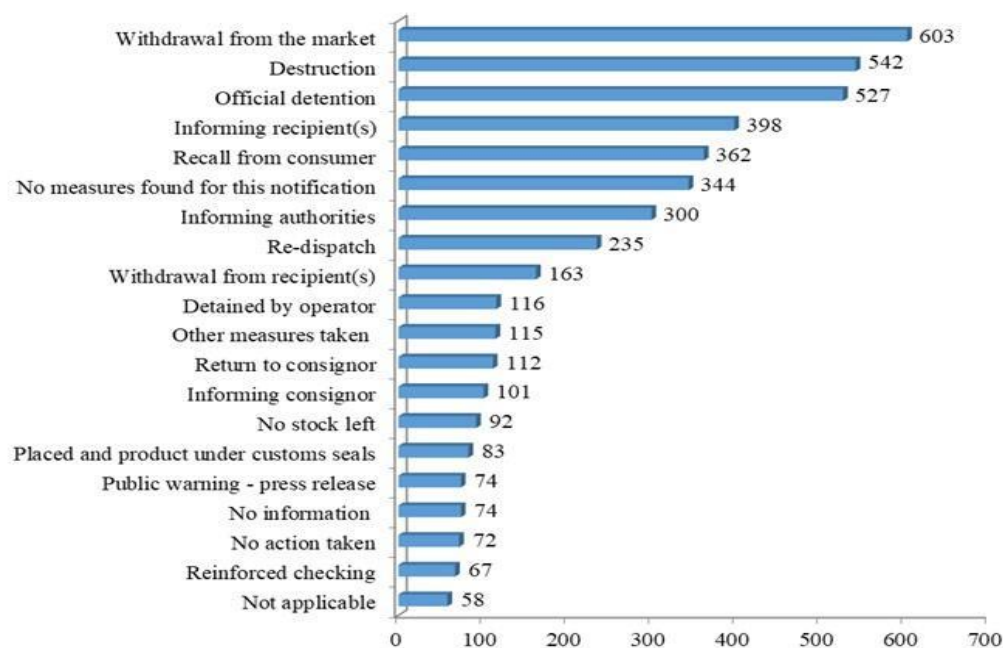


Figure 4. The number of notifications by measures taken

CONCLUSION

In the current work, notifications about food and food contact materials recorded in the RASFF portal during 2021 were assessed. The most frequent hazard was determined to be the presence of pesticide in the products. The mostly notified product group were fruits and vegetables. Germany and Spain were the most notifying countries. Majority of the cases were documented as alert and had serious risk degrees. The analysis of the RASFF data provides a basis to monitor the food safety hazards of the year 2021. The results reported herein may provide to take necessary precautions for preventing future hazards. The findings of the study can be used to determine the key food safety topics for future research. Moreover, the hazards encountered by monitoring the portal may also help to ensure safety in food industry and increase the consumer awareness.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

All authors contributed significantly to different processes in the article.

ACKNOWLEDGMENTS

Derya DENİZ ŞİRİNYILDIZ was supported by TÜBİTAK 2211-A and YÖK 100/2000 Doctoral Scholarship program.

REFERENCES

- Amico, P. D., Nucera, D., Guardone, L., Mariotti, M., Nuvoloni, R., Armani, A. (2018). Seafood products notifications in the EU Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) database: Data analysis during the period 2011–2015. *Food Control*, 93: 241-250, doi: 10.1016/j.foodcont.2018.06.018.
- Banach, J. L., Stratakou, I., Van der Fels-Klerx, H. J., Den Besten, H. M. W., Zwietering, M. H. (2016). European alerting and monitoring data as inputs for the risk assessment of microbiological and chemical hazards in spices and herbs. *Food*

- Control*, 69: 237-249, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.04.010.
- Beia, S. I., Bran, M., Petrescu, I., Beia, V. E. (2020). Food fraud incidents: findings from the latest Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) report. *Scientific Papers: Management, Economic Engineering in Agriculture & Rural Development*, 20(2): 45-52.
- Çınar, S., Yılmaz, S., Aydın, E., Yorulmaz, A. (2017). Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi (RASFF) 2009-2016 Türkiye raporu. *Türk Taram-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(8): 873-882.
- Çiftçi, N., Karadeniz, Ş., Şirinyıldız, D. D., Yorulmaz, A. (2022). Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi'nde yer alan çevresel kirletici bildirimleri. *Food and Health*, 8(2), 92-102, doi: 10.3153/FH22009.
- De Leo, F., Coluccia, B., Miglietta, P. P., Serio, F. (2021). Food contact materials recalls and international trade relations: An analysis of the nexus between RASFF notifications and product origin. *Food Control*, 120: 107518, doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107518.
- Deniz Şirinyıldız, D., Yorulmaz, A. (2019). Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi'nde yer alan kuru incir kaynaklı bildirimler. HASAT Uluslararası Tarım ve Orman Kongresi, 21-23 Haziran 2019, Ankara.
- Guardone, L., Tinacci, L., Armani, A., Trevisani, M. (2022). Residues of veterinary drugs in fish and fish products: An analysis of RASFF data over the last 20 years. *Food Control*, 135: 108780, doi: 10.1016/j.foodcont.2021.108780.
- Leuschner, R. G., Hristova, A., Robinson, T., Hugas, M. (2013). The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) database in support of risk analysis of biogenic amines in food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(1): 37-42, doi: 10.1016/j.jfca.2012.09.004.
- Lüth, S., Boone, I., Kleta, S., Al Dahouk, S. (2019). Analysis of RASFF notifications on food products contaminated with *Listeria monocytogenes* reveals options for improvement in the rapid alert system for food and feed. *Food Control*, 96: 479-487, doi: 10.1016/j.foodcont.2018.09.033.
- Pádua, I., Moreira, A., Moreira, P., de Vasconcelos, F. M., Barros, R. (2019). Impact of the regulation (EU) 1169/2011: Allergen-related recalls in the rapid alert system for food and feed (RASFF) portal. *Food Control*, 98: 389-398, doi: 10.1016/j.foodcont.2018.11.051.
- Papapanagiotou, E. P. (2021). Serious notifications on food contact materials in the EU RASFF. *Veterinary Sciences*, 8(4): 56, doi: 10.3390/vetsci8040056.
- Pigłowski, M. (2019). Comparative analysis of notifications regarding mycotoxins in the Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 11(8): 725-735.
- Pigłowski, M. (2020). Food hazards on the European Union market: The data analysis of the Rapid Alert System for Food and Feed. *Food science & nutrition*, 8(3): 1603-1627, doi: 10.1002/fsn3.1448.
- Postolache, A. N., Chelmu, S. S., Ariton, A. M., Mitica, C., Pop, C., Ciobanu, M. M., Şteofil, C. (2020). Analysis of RASFF notifications on contaminated dairy products from the last two decades: 2000-2020. *Romanian Biotechnological Letters*, 25(2): 1396-1406, doi: 10.25083/rbl/25.2/1396.1406.
- RASFF (2016). Annual Report, The Rapid Alert System for Food and Feed 2016, European Commission. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2016.pdf/ Accessed 09 November 2021.
- RASFF (2021). Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). https://ec.europa.eu/food/safety/rasff/food-and-feed-safety-alerts_en/ Accessed 09 November 2021.

COMPLEX COACERVATION OF CHICKPEA PROTEIN ISOLATE AND PECTIN: EFFECT OF BIOPOLYMER RATIO AND pH

Eda Adal*

Gastronomy and Culinary Arts, Iskenderun Technical University, Iskenderun, Hatay, Türkiye

Received / Geliş: 12.07.2022; Accepted / Kabul: 21.09.2022; Published online / Online baskı: 25.10.2022

Adal, E. (2022). *Complex coacervation of chickpea protein isolate and pectin: effect of biopolymer ratio and pH*. GIDA (2022) 47 (6) 971-979 doi: 10.15237/gida.GD22069

Adal, E. (2022). Nohut proteini izolatu ve pektinin kompleks koaservasyonu: biyopolimer oranı ve pH'nın etkisi. GIDA (2022) 47 (6) 971-979 doi: 10.15237/gida.GD22069

ABSTRACT

Complex coacervation is an up-and-coming encapsulation technique widely working in the medicinal, food, agriculture, and textile industries. This study investigated the effect of biopolymer ratio and pH on the complexation between chickpea protein isolate (CPI) and pectin (PC) through zeta potential, turbidity measurement, and visual observations. Pectin showed a negative charge profile between pH 2-9. The isoelectric point of the chickpea protein isolate was found as 4.5 (pI). Soluble complexes were formed in the system with pHs below the pI of CPI with positive charges, whereas PC had negative ones. Complex coacervates formed at pH 3.1 with a 4:1(CPI: PC) biopolymer ratio. The turbidity and visual appearance revealed that larger aggregates were formed in CPI-PC coacervates. The findings could help in the development of pH-sensitive biopolymer carriers for use in functional foods and biomaterials.

Keywords: chickpea protein, pectin, complex coacervation, zeta potential

NOHUT PROTEİNİ İZOLATI VE PEKTİNİN KOMPLEKS KOASERVASYONU: BİYOPOLİMER ORANI VE pH'NIN ETKİSİ

ÖZ

Kompleks koaservasyon, farmasötik, gıda, tarım ve tekstil endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan, oldukça destekleyici bir kapsülleme tekniğidir. Bu çalışmada, nohut protein izolatu (NPI) ve pektin (PK) arasındaki kompleksleşme üzerinde biyopolimer oranı ve pH'ın etkisi zeta potansiyeli, bulanıklık ölçümü ve görsel gözlemler kullanılarak araştırılmıştır. Pektin, pH 2-9 arasında negatif yük profili göstermiştir. Nohut protein izolatının izoelektrik noktası 4.5 (pI) olarak bulunmuştur. Çözülebilir kompleksler pH'ları NPI'nin izoelektrik noktasının pozitif, pektininin de negatif yük taşıdığı sistemde oluşmuştur. Kompleks koaservat oluşumunun 4:1(NPI:PK) biyopolimer oranı ile pH 3.1'de gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bulanıklık ve görsel görünüm, NPI-PK koaservatlarında daha büyük agregatların oluştuğunu ortaya koymuştur. Bulunan sonuçlar fonksiyonel gıdalar ve biyomalzemelerde kullanım için pH'ya duyarlı biyopolimer taşıyıcıların geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Anahtar kelimeler: nohut proteini izolatu, pektin, kompleks koaservasyon, zeta potansiyeli

* Corresponding Author /Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: eda.adal@iste.edu.tr,

☎: (+90) 326 613 5600

☎: (+90) 326 613 5613

Eda Adal; ORCID no: 0000-0003-1258-806X

INTRODUCTION

Complex coacervation is the spontaneous associative phase separation of two oppositely charged biopolymers based on electrostatic interactions. One dense phase, coacervate, and another comparatively diluted macromolecular liquid phase, supernatant, are produced as a result (De Kruif et al., 2004). Complex coacervation has gained wide applications in fat substitution, protein separation, cosmetics, enzyme immobilization, sensitive food ingredients (e.g., Omega-rich oils and bioactive compounds), microencapsulation, and pressure-sensitive carbonless paper (Huang et al., 2012; Timilsena et al., 2019). The critical parameters influencing coacervate formation are pH, ionic strength, protein to polysaccharide ratio, and total biopolymer concentration (Kayitmazer, 2017).

Plant proteins have recently gained popularity as a cost-effective and adaptable alternative to animal proteins in human nutrition and as functional components in new products. Animal protein has been associated with climate change, freshwater depletion, biodiversity loss, growing expenses, and health hazards like cardiovascular disease and others due to its scarcity and rising demand (Sá et al., 2020).

Chickpeas are the third most widely cultivated variety of legumes in the world and have a high protein content (18–25%), with the globulin fraction constituting the significant protein fraction and legumin-like proteins (11S) being the dominant globulins (Boukid, 2021). Chickpea protein isolate presented techno-functional properties, such as high solubility, emulsifying capacity, foam formation, and gelation. Additionally, it works as a powerful antioxidant by neutralizing free radicals, peroxides, and chelating metals (Xu et al., 2021). The isoelectric point of the chickpea protein isolate is around pH 4.0. The advantages of chickpea protein isolate are its low price, biodegradability, biocompatibility, high digestibility, and non-toxicity. Hence, it is known as GRAS (Generally Recognized As Safe), which can be safely used in food formulations (Sarabi-Aghdam et al., 2021).

Pectin has a negative charge because of the presence of ionized carboxylic groups through its backbone ($pK_a = 3.5$). Pectin is a hydrophilic polysaccharide derived from plant cell walls made up of esterified d-galacturonic acid residues in the α -(1–4) chain. Pectin and its derivatives are primarily used as gelling and thickening agents, food product stabilizers, colon-specific drug delivery, and gastrointestinal digestion agents, among other things (Joshi et al., 2018; Wu and McClements, 2015). Pectin's main constituent is galacturonic acid, which can be partially methoxylated or amidated. Pectin is classified into two types based on the degree of methoxylation (DM): high methoxyl pectin (HMP) with DM greater than 50% and low methoxyl pectin (LMP) with DM less than 50% (Xiong et al., 2018).

The combination of chickpea protein and pectin with different hydrocolloids has been previously used to form complex coacervation. Such as chickpea protein-Persian gum (Mousazadeh et al., 2018), pea protein isolate-pectin (Lan et al., 2020), chickpea protein isolate- Persian gum (Sarabi-Aghdam et al., 2021), whey protein-pectin (Raei et al., 2018), gelatin-pectin (Xiong et al., 2021) and lysozyme-pectin (Souza et al., 2018). Additionally, some studies about using chickpea protein-pectin complexes for encapsulation (Moser et al., 2019; Moser et al., 2020). However, there is no study done on complex coacervation between chickpea protein isolate and pectin.

Since the complex coacervation between chickpea protein isolate and pectin has not been reported yet, this study aimed to explore the coacervation between the two biopolymers. Initially, the changing in zeta potential and turbidity of individual chickpea protein isolate and pectin were assessed as a function of pH. Thereafter, the influences of pH and biopolymer ratio on the formation of coacervates were investigated.

MATERIALS AND METHODS

MATERIALS

Chickpea protein isolate (CPI) (>85% protein) was supplied by AGT Foods (SK, Canada). Pectin (PC) (86.3% galacturonic acid) from citrus fruits, analytical grade sodium hydroxide (NaOH), and

hydrochloric acid (HCl) were obtained from Sigma Aldrich.

METHODS

Preparation of stock solutions

The stock solution of PC (1 wt%) was prepared by dissolving the exact amount of PC powder in Milli-Q water and then stirred for 2 h at room temperature to ensure complete solubilization. As for the CPI stock solution, 1 g of CPI powder was suspended in 100 mL Milli-Q water and stirred on a magnetic stirrer for 2 h at ambient temperature. The solution was exposed to ultrasonic treatment (Branson Sonifier SFX250, Danbury, CT) at 50% amplitude for 3 minutes. The pH of solutions was adjusted to pH 7 using 0.1-1 M NaOH or HCl. Sodium azide (0.02 wt%) was added to both solutions to avoid microbial growth. Both solutions were stored at 4°C overnight for further analysis.

Formation of complexes and coacervation

The mixtures containing PC and CPI were prepared by mixing at appropriate CPI:PC (1:1, 2:1, 4:1, 6:1) ratios of the biopolymers stock solutions, with a final concentration of 1 wt %. Then the suspensions were homogenized on a magnetic stirrer for 30 minutes. 0.1-1 M NaOH or HCl was used to adjust the pH of the solutions after mixing.

Zeta Potential measurement

The zeta potential values of the pure individual and mixed PC and CPI solutions at different pH were measured using a Zetasizer Nano ZS instrument (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK) and disposable capillary cells (DTS 1060) (Huang et al., 2012).

Turbidimetric measurements

The pH-dependent turbidity of the pure individual and mixed PC and CPI solutions was measured at 600 nm using a spectrophotometer (Jenway 6715, Bibby Scientific Limited, Beacon Road, Stone, Staffordshire, ST15 0SA, UK), which was calibrated with milli-Q water to 100% transmittance. 100-T% was used to define turbidity (Souza et al., 2018).

Statistical Analysis

All measurements were done in triplicates. The SPSS statistical packet (Version 22, Polar Engineering and Consulting, Nikiski, USA) was used to perform one-way analysis of variance. Means of the obtained data were compared using Duncan's multiple range test at a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of biopolymer ratio on the formation of complex coacervates

The ratio of protein to polysaccharide in the mixture will affect the charge balance of complexes and, thus, their behavior. Maximum complexation in a mixture occurs at a specific protein-to-polysaccharide ratio under certain conditions, e.g., pH and ionic strength. Because of the presence of non-neutralized charges, soluble complexes can form when one of the components (protein or polysaccharide) in the mixture is in excess. No complexation occurs when the polysaccharide or protein in the solution is in excess at high biopolymer concentrations (Elmer et al., 2011; Ye, 2008). The turbidity values at pH 3 for the systems with different proportions of chickpea protein isolate: pectin (CPI:PC) are shown in Figure 1. The values were 78.99 ± 0.11 , 87.00 ± 0.11 , 90.06 ± 0.06 , 90.11 ± 0.01 for 1:1, 2:1, 4:1, 6:1 mixing ratio, respectively. It is obvious from the results that increasing the concentration of CPI led to an increase in turbidity. Increasing ratios > 4 did not show a significant increase in turbidity value. Since the increase in the protein ratio will cause aggregation among the proteins, the 4:1 ratio was chosen as the optimum ratio (Flanagan et al., 2015). Gulão et al. (2014) showed similar behavior in forming complex coacervates between lactoferrin and pectin and stated that increasing protein concentration led to decreased coacervates formation.

Zeta Potential

As evidence of electrostatic or hydrophobic interactions between biopolymers, measuring the net charge of biopolymers or complexes is often helpful in evaluating the effectiveness of various mechanisms governing the stability of complexes (Mousazadeh et al., 2018). Therefore, the zeta

potential of individual CPI, PC, and their complexes and/or coacervates was measured to see the electrical charge profile at different pHs (Figure 2). At pH 4.5, the zeta potential of CPI was zero, which corresponds to its isoelectric point (pI). The CPI acquires a positive charge below its pI due to protonation of the amino groups (NH_3^+), while it acquires negative charges above pI due to deprotonation of the carboxyl groups caused by the presence of hydroxyl (OH^-) groups. Boukid (2021) mentioned that the pI of

chickpea protein is between 4-6, and the value of 4.5 is found in the present work in the limit of this range. Ladjal-Ettoumi et al. (2016) reported that the charge of CPI was also zero at pH 4.5. According to Figure 2, zeta potential of PC was negative at pHs 2 up to 9, and its magnitude increased by increasing the pH, which was already expected because pectin is an anionic polysaccharide containing carboxyl groups. These results are in accordance with those reported by Joshi et al. (2018) and Souza et al. (2018).

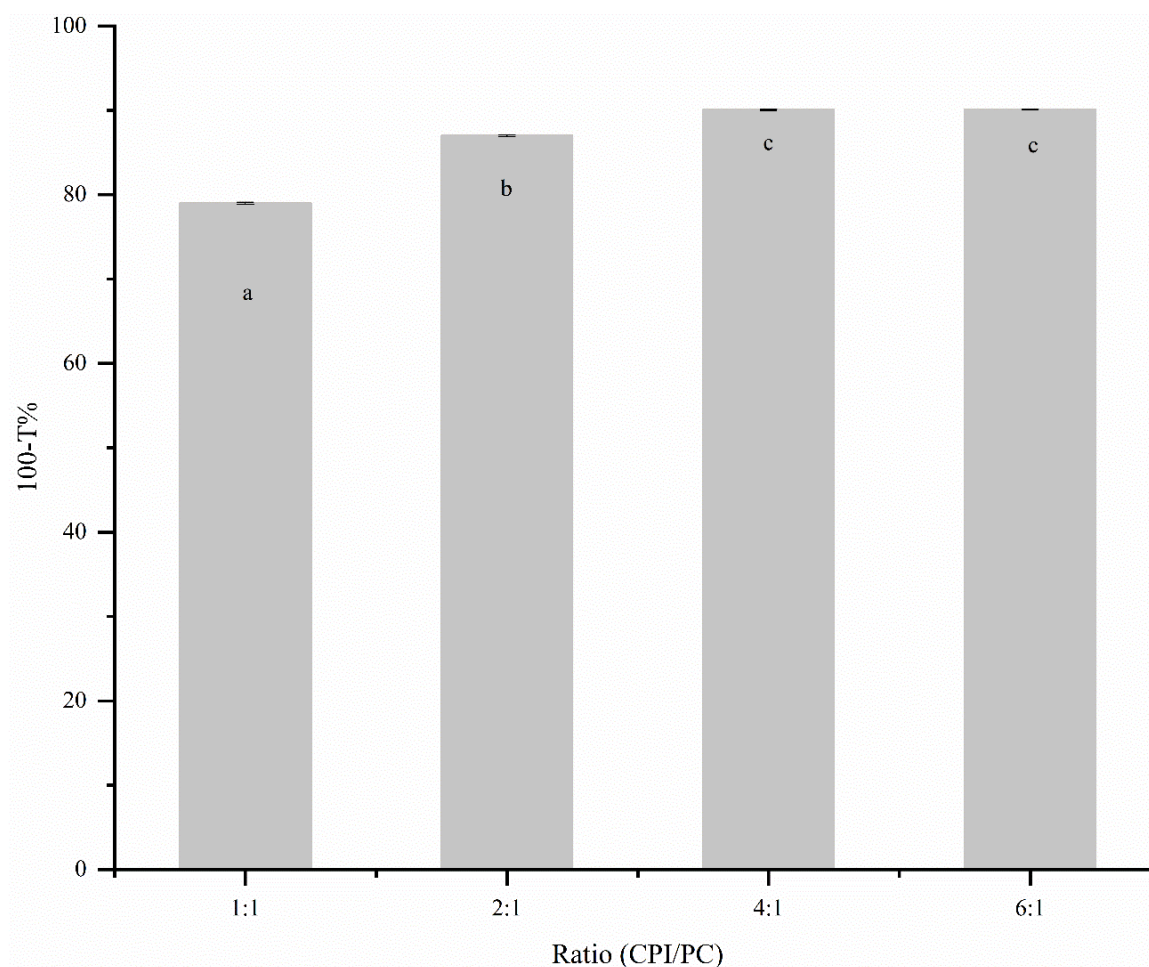


Figure 1. Turbidity values of the sample prepared different CPI/PC ratios at pH 3. Error bars represent standard deviations, and small letters indicate differences between samples by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$) (CPI: chickpea protein isolate, PC: pectin).

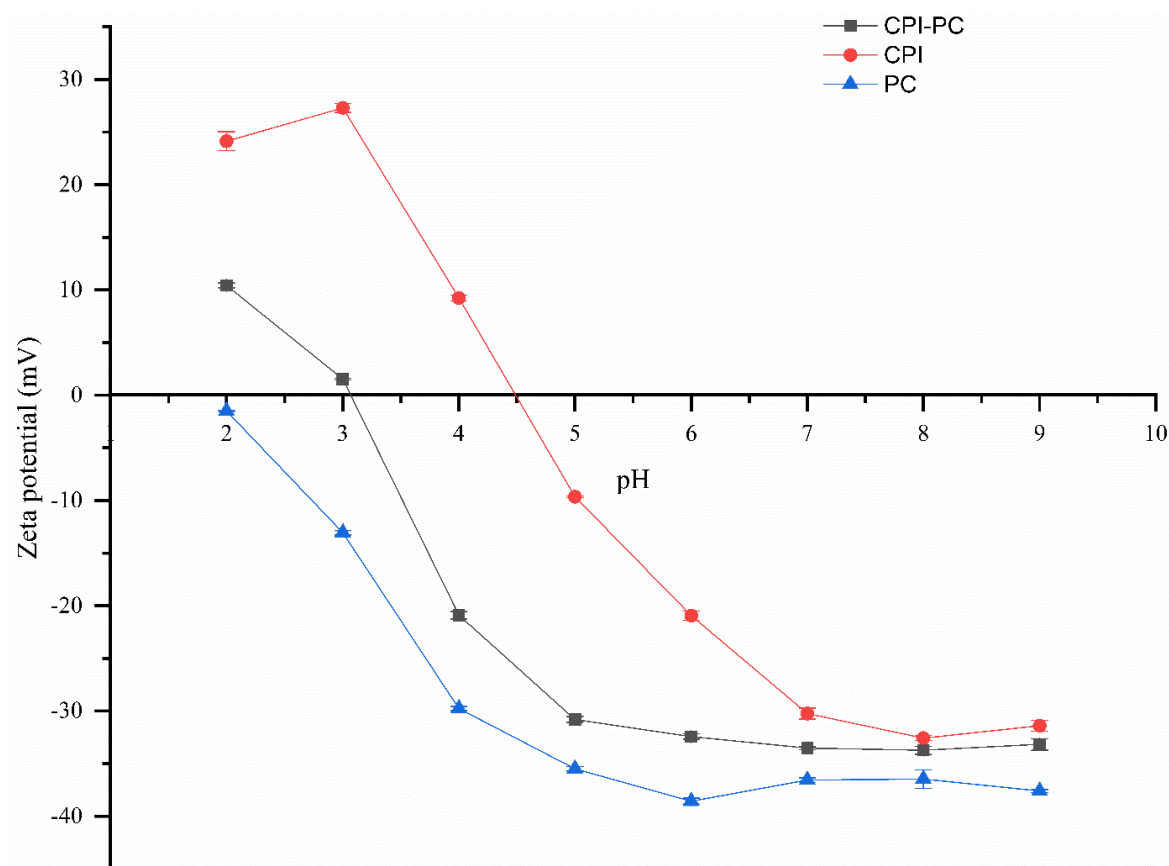


Figure 2. Effect of pH on zeta potential of CPI, PC and CPI-PC mixture (4:1 ratio) as a function of pH (CPI: chickpea protein isolate, PC: pectin). Error bars represent standard deviation.

When the CPI and PC were mixed in the 4:1 ratio, the zeta potential changed from $+10.43 \pm 0.22$ to -33.17 ± 0.56 as a function of pH, with values nearing zero in the pH range from 3-4. The zeta potential of the mixed CPI and PC solutions was in between the zeta potential values of individual CPI and PC solutions due to the neutralization of positive and negative charges. Below pH 3, CPI molecules were cationic, whereas PC was anionic, which indicates the presence of soluble complexes. At pH 3.1, the zeta potential reached zero (data not shown), where mixed solutions showed coacervate formation owing to the electrostatic complexation. As the biopolymer mixture's net charge approaches zero, coacervates begin to form (Lan et al., 2020). Xiong et al. (2021) reported that gelatine and pectin could form complex coacervates mainly through electrostatic interaction at pH 3.5. Moser et al. (2019) reported that the pH 3 was suitable to

produce chickpea protein-high methoxyl pectin emulsion, favoring the formation of a bilayer around the droplets due to electrostatic complexation induced by oppositely charged macromolecules.

As seen in Figure 3, PC showed a transparent appearance in all working pH ranges. CPI showed phase separation between pH 4-6 due to precipitation of protein molecules near the pI. Below and above this pH range, there was a distinct cloudy appearance in the CPI solutions. When we compared CPI and CPI-PC mixture, the presence of phase separation at pH 3 only in the CPI-PC mixture was proof of the formation of complex coacervation (insoluble complexes). This is in line with the zeta potential result. Similar visual observations were reported between pea protein isolate and pectin by Lan et al. (2020).

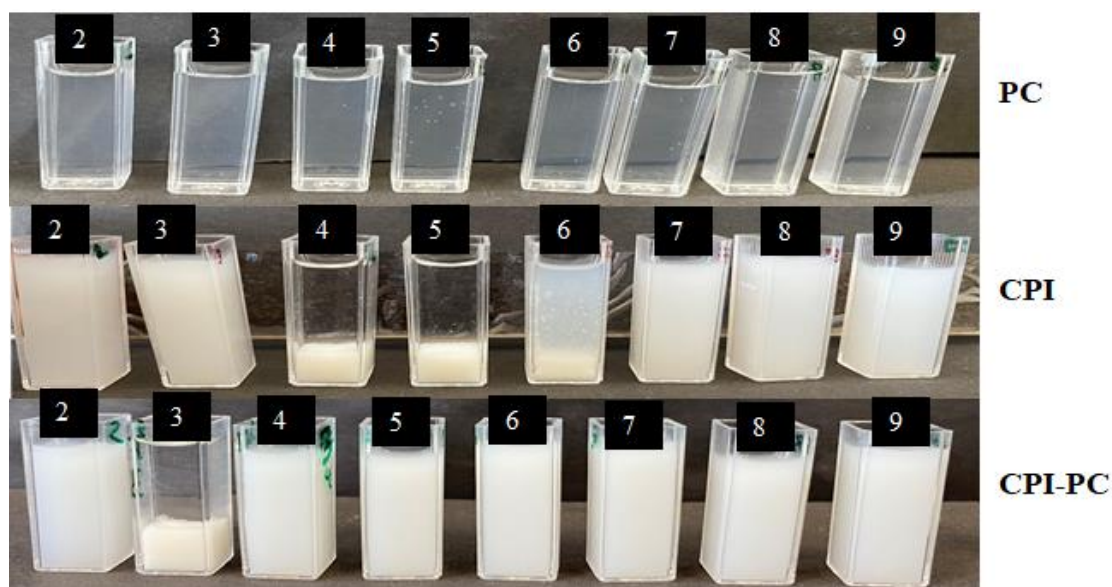


Figure 3. Photograph of CPI, PC and CPI-PC mixture (4:1 ratio) as a function of pH (CPI: chickpea protein isolate, PC: pectin).

Turbidity

Because turbidity is caused primarily by changes in the mass and size of aggregates in solution, changes in turbidity are thought to be caused by the formation and dissociation of protein/polysaccharide coacervates, as in other protein/polymer systems. The turbidity values at different pHs for the CPI, PC, and CPI-PC mixture are shown in Figure 4. The PC solution presented low and constant turbidity values for all studied pHs. There was no phase separation or precipitation because its solubility was not pH-dependent (Moser et al., 2020). The CPI solution's turbidity was low between pH 4-6, as expected from zeta potential measurements and visual observations (Figures 2 and 3). Notably, at pH 5, the turbidity had reached maximum value with the presence of larger aggregates (close to pI of CPI). In the case of the CPI-PC mixture, the turbidity values showed an increase in pH 3-4, highlighting the area of coacervate formation. Looking in the pH range between 3-3.5, the mixture reached the highest turbidity value as 91.14 ± 0.03 (data not shown) at pH 3.1, indicating coacervates formation. This is in line with zeta potential measurement and visual appearance as well. Freitas et al. (2017) studied soy protein isolate-pectin complex characterization based on solubility, zeta potential, and turbidity

measurements and observed a similar trend in turbidity values as a function of pH. Souza et al. (2018) reported a similar turbidity change for complex coacervation between lysozyme and pectin.

CONCLUSION

The current study evaluated the effect of pH and biopolymer mixing ratio on zeta potential, turbidity and visual observation of complexes between chickpea protein isolate (CPI) and pectin (PC). Biopolymer ratio and pH were found to significantly affect the formation of soluble and insoluble (coacervate) complexes. An increase in the protein concentration led to an increase turbidity value. When the CPI:PC ratio was increased from 4:1 to 6:1, turbidity was no longer changed. The maximum complex coacervation was observed when the CPI:PC ratio and pH were 4:1 and 3.1, respectively. This optimum condition resulted in coacervates with sharp phase separation and maximum turbidity. Because, under these circumstances, the zeta potential of coacervates was close to zero, promoting their aggregation and precipitation. These CPI-PC complex coacervates may be preferred as new, cost-effective, and nutritionally valuable delivery vehicles for unstable and active food components. Further research is required to

investigate the practical applications of this delivery matrix and its capacity to microencapsulate and protect sensitive

components. These results will shed light on future studies.

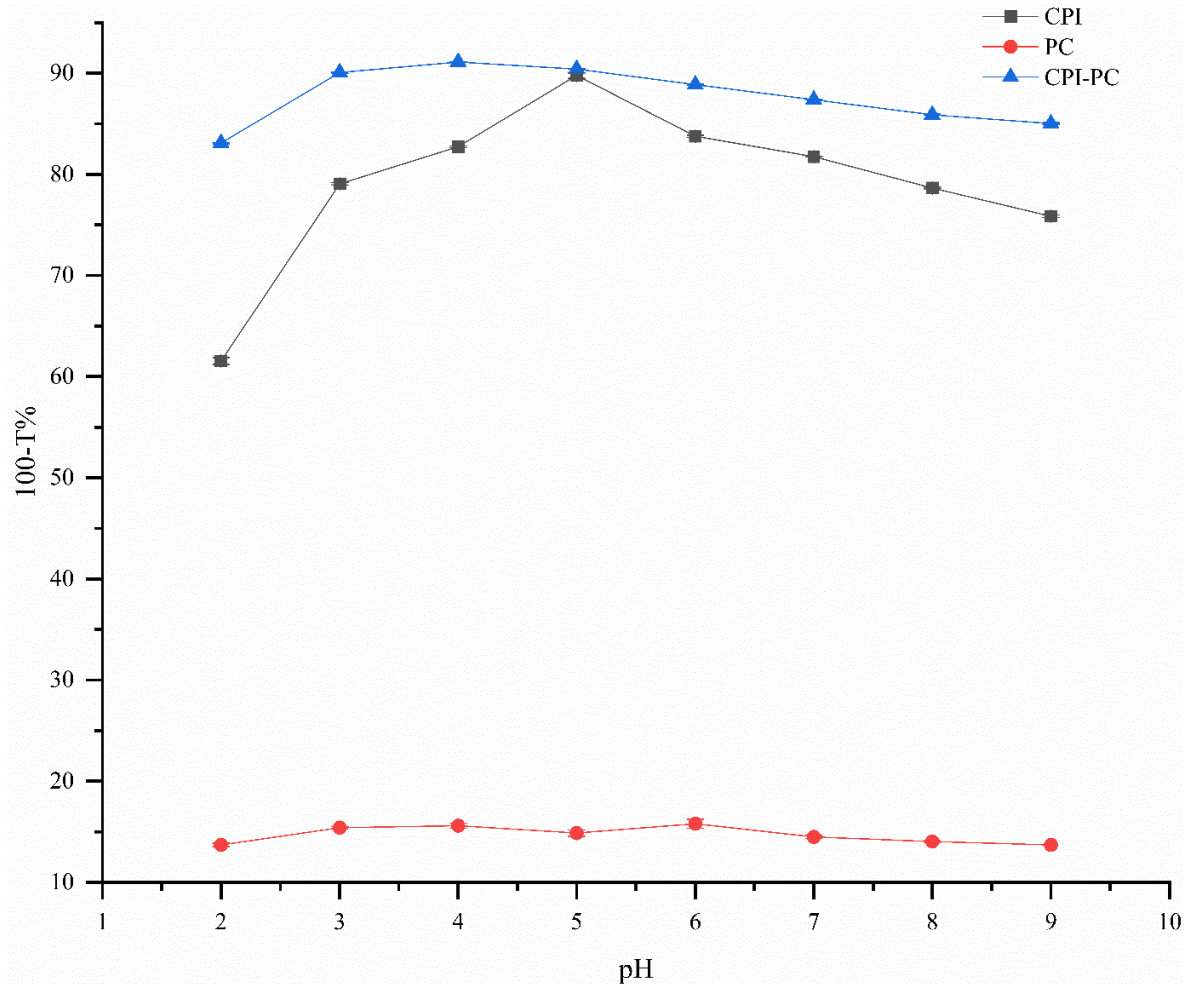


Figure. 4. Effect of pH on turbidity of CPI, PC, and CPI-PC mixture (4:1 ratio) as a function of pH (CPI: chickpea protein isolate, PC: pectin). Error bars represent standard deviation.

ACKNOWLEDGEMENT

The author acknowledges AGT Food (SK, Canada) company for supplying chickpea protein isolate.

CONFLICT OF INTEREST

The author has declared no conflict of interest.

REFERENCES

Boukid, F. (2021). Chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as a prospective plant-based ingredient: a review. *International Journal of Food Science &*

Technology, 56(11), 5435-5444. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15046>

De Kruif, C. G., Weinbreck, F., De Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5), 340-349. <https://doi.org/10.1016/J.COCIS.2004.09.006>

Elmer, C., Karaca, A. C., Low, N. H., Nickerson, M. T. (2011). Complex coacervation in pea protein isolate-chitosan mixtures. *Food Research*

- International*, 44(5), 1441–1446. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.03.011>
- Flanagan, S. E., J. Malanowski, A., Kizilay, E., Seeman, D., L. Dubin, P., Donato-Capel, L., Bovetto, L., Schmitt, C. (2015). Complex Equilibria, Speciation, and Heteroprotein Coacervation of Lactoferrin and β -Lactoglobulin. *Langmuir*, 31(5), 1776–1783. <https://doi.org/10.1021/la504020e>
- Freitas, M. L. F., Albano, K. M., Telis, V. R. N. (2017). Characterization of biopolymers and soy protein isolate-high-methoxyl pectin complex. *Polímeros*, 27(1), 62–67. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.2404>
- Gulão, E. da S., de Souza, C. J. F., da Silva, F. A. S., Coimbra, J. S. R., Garcia-Rojas, E. E. (2014). Complex coacervates obtained from lactoferrin and gum arabic: Formation and characterization. *Food Research International*, 65(PC), 367–374. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2014.08.024>
- Huang, G. Q., Sun, Y. T., Xiao, J. X., Yang, J. (2012). Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*, 135(2), 534–539. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.04.140>
- Joshi, N., Rawat, K., Bohidar, H. B. (2018). pH and ionic strength induced complex coacervation of Pectin and Gelatin A. *Food Hydrocolloids*, 74, 132–138. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2017.08.011>
- Kayitmazer, A. B. (2017). Thermodynamics of complex coacervation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 239, 169–177. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2016.07.006>
- Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., Romero, A. (2016). Pea, chickpea and lentil protein isolates: Physicochemical characterization and emulsifying properties. *Food Biophysics*, 11(1), 43–51. <https://doi.org/10.1007/s11483-015-9411-6>
- Lan, Y., Ohm, J.-B., Chen, B., Rao, J. (2020). Phase behavior, thermodynamic and microstructure of concentrated pea protein isolate-pectin mixture: Effect of pH, biopolymer ratio and pectin charge density. *Food Hydrocolloids*, 101, 105556. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.105556>
- Moser, P., Ferreira, S., Nicoletti, V. R. (2019). Buriti oil microencapsulation in chickpea protein-pectin matrix as affected by spray drying parameters. *Food and Bioproducts Processing*, 117, 183–193. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2019.07.009>
- Moser, P., Nicoletti, V. R., Drusch, S., Brückner-Gühmann, M. (2020). Functional properties of chickpea protein-pectin interfacial complex in buriti oil emulsions and spray dried microcapsules. *Food Hydrocolloids*, 107, 105929. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105929>
- Mousazadeh, M., Mousavi, M., Askari, G., Kiani, H., Adt, I., Gharsallaoui, A. (2018). Thermodynamic and physiochemical insights into chickpea protein-Persian gum interactions and environmental effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 1052–1058. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.07.168>
- Raei, M., Rafe, A., Shahidi, F. (2018). Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. *Journal of Food Engineering*, 228, 25–31. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.02.007>
- Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., Carciofi, B. A. M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 170–184. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.01.011>
- Sarabi-Aghdam, V., Mousavi, M., Hamishehkar, H., Kiani, H., Emam-Djomeh, Z., Mirarab Razi, S., Rashidinejad, A. (2021). Utilization of chickpea protein isolate and Persian gum for microencapsulation of licorice root extract towards its incorporation into functional foods. *Food Chemistry*, 362, 130040. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130040>
- Souza, C. J. F., da Costa, A. R., Souza, C. F., Tosin, F. F. S., Garcia-Rojas, E. E. (2018). Complex coacervation between lysozyme and pectin: Effect of pH, salt, and biopolymer ratio.

- International Journal of Biological Macromolecules*, 107(PartA), 1253–1260. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.09.104>
- Timilsena, Y. P., Akanbi, T. O., Khalid, N., Adhikari, B., Barrow, C. J. (2019). Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1276–1286. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.10.144>
- Wu, B., McClements, D. J. (2015). Modulating the morphology of hydrogel particles by thermal annealing: mixed biopolymer electrostatic complexes. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 48(43), 434002. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/48/43/434002>
- Xiong, T., Xiong, W., Ge, M., Xia, J., Li, B., Chen, Y. (2018). Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. *Food Research International*, 109, 260–267. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.04.044>
- Xiong, W., Li, Y., Ren, C., Li, J., Li, B., Geng, F. (2021). Thermodynamic parameters of gelatin-pectin complex coacervation. *Food Hydrocolloids*, 120, 106958. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106958>
- Xu, L., yan, W., Zhang, M., Hong, X., Liu, Y., Li, J. (2021). Application of ultrasound in stabilizing of Antarctic krill oil by modified chickpea protein isolate and ginseng saponin. *LWT*, 149, 111803. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111803>
- Ye, A. (2008). Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications—a review. *International journal of food science & technology*, 43(3), 406–415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01454.x>

DETERMINATION OF PHYSICOCHEMICAL, ANTIOXIDANT, TEXTURAL AND SENSORY FEATURES OF PASTIRMA CEMEN PASTE PRODUCED BY USING DIFFERENT CONCENTRATIONS OF BLACK GARLIC

Emre TURAN, Atilla ŞİMŞEK*

¹ Ordu University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Ordu, Türkiye

Received / Geliş: 27.05.2022; Accepted / Kabul: 17.10.2022; Published online / Online baskı: 04.11.2022

Turan, E., Şimşek, A. (2022). Determination of physicochemical, antioxidant, textural and sensory features of pastirma cemen paste produced by using different concentrations of black garlic. GIDA (2022) 47 (6) 980-991 doi: 10.15237/gida.GD22055

Turan, E., Şimşek, A. (2022). Farklı konsantrasyonlarda siyah sarımsak kullanılarak üretilen pastırma çemen macununun fizikokimyasal, antioksidan, tekstürel ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2022) 47 (6) 980-991 doi: 10.15237/gida.GD22055

ABSTRACT

This study aims were to evaluate the effects of using different concentrations (10%, 15%, 20%) of black garlic (BG) as an alternative to fresh garlic on the physicochemical, antioxidant, textural and sensory properties of pastırma cemen paste (CP), and to determine the most appropriate amount of BG in terms of consumer acceptance and bioactive properties. The addition of BG at increasing concentration decreased the moisture, pH, colour (L*, a*, and b*), firmness and stickiness values of the CP compared to the control with fresh garlic. While the total phenolics and antioxidant activity of CP increased with the addition of BG, the highest values were in having 20% BG-added group. On the other hand, considering the parameters of odour, taste, spreadability and general appreciation, the 15% BG-added group was the most appreciated. As a result, 15% BG can be used as an alternative to fresh garlic to increase CP's sensory acceptability and bioactive properties.

Keywords: Pastırma cemen paste, black garlic, antioxidant, texture, sensory acceptance

**FARKLI KONSANTRASYONLARDA SİYAH SARIMSAK KULLANILARAK
ÜRETİLEN PASTIRMA ÇEMEN MACUNUNUN FİZİKOKİMYASAL,
ANTİOKSİDAN, TEKSTÜREL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, taze sarımsağa alternatif olarak farklı konsantrasyonlarda (%10, %15, %20) siyah sarımsağın (SS) kullanımının pastırma çemen macunun (ÇM) fizikokimyasal, antioksidan, tekstürel ve duyuşal özellikleri üzerine etkilerini değerlendirmek ve tüketici kabulü ve biyoaktif özellikler açısından en uygun SS miktarını belirlemektir. Artan konsantrasyonda SS ilavesi, taze sarımsaklı kontrole göre ÇM'nun nem, pH, renk (L*, a* ve b*), sertlik ve yapışkanlık değerlerini azaltmıştır. SS ilavesi ile ÇM'nun toplam fenolikleri ve antioksidan aktivitesi artarken, en yüksek değerler %20 SS ilaveli grupta belirlenmiştir. Öte yandan koku, lezzet, sürülebilirlik ve genel beğeni

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: atillasimsek62@yahoo.com

☎: (+90) 452 226 5200

☎: (+90) 452 226 5220

Emre Turan; ORCID no: 0000-0002-4289-0107

Atilla Şimşek; ORCID no: 0000-0003-2092-1803

parametreleri göz önüne alındığında, %15 SS eklenen grup en beğenilen grup olmuştur. Sonuç olarak, ÇM'nun duyuusal kabul edilebilirliğini ve biyoaktif özelliklerini artırmak için taze sarımsağa alternatif olarak %15 SS kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Pastırma çemen macunu, siyah sarımsak, antioksidan, tekstür, duyuusal kabul

INTRODUCTION

Pastırma is a traditional dry-cured meat product produced from certain muscles of beef and buffalo carcasses. Dry curing, progressive drying, intermittent pressing, and covering with cemen (a spreadable paste) are the main processes of pastırma production, but the absence of heat and smoking processes differentiate it from other similar products (Cakici et al., 2015; Aksu et al., 2020a). Covering the outer surface of pastırma with cemen paste is an important process that affects the quality of pastırma. This edible coating material is prepared with fenugreek seed flour, red pepper, fresh garlic and enough water (Tekinsen and Dogruer, 2000; Aksu et al., 2020b). Cemen paste (CP) imparts pastırma its appearance, colour, texture, aroma and taste, prevents oxidation by reducing contact with air, prevents excessive drying, protects against external factors and pests, and protects against microbial spoilage due to the antibacterial and antifungal effect of fresh garlic (Tekinsen and Dogruer, 2000; Aksu et al., 2020c). However, the consumption of pastırma causes a sharp and unpleasant odor due to the CP, and this complaint is typically detected after sweating (Ahhmed, 2014). This pungent odor originating from fresh garlic and fenugreek seeds is considered to be responsible for the off-flavor in pastırma and is a major disadvantage that limits pastırma consumption. Reducing and/or eliminating this off-flavor is requested by some consumers (Ahhmed et al., 2017). In addition, many manufacturers are trying to overcome this problem by scraping the cemen layer from the surface and offering the product without CP to meet consumer demand.

Garlic (*Allium sativum*) has been widely used as a culinary and medicinal food since ancient times (Morbidoni et al., 2001), and is an important component used at high rates between 10% and 35% in the formulation of CP (Tekinsen and Dogruer, 2000). Many studies have reported that fresh garlic has a wide range of bioactive effects, including antimicrobial, antiviral, anticancer,

antioxidant, and antihypertensive properties (Yun et al., 2014; Bayan et al., 2014; El-Saber Batiha et al., 2020). On the other hand, despite its numerous health benefits, the consumption of fresh garlic is limited due to adverse effects such as unpleasant garlic breath and body odor, allergic reactions, gastrointestinal issues, and skin problems (Stevinson et al., 2000; Morbidoni et al., 2001). Therefore, many new applications are being studied for new garlic products with more advanced sensory and beneficial properties (Toledano-Medina et al., 2016). In this context, many methods such as fermentation, aging, heating, and consumption of various foods (tea and similar beverages, herbs, and several dairy products) are applied to obtain garlic that is more delicious and odorless (Negishi et al., 2002, 2004; Bae et al., 2014; Munch and Barringer, 2014; Mirondo and Barringer, 2016; Ozcan-Sinir and Barringer, 2021). The most widely used processing method among these methods is heat application.

Black garlic (BG) production is carried out by aging the whole raw garlic in an environment of 60-90 °C and 70-90% relative humidity (RH) for a certain period without any additional processing and additives (Zhang et al., 2016; Qiu et al., 2020). Heat treatment of raw garlic results in significant changes in taste, color, texture and nutrient content, and some characteristic properties are formed. The final product is characterized by a soft and elastic texture, black cloves, and sweet-sour taste (Toledano-Medina et al., 2016), and can be consumed directly only by peeling, as the offensive odor of fresh garlic disappears (Wang et al., 2010). The phenolic substance content and antioxidant potential of BG are much higher than that of raw garlic (Toledano-Medina et al., 2016; Qiu et al., 2020). In addition, bioactive and beneficial effects of BG such as antitumor, anticancer, antioxidant, antimicrobial, hepatoprotective, and preventing gastrointestinal problems and metabolic diseases have been reported (Sasaki et al., 2007; Wang et al., 2010;

Jung and Sohn, 2014; Shin et al., 2014; Chen et al., 2018; Kim et al., 2019; Ahmed and Wang, 2021). BG does not cause stomach and intestinal issues seen in fresh garlic consumption (Zhang et al., 2016). In line with this information, BG may offer the promising potential to increase consumer acceptance of pastırma CP and improve its bioactive properties. In our previous study, the effect of BG aged at different times on the overall quality of CP during 90 days of storage was evaluated (Turan and Şimşek, 2022). However, there is no study investigating the optimum amount of BG for use in the production of CP.

The objectives of the present study are; i) to investigate the effects of different BG concentrations on the physicochemical, antioxidant, textural and sensory attributes of pastırma CP; and ii) to determine the optimal BG concentration for the production of CP in terms of bioactive properties and consumer acceptance.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Freshly harvested (in July) fresh garlic was procured from Taşköprü (Kastamonu, Türkiye), and paprika, red pepper powder and fenugreek seed flour were supplied from Kadioğlu Baharat Inc. (Mersin/Türkiye). (±)-6-Hydroxy-2,5,7,8 tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,4,6-tripyridyl-striazine (TPTZ) were purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany), and 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) was bought from Alfa Aesar (St. Ward Hill, MA, USA). Folin-Ciocalteu reagent (FCR), hydrochloric acid (HCl), gallic acid, ethanol, sodium acetate, potassium persulfate, sodium carbonate (Na_2CO_3), and iron(III) chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) were used from Merck (Darmstadt, Germany).

Production of BG

BG production was carried out by heating whole fresh garlic bulbs in a climate chamber (T120, ILDAM, Ankara, Türkiye) for 35 days at the temperature (70°C) and RH (80%) norms recommended by Zhang et al. (2016). The

produced BG samples were stored at 4°C until used.

Preparation of cemen pastes

CP samples were prepared according to the recipe reported by Aksu et al. (2006) with minor modifications, which included flour of fenugreek seeds (500 g), red pepper powder (75 g paprika + 75 g hot red pepper), clean drinkable water (1200 ml) and crushed garlic (350 g). In this dough formulation, the amount of ingredients other than fresh garlic was kept constant and different concentrations of BG were used for the treatments instead of fresh garlic. Accordingly, CP containing 15% (326.5 g) fresh garlic in the total dough mixture was evaluated as the control group. Other CP samples produced by using 10% (205.6 g), 15% (326.5 g) and 20% (462.5 g) BG in the dough formulation were coded as BG-10, BG-15 and BG-20, respectively. All produced cemen pastes (CPs) were filled in airtight jars and stored at refrigerator temperature (4°C) for 24 h, then analyzes were carried out.

Moisture content, pH and instrumental color analysis

The moisture content was detected by calculating the weight loss after the CPs were kept in an oven (Nükleon, NST-120, Ankara, Türkiye) at 105°C until they reached a stable weight (Cemeroglu, 2010). The pH values of the CPs diluted with distilled water and homogenized with UltraTurrax (IKA-T18, Staufen, Germany) were measured using a Mettler Toledo pH meter (S210, Switzerland) (Yetim et al., 2017). A Minolta colorimeter (CR-410, Osaka, Japan) with 2° standard observer and D65 illuminant was used for the measurement of L^* (lightness), a^* (redness), and b^* (yellowness) color values. Instrument calibration was performed with white calibration ceramic just before color readings were taken.

Spectrophotometric analyzes

Extraction of bioactive compounds

CP samples (5 g) were weighed into polypropylene tubes and the total volume was adjusted to 50 mL with distilled water. Afterwards, the homogenized mixtures were kept

in an Isolab ultrasonic bath (Wertheim, Germany) at 60 °C for 1 hour and extraction was carried out. To obtain the extract, centrifugation (D-37520, Sigma, Germany) was performed at 4000 rpm for 10 minutes and the supernatant was collected.

Total phenolic substance content (TPSC)

TPSC of CP extracts in mg gallic acid equivalent (GAE) per 100 g was determined using the Folin-Ciocalteu procedure (Singleton et al., 1999). 1 mL of the CP extract (100 mg/mL) transferred to the test tube was fortified with 0.5 mL of FCR and 0.25 mL of Na₂CO₃ solution (20%, w/v). The volume of the mixture was adjusted to a total of 10 mL with distilled water. After an incubation period of 30 minutes in the dark and at room temperature, absorbance readings versus control were made at 760 nm in a spectrophotometer (Shimadzu UVmini-1240, Japan).

Antioxidant activity

DPPH free radical reducing activity (DPPH-FRRA) analysis of the CP extracts was carried out according to Bursal and Gulcin (2001) with minor modifications. Briefly, different concentrations of CP extracts (20 mg/mL) were mixed with ethanol to adjust the total volume to 3 mL. Then, 500 µL of DPPH test solution (0.1 mM) was fortified to the mixture. After thorough vortexing, the mixtures were incubated at 30 °C for 30 minutes in the dark. The absorbance readings were taken at 517 nm.

ABTS free radical reducing activity (ABTS-FRRA) analysis was performed by the protocol described by Bursal and Gulcin (2001). First, the ABTS test solution (ABTS-TS) containing potassium persulfate (2.45 mM) and ABTS aqueous solution (2 mM) were allowed to stand in the dark for 12 hours for the radical formation process. The ABTS-TS was diluted with phosphate buffer until the absorbance was 0.750±0.02 at 734 nm. Subsequently, different concentrations of CP extracts and diluted ABTS test solution were mixed in a total volume of 4 mL, and absorbance values were measured at 734 nm after 30 minutes.

FRAP (ferric reducing antioxidant power) analysis was carried out following the method described by Benzie and Strain (1996) with some modifications. Primarily, FRAP reagent was prepared by mixing 10 mmol/L TPTZ (in 40 mmol/L HCl), 20 mmol/L FeCl₃.6H₂O, and 0.3 mol/L acetate buffer (pH 3.6) solutions in appropriate volumetric ratios (1:1:10). Then, an aliquot (0.1 mL) of sample extract (20 mg/mL) was mixed with distilled water (0.9 mL) and FRAP reagent (2 mL). The absorbance of the mixture was read at 593 nm in the spectrophotometer after an incubation period of 4 minutes at 37 °C. The results of all three antioxidant activity assays were calculated as µg TE (Trolox equivalent) per 100 mg CP.

Textural properties

Texture parameters of CPs such as firmness (g), stickiness (g), work of shear (g.s), and work of adhesion (g.s) parameters were determined using a TA-TX Plus texture analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, UK). The device was equipped with a suitable load cell (5 kg) and probe (TTC Spreadability Rig, HDP/ SR). Following calibration, a portion of the sample in the refrigerator was transferred onto the female cone and permeated with a corresponding male cone. The test conditions for analysis were follows: Trigger type, automatic; test mode, compression; trigger force, 1 g; distance, 12 mm; pre-test speed 3.0 mm/s; test speed, 1.0 mm/s; post-test speed, 5.0 mm/s. Eight measurements were averaged for each sample.

Sensory evaluation

Sensory analysis of CP samples was made by 8 trained assessors (6 men, 2 women) working at Ordu University Faculty of Agriculture. Attention was paid to assessors' familiarity with CP and pastırma, and the frequency of consumption of these products. Before the sensory evaluation, preliminary information was given about the properties of BG and CP. The presentation of randomly coded samples with different letters to the evaluators was made on white plates. The assessors rated CPs for color, odor, taste, spreadability, and general appreciation using a hedonic scale of 1-9 points (1 "not preferred", 5

“moderately preferred” and 9 “extremely preferred”). During the transition between samples, assessors were offered bread to clear any residual taste.

Statistical analysis

The experiment was carried out in three replications. All data were subjected to one-way ANOVA using Minitab 18 program, taking into account treatments (Control, BG-10, BG-15 and BG-20) as a factor. A comparison of significant differences ($P < 0.05$ level) between the means was made by applying the Tukey test.

RESULTS AND DISCUSSION

Moisture content and pH values

Moisture content, pH and instrumental color values of CPs incorporated with different concentrations of BG are presented in Table 1. The highest moisture content was determined in the traditional CP with 56.10%. The moisture content of CP decreased with the addition of BG compared to the control ($P < 0.05$). However, no statistical differences were observed between the moisture content of the groups with BG ($P > 0.05$). The decrease in moisture content with BG treatment can be attributed to the lower moisture content of BG compared to fresh garlic (Bae et al., 2014; Choi et al., 2014). The findings for the moisture content of the control CP were in agreement with Ahhmed et al. (2017) and lower than the content reported by Aksu et al. (2020b).

Similarly, the addition of BG to the CP significantly decreased the pH values ($P < 0.05$)

and this decrease was dependent on the increasing concentration of BG (Table 1). Accordingly, the pH values decreased in the BG-10, BG-15 and BG-20 groups compared to the control (6.04) and were determined as 5.50, 5.31 and 5.20, respectively. There was no significant difference among the groups with 15% and 20% BG in terms of pH values ($P > 0.05$). Choi et al. (2014) determined that the pH value of BG produced by heat treatment at 70 °C and 90% RH for 35 days decreased with increasing ripening time and became 3.74 at the end of 35 days. Similarly, the pH value of BG aged for 33 days at 72 °C and 90% relative humidity was determined as 3.49 (Toledano-Medina et al., 2016). In accordance with our study, the pH value of control CP has been reported in the literature in the range of 5.60-6.07 (Aksu et al., 2006; Yetim et al., 2017; Aksu et al., 2020b, 2020c, 2021). On the other hand, the amount, type and quality of the components used in the preparation of CP, as well as the inclusion of additional additives in the formulation cause changes in pH values. In this context, Aksu et al. (2006) determined that the pH values of CPs produced using different levels (0-25%) of fresh garlic increased linearly with increasing fresh garlic levels. In addition, previous studies reported that pH values of CPs were significantly changed by the addition of fruit and vegetable extracts such as red beet (Aksu et al., 2020a), red cabbage (Aksu et al., 2020b, 2020c), and raspberry (Aksu et al., 2021), as well as some acidic additives such as yoghurt serum, lemon juice, pickle juice, turnip juice, gilaburu juice, and citric acid (Yetim et al., 2017).

Table 1. Moisture content, pH and instrumental color values (L^* , a^* , b^*) of cemen pastes treated with different concentrations of black garlic

	%Moisture	pH	L^* (Lightness)	a^* (Redness)	b^* (Yellowness)
Control	57.09±0.50 ^a	6.04±0.04 ^a	32.83±0.25 ^a	14.82±0.79 ^a	12.62±0.07 ^a
BG-10	52.67±0.81 ^b	5.50±0.02 ^b	25.78±0.22 ^b	7.87±0.53 ^b	5.21±0.08 ^b
BG-15	51.30±0.27 ^b	5.31±0.06 ^c	23.92±0.82 ^c	5.85±0.12 ^c	3.72±0.10 ^c
BG-20	49.78±1.08 ^b	5.20±0.04 ^c	22.88±0.22 ^c	4.27±0.19 ^d	3.15±0.07 ^d

Control: Traditional cemen paste produced with fresh garlic.

BG-10, BG-15, and BG-20: Cemen pastes produced using black garlic at 10%, 15% and 20% concentrations, respectively.

Different letters (a-d) in the same column indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

Color (L^* , a^* and b^*) values

Table 1 presents the L^* (lightness), a^* (redness) and b^* (yellowness) color values of CPs containing fresh garlic and different concentrations of BG. Treatment with BG caused a decrease in L^* , a^* and b^* color values of CPs compared to the control sample ($P < 0.05$). The highest and lowest a^* and b^* values were found in the control and BG-20 groups, respectively ($P < 0.05$). The decrease in a^* and b^* values was dependent on increasing BG concentration ($P < 0.05$). The L^* values of all BG-treated samples were lower ($P < 0.05$) compared to the control with fresh garlic. However, the BG-15 and BG-20 treatments had similar L^* values ($P > 0.05$). BG has a darker color and lower color values (L^* , a^* and b^*) than fresh garlic due to the brown-colored compounds formed as a result of the Maillard reaction (Choi et al., 2014; Toledano-Medina et al., 2016). Therefore, the decrease in the color values of CP with the addition of BG compared to the control is an expected result. CP color is an important quality criterion for pastırma, as it directly affects consumer preferences. In this context, providing and maintaining the desired redness is very important for pastırma production (Aksu et al., 2020b, 2020c). The use of BG adversely affected the color quality by decreasing the lightness and redness values of the CP, and this negative effect became more pronounced with increasing concentration. On the other hand, pH is an important factor affecting the color formation and color stability in CP. Aksu et al (2020b) determined that redness increased as pH decreased (pH 4.0 and 4.5) in CPs adjusted to different pH values (pH 4.0 to 6.0) and produced by adding anthocyanin-rich red cabbage extract. The researchers also determined that pH 5.0 was the threshold value for achieving the desired color and its stability during storage. In this context, the decreased pH value of CP due to the addition of BG can contribute to the formation and stability of the desired color when used with extracts rich in anthocyanins, which present a red color in acidic conditions.

Antioxidant capacity

Table 2 shows the changes in TPSC and antioxidant activities of CPs containing different concentrations of BG compared to the control.

Antioxidant activity was evaluated by three different methods: DPPH-FRRA, ABTS-FRRA, and FRAP. It was observed that as the concentration of BG increased in the CP formulation, the TPSC and antioxidant activity values also increased. The lowest values for all three antioxidant activity assays and TPSC were determined in the control sample ($P < 0.05$). TPSC of CPs increased between 27.09-38.02% with the addition of BG at different concentrations ($P < 0.05$). Similarly, FRAP values increased by 15.65-24.82%, DPPH-FRRA values increased by 56.43-118.91%, and ABTS-FRRA values increased by 32.43%-51.37% depending on the increasing BG concentration ($P < 0.05$). As seen in Table 2, the highest increase was determined in the BG-20 group containing 20% BG, while there was no statistically significant difference between BG-15 and BG-20 groups in terms of TPSC, ABTS-FRRA and FRAP values ($P > 0.05$). According to these results, the addition of BG improved the bioactive properties of pastırma CP by increasing its TPSC and antioxidant activity. Compared to fresh garlic, BG has a very high TPSC and antioxidant activity (Choi et al., 2014; Toledano-Medina et al., 2016; Qiu et al., 2020). Martínez-Casas et al. (2017) determined that the TPSC of BG (820.4 mg GAE/100 g) is approximately 10 times higher than that of fresh garlic (77.86 mg GAE/100 g). Similarly, Toledano-Medina et al. (2016) determined that the content of phenolic substances and antioxidant activity of BG produced at different temperature-time norms increased between 3-6 times and 6.5-9.5 times, respectively, compared to fresh garlic. It can be stated that this increase in antioxidant activity is caused by newly formed or increased antioxidant compounds during the BG production process. Some antioxidants such as melanoidins, S-allyl cysteine (SAC), β -carboline derivatives, polyphenols, 5-hydroxymethyl furfural, Amadori and Heyns compounds contribute to antioxidant activity (Bae et al., 2014; Qiu et al., 2020).

Textural properties

The textural analysis results are shown in Figure 1. The substitution of fresh garlic with BG in the CP formulation decreased the firmness and

stickiness values compared to the control ($P < 0.05$), but this decrease was not affected by the concentration of BG ($P > 0.05$). All black garlic treatments had lower work of shear values than those in the control ($P < 0.05$), with the reduction being most pronounced in the BG-10 group. The increase in work of adhesion values with BG treatment was significant ($P < 0.05$) only in the BG-15 and BG-20 groups compared to the control. The soft, flexible and chewy structure of

BG (Zhang et al., 2016; Qiu et al., 2020) was also reflected in the texture features of CP. There is an inverse relationship between the work of shear and spreadability. The low firmness and work of shear values contribute to the increase in spreadability (Nikolić et al., 2014). Accordingly, the texture analysis results showed that more force was required to spread the control sample and the addition of BG increased the spreadability of the CP.

Table 2. Changes in total phenolic substance content (TPSC), DPPH-free radical reducing activity (DPPH-FRRA), ABTS-free radical reducing activity (ABTS-FRRA), and Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of cemen pastes treated with different concentrations of black garlic

	TPSC (mg GAE/100 g)	DPPH-FRRA ($\mu\text{g TE}/100\text{ g}$)	ABTS-FRRA ($\mu\text{g TE}/100\text{ g}$)	FRAP ($\mu\text{g TE}/100\text{ g}$)
Control	80.87 $\pm$ 0.33 ^c	47.15 $\pm$ 2.76 ^d	118.64 $\pm$ 2.73 ^c	72.52 $\pm$ 3.05 ^b
BG-10	102.78 $\pm$ 0.80 ^b	74.85 $\pm$ 0.95 ^c	171.14 $\pm$ 4.42 ^b	83.87 $\pm$ 1.24 ^a
BG-15	108.37 $\pm$ 0.88 ^a	97.13 $\pm$ 1.38 ^b	193.70 $\pm$ 2.64 ^a	88.02 $\pm$ 2.05 ^a
BG-20	111.62 $\pm$ 1.15 ^a	104.75 $\pm$ 1.56 ^a	206.56 $\pm$ 1.92 ^a	90.52 $\pm$ 1.38 ^a

Control: Traditional cemen paste produced with fresh garlic.

BG-10, BG-15, and BG-20: Cemen pastes produced using black garlic at 10%, 15% and 20% concentrations, respectively.

Different letters (a-d) in the same column indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

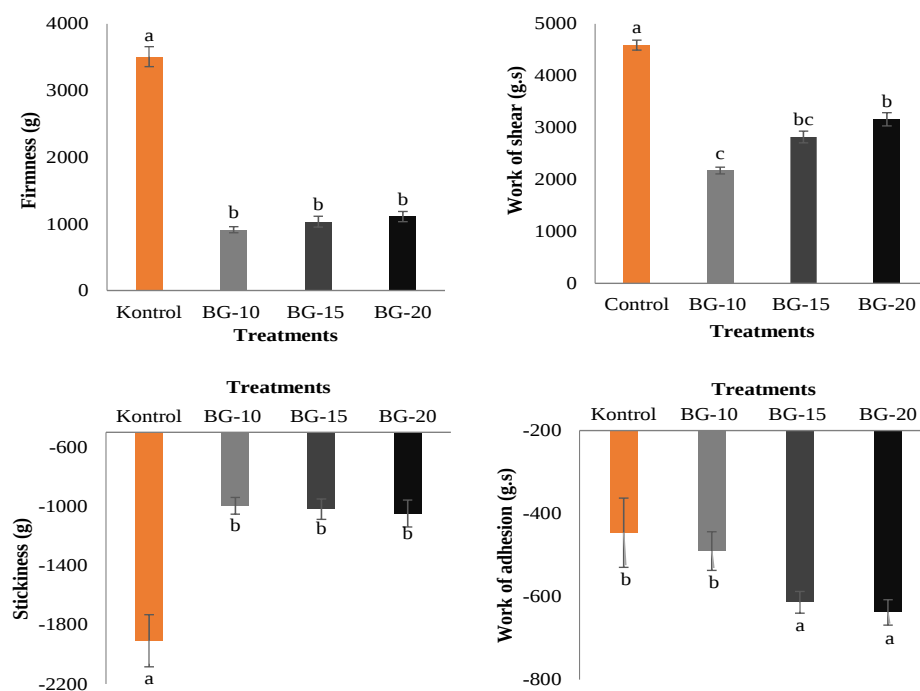


Figure 1. Textural properties of cemen pastes treated with different concentrations of black garlic

Control: Traditional cemen paste produced with fresh garlic.

BG-10, BG-15, and BG-20: Cemen pastes produced using black garlic at 10%, 15% and 20% concentrations, respectively.

Different letters (a-c) indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

Sensory evaluation

The sensory evaluation results in which CPs produced using different concentrations of BG were compared with traditional CP in terms of color, odor, taste, spreadability and general appreciation parameters are shown in Figure 2. The use of BG as a fresh garlic substitute in the formulation caused a significant decrease in color scores ($P < 0.05$).

This decrease shows parallelism with instrumental color values (Table 1). As stated in the previous sections, the color of CP is an important factor influencing consumer choices when purchasing pastırma. Therefore, BG-added CPs with a dark color received lower scores from the assessors. Although the color scores decreased as the BG concentration increased, there was no significant difference between the BG groups ($P > 0.05$). Regarding the texture analysis, the assessors perceived the BG-20 sample as harder and less spreadable than the BG-15 group. The odor scores showed that CPs containing BG were liked more than the control group with fresh garlic. The lowest and highest odor scores were determined in the control and BG-15 groups, respectively (Figure 2, $P < 0.05$). Similarly, the sweet-sour taste of BG was also reflected in the sensory evaluation scores. The lowest taste scores were in the control sample, while the BG-15 group was scored as more palatable by the assessors ($P < 0.05$). In general, the assessors emphasized that the roasted aroma was higher in the BG-20 group containing 20% BG. The increase in soluble solids content, including glucose, sucrose and fructose, as a result of hydrolysis of polysaccharides is considered to be responsible for the sweet taste of BG (Toledano-Medina et al., 2016; Qiu et al., 2020). In addition, the concentration of sulphurous volatile compounds decreases during BG production, while the presence of compounds that offer a sweet and roasted aroma increases (Molina-Calle et al., 2017). This may have contributed to the higher taste scores of the CPs with BG.

On the other hand, the fact that BG is free from pungent and unpleasant odor compared to fresh garlic resulted in higher odor scores in groups

with BG. Consumption of raw garlic results in an irritating mouth (garlic breath) that can linger from a few hours to days. Diallyl disulfide (DADS), allyl methyl disulfide, allyl mercaptan, and allyl methyl sulfide (AMS) are the main compounds associated with garlic breath (Mirondo and Barringer, 2016). Since this unpleasant breath and persistent body odor is an irritating problems in social and daily life, some people avoid garlic consumption (Amiraiian and Sobal, 2009; Sharma et al., 2011). In addition, garlic consumption is not at the desired level in Türkiye due to its pungent smell and taste (Akan and Unuvar, 2017). This is an important factor limiting the consumption of pastırma produced by coating with CP containing a high amount of fresh garlic. Therefore, using BG instead of fresh garlic in the production of CP can be an effective solution to overcome this problem. Considering the parameters of odor, taste, spreadability and general appreciation, the highest scores were determined in the BG-15 group. Accordingly, the use of 15% BG as a substitute for fresh garlic can be recommended as the optimal concentration for the sensory acceptability of pastırma CP. On the other hand, color values and aromatic substances change significantly during the final drying stage from covering with CP to obtaining the final product pastırma (Kaban, 2009; Aksu et al., 2020a). Therefore, it is important and necessary to determine the sensory acceptability of the final product produced using CPs with BG. A recent study found that the use of BG in the formulation of CP enhanced sensory acceptance by reducing the content of sulfur compounds and increasing the presence of esters and terpenes that offer fruity-sweet flavor (Turan and Şimsek, 2022). Similarly, in a study investigating the use of miso (Japanese fermented soybean paste) instead of traditional pastırma CP, it was reported that off-flavor caused by sulfur compounds in pastırma was eliminated by the miso coating with fruity aroma notes and the flavor was improved (Ahhmed et al., 2017).

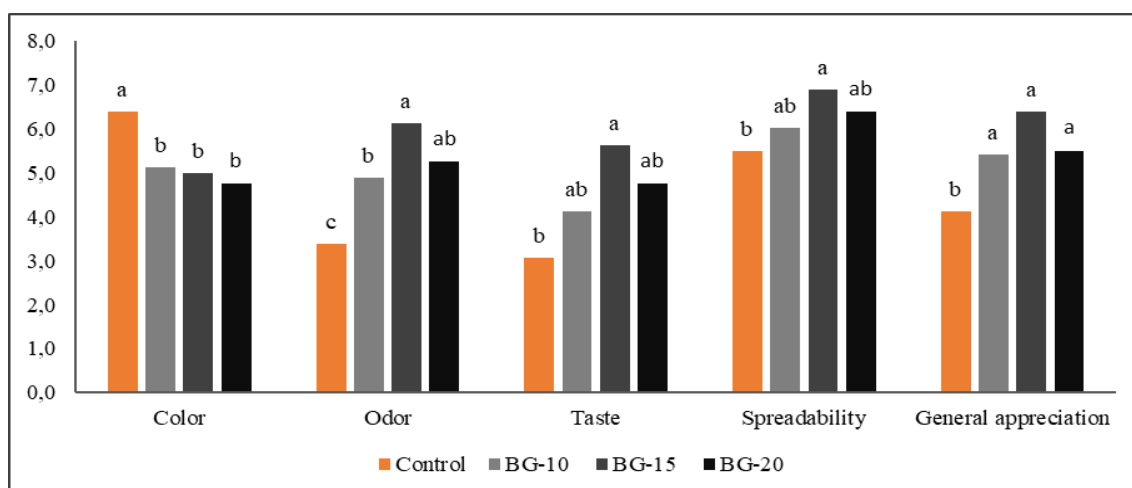


Figure 2. Sensory evaluation of cemen pastes treated with different concentrations of black garlic
Control: Traditional cemen paste produced with fresh garlic.
BG-10, BG-15, and BG-20: Cemen pastes produced using black garlic at 10%, 15% and 20% concentrations, respectively.
Different letters (a-b) indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

CONCLUSION

This study showed that the use of BG as an alternative to fresh garlic in the formulation of CP improved the bioactive content, sensory acceptance and textural properties, but negatively affected the color values. Although the addition of 20% BG offered the highest TPSC and antioxidant activity, the use of 15% BG was rated by the assessors as the threshold level for sensory acceptance. Considering all the results, 15% BG can be recommended as the optimal concentration alternative to fresh garlic to increase sensory acceptability and bioactive properties in CP. In addition, further studies are needed to evaluate the effect of CPs produced by using different substitute mixtures of fresh and BG on the quality of pastırma.

DECLARATION OF COMPETING INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Emre Turan: Conceptualization, methodology, investigation, formal analysis, writing-review & editing. Atilla Şimşek: Project administration, supervision, conceptualization, methodology, writing - review & editing. All authors read and approved the final manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Ordu University Scientific Research Projects Coordination Unit within the scope of project number AR-1642. The authors also thank Mehmet İPEK (Taşköprü District Directorate of Food, Agriculture and Livestock) for providing Taşköprü fresh garlic.

REFERENCES

- Ahhmed, M.A. (2014). Traditional cured meat-making process degrades the proteins of *M. latissimus dorsi* of bovine. *International Food Research Journal*, 21(1): 139-148.
- Ahhmed, A., Özcan, C., Karaman, S., Öztürk, İ., Çam, M., Fayemi, P.O., ... Yetim, H. (2017). Utilization of fermented soybeans paste as flavoring lamination for Turkish dry-cured meat. *Meat Science*, 127: 35-44, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.12.011
- Ahmed, T., Wang, C.K. (2021). Black Garlic and its bioactive compounds on human health diseases: A Review. *Molecules*, 26(16): 5028, doi: 10.3390/molecules26165028
- Akan, S., Unuvar, I. (2017). Sarımsak üretim ve ticaretinin ekonomik önemi. III. International Balkan and Near East Social Sciences (IBANESS) Congress Series, 04-05 March, Edirne/Türkiye.

- Aksu, M.I., Kaya, M., Oz, F. (2006). Inhibition of *Escherichia coli* O157: H7 in cemens with different garlic levels. *American Journal of Food Technology*, 1: 59-65, doi: 10.3923/ajft.2006.59.65
- Aksu, M.I., Erdemir, E., Turan, E., Sat, I.G. (2020a). Effects of red beet extracts on protein and lipid oxidation, colour, microbial, sensory properties and storage stability of Turkish pastırma. *Journal of Stored Products Research*, 89: 101721, doi: 10.1016/j.jspr.2020.101721
- Aksu, M.I., Turan, E., Sat, I.G. (2020b). Effects of lyophilized red cabbage water extract and pH levels on the quality properties of pastırma cemen paste during chilled storage. *Journal of Stored Products Research*, 89: 101696, doi: 10.1016/j.jspr.2020.101696
- Aksu, M.I., Turan, E., Sat, I.G., Erdemir, E., Oz, F., Gurses, M. (2020c). Improvement of quality properties of cemen paste of pastırma by lyophilized red cabbage water extract. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9): e14714, doi: 10.1111/jfpp.14714
- Aksu, M.I., Turan, E., Sat, I.G., Erdemir, E. (2021). Red raspberry (*Rubus ideans* L.) extracts: A novel ingredient in cemen paste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11): e15930, doi: 10.1111/jfpp.15930
- Amiraian, D.E., Sobal, J. (2009). Dating and eating. Beliefs about dating foods among university students. *Appetite*, 53(2): 226-232, doi: 10.1016/j.appet.2009.06.012
- Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., Park, H.J. (2014). Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1): 397-402, doi: 10.1016/j.lwt.2013.05.006
- Bayan, L., Koulivand, P.H., Gorji, A. (2014). Garlic: A review of potential therapeutic effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4(1): 1-14.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292
- Bursal, E., Gülçin, I. (2011). Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Research International*, 44(5): 1482-1489, doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.031
- Cemeroglu, B. (2010). Food Analysis. Food Technology Association Publications (No:34), Ankara, Türkiye.
- Chen, Y.A., Tsai, J.C., Cheng, K.C., Liu, K.F., Chang, C.K., Hsieh, C.W. (2018). Extracts of black garlic exhibits gastrointestinal motility effect. *Food Research International*, 107: 102-109, doi: 10.1016/j.foodres.2018.02.003
- Choi, I.S., Cha, H.S., Lee, Y.S. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, 19(10): 16811-16823, doi: 10.3390/molecules191016811
- Cakici, N., Aksu, M.I., Erdemir, E. (2015). A survey of the physico-chemical and microbiological quality of different pastırma types: A dry-cured meat product. *CYT-A Journal of Food*, 13(2): 196-203, doi: 10.1080/19476337.2014.938123
- El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G Wasef, L., Elewa, Y.H., A Al-Sagan, A., El-Hack, A., ... Prasad Devkota, H. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. *Nutrients*, 12(3): 872, doi: 10.3390/nu12030872
- Jung, I.C., Sohn, H.Y. (2014). Antioxidation, antimicrobial and antithrombosis activities of aged black garlic (*Allium sativum* L.). *Microbiology and Biotechnology Letters*, 42(3): 285-292, doi: 10.4014/kjmb.1407.07002
- Kaban, G. (2009). Changes in the composition of volatile compounds and in microbiological and physicochemical parameters during pastırma processing. *Meat Science*, 82(1), 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.11.017>
- Kim, K.J., Kim, S.H., Shin, M.R., Kim, Y.J., Park, H.J., Roh, S.S. (2019). Protective effect of S-allyl cysteine-enriched black garlic on reflux esophagitis in rats via NF- κ B signaling

- pathway. *Journal of Functional Foods*, 58: 199-206, doi: 10.1016/j.jff.2019.04.040
- Martínez-Casas, L., Lage-Yusty, M., López-Hernández, J. (2017). Changes in the aromatic profile, sugars, and bioactive compounds when purple garlic is transformed into black garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(49): 10804-10811, doi: 10.1021/acs.jafc.7b04423
- Mirondo, R., Barringer, S. (2016). Deodorization of garlic breath by foods, and the role of polyphenol oxidase and phenolic compounds. *Journal of Food Science*, 81(10): C2425-C2430, doi: 10.1111/1750-3841.13439
- Molina-Calle, M., Priego-Capote, F., de Castro, M.D.L. (2017). Headspace-GC-MS volatile profile of black garlic vs fresh garlic: Evolution along fermentation and behavior under heating. *LWT-Food Science and Technology*, 80: 98-105, doi: 10.1016/j.lwt.2017.02.010
- Morbidoni, L., Arterburn, J.M., Young, V., Mullins, D., Mulrow, C., Lawrence, V. (2001). Garlic: Its history and adverse effects. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 1(1): 63-83, doi: 10.1080/J157v01n01_06
- Munch, R., Barringer, S.A. (2014). Deodorization of garlic breath volatiles by food and food components. *Journal of Food Science*, 79(4): C526-C533, doi: 10.1111/1750-3841.12394
- Negishi, O., Negishi, Y., Ozawa, T. (2002). Effects of food materials on removal of Allium-specific volatile sulfur compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13): 3856-3861, doi: 10.1021/jf020038q
- Negishi, O., Negishi, Y., Yamaguchi, F., Sugahara, T. (2004). Deodorization with ku-ding-cha containing a large amount of caffeoyl quinic acid derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17): 5513-5518, doi: 10.1021/jf049693j
- Nikolić, I., Dokić, L., Krstonošić, V., Šereš, Z., Šoronja-Simović, D. (2014). Possibility of the production of functional low-fat food spread of hull-less pumpkin seed flour from rheological and textural aspect. *Journal of Texture Studies*, 45(4): 324-333, doi: 10.1111/jtxs.12078
- Ozcan-Sinir, G., Barringer, S.A. (2021). Deodorization of garlic odor by fresh and dried herbs using SIFT-MS. *The Journal of FOOD*, 46(2): 358-366, doi: 10.15237/gida.GD21029
- Qiu, Z., Zheng, Z., Zhang, B., Sun-Waterhouse, D., Qiao, X. (2020). Formation, nutritional value, and enhancement of characteristic components in black garlic: A review for maximizing the goodness to humans. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2): 801-834, doi: 10.1111/1541-4337.12529
- Sasaki, J.I., Lu, C., Machiya, E., Tanahashi, M., Hamada, K. (2007). Processed black garlic (*Allium sativum*) extracts enhance anti-tumor potency against mouse tumors. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1(2): 278-281.
- Sharma, S., Shankar, T.P., Koirala, B. (2011). Halitosis: A serious social problem. *Health Renaissance*, 9(2): 106-111, doi: 10.3126/hren.v9i2.4983
- Shin, J.H., Lee, C.W., Oh, S.J., Yun, J., Kang, M.R., Han, S.B., ... Kang, J.S. (2014). Hepatoprotective effect of aged black garlic extract in rodents. *Toxicological Research*, 30(1): 49-54, doi: 10.5487/TR.2014.30.1.049
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178, doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Stevinson, C., Pittler, M.H., Ernst, E. (2000). Garlic for treating hypercholesterolemia: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Annals of Internal Medicine*, 133(6): 420-429, doi: 10.7326/0003-4819-133-6-200009190-00009
- Tekinsen, O.C., Dogruer, Y. (2000). Her Yönuyle Pastırma. Selçuk Üniversitesi Basımevi, 124, Konya, Türkiye.
- Turan, E., Şimşek, A. (2022). Black garlic as a substitute for fresh garlic to reduce off-lavor and enhance consumer acceptance and bioactive properties in cemen paste. *Journal of Food Processing*

- and Preservation, 46(2): e16246, doi: 10.1111/jfpp.16246
- Toledano-Medina, M.A., Pérez-Aparicio, J., Moreno-Rojas, R., Merinas-Amo, T. (2016). Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. *Food Chemistry*, 199: 135-139, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.11.128
- Wang, D., Feng, Y., Liu, J., Yan, J., Wang, M., Sasaki, J.I., Lu, C. (2010). Black garlic (*Allium sativum*) extracts enhance the immune system. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1): 37-40.
- Yetim, H., Ekici, L., Ozcan, C., Ozturk, I., Tornuk, F., Karaman, S. (2017). Effects of some food juices and additives on some physicochemical, textural, color, microbiological and sensory properties of cemen paste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3): e12950, doi: 10.1111/jfpp.12950
- Yun, H.M., Ban, J.O., Park, K.R., Lee, C.K., Jeong, H.S., Han, S.B., Hong, J.T. (2014). Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. *Pharmacology & Therapeutics*, 142(2): 183-195, doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.12.005
- Zhang, X., Li, N., Lu, X., Liu, P., Qiao, X. (2016). Effects of temperature on the quality of black garlic. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7): 2366-2372, doi: 10.1002/jsfa.7351

LAURİK ASİT OLEOJELLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZE EDİLMESİ

Eda Keskin Uslu¹, Emin Yılmaz^{2*}

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ezine Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Ezine, Çanakkale, Türkiye

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Geliş / Received: 06.06.2022; Kabul / Accepted: 17.10.2022; Online baskı / Published online: 04.11.2022

Keskin-Uslu, E., Yılmaz, E. (2022). Laurik asit oleojellerinin geliştirilmesi ve karakterize edilmesi. GIDA (2022) 47 (6) 992-1004 doi: 10.15237/ gida.GD22066

Keskin-Uslu, E., Yılmaz, E. (2022). Development and characterization of lauric acid oleogels GIDA (2022) 47 (6) 992-1004 doi: 10.15237/ gida.GD22066

ÖZ

Bu çalışmada laurik asit (LA) oleojelatörü Span 60 ve Pluronic F68 (%10 poloksamer 188) emülgatörleriyle birlikte kullanılarak ayçiçek yağı oleojelleri geliştirilmiştir. Geliştirilen oleojellerin fizikokimyasal, termal, yapısal ve reolojik özellikleri belirlenmiştir. Sadece LA içeren (%20) oleojellerin jel oluşum zamanının %15 LA ve %5 emülgatör içeren oleojellerden daha kısa olduğu, LA konsantrasyonundaki artışın jel yapı oluşum zamanını kısalttığı gözlenmiştir. LA konsantrasyonu ve emülgatör çeşidine bağlı olarak oleojellerin renk değerlerinde farklılıklar görülürken tüm oleojel örneklerinin yağ bağlama kapasitelerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Polarize ışık mikroskobu görüntülerinde oleojellerin ince kristal yapılar oluşturduğu gözlenirken, X-ışını kırınım deseni β ve β' polimorf kristallerinin varlığını kanıtlamıştır. Reolojik analizlerle geliştirilen oleojellerinin yapısal geri dönüşüm yeteneğinin olduğu belirlenmiştir. Emülgatör ilavesinin daha düşük konsantrasyonlarda LA ile oleojel oluşumuna olanak sunduğu, aynı zamanda daha dayanıklı jel yapı oluşturabildiği reolojik testlerle tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: laurik asit, emülgatör, oleojel, reoloji, mikroyapı, stabilite

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF LAURIC ACID OLEOGELS

ABSTRACT

In this study, sunflower oil oleogels were developed with lauric acid, Span 60, and Pluronic F68 (10% poloxamer 188). Physicochemical, thermal, structural, and rheological properties of the oleogels were determined. The gel formation time of oleogels containing only LA (20%) was shorter than oleogels containing 15% LA and 5% emulsifiers, and an increase in LA concentration shortened the gel formation time. While there were differences in the color values of the oleogels depending on the LA concentration and emulsifier type, the oil binding capacity of all oleogel samples were quite high. The crystalline structures were observed under polarized light microscope, and the X-ray diffraction patterns proved the existence of β and β' polymorph crystals. Rheological analyses indicated that oleogels had good structural recovery ability. Further, addition of emulsifier allowed oleogel formation with lower concentrations of LA, and at the same time the gel stability was enhanced with emulsifier.

Keywords: lauric acid, emulsifier, oleogel, rheology, microstructure, stability

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: eyilmaz@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018

☎: (+90) 286 218 0541

Eda Keskin Uslu; ORCID no: 0000-0002-8266-7137

Emin Yılmaz; ORCID no: 0000-0003-1527-5042

GİRİŞ

Yemeklik yağlar geleneksel yağ modifikasyon teknikleriyle yapılandırılmaktadır. Bilinen en eski yağ modifikasyon teknikleri arasında yağ hidrojenasyonu, interesterifikasyon, fraksinasyon ve karıştırma-soğutma işlemleri bulunmaktadır (O'Brien, 2004). Likit yağlar geleneksel metotlarla yapılandırılırken yağ asitlerinin *cis* formundan *trans* formuna izomerasyonu yağda *trans* ve/veya doymuş yağ asitlerinin artışına sebep olmaktadır. Doymuş ve *trans* yağların aşırı tüketimi kardiyovasküler sağlık sorunlarını beraberinde getirmektedir. Likit yağların yapılandırılmasına alternatif olan 'oleojelasyon/organojelasyon teknolojisi'nde' yağ asitleri bileşiminde ve izomerisinde herhangi bir değişim oluşturmaksızın yağlar modifiye edilebilmektedir. Bu işlem likit yağ içerisine eklenen organojelatör/oleojelatör ajanlarıyla sağlanmakta, yağa katı/yarı-katı görünümünde jel formu kazandırılmaktadır (Keskin Uslu ve Yılmaz, 2019).

Oleojelatörler, apolar çözücü içinde fibriller veya çökelti kristalleri meydana getirerek veya açılmış polimer zincirlerinin birbirleriyle belli noktalarda temas etmesiyle üç boyutlu ağ oluşturarak likit yağı jelleştirmektedirler. Likit yağ ve oleojelatör arasında ve oleojelatör moleküllerinin kendi aralarında oluşan elektrostatik, van der Waals etkileri, hidrojen bağları ve π - π istiflemeleri jelleşmeden sorumlu etkileşimler arasında yer almaktadır (Singh vd., 2017). Oleojellerin yapılandırılmasında görev alan oleojelatörler, düşük ve yüksek molekül ağırlıklı (LMOG ve HMOG'lar) olarak ikiye ayrılmaktadır. LMOG'ler daha çok yağda yeniden kristalleşme ve çökelti oluşturma mekanizmasıyla, HMOG'lar ise polimerin yağda çözündürülmesi ve soğutulmasıyla oluşturulan supramoleküler ağlarla yağı yapılandırmaktadır (Davidovich-Pinhas, 2016). Etil selüloz, bazı proteinler ve bazı gıda polisakkaritleri HMOG'lara örnek olarak verilebilmektedir. LMOG'lere ise yağ asitleri, yağ alkoller, mumlar, mum esterleri, sorbitan esterleri, fitosteroller ve mono- ve di-gliseritler örnek olarak verilebilmektedir (Hwang vd., 2020).

Yağ asitleri dört karbondan başlayan ve otuzun üzerinde karbon atomu içerebilen, molekül yapısının bir ucunda metil grubu (CH_3) diğer ucunda karboksil grubu (COOH) bulunan hidrokarbon sınıfı maddelerdir. Laurik asit (LA, dodekanoik asit) 12 karbon zincir uzunluğuna sahip, doymuş yapılı, hafif parlak beyaz renkli toz formunda, hindistan cevizi yağında yaygın olarak bulunan bir orta zincirli yağ asididir (Harris vd., 2019). Literatürde stearik asit ve risinoleik asit ile yapılmış oleojel çalışmaları bulunmaktadır (Co ve Marangoni, 2012; Uvanesh vd., 2016). Ancak tek başına laurik asit ile olan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Doğada yaygın olarak bulunan, elde edilmesi nispeten kolay ve ucuz olan orta zincir uzunluklu laurik asitin oleojel oluşturma potansiyeli bu makalenin araştırma konusunu oluşturmaktadır.

Bu çalışmanın amacı ayçiçek yağının yapılandırılmasında LA'nın kullanılması ve ilave edilen bazı emülgatörler ile daha düşük konsantrasyonda LA içeren oleojellerin geliştirilmesidir. LA'nın Span 60 ve Pluronic F68 emülgatörleri ile ayçiçek yağı oleojelleri hazırlanmış ve elde edilen ürünlerin polarize ışık mikroskobu (PLM) ve X-ışını kırınım (X-RD) desenleri kullanılarak yapısal özellikleri, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile termal özellikleri, reometre ile reolojik karakterizasyonu ve yaygın bazı fizikokimyasal özellikleri ölçülmüş ve örnekler birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçların laurat oleojelleri için bazı yeni kullanım alanlarının önünü açacağı beklenmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyaller

Çalışmada kullanılan rafine ayçiçek yağı (100 g üründe; 100 g yağ, 10 g doymamış, 33 g tekli doymamış, 57g çoklu doymamış yağ, 0 mg kolesterol, 0 g karbonhidrat, 0 g protein) Bırayağ, Trakya Birlik Yağ fabrikasından (Edirne, Türkiye) temin edilmiştir. Laurik asit, Jinan Qinmu Fine Chemical Co. Ltd. (Jinan, Çin)'den, Pluronic F68 (%10 poloksamer 188 çözeltisi), Span 20, Span 60, Span 80, Tween 40 ve Tween 60 Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Taufkirchen, Almanya)'den satın alınmıştır. Span 65, Tween 20, Tween 80 Merck

Schuchardt OHG (Hohenbrunn, Almanya) ve soya lesitini Kimbiotek Kimyevi Maddeler San. Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye) şirketlerinden tedarik edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm kimyasal madde ve solventler analitik saflıkta olup ve Sigma Chem. Co. (St. Louis, MO, ABD) ve Merck'den (Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır.

Yöntemler

Olejelerin Hazırlanması

Bir seri ön denemeye LA'nın minimum jel oluşturma konsantrasyonu (C*) ağırlıkça %20 olarak belirlenmiştir. Katılan LA konsantrasyonunu %20'den %15'e düşürmek için LA-emülgatör kombinasyonları da ön denemeye çalışılmıştır. Bu amaçla ağırlıkça 80:15:5 oranlarında ayçiçek yağı: laurik asit: emülgatör karışımları hazırlanmış, su banyosunda 90 °C'de 20 dak ısıtılarak bileşenlerin tam ergimesi ve

homojen olarak karışması sağlanmış ve son olarak da ergimiş karışım oda sıcaklığında ($20\pm 3^{\circ}\text{C}$) 24 saat soğutularak oleojellerin oluşması sağlanmıştır. Denemeye alınan emülgatörler Pluronic F68, Span 20, Span 60, Span 65, Span 80, Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 ve soya lesitindir. Bunlardan sadece Pluronic F68 ve Span 60 emülgatörleri başarılı oleojel oluşturmuşlardır. Son olarak Çizelge 1'de verilen formülasyonlar kullanılarak 3 farklı oleojel yukarıda açıklanan teknikte hazırlanmıştır. Bunlardan tek başına laurat oleojeli (LA-O) kendi C* değeri olan ağırlıkça %20 katım oranında ve ağırlıkça %5 emülgatör (Pluronic F68 ve Span 60) ve %15 laurat içeren diğer iki oleojel (LA/F68-O ve LA/SP60-O) hazırlanmıştır. Hazırlanan oleojel örnekleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Parantez içinde verilen kısaltma isimler makalenin bundan sonraki kısımlarında kullanılmıştır.

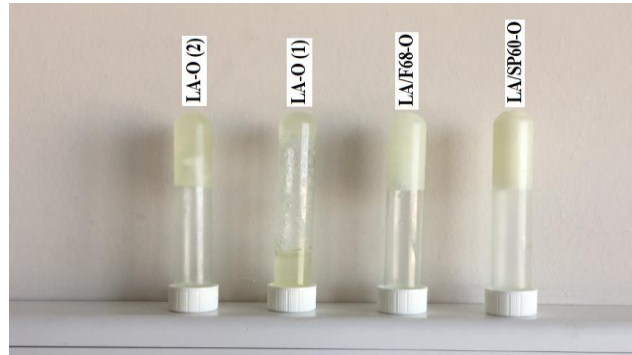
Çizelge 1. Hazırlanan oleojellerin ürün formülasyonları

Table 1. The product formulations of the prepared oleogels

	Ayçiçek Yağı (%) <i>Sunflower Oil (%)</i>	Laurik Asit (%) <i>Lauric Acid (%)</i>	Emülgatör (%5) <i>Emulsifier (5%)</i>
LA-O	80	20	-
LA/F68-O	80	15	Pluronic F68
LA/SP60-O	80	15	Span 60

LA-O: %20 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli

LA-O: 20% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel



Şekil 1. Hazırlanan oleojel örnekleri (LA-O(2): %20 laurik asit oleojeli, LA-O(1): %15 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli, örnek fotoğrafları $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta çekilmiştir)

Figure 1. The prepared oleogel samples (LA-O(2): 20% lauric acid oleogel, LA-O(1): 15% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel, sample pictures were taken at $20\pm 3^{\circ}\text{C}$)

Oleojellerin Fiziksel Özellikleri

Jel oluşum zamanının (JOZ) belirlenmesi için, içinde taze oleojel bulunan deney tüpleri 90 °C'deki su banyosunda 30 dak bekletilerek tamamen ergitilmiş ve daha sonra tekrar oda sıcaklığına (20±3 °C) alınarak, aynı anda kronometre de başlatılarak yeniden jel oluşması için geçen süre dakika olarak ölçülmüştür. Jel oluşumunu kontrol etmek için tüpler 90° çevrilerek içeriğin akış durumu kontrol edilmiş ve eğer akış yoksa jelleşmenin tamamlandığına hükmedilmiştir (Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021).

Yağ bağlama kapasitesinin (%YBK) ölçülmesi önceki çalışmamızdaki tekniğe göre yapılmıştır (Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021). Bu amaçla, 90 °C'deki su banyosunda 30 dak bekletilerek tamamen ergitilmiş taze oleojel örneklerinden 1 ml (a) kadar eppendorf tüplerine aktarılmış ve tartılmıştır. Oleojel içeren eppendorf tüpleri +4°C sıcaklıkta 1 saat bekletilmiş ve jelleştirilmiştir. Jel oluşumu sonrasında eppendorf tüpleri (eppendorf tüpü+örnek) yeniden tartılmıştır (b). Daha sonra 20 °C sıcaklıkta 10.000 rpm hızla 15 dak santrifüj edilmiş, hemen sonrasında oda sıcaklığında (20±3°C) tüpler ters çevrilerek 3 dak boyunca drenaj işlemi uygulanarak sıızan sıvı yağ ayrılmıştır. Tüpler drenaj işleminin ardından yeniden tartılmıştır (c). Oleojellerin %YBK aşağıda verilen eşitlikler ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Serbest Yağ} = \frac{(b-a)-(c-a)}{(b-a)} \times 100 \quad \% \text{YBK} = 100 - \text{Serbest yağ}$$

Taze oleojellerin renkleri Minolta CR-400 (Konica, Minolta Sensing, Osaka, Japonya) ile CIE lab standardına göre ölçülmüştür. CIE standardında L değeri parlaklık/koyuluk, a* değeri kırmızılık (+) / yeşillik (-), b* değeri ise sarılık (+) / mavilik (-) olarak ifade edilmektedir. Renk ölçümü taze oleojel örneklerinde yapılmıştır (Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021).

Oleojellerin Mikroyapısal Özellikleri

Taze oleojel örneklerinin X-ışınları kırınım desenleri AOCS Cj 2-95 metodu uygulanarak PANalytical Empyrean (Hollanda) cihazı ile belirlenmiştir (AOCS, 2012). Üretilen oleojeller 24 saat boyunca oda sıcaklığında (20±3 °C)

bekletilmiş ve cihazın numune haznesine dikkatlice yerleştirilmiştir. Açılmalı taramalar Cu radyasyonu (λ (CuK α) = 1.54056 Å voltaj 40 kV akım 40 mA) ile 20= 2.0-50° tarama aralığında 0.02 basamak ve 2°/dak tarama hızında gerçekleştirilmiştir. Veri analizi X'Pert HighScore Plus yazılımı (Malvern Panalytical Ltd., Royston, UK) ile yapılmıştır. Bu analizde amaç oda sıcaklığındaki polimorfik kristal tiplerini belirlemek olduğu için örnekler oda sıcaklığında 24 saat bekletilerek kristal polimorflarındaki olası dönüşümlerin tamamlanması sağlanmıştır.

Taze oleojel örneklerinin polarize ışık mikroskobu görüntülerinin analizi için tamamen ergitilmiş akışkan formdaki oleojelden küçük bir miktar lam üzerine damlatılarak hava kabarcığı oluşumuna müsaade etmeden lamel ile kapatılmıştır. Jel oluşumu için oda sıcaklığında 1 saat beklendikten sonra Olympus CX 31 polarize ışık mikroskobu (PLM, Olympus Optical Co., Ltd., Japonya) altında incelenerek sisteme bağlı CCD kamera ekipmanı (Canon) ile görüntüler kaydedilmiştir. Bu analizde oleojel lam üzerine yerleştirmek için zorunlu olarak ergitildiği için, lamel kapatıldıktan sonra 1 saat yeniden jelleşmesi için bekletilmiştir. Bu süre jelleşme için yeterli olduğundan daha uzun süre beklenilmesine ihtiyaç duyulmamıştır (Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021).

Oleojellerin Termal Özellikleri

Hazırlanan oleojellerin kristallenme ve ergime başlangıç, tepe sıcaklıkları ve entalpi değerleri Perkin-Elmer 4000 Serisi Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) (Groningen, Hollanda) ile ölçülmüştür. Bu amaçla, yaklaşık 8 mg oleojel örneği alüminyum pana tartılıp üzerine alüminyum kapak kapatılmıştır. Oleojel içeren panlar DSC cihazının numune bölümüne yerleştirilmiş ve uygun sıcaklık programında analiz yapılmıştır. Örnekler uygulanan sıcaklık programı, oleojellerin 20 °C'den 120 °C'ye 10 °C/dak ile ısıtılması, sonra -30 °C'ye 10 °C/dak ile soğutulması ve bu sıcaklıkta kristalizasyonun tamamen gerçekleşebilmesi için 3 dak süreyle bekletilmesinin ardından 110 °C'ye 5 °C/dak ile ısıtılması işlemidir. Elde edilen termogram grafiğinden ergime sıcaklık (T_m) ve entalpileri (ΔH_m) ile kristalizasyon sıcaklık (T_c) ve entalpileri

(ΔH_c) cihazın yazılım programı olan Pyris 1 Manager kullanılarak hesaplanmıştır (Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021).

Olejellerin Reolojik Özellikleri

Hazırlanan taze oleojel örnekleri 24 saat boyunca buzdolabında bekletilmiş ve reolojik karakterizasyonu yapılmak üzere çapraz taramalı paralel plaka geometrisiyle ($\phi = 40$ mm, aralık boşluğu 0.9 ± 0.1 mm) donatılmış ve Peltier ısıtma sistemi olan ($\pm 0.1^\circ\text{C}$) bir DHR 2 reometresi (TA Instruments, ABD) kullanılmıştır. İlk olarak her bir oleojel örneğinin doğrusal viskoelastik bölgesini (LVR) tespit etmek için 10°C sıcaklık, $0.01-100$ gerinim aralığı ve 1 Hz frekansda genlik taraması testi yapılmıştır. Gerinim taramalarında belirlenen LVR örneklerin depo (G') ve kayıp modüllerinin (G'') tespit edildiği, tüm reolojik değerlendirmelerde geçerli ölçümlerin yapılabildiği bölge olarak tanımlanmıştır (Mezger, 2014). Bu test ile belirlenen LVR gerinim değerleri sonraki testlerde sabit değer olarak kullanılmıştır. Reolojik analizlerde 10°C sıcaklığın tercih edilmesinin nedeni bu sıcaklıkta örneklerin yeterince plastik özellik gösterebiliyor olmasındandır. Oda sıcaklığı gibi daha yüksek sıcaklıklarda yapılacak ölçümde frekans ve zaman tarama testlerinden kesin doğru sonuç alınamama olasılığı bulunduğu için önceki çalışmalarımızda da tercih ettiğimiz 10°C sıcaklık tercih edilmiştir. Ayrıca yükselen sıcaklıkta oleojellerin davranışını belirlemek için de daha düşük sıcaklıktan başlanıp örnek sıcaklığı kademeli olarak 70°C 'ye kadar çıkartılarak sıcaklık rampa testi de yapılmıştır.

LVR bölgesindeki gerinim değeri (%) belirlenen oleojellerin 10°C sıcaklık ve $0.1-100$ Hz frekans aralığında frekans-tarama testi ile depo (G') ve kayıp modülleri (G'') belirlenerek jel yapı özellikleri araştırılmıştır. Ayrıca, LVR bölgesindeki gerinim değerlerinde (%) yapısal geri dönüşüm yeteneklerinin tespiti için zaman-tarama testi uygulanmıştır. Bu amaçla, 10°C sıcaklıkta üç farklı zaman bölgesinde tiksotropik özellikleri incelenmiştir. Birinci bölgede normal kuvvete karşı gösterdiği davranış için 180 s boyunca LVR'de belirlenen gerinimler, ikinci bölgede yapısal bozulma davranışını değerlendirmek için 180 s süre boyunca LVR'de belirlenen

değerlerden çok daha yüksek gerinimler ($LVR_{\text{strain}} \geq \text{Strain}$), üçüncü bölgede ise yapısal geri kazanım özelliklerini değerlendirmek için 900 s süreyle LVR'de belirlenen değerlerden çok daha düşük gerinimler ($LVR_{\text{strain}} \leq \text{Strain}$) uygulanarak oleojellerin yapısal geri-dönüşüm yetenekleri belirlenmiştir. Bu testte yüksek mekanik kuvvet uygulanarak jel yapısı kırılan oleojelin, uygulanan bu kuvvet ortadan kaldırıldıktan sonra tekrar başlangıçtaki jel haline dönme yeteneğinin varlığı ölçülmektedir (Mezger, 2014).

LVR bölgesindeki gerinim değerinde, 1 Hz frekansta uygulanan sıcaklık-rampa testi ile sıcaklığın numuneler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 1 Hz sabit frekansta, 120 s bekletme süresinde, 0°C 'den 70°C 'ye kadar örnek sıcaklığı dakikada 1°C artırılarak, örneklerin depo ve kayıp modül değerleri izlenmiştir. Böylece çevresel sıcaklık artışının oleojellerin viskoelastik davranışı üzerinde meydana getirdiği değişiklikler belirlenmiştir (Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021).

İstatistiksel Analizler

Üç farklı oleojel örneği iki farklı zamanda iki tekerrür olarak hazırlanmış, analiz edilen örneklerle ilişkin özellik ölçümleri üç paralel olarak uygulanmıştır. Toplanan verilerin ortalama değerleri, standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir. Güven seviyesi en az $\% 95$ olarak varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi uygulanmıştır. İstatistiksel analizler Minitab v.16.1 yazılımı ile yapılmıştır (Minitab, 2010).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Fiziksel Özellikler

Olejellerin jel oluşum zamanı (JOZ) sırasıyla LA-O, LA/F68-O ve LA/SP60-O için yaklaşık olarak 17.33 , 20.67 ve 110.67 dak olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Tek bileşen olarak $\%20$ konsantrasyonda LA içeren ayçiçek yağı oleojelinin JOZ'nının, LA'nın Span 60 ve F68 emülgatörleri ile $\%15$ konsantrasyonda meydana getirdiği oleojellerin JOZ'ından daha kısa olduğu belirlenmiştir. Katılan oleojeletör oranı arttıkça, JOZ'un kısalması literatüre göre de beklenen bir durumdur. Yağ asitleri kristal kümeleri oluşturarak jelleşme sağlarken, farklı oleojeletörler

farklı mekanizmalarla jel oluşturmaktadır. Genel olarak JOZ, jel ajanının türüne, jelleştirme mekanizmasına ve konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir (Co ve Marangoni, 2012; Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021). Jelatör konsantrasyonundaki artış jelleşmenin daha kısa sürede gerçekleşmesini sağlamaktadır. Bu durum gıda uygulamalarında zamandan tasarruf sağlaması bakımından olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmektedir. Fakat yüksek miktarda jel ajanı kullanımı üründe bazı lezzet/aroma kusurları, renk farklılıkları veya diğer sorunlara yol açabileceği için oleojelatör seviyesinin maksimum

%10 civarında olması önerilmiştir (Co ve Marangoni, 2012; Sagiri vd., 2018). Bu bakımdan %15-20 gibi yüksek konsantrasyonlarda jel ajanı ilavesi ile oleojel eldesi LA'nın oleojelatör olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Özellikle gıda ürünlerinde bu yüksek oran aynı zamanda üründe serbest yağ asitliği değerinin de yükselmesine neden olabilecektir. Genel olarak 12 karbonlu doymuş laurik asit gıda dışı alanlarda kullanılmak üzere oleojelatör olarak kullanılabilir durumdadır. Emülgatörle birlikte konsantrasyon %15'e düşürülse bile gıda uygulamaları için halen yüksek bir oran olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 2. Hazırlanan oleojellerin bazı fizikokimyasal özellikler

Table 2. Some physico-chemical properties of the prepared oleogels

	Jel Oluşum Zamanı (dak) <i>Gel Formation Time (min)</i>	Yağ Bağlama Kapasitesi (%) <i>Oil Binding Capacity (%)</i>	L Değeri <i>L Value</i>	a* Değeri <i>a* Value</i>	b* Değeri <i>b* Value</i>
LA-O	7.33±0.58 ^c	99.98±0.01 ^a	61.26±0.38 ^c	1.09±0.02 ^a	6.22±0.08 ^b
LA/F68-O	20.67±0.58 ^b	99.99±0.01 ^a	40.30±0.15 ^b	-1.43±0.05 ^b	5.07±0.17 ^b
LA/SP60-O	110.67±1.53 ^a	99.82±0.24 ^a	76.97±1.49 ^a	-2.53±0.02 ^c	8.53 ±0.58 ^a

LA-O: %20 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki istatistik farkı gösterir ($P < 0.05$)

LA-O: 20% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel. Different letters within the same column indicate the statistical differences among the samples ($P < 0.05$)

Hazırlanan oleojellerin yağ bağlama kapasiteleri (YBK) Çizelge 2'de verilmiştir. Tüm oleojel örneklerinin YBK'nin %99'un üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Oleojeli meydana getiren kristal ağ yapısının likit yağı iyi derecede hapsedebilme yeteneği yağ bağlama kapasitesi olarak tanımlanmaktadır. Bu kavram, bir oleojelatörün jel oluşturma kapasitesi ve stabilitesi hakkında fikir veren bir parametredir. Ağsı yapı tarafından tutulan likit yağ ne kadar fazlaysa oleojelin yağ bağlama kapasitesi de o kadar yüksektir (Co ve Marangoni, 2012; Keskin Uslu ve Yılmaz, 2019 ve 2021). Likit yağın kristal yağ içine immobilizasyonu mikroyapısal faktörlere ve moleküller arası etkileşime bağlıdır. Bu durum likit yağın kristal ağ içindeki mikro gözeneklere hapsedilmesi ve kristal triaçilgliserol nanoparçacıklarının yüzeyine yağın tutunması olmak üzere iki ana mekanizmayla gerçekleştirilmektedir (Mattice ve Marangoni, 2018). Bu durumda LA'nın oleojel yapısında

bulunan likit ayçiçek yağının hemen hemen tamamını immobilize edebildiği söylenebilmektedir.

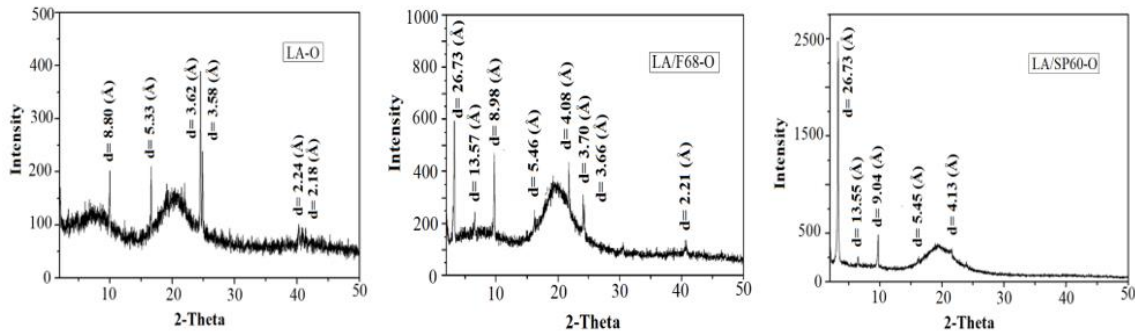
Oleojel örneklerine ait renk değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. CIE renk koordinat sisteminde L değeri açıklık-koyuluk koordinatı olup L=0 değeri siyah, L=100 değeri beyaz renk ile, +a* = kırmızı - a* = yeşil ve +b* = sarı - a* = mavi ile ifade edilmektedir. Sonuçlar incelendiğinde en yüksek L değerine sahip oleojelin LA/SP60-O, en düşük oleojelin ise LA/F68-O olduğu dolayısıyla en beyaz oleojel örneğinin Span 60 ilaveli LA oleojeli olduğu görülmüştür. Tüm oleojellerin a* değerlerinin negatif olduğu, yani bir miktar yeşilimsi renge sahip oldukları, b* değerlerinin pozitif olduğu, yani daha çok sarı rengin hakim olduğu gözlenmiştir. Oleojellerin renk özelliklerini belirleyen faktörlerin kullanılan oleojelatör ve stok likit yağ olduğu bildirilmiştir (Mattice ve Marangoni, 2018; Keskin Uslu ve

Yılmaz, 2021). Tüm oleojellerde likit yağ olarak ayçiçek yağı kullanılması sebebiyle renk değerlerindeki farklılığının ilave edilen laurik asit oleojelatörü ve emülgatörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Mikroyapısal Özellikler

Oleojel örneklerinin polimorfik formlarını belirlemek için ölçülen X-ışını kırınım desenleri Şekil 2’te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde LA-O için 3.58, 3.62 ve 5.33 Å, LA/F68-O için 3.66, 3.70 ve 4.08 Å, son olarak LA/SP60-O için 4.13 ve 5.45 Å değerlerinde farklı yoğunlukta pikler tespit edilmiştir. Kristal polimorfi sınıflandırmasına göre numunelerde 4.2 Å

değerinde tek bir pik gözleniyorsa α polimorfu, 3.8-4.2 Å pik noktaları içeriyorsa β' ve 4.6 Å konumunda bir pik mevcut ise β poliformik formu yapıya sahip olduğu belirtilmiştir (AOCS, 2012). Bu bilgiler doğrultusunda pik konumları tam olarak örtüşmese de oleojellerin çoğunlukla β ve β' tipindeki kristalleri birlikte içerdiği gözlenmiştir. Eisa vd. (2020) çalışmalarında kanola yağını %10 LA ve %2 etil selüloz ile yapılandırarak oleojeller üretmiş, X-ışını kırınım deseni sonuçlarında 3.7-4.1 Å değerlerinde kısa aralıklı yansıma piklerinin varlığını bildirmiştir. Bulgular genel olarak literatür ile örtüşmektedir.



Şekil 2. Hazırlanan oleojellerin X-ışınları kırınım desenleri (LA-O: %20 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli)

Figure 2. The X-ray diffraction patterns of the prepared oleogels (LA-O: 20% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel)

Örneklerin PLM görüntüleri Şekil 3’te verilmiştir. Tüy benzeri kristallerin yanı sıra yoğun çökelti şeklinde meydana gelen kristal yapıların varlığı tespit edilmiştir. Span 60 ve Pluronic F68 emülgatör ilaveli LA oleojellerinin (Şekil 3b ve c) morfolojilerinin yalnızca LA katkılı oleojellerden (Şekil 3a) büyük farklılık göstermediği belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada kanola yağının farklı zincir uzunluğuna sahip iki yağ asidi (laurik ve behenik asitler) ile farklı konsantrasyon ve farklı kombinasyonları ile elde edilen oleojellerden; laurik asit (LA) bazlı oleojellerde tüy benzeri kristaller, behenik asit (BA) bazlı oleojellerde ise uzun iğne benzeri kristaller, LA:BA karışımı içeren oleojellerde ise kısa iğne benzeri kristallerin varlığı polarize ışık mikroskobu görüntülerinde bildirilmiştir (Harris vd., 2019). Benzer bir başka

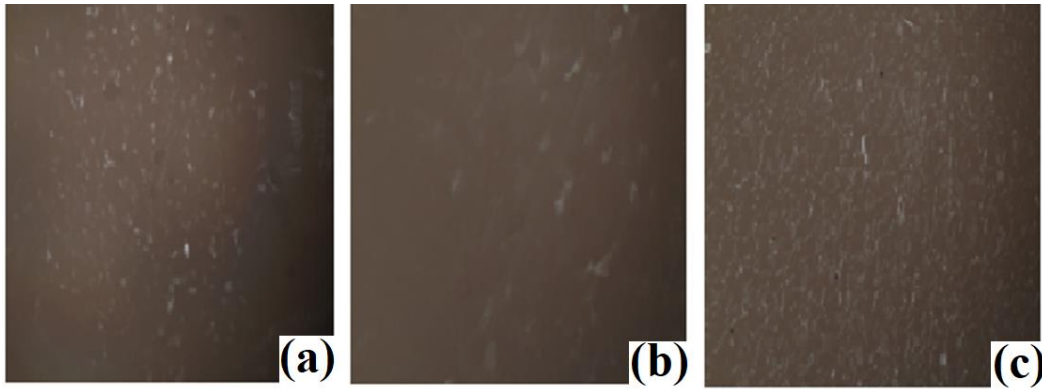
çalışmada stearik asit bazlı oleojellerde sürekli dallanma gösteren ince uzun lifli kristallerin varlığı tespit edilmiş ayrıca stearik asit konsantrasyon artışına bağlı olarak ağın ve kristallerin yoğunluğunun da arttığı bildirilmiştir (Sagiri vd., 2018). Hazırlanan oleojellerin morfolojik özellikleri literatür bulgularıyla benzetilmektedir.

Termal Özellikler

Oleojelatör olarak kullanılan LA ve hazırlanan üç farklı oleojelin kristalleşme ve ergime başlangıç sıcaklıkları ($Onset_c$ - $Onset_m$, °C), tepe sıcaklıkları (T_c - T_g , °C) ve entalpi değerleri (ΔH_c - ΔH_m , J/g) Çizelge 3’te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde LA’nın kristalleşme başladığı sıcaklık değerinin 40.98 °C olduğu ve 37.02 °C sıcaklıkta kristalleşmenin tamamen gerçekleştiği, ergimeye

başladığı sıcaklık derecesinin 43.39 °C olduğu ve 49.08 °C sıcaklıkta ise tamamen ergimenin gerçekleştiği tespit edilmiştir. Literatürde saf LA'nın kristalizasyon ve ergime sıcaklık değerlerinin sırasıyla 40.58 °C ve 45.48 °C olarak belirlenmiştir (Eisa vd., 2020). Hazırlanan LA-O örneğinin 17.33 °C'de kristalleşmeye başladığı, 12.52 °C sıcaklıkta kristalleşmenin tamamlandığı, 11.04 °C'de ergimeye başladığı ve 24.01 °C sıcaklıkta ise ergimenin tamamlandığı belirlenmiştir. LA oleojellerinin saf LA'ya kıyasla

daha düşük kristalizasyon ve ergime tepe sıcaklıklarına sahiptir. Kanola yağının %10 konsantrasyonda LA ile yapılandırıldığı bir çalışmada oleojellerin kristalizasyon ve ergime tepe sıcaklığı sırasıyla 5.7 °C ve 22.35 °C olarak belirlenmiştir (Eisa vd., 2020). Literatürdeki çalışmada kullanılan likit yağ ve oleojeletör saflık değerleriyle bu çalışmada kullanılan materyallerin olası farklılığı göz ardı edildiğinde sonuçlar paralellik göstermektedir.



Şekil 3. Hazırlanan oleojellerin polarize ışık mikroskobu (PLM) görüntüleri (a: %20 laurik asit oleojeli, b: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, c: laurik asit-Span 60 oleojeli, 40x büyütme)

Figure 3. The polarized light microscopy (PLM) images of the prepared oleogels (a: 20% lauric acid oleogel, b: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, c: lauric acid-Span 60 oleogel, 40x magnification)

Çizelge 3. Hazırlanan oleojellerin termal özellikleri

Table 3. The thermal properties of the prepared oleogels

	Kristalizasyon Crystallization			Ergime Melting		
	Başlangıç (°C) Onset (°C)	Pik (T _c , °C) Peak (T _c , °C)	ΔH _c (J/g) ΔH _k (J/g)	Başlangıç (°C) Onset (°C)	Pik (T _m , °C) Peak (T _c , °C)	ΔH _m (J/g) ΔH _e (J/g)
LA	40.98±0.13	37.02±0.12	-185.05±1.89	43.39±0.02	49.08±0.35	170.03±1.65
LA-O	17.33±5.13	12.52±7.41	-22.90±2.98	11.04±0.95	24.01±1.07	22.40±3.56
LA/F68-O	19.21±1.44	13.60±1.84	-20.76±5.52	15.46±4.57	25.14±0.82	20.87±0.65
LA/SP60-O	10.40±0.04	6.27±0.13	-22.63±0.78	12.41±0.11	24.56±0.01	21.34±0.83

LA-O: %20 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli

LA-O: 20% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel

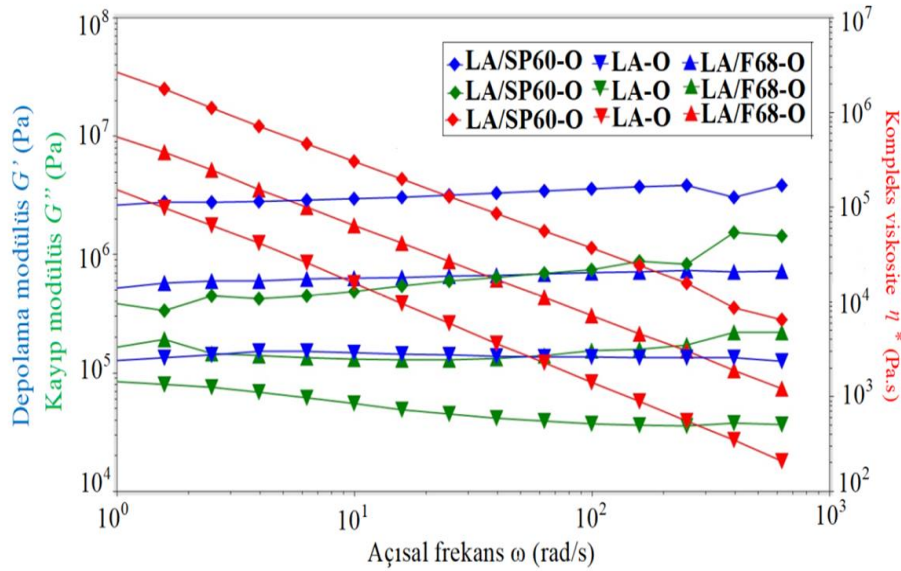
Reolojik Özellikler

Oleojellerin reolojik karakterizasyonu uygulanan frekans-tarama, zaman-tarama ve sıcaklık-rampa testleri gibi osilasyon testleri ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle geçerli reolojik ölçümler yapabilmek için gerinim-taraması testleri

yapılmış ve örneklerin doğrusal viskoelastik bölgeleri (LVR) LA-O, LA/F68-O ve LA/SP60-O için %0.04, %0.02 ve %0.035 gerinim değerleri olarak belirlenmiştir. İlk olarak LVR bölgesi içinde 10 °C sıcaklık ve 1-1.000 rad/s açısal frekans aralığında uygulanan frekans-tarama

testleri ile sabit genlikte salınım frekansı artışı ile oleojellerin G' , G'' ve η^* değerleri belirlenmiştir. Ölçüm sonuçlarına ait grafik Şekil 4'te sunulmuştur. Bir jel örneğinde ölçülen depo modülü (G'), o örneğin katıya ne kadar benzediğinin ve kayıp modül de (G'') o örneğin sıvılara ne kadar benzediğinin bir ifadesidir (Mezger, 2014). Oleojellerin tümünde ölçüm yapılan frekans aralığında her zaman $G' > G''$ olduğu, dolayısıyla her birinin jel yapıya sahip olduğu ve depolama süresince de jel yapının herhangi bir faz ayrımı olmadan korunabildiği tespit edilmiştir. Ölçüm aralığında uygulanan

frekansta artış olmasına rağmen $G' > G''$ durumunun korunması örneklerin gerçek jel yapılarını deformasyona karşı koruyabildiğini göstermiştir. Oleojellerin jel dayanıklılığı bakımından sıralanışı, depo modül değerlerinin büyüklüğü dikkate alınarak $LA/SP60-O > LA/F68-O > LA-O$ şeklinde belirlenmiştir (Şekil 4). Dolayısıyla LA'nin emülgatörlerle kombine kullanımının oleojel yapısını geliştirdiği, sertliğini artırdığı ve daha uzun süre dayanabileceği sonucunu göstermiştir. Bu pratik kullanım açısından oldukça olumlu bir sonuçtur.



Şekil 4. Hazırlanan oleojellerin frekans-tarama testi grafikleri (LA-O: %20 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli)

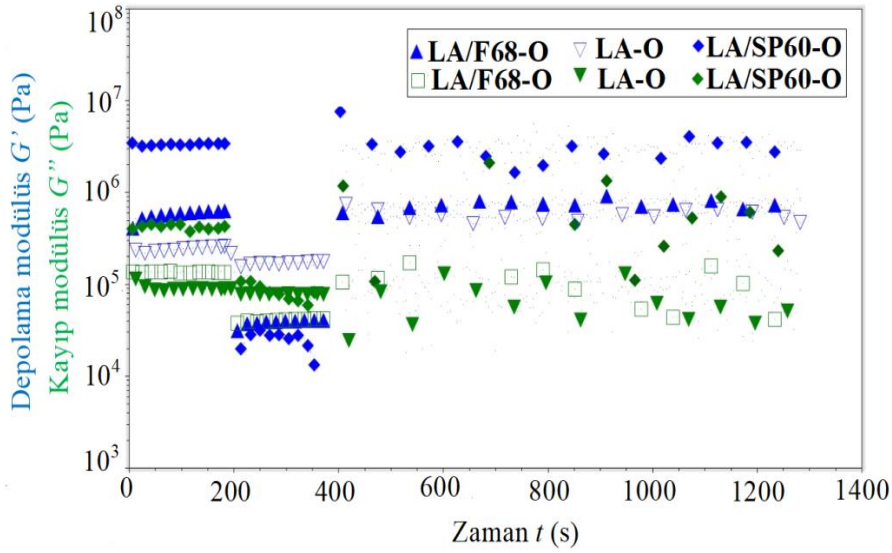
Figure 4. The frequency-sweep test graphics of the prepared oleogels (LA-O: 20% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel)

İkinci olarak oleojellerin zamana bağlı tiksotropik davranışlarını belirlemek için 1 Hz frekans ve 10 °C sabit sıcaklıkta üç bölge içinde (birinci bölgede LVR'de belirlenen gerinim değeri, ikinci bölgede bu değerlerin üstünde ($LVR_{strain} \geq Strain$) ve üçüncü bölgede bu değerlerin altındaki ($LVR_{strain} \leq Strain$) gerinim değerlerinde) farklı gerinim kuvveti ile zaman-tarama testleri uygulanmış ölçüm sonuçlarına ait grafik Şekil 5'te verilmiştir. Tiksotropik özellikler, büyük bir deformasyon işlemi sonrasında bir malzeme tarafından sergilenen geri-dönme (iyileşme) süresi

olarak tanımlanmaktadır (Mezger, 2014; Keskin Uslu ve Yılmaz, 2021). Birinci bölgedeki dinlenme bölgesinde oleojellerin tümünün $G' > G''$ koşulunu sağladığı yani jel yapıya sahip olduğu, ikinci bölgede üç oleojelde de yüksek kuvvete maruz kalması sebebiyle G' değerlerinde önemli düşüş gözlemlendiği ve yapısal deformasyonun olduğu ve son olarak üçüncü bölgede oleojellerin G' değerlerinin tekrar G'' değerlerinin üzerine çıktığı yani yapısal geri dönüşümün (recovery) meydana geldiği belirlenmiştir. Literatürde yer alan bir çalışmada kanola yağı

sırasıyla LA, etil selüloz ve farklı konsantrasyonlarda etil selülozun LA kombinasyonu ile yapılandırılarak oleojeller üretilmiş tiksotropik özellikleri zaman tarama testleriyle araştırılmıştır. Etil selüloz oleojeline LA

ilavesinin oleojellerin iyileştirilmiş tiksotropik performansa yol açan geri dönüşüm yeteneğini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (Eisa vd., 2020).

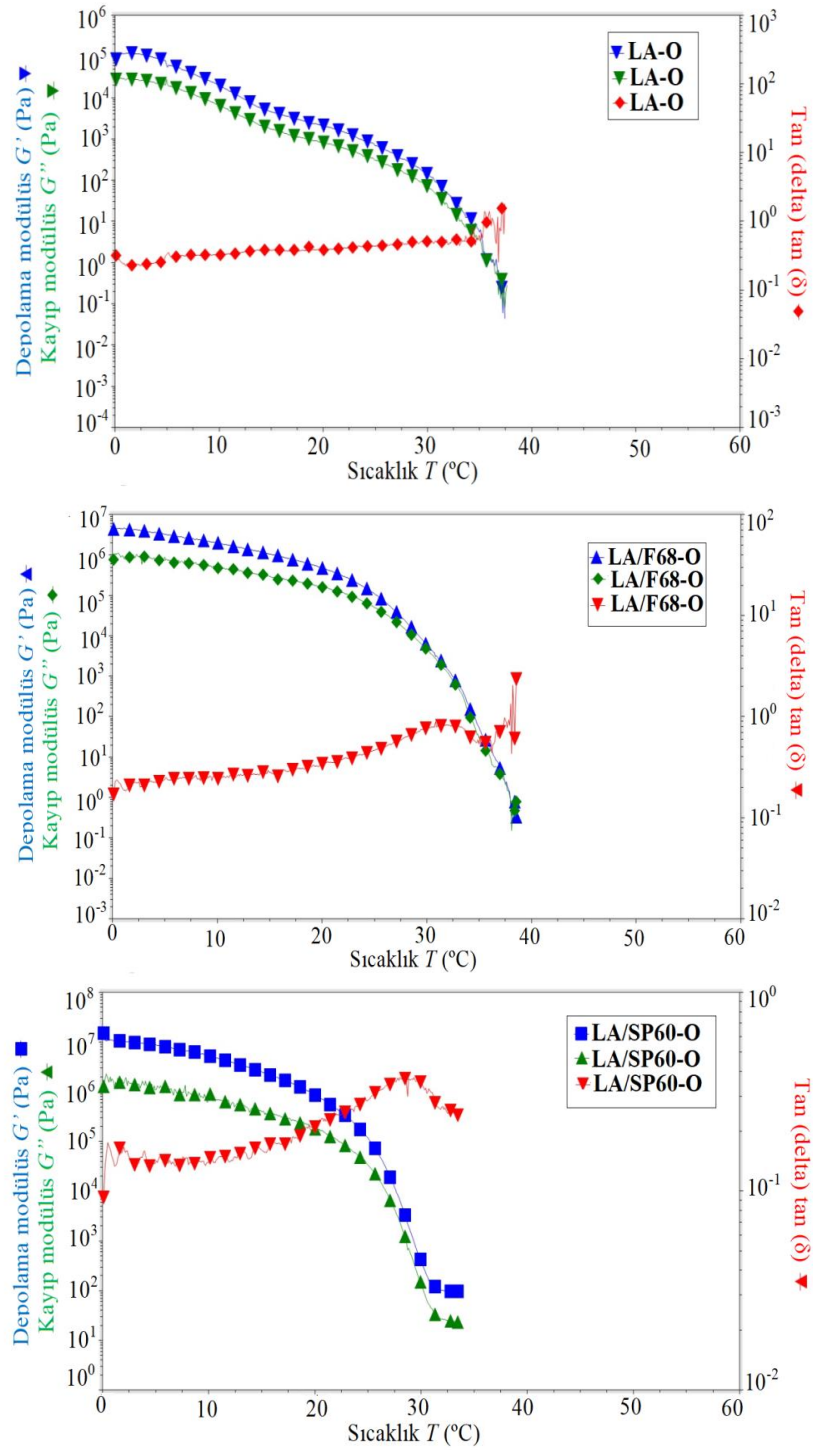


Şekil 5. Hazırlanan oleojellerin zaman-tarama testi grafikleri (LA-O: %20 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli)

Figure 5. The time-sweep test graphics of the prepared oleogels (LA-O: 20% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel)

Son olarak oleojellerin farklı sıcaklıklardaki davranışlarını incelemek için LVR'de belirlenen sabit gerinim ve 1 Hz frekansta, 120 s bekleme süresinde sıcaklık-rampa testleri uygulanmış ve sonuçlar Şekil 6'daki grafikte verilmiştir. Bu analiz ile 0 °C'den 70 °C'ye çıkıldığında oleojellerin yapısında meydana gelen değişiklikler belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde sıcaklık artışına paralel olarak depo (G') ve kayıp (G'') modül değerlerinde kademeli olarak bir azalış görülmüştür. Bir jelin stabil jel formunu koruyabildiği son sıcaklık değeri çapraz geçiş noktası ($G' = G''$) olup bu noktadan sonra jel yapı son bularak sol yapıya geçilmektedir (Mezger,

2014). Şekil 6'dan görüleceği gibi LA/SP60-O, LA/F68-O ve LA-O örneklerinde sırasıyla yaklaşık 30 °C, 28 °C ve 34 °C'de çapraz geçiş noktasına varıldığı gözlenmiştir, bu sıcaklıklardan sonrası oleojel formunu kaybedip likit forma geçmiştir. Sonuçlar DSC analizinde elde edilen sonuçlar ile birbirini desteklemektedir. Fizikokimyasal ve reolojik analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde LA oleojellerin emülgatör ilavesiyle biraz daha iyi yapı ($p < 0.05$) jel oluşturduğu ancak mum oleojelleriyle (Mattice ve Marangoni, 2018; Keskin Uslu ve Yılmaz, 2019 ve 2021) kıyaslanamayacak ölçüde düşük stabiliteli, dayanıksız ve zayıf yapıldıkları belirlenmiştir.



Şekil 6. Hazırlanan oleojellerin sıcaklık-rampa testi grafikleri (LA-O: %20 laurik asit oleojeli, LA/F68-O: laurik asit-Pluronic F68 oleojeli, LA/SP60-O: laurik asit-Span 60 oleojeli)

Figure 6. The temperature-ramp test graphics of the prepared oleogels (LA-O: 20% lauric acid oleogel, LA/F68-O: lauric acid-Pluronic F68 oleogel, LA/SP60-O: lauric acid-Span 60 oleogel)

SONUÇ

Bu çalışmada 12 karbon zincir uzunluğuna sahip laurik asit ve Span 60 - Pluronic F68 emülgatörlerinin kombinasyonunun ayçiçek yağı ile oluşturduğu oleojellerin fizikokimyasal, reolojik, yapısal ve termal özellikleri araştırılmıştır. Ayçiçek yağı yalnızca LA ile %20 konsantrasyonda oleojel oluşturabiliyor iken Span 60 ve Pluronic F68 emülgatör ilavesiyle (%5) daha düşük konsantrasyonda (%15) LA ile oleojel oluşturabilmiştir. Üstelik %15 konsantrasyonda LA ve emülgatörlerle (Span 60 veya Pluronic F68) hazırlanan oleojellerin %20 konsantrasyonda LA içeren oleojellerden daha dayanıklı bir jel yapıya sahip olduğu reolojik testlerle belirlenmiştir. Reolojik analizler ayrıca oleojellerin stabil jel formda olduğunu ve yapısal geri dönüşüm yeteneklerinin olduğunu ortaya koymuştur. Ancak laurik asidin nispeten yüksek konsantrasyonlarda oleojel oluşturma yeteneğinin, bu tür oleojellerin gıda ürünü olarak kullanımlarını sınırlandırabileceğini ortaya koymuştur. Öte yandan kolay bulunabilir ve beslenme açısından da önemli olan laurik asidin diğer oleojelatörlerle kombine edilmesiyle çok daha düşük konsantrasyonlarda da jel oluşturabileceği ve gıdalarda kullanılabileceği düşünülmektedir. Bunun için yeni araştırmalara ihtiyaç belirlenmiştir. Bu çalışmada üretilen oleojellerin gıda ürünlerinde belli oranlarda kullanımının ve gıda-dışı alanlarda kullanımının ise mümkün olduğu değerlendirilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Orjinal taslak metninin yazılması: Eda Keskin Uslu, deneyin planlanması: Emin Yılmaz ve Eda Keskin Uslu, deneyin yapılması: Eda Keskin Uslu, çalışma fikrini oluşturma: Emin Yılmaz, deney tasarımını oluşturma: Emin Yılmaz, orijinal taslağın kontrolü/düzenlenmesi: Emin Yılmaz, çalışmanın araştırılması: Emin Yılmaz ve Eda Keskin Uslu tarafından yapılmıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma (TÜBİTAK) kurumu (Proje No: TOVAG-217O094) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

AOCS. (2012). AOCS Official Method Cj 2-95. X-ray diffraction analysis of fats. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 6th Ed. 2011-2012 Methods and Additions and Revisions.

Co, E.D., Marangoni, A.G. (2012). Organogels: An alternative edible oil-structuring method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89: 749-780. doi 10.1007/s11746-012-2049-3.

Davidovich-Pinhas, M. (2016). Oleogels: a promising tool for delivery of hydrophobic bioactive molecules. *Therapeutic Delivery*, 7 (1), 1-3. <https://doi.org/10.4155/tde.15.83>.

Eisa, A.H., Laufer, S., Rosen-Kligvasser, J., Davidovich-Pinhas, M. (2020). Stabilization of ethyl-cellulose oleogel network using lauric acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122 (1900044): 2-10. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900044>.

Harris, L., Rosen-Kligvasser, J., Davidovich-Pinhas, M. (2019). Gelation of oil using combination of different free fatty acids. *Food Structure*, 21: 100121-100131. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2019.100121>.

Hwang, H-S. (2020). A critical review on structures, health effects, oxidative stability, and sensory properties of oleogels. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26: 101657. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101657>.

Keskin Uslu, E., Yılmaz, E. (2019). Protein emülsiyon ağıyla yapılandırılmış oleojeller. *Akademik Gıda*, 17(3), 410-416. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.647730>.

Keskin Uslu, E., Yılmaz, E. (2021). Production and characterization of oleogels with tallow and partially hydrolyzed tallow as organogelators. *Grasas Y Aceites*, 72 (1): 388-398. <https://doi.org/10.3989/gya.1031192>.

- Mattice K.D., Marangoni A.G. (2018). Insights into wax crystal networks in oleogels. In: *Edible Oil Structuring Concepts, Methods and Applications*. Patel, A.R. (chief ed.), Volume1, Royal Society Chemistry, Chambridge, pp. 71-95.
- Mezger, T.G. (2014). *Applied Rheology*. Volume1, Anton Paar GmbH, Austria, 191p. ISBN:10-3950401601.
- Minitab. (2010). Minitab Statistical Software (Version 16.1). Minitab, Inc., State College, Pennsylvania, US.
- O'Brien, R.D. (2004). *Fats and Oils: Formulating and Processing For Applications*. 2nd Edition, CRC press LLC, Boca Raton, Florida, 574 p. ISBN: 0-8493-1599-9.
- Sagiri, S.S., Samateh, M., John, G. (2018). Biobased molecular structuring agents. In: *Edible Oil Structuring: Concept, Methods and Applications*, Patel, A.R. (chief ed.), Volume1, Royal Society Chemistry, Chambridge, pp. 25-52.
- Singh, A., Auzanneau, F.I., Rogers, M.A. (2017). Advances in edible oleogel technologies – A decade in review. *Food Research International*, 97: 307–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.022>.
- Uvanesh, K., Sagiri, S.S., Senthilguru, K., Pramanik, K., Banerjee, I., Arfat S., Al-Zahrani, M., Pal, K. (2016). Effect of Span 60 on the microstructure, crystallization kinetics, and mechanical properties of stearic acid oleogels: an in-depth analysis. *Journal of Food Science*, 81(2), E380-E387. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13170>.

ALUMINIUM AND FLUORINE IN DRINKING WATER AS RISK FACTORS FOR HUMAN HEALTH

Fatma Özsel Özcan Araç^{1*}, Ozan Aldemir²

¹Haliç University, Faculty of Health Sciences, Nutrition and Health Department, Türkiye

²Kocaeli Health and Technology University, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Technology Department, Türkiye

Received / Geliş: 07.09.2022; Accepted / Kabul: 17.10.2022; Published online / Online baskı: 04.11.2022

Özcan Araç, F.Ö., Aldemir, O. (2022). *Aluminium and fluorine in drinking water as risk factors for human health.* GIDA 47 (6) 1005-1013 doi: 10.15237/gida. GD22085

Özcan Araç, F.Ö., Aldemir, O. (2022). İnsan sağlığı için risk faktörleri olarak içme sularında alüminyum ve flor. GIDA 47 (6) 1005-1013 doi: 10.15237/gida. GD22085

ABSTRACT

Drinking water potentially affects a variety of diseases, and their relationship to environmental risk factors is an emerging area that still needs to be clarified. Studies have reported that aluminum and fluoride, elements naturally found in water, have an adverse effect on human health with increasing concentration in drinking water, which is affected by environmental aspects. High aluminum levels in drinking water can cause dementia. Many studies have found an association between the amount of aluminum in drinking water and an increased risk of Alzheimer's. The absorption of aluminum and fluoride is thought to have a positive relationship and together have greater bioavailability. The health effects of aluminum and fluoride can vary depending on the source of the water, the duration of exposure, and the body's detox system. It is crucial to control the content of drinking water in order for humans' vital activities to be healthy. In this review, the general properties and interactions of aluminum and fluoride, which are important for human health, will be discussed. Considering the important toxic effects of these chemicals, the relationship between diseases and health problems will be evaluated.

Keywords: Alzheimer, dementia, drinking water, human health, aluminum, fluoride

İNSAN SAĞLIĞI İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ OLARAK İÇME SULARINDA ALÜMİNYUM VE FLOR

ÖZ

Su kaynakları ve içme suları çeşitli hastalıkları potansiyel olarak etkilemektedir ve çevresel risk faktörleriyle olan ilişkisi halen aydınlatılması gereken gelişmekte olan bir alandır. Çeşitli araştırmalar, suda doğal olarak bulunan elementler olan alüminyum ve florürün, çevresel yönlerden etkilenen içme suyunda artan konsantrasyonla insan sağlığı üzerinde olumsuz bir etki gösterdiğini bildirmiştir. İçme sularındaki yüksek alüminyum seviyelerinin demansa neden olabileceği düşünülmektedir. Birçok çalışma, içme suyundaki alüminyum miktarı ile artan Alzheimer riski arasında bir ilişki bulmuştur. Ayrıca, alüminyum ve florürün absorpsiyonun pozitif bir ilişkiye sahip olduğu ve birlikte daha fazla biyoyararlanıma sahip olduğu düşünülmektedir. Alüminyum ve florürün sağlık üzerindeki etkileri suyun kaynağına, maruz kalma süresine ve vücudun detoks sistemine göre değişiklik gösterebilir.

Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

fatmaozselarac@halic.edu.tr

☎: (+90) 212 924 2444

☎: (+90) 212 999 7852

Fatma Özsel Özcan Araç; ORCID no:0000-0002-4668-5880

Ozan Aldemir; ORCID no: 0000-0002-0199-5674

İnsanda yaşamsal faaliyetlerin sağlıklı olması için, içilen içme suyu içeriğinin kontrolünün sağlanması kritik öneme sahiptir. Bu derlemede alüminyum ve florürün insan sağlığı için önemli olan genel özellikleri ve etkileşimleri tartışılacaktır. Bu kimyasalların önemli toksik etkileri göz önünde bulundurularak hastalıklar ve sağlık sorunları arasındaki ilişki değerlendirilecektir.

Anahtar kelimeler: Alzheimer, demans, içme suyu, insan sağlığı, alüminyum, florür

INTRODUCTION

Since the water quality standards recommended by WHO include macro elements and the synergistic effects of trace metals and anions are not taken into account, studies on the effects of these factors on human health are carried out meticulously. The presence of hardness trace elements and synergistic elements should be considered more carefully in water standards (Wasana et al., 2017). In drinking water, there are minerals and elements such as calcium, magnesium, copper, magnesium, iron, fluorine, potassium, lithium, zinc, iodine, selenium, chlorine, bicarbonate, sulfate, and aluminum (Casado et al., 2015). Aluminum (Al^{3+}) is the 3rd most found element and is found naturally in water. Only 0.1% of Al^{3+} in food is absorbed from the gastrointestinal tract and is bioavailable (Klotz et al., 2017). Although the source of Al^{3+} in the daily diet is food, water is also one of the minor sources. Al^{3+} absorption in water reaches 0.3%. It has been found that exposure to Al^{3+} and daily intake differ in studies conducted. It is ranged from 1.6 to 13 mg of Al^{3+} per day, this corresponds to 0.2 to 1.5 mg/kg body weight (VW) week for a 60 kg adult (EFSA, 2008). Despite its ubiquitous abundance, Al^{3+} has no crucial biological functions in the human body (Dey and Singh, 2022). It is important in drinking water as the chemical form of Al^{3+} changes its solubility and toxicity. One study showed that the pre-hydrolyzed coagulants changed the amount of Al^{3+} in the water. Al^{3+} compounds show low solubility in the pH range of 6-8, therefore Al^{3+} concentrations in natural source waters are very low and are in the range of 60 to 300 $\mu g/dm^3$ (Krupińska, 2020).

Iron affects the absorption of Al^{3+} . Therefore, it has been shown that Al^{3+} absorption is more significant at low iron levels. Since iron can compete with Al^{3+} for binding to transferrin, iron stores needed may reduce the intestinal absorption of Al^{3+} . Like iron, calcium status also

affects Al^{3+} absorption and accumulation. Studies have shown that dietary calcium deficiency increases Al^{3+} absorption levels (İnan and Ayaz, 2018).

Aluminum and fluorine in drinking water and Alzheimer's disease

50 million people in the world have Alzheimer's disease, which can result in death 3-9 years after diagnosis, which is indicated and categorized as cognition, memory, and other cognitive, and this burden is a serious global problem (Chen et al., 2021; Sarmadi et al., 2021). Alzheimer's disease is a disease that is increasingly declining with dementia due to the aging world population worldwide. Two potential pathways are known in the formation of this neurodegenerative disease: β -amyloid plaque deposition in the brain and neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau. (Weller and Budson, 2018). Chronic excess Al^{3+} intake or intravenous exposure increases oxidative stress, and in vivo studies have been found to increase amyloid beta levels (Mc Donald et al., 2021). Alzheimer's disease is a progressive neurological illness that affects the immune system, neurotransmitter system, and vascular system function (Papadimitriou et al., 2018). Aging, hereditary factors, the existence of the apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele, high cholesterol, type 2 diabetes, elevated homocysteine levels in plasma, obesity, and depression are all risk factors for Alzheimer's disease (Korabecny et al., 2014). An overview of the pathophysiology of Alzheimer's disease, risk factors for the disease, and treatment approaches can be seen in Figure 1.

There are 2 types of Al^{3+} formation in potable water. Dissolved Al^{3+} passes from the bedrock to the water by rain and mechanical dissolution. Although the solubility of Al^{3+} in water is affected by a variety of circumstances, it can rise with a change in pH value (Farhat et al., 2020). Al^{3+} , a neurotoxic metal, has been shown in studies to take a role in a diversity of diseases, including

Alzheimer's disease, Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), encephalopathy, and metabolic bone abnormalities, when it enters the bloodstream and dissolves. (Letzel et al., 2020). At near-neutral pH values, Al^{3+} concentrations are usually much less than 0.1 mg/L. In countries such as Norway, this amount may increase as a result of acid rain. Al^{3+} is widely used in water treatment as a coagulant to

remove residual particles and improve the color of the water (Flaten, 2001). A meta-analysis study involving 10567 persons looked at how chronic Al^{3+} intake influences the risk of Alzheimer's disease. Chronic Al^{3+} exposure elevated the possibility of Alzheimer's disease in persons by 71 percent, according to data acquired as a consequence of the study (Wang et al., 2016).

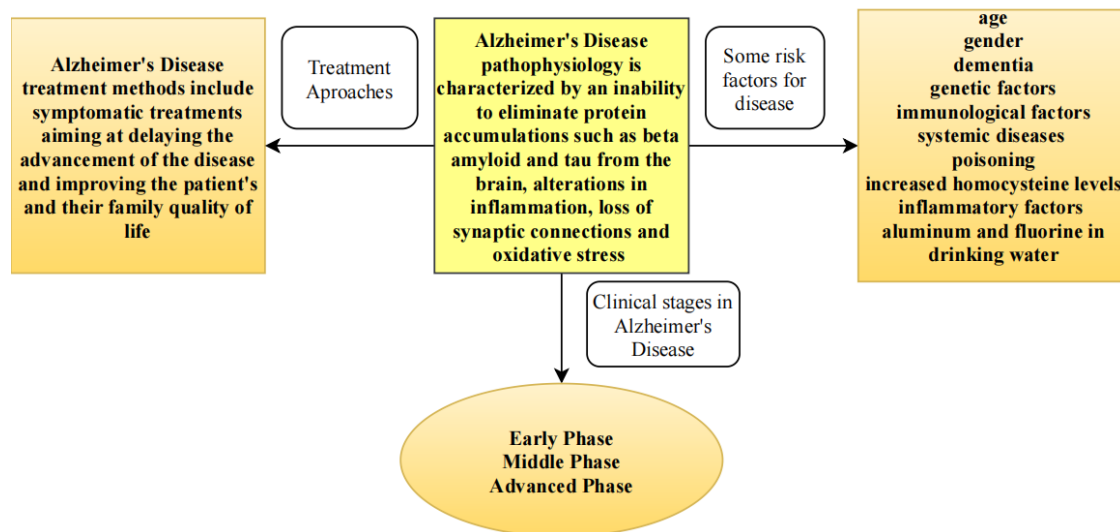


Figure 1. An overview of the pathophysiology of Alzheimer's disease, risk factors for the disease, and treatment approaches (Ahmed Nel. et al., 2016; Ateş, et al., 2016; Salari and Bagheri, 2016; Bobuş et al., 2022)

The safe acceptance level of Al^{3+} in potable water is 200 ppb, which is accepted by the US Environmental Protection Agency (USEPA), WHO (World Health Organization), and European Union (EU). The legally determined level of total Al^{3+} concentration in purified water in America, and Japan is 0.05-0.2 mg/l, 0.1 mg/l. 0.1 mg/l, 0.1 mg/l, and 0.2 mg/l, Sweden, Canada, and China, respectively (Wasana et al., 2017). In the research initiated as a result of increasing studies on the effects of Al intake through potable water in the Langat River Basin in Malaysia; To determine Al^{3+} concentrations by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), water samples from the basin water were examined between 2015 and 2016. It has been stated that the doses of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ used in water disinfection are very important to protect health (Ahmed et al., 2019; Khairul Zaman et al., 2021).

There are studies, albeit with, a small sample, that Al^{3+} in potable water is associated with Alzheimer's disease. According to the largest cohort study on this subject published in Canada in 2021, Exposure to Al^{3+} in potable water was not significantly associated with an increased risk of Alzheimer's disease. The positive upward trend observed in the subcohort genotyped for apolipoprotein E warrants further investigation (Van Dyke et al., 2021). During the 15-year follow-up period of the Paquid cohort, the relationship of Al^{3+} in potable water with Alzheimer's was evaluated with Mini-Mental State Examination. This analysis suggested that cumulative cognitive decline may be associated with high concentrations of Al^{3+} (>0.1 mg/l) or low concentrations of silica (<11.25 mg/l) in potable water. Another remarkable result of the study was the positive correlation between Al^{3+}

and potable water pH lower than 7.3 (Rondeau et al., 2009). Drinking water distribution systems are also important for Al^{3+} dissolving and also pH fluctuation in 7.8–8.4, which can affect too (He et al., 2021). It has been shown that Al^{3+} exposure accumulated over 10 years increases the risk of Alzheimer's up to 2.5 times. Public health studies have indicated that there may be a relationship between the water consumed and Alzheimer's. In Ontario, it is estimated that 19% of the population was exposed to residual $[\text{Al}^{3+}]$ greater than or equal to 100 microgram/L (McLachlan et al., 1996). In a study, drinking water samples taken from a city near the Senegal river did not exceed the Al^{3+} values determined by the World Health Organization (between 0.1 mg/L and 0.2 mg/L) (Dick et al., 2021). In a survey of eighty-eight country districts within England and Wales, the possibility of Alzheimer's disease was 1.5 times higher in areas where the mean Al^{3+} concentration exceeded 0.11 mg/l than in districts where concentrations were less than 0 to 0.1 mg/L (Martyn et al., 1989).

Fluoride (F^-) impacts cellular energy metabolism, the formation of inflammatory factors, and neurotransmitter metabolism when it reaches the brain (Strunecka and Strunecky, 2020). In a study conducted in Scotland from 2005–2012 by the Drinking Water Quality Regulator for Scotland, it was found that F^- and Al^{3+} work with a synergistic effect in potable water also F^- can change the absorption of Al^{3+} (Russ et al., 2020). F^- can create a negative effect on the central nervous system by raising oxidative stress as a result of this ion accumulating in the brain after crossing the blood-brain barrier and the cell plasma membrane (Cao et al., 2019).

Al^{3+} ion, when combined with F^- , obstructs the brain's aerobic metabolism and reduces the efficiency of acetylcholine, activating components involved in the formation of oxidative stress, and speeding up the onset of Alzheimer's disease (George et al., 2009; Jiang et al., 2022). Many studies have shown that fluoride/alumino-fluoride complexes (AlFx) might have a deleterious effect on the brain in animals. Neuronal and cerebrovascular problems,

neurotoxic alterations due to oxidative stress, and a significant loss in learning capacity with the effect of fluorine and Al^{3+} ions were detected in animals drinking fluoridated water (Strunecka et al., 2019; Krause et al., 2020). Metals are prevented from entering the brain by a barrier that exists between the body and the brain. Several studies have demonstrated the significance of the interaction between F^- and Al^{3+} in breaking this barrier. In one study, researchers looked at how F^- and Al^{3+} alter neuronal morphology, lysosomal activity, and cell cycle activity. They discovered that these ions altered the enzymatic alkaline phosphatase activity via altering neural histomorphology. At the same time, they observed that inhibiting AChE activity and increasing cathepsin D and cyclin D expression in the brain exacerbated brain neurotoxicity and hastened the development of associated disorders (Ye et al., 2018; Mehany et al., 2022). Prolonged exposure to F^- and Al^{3+} ions is associated with neurological disorders. These ions can bind to proteins interacting with ions similar to them. Such undesirable interactions disrupt the normal biological function of target proteins. In a study, 19 proteins associated with neurodegenerative disorders and bound by these ions were found (Hasan et al., 2018). Endemic fluorosis caused by excessive intake of fluorine is a serious health problem worldwide. A small amount of F^- intake has health effects such as preventing dental caries and supporting bone formation. Excessive F^- also has negative effects on dental and bone health (Everett, 2011). 0.5–1.00 ppm daily intake of F^- has a beneficial effect on dental caries (Srivastava and Flora, 2020). A study investigating the mechanism of neurotoxicity formation of F^- , shows that excess F^- causes morphological changes in NADPH-d/NOS (nitric oxide synthase) positive neurons formed in the brain and increases nitric oxide (NO) synthesis (Bhatnagar et al., 2011). Since it is known that excessive intake of F^- causes neurotoxicity; In 2014, the amount of F^- in table water was investigated in 31 provinces of Iran (KheradPisheh et al., 2016). Studies have shown that F^- increases the absorption of Al^{3+} to cross the blood-brain barrier, thus causing neuronal damage by causing a decrease in neuronal density,

and accumulating in the brain tissues, especially the cerebral cortex and hippocampus. In a study on rats; The reduced antioxidant capacity with neuronal degeneration was manifested by a higher malondialdehyde content in most brain tissues of rats, accompanied by decreased glutathione (GSH) content and a reduction in superoxide dismutase (SOD) activity (Kinawy, 2019). In a study on the effects of fluorine and Al^{3+} in potable water on the prefrontal cortex, they discovered that Al^{3+} F^- , which is generated by fluorine and Al^{3+} ions collected in the brain, caused excitotoxicity in the treatment group via oxidative stress. The study's findings are also consistent with the possibility that Al^{3+} and fluorine can induce neurological problems (Akinrinade et al., 2013). Long-term F^- exposure may accelerate neuropathological lesions and related diseases such as Alzheimer's that occur in amyloid precursor protein (APP) mice by increasing oxidative stress and inflammation in the brain, according to a study that examined the effects of low-dose F^- on the brains of mice carrying the APP/ presenilin 1(PS1) mutation (Cao, et al., 2019). In a study of 51 first-year children in Sichuan, southern China; It was found that the F^- concentrations in the morning urine were related to the F^- levels of the well water they consumed and caused neurotoxicity (Choi et al., 2015).

In a study conducted in East Azerbaijan to evaluate the relationship between non-cancer diseases and F^- amounts in potable water and to evaluate the results with ubiquitous standards and health risk assessment; It was observed that the average F^- concentration in potable water in all seasons varied between 0.19-0.65 and 0.18-0.62 mg/L respectively. The F^- concentration was below the standards in 80% of the samples taken for evaluation. The F^- amounts in the potable water of the cities evaluated were lower than the highest concentration calculated by the Galagan and Vermillion equations. Approximative daily fluoride (EDI) intakes for infants, children, teenagers, and adults are shown as 3.06, 2.15, 12, and 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, respectively (Ashrafi, et al., 2020). A recent study shows that F^- taken through potable water can significantly increase the blood

pressure level and the risk of hypertension in the community. Further investigation of the potential cardiovascular disease-causing effects of excessive F^- intake is needed (Davoudi et al., 2021). According to the results of the study conducted in Iran on this issue in 2015. In the superior F^- area, compared to the low F^- area, hypertension, cause unknown was increased (Aghaei et al., 2015).

New studies are carried out to prevent the accumulation of Al^{3+} , iron, copper, and zinc ions in the brain according to their toxic accumulation and to reduce the incidence of Alzheimer's disease (Das et al., 2021).

Solutions and recommendations

The potable water quality includes physical, biological, and components. In the 2030 agenda for Sustainable Development, which is of importance to the whole world, Researchers explained the importance of access to hygienic, healthy, and safe water and the ways to ensure universal access to water (Gara et al., 2018).

Many methods are used to remove F^- and Al^{3+} from the water content. In a study evaluating the coagulant activity of *Moringa oleifera* seed and *Hibiscus esculentus* (okra) mucilage, Al^{3+} sulfate, and hydrofluoric acid; The effect of placing these coagulants in a fibrous thin film, as well as their effects on pH and concentration, was also evaluated. As a result of the evaluation; 79.9% Al^{3+} reduction and 91.7% F^- reduction in water were found (Lim et al., 2018). According to the results of another study; Al-alginate particles loaded with hydroxyapatites are good adsorbents. Inexpensive and efficient drinking can be used to reduce F^- concentration (Milivojenic et al., 2020).

Because superior F^- ion content in potable water can cause a variety of health concerns, it is critical to diminish F^- levels in water using defluoridation procedures such as membrane and the adsorption technique (such as reverse osmosis, dialysis, electro-dialysis, nanofiltration) and surface assimilation (Indermitte et al., 2014).

Prolonged exposure to F^- damages teeth and skeleton. Therefore, it is absolute to develop low-cost, locally available, and environmentally safe adsorbents for the removal of excess F^- from contaminated water sources. Researchers have developed an adsorbent that removes fluorine from aqueous solutions (Akafu et al., 2019). Studies show that ozonation and chlorination reduce the amount of dissolved Al^{3+} in drinking water (Li et al., 2021). In future studies, new methods and ways that can be used to control the minerals in the water and to remove harmful substances that may pose a potential disease risk will be investigated.

CONCLUSION

Studies show that excessive intake of Al^{3+} and F^- causes Alzheimer's dementia and dental and skeletal diseases. In light of these studies in the literature, the content of drinking water examined in different countries; been has shown to contain high amounts of F^- and Al^{3+} .

According to the information acquired from many literature studies, Al^{3+} in drinking water reacts with fluorine to form the AlF_x complex, which might cause neurotoxicity in the brain. As a result, prolonged exposure to these ions and oxidative stress caused by an increase in free radicals in the body may raise the chance of acquiring diseases such as dementia and Alzheimer's. As a result, in order to interact with these ions in drinking water, it is critical for people's health to perform the necessary water purification and to have these ions in drinking water at a rate that will not pose a health hazard.

It is important to control the content of drinking water, which is necessary for us to continue our vital activities, and to make it balanced and drinkable with various agents and adsorbents.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

This study is designed by Fatma Özsel Özcan Araç. A literature review and critical review of the article were carried out by Fatma Özsel Özcan

Araç and Ozan Aldemir. All the authors were involved to wrote the manuscript.

REFERENCES

- Aghaei, M., Karimzade, S., Yaseri, M., Khorsandi, H., Zolfi, E., Mahvi, A. H. (2015). Hypertension and fluoride in drinking water: A case study from West Azerbaijan, Iran. *Fluoride*, 48(3): 252-258.
- Ahmed, M.F., Mokhtar, M.B., Alam, L. et al. (2019). Non-carcinogenic health risk assessment of aluminum ingestion via drinking water in Malaysia. *Exposure and Health*, 11: 167-180.
- Ahmed Nel, M., Murakami, M., Hirose, Y., Nakashima, M. (2016). Therapeutic potential of dental pulp stem cell secretome for Alzheimer's disease treatment: an in vitro study. *Stem Cells International*, 8102478.
- Akafu, T., Chimdi, A., Gomoro, K. (2019). Removal of fluoride from drinking water by sorption using diatomite modified with aluminum hydroxide. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 3; 2019:4831926.
- Akinrinade, I. D., Ogundele, O. M., Memudu, A. E., Adefule A. K., Kalejaiye E. D (2013). Degeneration of neuronal cells: A product of fluoride and aluminum assault to the prefrontal cortex. *Journal of Cell and Animal Biology*, 7(6): 63-66.
- Akinrinade, I. D., Memudu, A. E., Ogundele, O. M. (2015). Fluoride and aluminum disturb neuronal morphology, transport functions, cholinesterase, lysosomal, and cell cycle activities. *Pathophysiology*, 22(2): 105-115.
- Ashrafi, S.D., Jaafari, J., Sattari, L., Esmaeilzadeh, N., Safari, G.H. (2020). Monitoring and health risk assessment of fluoride in drinking water of east Azerbaijan province, Iran. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1-15.
- Ateş, M.P., Karaman, Y., Güntekin, S., Ergun, M.A. (2016). Analysis of genetics and risk factors of Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 325: 124-131.
- Bobuş Alkaya, G., Demirci, Ç., Şevik, H. (2022). Aluminum in food and potential role on Alzheimer's disease of aluminum. *Turkish Journal of Engineering*, 6 (2), 118-127.

- Bhatnagar, M. Sukhwai, P., Suhalka, P. Jain, A., Joshi, C., Sharma D. (2011). Effects of fluoride on NADPH-diaphorase neurons in mice forebrain. *Research Report Fluoride*, 44(4): 195-209.
- Cao, K., Xiang, J., Dong, Y.T., Xu, Y., Li, Y., Song, H., Zeng, X.X., Ran, L. Y., Hong, W., Guan, Z.Z. (2019). ExposFluoride exposure rates the impairment in learning and memory and neuropathological lesions in mice carrying the APP/PS1 double-transgenic mutation. *Alzheimer's Research & Therapy*, 11(1): 35.
- Casado, Á., Ramos, P., Rodríguez, J., Moreno, N., & Gil, P. (2015). Types and characteristics of drinking water for hydration in the elderly. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(12), 1633–1641.
- Chen, X., Zhang, M., Ahmed, M., Surapaneni, K. M., Veeraraghavan, V. P., Arulselvan, P. (2021). Neuroprotective effects of ononin against the aluminum chloride-induced Alzheimer's disease in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 28(8):4232-4239.
- Choi, A. L., Zhang, Y., Sun, G., Bellinger, D. C., Wang, K., Yang, X. J., Grandjean, P. (2015). Association of lifetime exposure to fluoride and cognitive functions in Chinese children: A pilot study. *Neurotoxicology and Teratology*, 47: 96-101.
- Das, N., Raymick, J., Sarkar, S. (2021). Role of metals in Alzheimer's disease. *Metabolic Brain Disease*, 36 (7): 1627-1639.
- Davoudi, M., Barjasteh-Askari, F., Sarmadi, M., Ghorbani, M., Yaseri, M., Bazrafshan, E., Mahvi, A. H., Moohebbati, M. (2021). Relationship of fluoride in drinking water with blood pressure and essential hypertension prevalence: A systematic review and meta-analysis. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 94(6): 1137-1146.
- Dey, M., Singh, R.K. (2022). Neurotoxic effects of aluminum exposure as a potential risk factor for Alzheimer's disease. *Pharmacological Reports*, 74 (3): 439-450.
- Dick, B.A., Ammar, M. B., Sidi Y.M., Mohamed E. (2021). Evaluation of Aluminum Levels in Drinking Water of Nouakchott. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 9:210-213.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2008). Safety of aluminum from dietary intake, scientific opinion of the panel on food additives, flavorings, processing aids, and food contact materials (AFC) *EFSA Journal*. 1-34.
- Everett, E.T. (2011). Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. *Journal of Dental Research*, 90(5): 552-560.
- Farhat, S.M., Ali M. (2020). The concentration of aluminum in the drinking water of Pakistan and its implications on human health. *Life and Science*, 1(2): 77-82.
- Flaten, T.P. (2001). Aluminum is a risk factor for Alzheimer's disease, with an emphasis on drinking water. *Brain Research Bulletin*, 55(2): 187-196.
- Gara, T., Fengting, L., Nhapi, I. Clifton, M., Webster, G. (2018). Health safety of drinking water supplied in Africa: A Closer look using applicable water-quality standards as a measure. *Expo Health*, 10: 117-128.
- Ghaffari, H.R., Kamari, Z., Ranaei, V., Pilevar, Z., Akbari, M., Moridi, M., Mohamed Khedher, K., Thai, V. N., Fakhri, Y., Khaneghah, A.M. (2021). The concentration of potentially hazardous elements (PHEs) in drinking water and non-carcinogenic risk assessment: A case study in Bandar Abbas, Iran. *Environmental Research*, 201-1111567.
- Hasan, M. K., Alam, S., Mirkovic, J., Hossain, M. F. (2018). Screening of human proteins for fluoride and aluminum binding. *Bioinformation*, 14(2): 68-74.
- He, Y., Pan, L., Chen, R., Shi, B. (2021). Field studies of aluminum release and deposition in drinking water distribution systems. *Chemosphere*, 275, 130067.
- Indermitte, E., Saava, A., Karro, E. (2014). Reducing exposure to high fluoride drinking water in the Estonia-a countrywide study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(3): 3132-3142.

- Inan-Eroglu, E., Ayaz, A. (2018). Is aluminum exposure a risk factor for neurological disorders? *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 23: 51.
- Jiang, G., Jin, L., Pan, Q., Peng, N., Meng, Y., Huang L., Wang H., (2022). Structural modification of aluminum oxides for removing fluoride in water: crystal forms and metal ion doping, *Environmental Technology*, 43:21, 3248-3261.
- Khairul Zaman, N., Rohani, R., Izni Yusoff, I., Kamsol, M.A., Basiron, S.A., Abd. Rashid, A.I. (2021). Reply to Ivy et al. Comment on “Khairul Zaman et al. Eco-Friendly Coagulant versus Industrially Used Coagulants: Identification of Their Coagulation Performance, Mechanism and Optimization in Water Treatment Process. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18, 9164”. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18 (23), 12716.
- KheradPisheh, Z., Ehrampoush, M.H., Montazeri, A., Mirzaei, M., Mokhtari, M., Mahvi A.H. (2016). Fluoride in drinking water in 31 provinces of Iran. *Expo Health*, 8: 465-474.
- Klotz, K., Weistenhöfer, W., Neff, F., Hartwig, A., van Thriel, C., Drexler, H. (2017). The health effects of aluminum exposure. *Deutsches Ärzteblatt International*, 114(39): 653-659.
- Kinawy A. A. (2019). Synergistic oxidative impact of aluminum chloride and sodium fluoride exposure during early stages of brain development in the rat. *Environmental Science and Pollution Research International*, 26(11): 10951-10960.
- Korabecny, J., Zemek, F., Soukup, O., Spilovska, K., Musilek, K., Jun, D., Nepovimova, E., Kuca, K. (2014). Pharmacotherapy of Alzheimer's disease: Current state and future perspectives. In: Drug design and discovery in Alzheimer's Disease Ed.: Atta ur, R. Choudhary, M. I.: *Elsevier*. 3-39.
- Krause, B.C., Kriegel, F.L., Rosenkranz, D. (2020). Aluminum and aluminum oxide nanomaterials uptake after oral exposure - a comparative study. *Scientific Reports*, 10:2698
- Krupińska, I. (2020). Aluminum drinking water treatment residuals and their toxic impact on human health. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3): 641.
- Letzel, M., Drexler, H., Göen, T., Hiller, J. (2020). Impact of daily antiperspirant use on the systemic aluminum exposure: An experimental intervention study. *Skin Pharmacology and Physiology*, 33(1): 1-8.
- Li, M., Cheng J., Zou F., (2021). Effects of pre-oxidation on residual dissolved aluminum in coagulated water: A pilot-scale study. *Water Research*. 190:116682.
- Lim, W.L.K., Chung, E.C.Y., Chong, C.H., Ong, N.T.K., Hew, W.S., Kahar, N.B., Goh, Z.J. (2018). Removal of fluoride and aluminum using plant-based coagulants wrapped with a fibrous thin film. *Process Safety and Environmental Protection*, 117: 704-710.
- Martyn, C.N., Barker, D.J., Osmond, C., Harris, E.C., Edwardson, J.A., Lacey, R.F. (1989). Geographical relation between Alzheimer's disease and aluminum in drinking water. *Lancet (London, England)*, 1(8629): 59-62.
- Mcdonald, J.B., Dhakal, S., Macreadie, I. (2021). A Toxic Synergy between Aluminium and Amyloid Beta in Yeast. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4): 1835.
- McLachlan, D.R., Bergeron, C., Smith, J.E., Boomer, D., Rifat, S.L. (1996). Risk for neuropathologically confirmed Alzheimer's disease and residual aluminum in municipal drinking water employing weighted residential histories. *Neurology*, 46(2): 401-405.
- Mehany, H., El-Shafai, N., Attia, A., Ibrahim, M., El-Mehasseb, I. (2022). Potential of chitosan nanoparticle/fluoride nanocomposite for reducing the toxicity of fluoride an in-vivo study on the rat heart functions: Hematopoietic and immune systems. *International Journal of Biological Macromolecules*. 216:251-262
- Pang, T., Aye Chan, T. S., Jande, Y., Shen, J. (2020). Removal of fluoride from water using activated carbon fibers modified with zirconium

- by a drop-coating method. *Chemosphere*, 255: 126950.
- Papadimitriou, C., Celikkaya, H., Cosacak, M.I., Mashkaryan, V., Bray, L., Bhattarai, P., Brandt, K., Hollak, H., Chen, X., He, S., Antos, C.L., Lin, W., Thomas, A.K., Dahl, A., Kurth, T., Friedrichs, J., Zhang, Y., Freudenberg, U., Werner C., Kizil, C. (2018). 3D culture method for Alzheimer's disease modeling reveals Interleukin-4 rescues Abeta42-induced loss of human neural stem cell plasticity. *Developmental Cell*, 46(1): 85-101.
- Rondeau, V., Jacqmin-Gadda, H., Commenges, D., Helmer, C., Dartigues, J.F. (2009). Aluminum and silica in drinking water and the risk of Alzheimer's disease or cognitive decline: findings from a 15-year follow-up of the PAQUID cohort. *American Journal of Epidemiology*, 169(4): 489-496.
- Russ, T. C., Killin, L., Hannah, J., Batty, G. D., Deary, I. J., Starr, J. M. (2020). Aluminum and fluoride in drinking water in relation to later dementia risk. *The British Journal of Psychiatry: the Journal of Mental Science*, 216(1): 29-34.
- Salari, S., Bagheri, M. (2016). A review of animal models of Alzheimer's disease. *Physiology and Pharmacology*, 20: 5-11.
- Sarmadi, M., Rahimi, S., Rezaieanesh, M. R., Yektay, S. (2021). Association between water and sanitation, air and emission pollution and climate change and neurological disease distribution: A study based on GBD data. *Chemosphere*, 285: 131522.
- Srivastava, S., Flora, S. (2020). Fluoride in drinking water and skeletal fluorosis: a review of the global impact. *Current Environmental Health Reports*, 7(2): 140-146.
- Strunecka, A., Strunecky, O. (2019). Chronic fluoride exposure and the risk of autism spectrum disorder. *International Journal of Environmental Research Public Health*, 16(18): 3431. doi:10.3390/ijerph16183431.
- Strunecka, A., Strunecky, O. (2020). Mechanisms of fluoride toxicity: from enzymes to underlying Integrative Networks. *Applied Sciences*, 10(20): 7100.
- Ye, Y., Liu, W., Jiang, W., Kang, J., Ngo, H., Guo, W., Liu, Y., (2018). Defluoridation by magnesia-pullulan: Surface complexation modeling and pH neutralization of treated fluoride water by aluminum. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 93: 625-631.
- Yin, N., Li, Y., Yang, Y., Fan, C., Li, Y., Du, X., Sun, G., Cui, Y. (2021). Human health risk assessment in aluminum smelting site: Soil fluoride bioaccessibility and relevant mechanism in the simulated gastrointestinal tract. *Journal of Hazardous Materials*, 416: 125899.
- Van Dyke, N., Yenugadhati, N., Birkett, N. J., Lindsay, J., Turner, M. C., Willhite, C. C., Krewski, D. (2021). Association between aluminum in drinking water and incident Alzheimer's disease in the Canadian Study of Health and Aging cohort. *Neurotoxicology*, 83: 157-165.
- Wang, Z., Wei, X., Yang, J., Suo, J., Chen, J., Liu, X., Zhao, X. (2016). Chronic exposure to aluminum and risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Neuroscience Letters*, 610: 200-206.
- Wasana, H.M., Perera, G.D., Gunawardena, P.S., Fernando, P.S., Bandara, J. (2017). WHO water quality standards Vs Synergic effect(s) of fluoride, heavy metals, and hardness in drinking water on kidney tissues. *Scientific Reports*, 7: 42516.
- Weller, J., Budson, A. (2018). Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Research*, 7, F1000 Faculty Rev-1161.

EVALUATION OF FACTORS AFFECTING CONSUMERS' POULTRY MEAT CONSUMPTION HABITS AND PERCEPTIONS AND POULTRY BREEDING PROCESSES

Guliz HASKARACA^{1*}, Yusuf ARSLAN², Zehra AYHAN¹

¹Sakarya University, Department of Food Engineering, Sakarya, Türkiye

²Sakarya University, Business School, Department of Business, Sakarya, Türkiye

Received / Geliş: 19.08.2022; Accepted / Kabul: 17.10.2022; Published online / Online baskı: 19.11.2022

Haskaraca, G., Arslan, Y., Ayhan, Z. (2022). Evaluation of factors affecting consumers' poultry meat consumption habits and perceptions and poultry breeding processes. *GIDA* (2022) 47 (6) 1014-1031 doi: 10.15237/gida.GD22080

Haskaraca, G., Arslan, Y., Ayhan, Z. (2022). Tüketicilerin kanatlı eti tüketim alışkanlıklarını ve algısını etkileyen faktörlerin ve kanatlı hayvan yetiştirme süreçlerinin değerlendirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (6) 1014-1031 doi: 10.15237/gida.GD22080

ABSTRACT

In this study, the evaluation of the factors affecting the consumers' perception and habits for poultry meat consumption; and the factors affecting the poultry breeding processes were investigated. For these purposes, consumer and breeder surveys were conducted with the attendance of 655 consumers and 323 producers from Turkey. Consumer survey focuses on purchasing habits, consumption preferences, the effects of the news on purchasing habits, and the false-facts about the poultry's washing, thawing, feeding, healing, and growing practices. In the breeder survey, breeders' opinion on feeding, healing, and growing in production processes, "Salmonella Control Program" and misleading news were analyzed. Findings showed that the frequency of poultry meat consumption varied significantly according to the demographic features. The expiration date was the most important factor that consumers paid attention to when purchasing poultry meat. Both the poultry sector and consumer preferences were affected by the misleading news published in the media. Packaging also played a significant role in purchasing habits.

Keywords: False facts, poultry consumption, speculations about poultry sector, consumer perception

TÜKETİCİLERİN KANATLI ETİ TÜKETİM ALIŞKANLIKLARINI VE ALGISINI ETKİLEYEN FAKTÖRLERİN VE KANATLI HAYVAN YETİŞTİRME SÜREÇLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZ

Bu çalışmada, tüketicilerin kanatlı eti tüketimine yönelik algı ve alışkanlıklarını etkileyen faktörlerin değerlendirilmesi ile kanatlı yetiştirme süreçlerine etki eden faktörler araştırılmıştır. Bu amaçla, Türkiye'den 655 tüketici ve 323 üreticinin katılımıyla tüketici ve yetiştirici anketleri yapılmıştır. Tüketici anketinde, satın alma alışkanlıklarına, tüketim tercihlerine, medyada yer alan haberlerin satın alma alışkanlıklarına etkilerine ve kanatlıların yıkama, çözündürme, beslenme, iyileştirme ve yetiştirme uygulamalarına ilişkin doğru bilinen yanlış bilgilere odaklanılmıştır. Yetiştirici anketinde ise

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: gyaldirak@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 54 54/ 5933

☎: (+90) 264 295 56 01

Guliz HASKARACA; ORCID no: 0000-0002-4641-886X

Zehra AYHAN; ORCID no: 0000-0001-9114-4445

Yusuf ARSLAN; ORCID no: 0000-0002-1873-7567

yetiştiricilerin, üretim süreçlerinde beslenme, iyileştirme ve yetiştirme konuları ile “*Salmonella* Kontrol Programı” ve medyada yer alan yanıltıcı haberler hakkındaki görüşleri analiz edilmiştir. Bulgular, kanatlı eti tüketim sıklığının demografik özelliklere göre önemli ölçüde değiştiğini göstermiştir. Tüketicilerin kanatlı eti satın alırken dikkat ettikleri en önemli faktörün son kullanma tarihi olduğu belirlenmiştir. Basında çıkan yanıltıcı haberlerden hem kanatlı sektörünün hem de tüketici tercihlerinin etkilendiği gözlenmiştir. Tüketicilerin satın alma alışkanlıklarında ambalajın da önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Doğru bilinen yanlışlar, kanatlı tüketimi, kanatlı sektörü hakkındaki spekülasyonlar, tüketici algısı

INTRODUCTION

The poultry sector and poultry meat have great importance for both producers and consumers with some advantages. The examples of these advantages can be listed as reaching the weight of slaughter in a short time, not requiring much input for growth, ease of shelter, and year-round availability, for producers. And they can be listed as high bioavailability, easy access at all times, lower price (compared to red meat), good nutritional composition, and desirable taste for consumers. Besides, poultry meat is a good protein source for a healthy diet, with its highly digestible proteins (with low levels of collagen), unsaturated fatty acids, B-group vitamins (mainly thiamin, vitamin B6, and pantothenic acid), and minerals (like iron, zinc, and copper) (Petracci et al., 2014). Also, it suits the modern consumer demand for low-fat, healthy meat with its low sodium and cholesterol levels (Petracci et al., 2014). With these advantages and the increase in consumers' demand for healthier nutrition, the production and consumption of poultry meat have increased significantly in recent years (Popova, 2017). Until 2015, pork was the most consumed meat worldwide, but after 2015, poultry meat has become the most produced and consumed meat. Additionally, it was reported that, in 2018, while 15 million tons of small cattle meat (such as sheep and goat) were consumed all over the world, 72.3 million tons of cattle meat, 120.6 million tons of pork meat, and 121.6 million tons of poultry meat were produced. Moreover, in 2025, these numbers are expected to increase to 17.2, 75.5, 126.7, and 130.3 million tons for small cattle, cattle, pork, and poultry meat, respectively (Anonymous, 2017). On the other hand, poultry meat is one of the easily perishable products during logistics, distribution, and marketing if necessary conditions are not met.

Therefore, consumers have a strong concern about the food safety of poultry meat and products. To reduce consumers' concerns about food safety, smart packaging methods began to be developed and used. This method contains different indicators/sensors that give an opinion about the product's freshness and real-time monitoring of quality and safety (Ahmad et al., 2018). These sensors provide information about the changes in the product or its environment by color or other visual changes.

Technology has been developing rapidly in the last century, and depending on this development, communication with the media has become effortless. While trustworthy news, reaching people through the media, raises people's awareness, inaccurate information published in these channels can cause people to be confused. Many people accept all the news they hear from social media as true, and do not investigate the accuracy of this news. Because of industrialization and the increase in poultry production values, the poultry sector has also been one of the most important and remarkable issues for the media. From time to time, true or false topics about the poultry sector occur in the media. For example, the issue of the “unhealthiness” of poultry meat production due to the short growth period of broilers is one of the issues that attract the attention of many people, as the media often bring it up.

This study aims to reveal the current status of the poultry market in terms of poultry meat consumption habits and poultry breeding processes by two different surveys, representing both consumers' and producers' perspectives. For this purpose, consumer attitudes and perceptions were evaluated based on the effects of poultry meat consumption habits, visual-written media

news, false facts on poultry meat, and smart packaging applications. Producers' perspective was analyzed considering different factors such as misleading news, growth process, feeding with GMOs, consumer attitudes, and curing with antibiotics on breeding processes.

MATERIALS AND METHODS

This study was conducted in two steps. The first step consists of a survey to measure consumer perceptions and purchase habits and how they are affected by misleading news. The second step consists of a survey to analyze the breeders' perspective and the effects of misleading information on poultry breeding processes in all types of media.

Consumer Survey

Both online and face-to-face methods were used for the data gathering processes. As the first step, an online survey was created using Google forms, and the questionnaire link was disseminated through the connections of the authors. Links were restricted, so they could not be accessed twice from the same IP. People who had the link were also asked to feel free to share it with their friends and family so that the sample would have maximum diversity. Additionally, face-to-face surveys were conducted with people who wanted to answer the survey. The same survey questions were used in the same order as the online survey. The collected data have been processed into google forms. The consumer survey was conducted between March and April 2019 in Turkey, with an attendance of a number of 655 usable questionnaires (53 were discarded due to inconsistency issues) over the age of 18. In total, 24 different questions consisting of multiple-choice questions, true/false questions, and ranking questions were asked to the participants. The questions were prepared in the direction to determine the consumer profile, white meat consumption habits of consumers, the effects of visual-written media news on their consumption, false facts on white meat, and to measure their perspectives on smart packaging. Table 1 shows an example of a consumer survey. The data gathered from a consumer survey were analyzed to conduct on chi-square analyses and to reveal

the descriptive statistics using the IBM SPSS 20 statistic program (IBM Corp., 2011).

Breeder Survey

This second step evaluates the effects of various news in the media on breeders and their breeding processes and reveals the knowledge and opinions of breeders on chicken breeding processes. For these, an online survey was created using Google forms, and the results were collected online. The survey was conducted between March and April 2019 in Turkey, with the attendance of 323 poultry breeders. The breeder survey is given in Table 2. A total of nine questions consisting of both multiple-choice and open-ended questions were asked. Multiple-choice questions were analyzed using the Microsoft Excel program, and results were given as a percentage (%), while open-ended questions were collected and categorized in similar answers.

RESULTS

Consumer Survey

Demographic structure

The demographic structures of the participants of the consumer survey are given in Figure 1 (a-f). In total, 380 female and 275 male individuals participated in the consumer survey. It was observed that 24% of the individuals participating in the survey were married, and 76% were single. Among the surveyed people, most of the participants were between the ages 18-24 (63%), while 22%, 10%, 4%, and 1% of them were between the ages of 25-34, 35-44, 45-54, and 55 and above, respectively. As shown in Figure 1c, most of the surveyed participants have a bachelor's degree (79%). Education levels for other participants were determined as 11% high school, 5% master's and above, and 5% primary school. The distribution of income levels of surveyed individuals was determined as 18% for 0-800 Turkish Liras (TL), 13% for 801-1500 TL, 16% for 1501-2500 TL, 27% for 2501-4000 TL, and 26% for 4001 TL and above (Figure 1e) (1 Turkish Lira is approximately \$5.68 in the year the study was conducted). It was observed that most of the individuals who participated in the survey consisted of families of 3 people (54%) and followed by families of 4 people (30%) (Figure 1f).

Table 1. Consumer survey questions

Consumer survey questions	
Demographic structure	Please select your gender
	Please select your age group
	Please select your educational status
	Please select your marital status
	Please write the number of individuals in the family
	Please select your monthly income
Questions	1. Do you consume poultry meat?
	2. How often do you consume white meat?
	3. Has your white meat consumption frequency changed in the last 5 years?
	4. Which part(s) of white meat do you consume the most? (multiple choice question)
	5. Where do you buy white meat? (multiple choice question)
	6. What is/are the reason for you to choose the place where you buy the white meat? (multiple choice question)
	7. Do you do your white meat shopping? (yes-no question)
	8. Evaluate the features you consider when purchasing white meat on a scale of 1 to 5. Properties: Expiry Date, Color, Smell, Economical, Healthy, Freshness, Fat Rate, Advertising Effect, Practical, Variety, Habit, Label Information, Accessibility (ranking question)
	9. Do your poultry meat consumption affected by the news about chicken meat published on TV, social media or newspapers? (yes-no question)
	10. Do you search whether these news on TV, social media or newspapers are true? (yes-no question)
	11. Which of the following information about white meat have you heard through visual/printed media? Which ones do you think are right or wrong? (D: True Y: False question)
	☐ I use it by washing white meat because I think it gets cleaner.
	☐ Frozen white meat can be thawed with hot water in case of emergency use.
	☐ I think that white meat, which is difficult to cook and whose skin and flesh color is yellow, is organic.
	☐ Excessive consumption of white meat causes early puberty.
	☐ I think that in chicken production, hormones and/or antibiotics are used that threaten human health.
	☐ I think that GMO feed is used in the feeding of chickens.
	☐ I think that antibiotics used for therapeutic purposes in chicken production are passed to consumers through nutrition.
	☐ I think that the meat of the free-range chicken is safer and more nutritious.
	☐ I think the chickens grow faster by keeping the lights of the places they are on all the time.
	☐ I think that animals are brought to consumption weight in a short time with the feeds used in feeding the chickens.
	12. Do you buy unpackaged white meat? (yes-no question)
	13. What are/are the elements you pay attention to when purchasing packaged white meat? (multiple choice question)
	14. Have you witnessed that the white meat you bought from the market is spoilt when you get home, even though it has valid expiration date? (yes-no question)
	15. Would you like to easily see if the product on the shelf is spoiled/deteriorated with a visual (color-transforming) indicator on the product package? (yes-no question)
	16. Do you think the use of a visual indicator indicating that the product is no more fresh increases the product reliability? (yes-no question)
	17. Even if the visual indicator used increases the price of the product, will you be willing to buy it? (yes-no question)
	18. Who/what source do you trust or consult about the quality and reliability of white meat? (multiple choice question)

Table 2. Breeder survey questions

Breeder survey questions
1) The growth process that chickens reach the slaughter weight in a short time, such as 45 days, is not perceived as a natural process by the consuers. Do you agree with this statement? (Yes- No question)
2) Do you agree with the statement that “chickens are left under light all night for rapid growth”? (Yes- No question)
3) How do the light sources/colors such as daylight, red and blue light application affect broiler eating habits and development? (Open ended question)
4) Are hormones used in poultry breeding? (Yes- No question)
5) Do you take consider the time of withdrawal from the body of the antibiotics before cutting broilers? (Yes- No question)
6) Do the feeds you use for raising chickens contain GMOs? (Yes- No question)
7) Do visual or written news published in the media about chicken breeding processes affect your sector If so, can you briefly mention the effects? (Both contains Yes- No and open ended answer)
8) Are there any attempts / actions you follow to eliminate the concerns of consumers? (Yes- No question)
9) Are you satisfied with the “ <i>Salmonella</i> Control Program” followed by the Ministry? If not, what are your suggestions? (Both contains Yes- No and open ended answer)

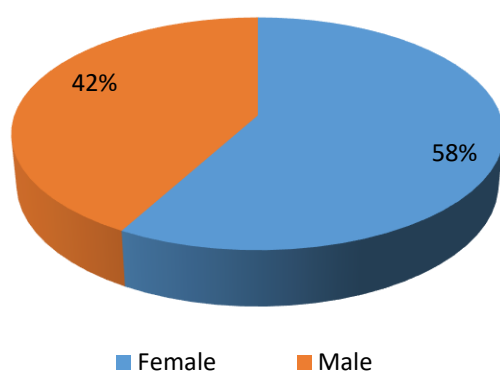


Figure 1a. Gender distribution of the consumer survey participants

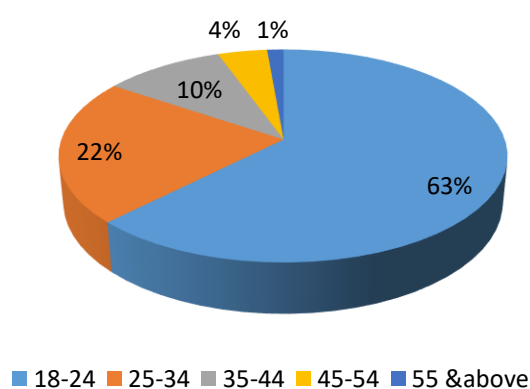


Figure 1b. Age distribution of the consumer survey participants

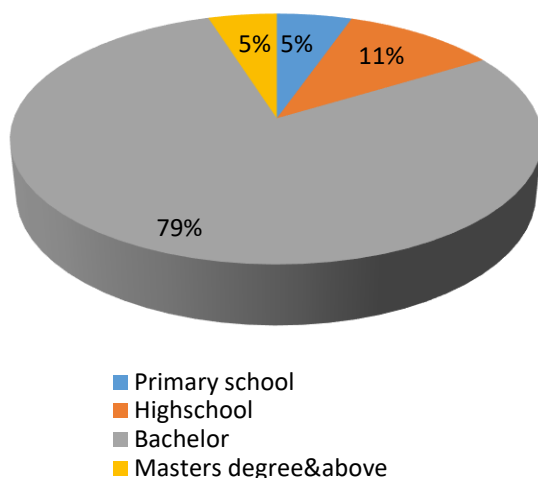


Figure 1c. Education levels of the consumer survey participants

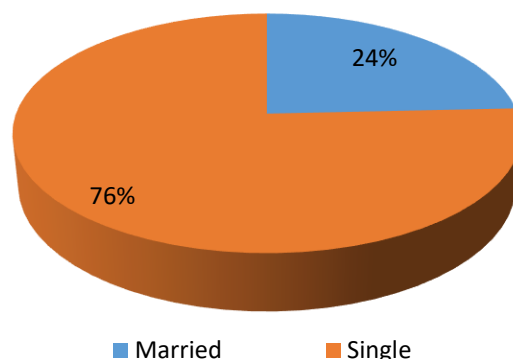


Figure 1d. Marital status of the consumer survey participants

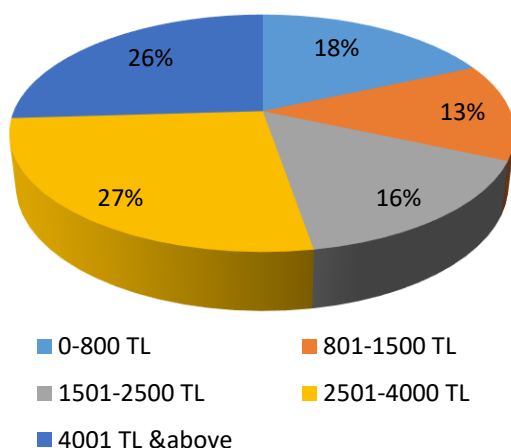


Figure 1e. Monthly incomes of the consumer survey participants

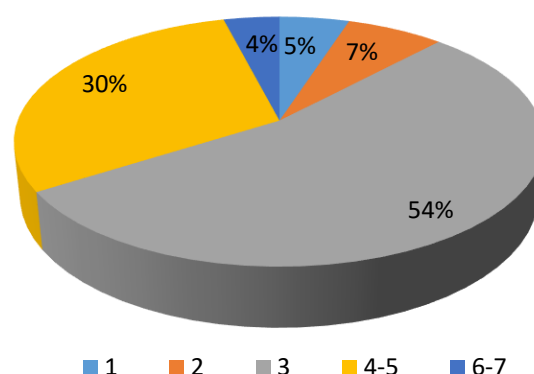


Figure 1f. Number of family members of the consumer survey participants

Figure 1. Demographic structure of the consumer survey participants

Poultry meat consumption habits

Among the surveyed 655 people, 98% of them consume poultry meat in their daily life, while 2% of them do not prefer to consume it for several reasons. These reasons can be listed as because; he/she does not like its taste, he/she is vegetarian, he/she found it unhealthy or unreliable, he/she thinks the chickens are adulterated, he/she has allergic to poultry meat, or he/she found it expensive. The poultry meat consumption frequency of surveyed participants was determined as 5%, 26%, 52%, and 17% for every

day, 3-4 times a week, 1-2 times a week, and 1-2 times a month or less, respectively.

A Mann-Whitney U test was performed to reveal whether the frequency of poultry meat consumption differs according to gender. The findings indicated that the consumption of poultry meat varied significantly according to the gender of the participants ($U=42160.500$, $P<0.005$). Accordingly, the frequency of poultry meat consumption of female consumers is between 1-2 times a week to 3-4 times a week,

while for male consumers, it is between 3-4 times a week and every day.

Besides, to determine whether the frequency of poultry meat consumption varies with age, a Kruskal-Wallis test was conducted. The findings showed that the frequency of poultry meat consumption varied significantly according to the age group of the participants ($\chi^2=64.004$, $P<0.05$). According to the post-hoc (Tamhane's T2) analysis performed to understand which groups are significantly different from each other, it was observed that participants in the 18-24 age group consumed significantly lower in quantity than the consumers in all other age groups ($P<0.001$ for all groups). Similarly, participants in the 25-34 age group consumed significantly less poultry meat than those in the 35-44 age group (mean difference= -0.324, $P=0.003$).

A Kruskal-Wallis test was conducted to reveal whether the frequency of poultry meat consumption varies according to the number of family members. The findings revealed that the frequency of poultry meat consumption did not differ significantly according to the number of family members of the participants ($\chi^2=7.855$, $P>0.05$). The findings showed that the frequency of poultry meat consumption varied significantly according to the income level of the participants (Kruskal-Wallis test, $\chi^2=16.618$, $P<0.05$). According to the results of the post-hoc (Tamhane's T2) analysis conducted to reveal the significant difference between groups, it is seen that participants with an income group of 0-800 TL consumed significantly less poultry meat than participants in the 2501-4000 income group (mean difference= -0.351, $P<0.05$).

The survey results showed that the most consumed poultry part was breast meat with 59% consumption rate, followed by the thigh (31%), wing (22%), whole poultry (21%), and other parts (4%). Markets (62%) are found to be the most preferred places in poultry meat shopping, followed by butchers (34%), farms (2%), and raised on their own (2%). It was observed that the most crucial parameter that participants pay attention to when choosing a place to purchase

poultry meat is their trust in the place of sale and followed by cleanliness, closeness, product range, and price. While 42% of the participants generally do their shopping themselves, 21% do not do their shopping themselves, and 37% sometimes do their shopping themselves.

The participants were asked to determine the parameters they pay attention to while purchasing poultry, and they were asked to evaluate the given parameters from 1 (pay the least attention to) to 5 (pay the most attention to). The answers to this question are summarized in Table 3. According to the answers, expiration date (average 4.64 points) was found to be the most paid attention parameter while the effects of advertisements (average 2.50 points) were found the least paid attention parameter when purchasing poultry meat. Participants said that they pay less attention to advertising compared to other parameters such as expiration date, freshness, being healthy, smell, color, label information, availability, being economical, being practical, habit, fat rate, and product range.

Table 3. Evaluation of the parameters that are paid attention from most significant to least significant when purchasing poultry meat.

<i>Evaluation Parameters</i>	<i>Average scores*</i>
Expiration date	4.64
Freshness	4.55
Being healthy	4.50
Smell	4.44
Color	4.25
Label information	3.93
Availability	3.87
Being economical	3.47
Being practical	3.47
Habit	3.47
Fat rate	3.46
Product range	3.46
Advertisement	2.50

* Scores were given from 1 (pay least attention to) to 5 (pay most attention to)

Forty-five percent of the participants reported that their poultry meat consumption was affected by the news about poultry meat published on TV, social media, magazines, or newspapers. In contrast, 55% reported that the news did not affect their poultry meat consumption. A substantial majority of the participants (43%) stated that they did not investigate the accuracy of the news about poultry meat published in the media. In comparison, 57% of them reported that they investigated their accuracy. In order to evaluate whether the consumers were affected by the news that frequently appeared in the media about poultry, a true or false question was also asked to the participants that involved some general statements about poultry meat took place in the media. The participants were asked to indicate true or false based on their up-to-date knowledge. These statements provided to the participants are given in Table 4. The answers to these statements are as follows:

-The vast majority of the participants (66%) reported that they wash poultry meat before cooking because they thought it gets cleaner,

-64% of them thought that it was a wrong practice to thaw frozen poultry in hot water in case of not enough time,

-46% of the participants thought that hard-cooked chicken with yellow skin and meat color is organic,

-69% of the participants thought excessive poultry meat consumption causes precocious puberty is a false statement.

-80% of the participants thought that hormones and/or antibiotics had been used in poultry breeding processes,

-89% of them thought that GMO feed had been used in the diet of chickens,

-74% of them thought that the antibiotic used for therapeutic purposes in chicken production is passed on to the consumers through nutrition,

-82% of them thought that the meat of the free-range chicken is safer and more nutritious compared to cage-free chickens,

-72% stated that the lights in the chicken coops were left on all day long, and thus the chickens were quickly raised,

-89% of them stated that the chickens were brought to the consumption weight in a short time by the effect of feed use in breeding.

Table 4. The percentages of participants choosing true or false statements of poultry meat published in the media

Poultry Related Statements That Takes Place in Media Organs	Answers of the participants (%)	
	<i>True</i>	<i>False</i>
I wash poultry meat because I think it gets cleaner.	66	34
Frozen poultry can be thawed in hot water in case of emergency use.	25	64
I think that hard-cooked chicken with yellow skin and meat color is organic.	46	54
Excessive consumption of poultry meat causes early puberty.	31	69
I think that hormones and/or antibiotics that threaten human health are used in chicken production.	80	20
I think GMO feed is used in the diet of chickens.	89	11
I think that the antibiotic used for therapeutic purposes in chicken production is passed on to consumers through nutrition.	74	26
I think the meat of the free-range chicken is safer and more nutritious comparing to cage-free chickens.	82	18
I think that the lights of the places where the chickens are located are kept on constantly so that they grow faster.	72	28
I think that with the feed used in the feeding of chickens, the chickens were brought to the consumption weight in a short time.	89	11

In the last five years, 41% of the participants reported that they did not change their poultry meat consumption frequency, while 22% decreased and 37% increased their poultry meat consumption frequency. It was determined that the group that said "my consumption of poultry meat has not changed in the last 5 years" gave a significantly more "no" answer to the question of "Do your poultry meat consumption affected by the news about chicken meat published on TV, social media or newspapers?" ($\chi^2 = 12.824$, $P = 0.02$, $df = 2$). When considering the relationship between the gender of the participants and their exposure to the news, a statistically significant difference was observed ($\chi^2 = 12.753$, $P < 0.05$). According to this result, it can be said that female participants are significantly more affected by such news than male participants. In addition, there is a statistically significant relationship between the age of the participants and their status affected by the news ($\chi^2 = 12.753$, $P < 0.05$).

According to the z-test results, there was a significant difference between consumers in the 18-24 age group and those in the age groups between 25 and 55 ($P < 0.05$). Participants between the ages of 25 and 55 are more affected by TV news ($P < 0.05$). However, there is no statistically significant relationship between the education level of the participants and their situation regarding being affected by the news ($\chi^2 = 3.918$, $P > 0.05$).

Participants were also asked which group they trust or consulted most issues related to the quality and reliability of poultry meat. The given groups and the answers of the participants are summarized in Table 5. Food engineers were found to be the most consulted group, followed by nutrition and dietetics specialists, medical doctors, internet sources, written or visual press news, veterinarians, and social media news.

Table 5. The most consulted and trusted professions on issues related to the quality and safety of poultry meat

OCCUPATIONAL GROUP	Answers (Number of Participants)
Food engineers	530
Nutrition and dietetics specialists	228
Medical doctors	129
Internet sources	102
Written or visual press news	83
Veterinarians	50
Social media news	41

Opinions on poultry meat packaging

Packaging is of great importance in ensuring and protecting food safety; thus, consumers were advised to take poultry meat in a package (Fang et al., 2017). Although most poultry meat and meat products take their place on the market shelves in different types of packages, they can be sold openly in the butcher's aisles. However, products sold without packaging can cause serious public health consequences. Therefore, to evaluate consumers' perceptions and preferences about the packaging of poultry meat, some questions

were asked to the participants. Most of the participants (69%) reported that they never purchase poultry meat without packaging, while 13% of them prefer to buy unpacked poultry meat, and 18% said that it never minds packaged or unpackaged. There is a statistically significant relationship between the gender of the participants and the purchasing status of packaged poultry meat ($\chi^2 = 7.287$, $P < 0.05$). When the gender of the participants was compared with regard to the packaged product consumption, it was observed that 275 of the

female and 177 of the male participants did not buy packaged poultry meat. According to this result, it can be said that male participants significantly purchased more packaged poultry meat than female participants.

The most attention-paid factors in the package were also asked participants in multiple-choice questions, and participants had a chance to choose more than one factor in this question. The

factors given in this question are represented in Table 6. While purchasing packaged meat, “descriptive and sufficient label information” was found to be the most attention-paid result information, which was followed by product visibility, halal label, brand, and organic label. However, being one of the best-selling products, easy carrying/transport and the package design were observed as the less attention paid factors.

Table 6. The number of participants for the most significant information considered in the package label

Information	Answers (Number of Participants)
Having descriptive and sufficient label information	451
Product visibility	391
Halal label	346
Brand	313
Organic label	287
Being one of the best-selling products	71
Easy transportation	51
Package design	39

In daily life, sometimes people find that the poultry meat they buy from the market (or another selling point) is spoiled even if the expiration date has not passed. This situation causes economic losses for consumers, producers, and sellers. Also, it can damage the reliance of the consumers on the product. Nowadays, the same intelligent/smart packaging technologies have started to develop to prevent these losses. This technology gives the opportunity to consumers, producers, and sellers to follow the freshness of the product simultaneously. In this study, the consumers’ perceptions regarding using smart packaging technologies in poultry packaging were also analyzed. Some participants (36%) reported that they have an experience with spoiled poultry meat product, although it has a valid expiration date. Although 89% of the participants reported that they would like to easily see if the product on the shelf is spoiled with a visual (by color-transforming) indicator on the package of the product, 3% of them reported that they do not want it, and 8% said they have no idea about it.

There is a significant difference between the education groups in terms of the answers given to this question ($\chi^2= 16.405$, $P=0.012$, $df=6$). According to Tamhane’s T2 test results, only the groups which have primary school degrees and master’s and higher degrees are significantly different from each other in terms of their response to this question (Mean difference= 0.423, $P=0.005$), and participants with master’s and higher degree are more open a smart label technology, which shows the freshness of the product.

To the question “Do you think the use of a visual smart indicator on the product indicating the product is not fresh anymore increases the product reliability?” 85% of participants said “yes” while 6% of them said “no” and 9% of them said “I have no idea” In addition, 66% of participants stated that they would buy smart labeled packages even if it increases the product's price. In contrast, 16% are unwilling to pay extra for the smart label, and 18% stated that they have no idea about it. A significant difference was

found between the income groups regarding responses given to this question ($\chi^2=15.860$, $P=0.044$, $df=8$). According to Tamhane's T2 test results, the groups with the income of 801-1500 TL and more than 4001 TL (mean difference=0.303, $P=0.46$) and 1501-2500 TL and more than 4001 TL (mean difference=0.290, $P=0.034$) are significantly different from each other. The group with the higher income is willing to pay more for smart packaging.

Breeder Survey

In the current study, a breeder survey was also conducted with the attendance of 323 breeders who has a breeding farm. Within the scope of this survey, it was aimed to get breeders' opinions about the accuracy of the news published in the media, to reveal the effects of misleading news on breeder processes, to learn their actions/attempts against that news, and to get breeders' opinion on consumers' poultry meat preferences and "Salmonella Control Program" ruled by the State.

Evaluation of growth period

Broilers are hybrid breeds with high meat yield, obtained by mating (hybridization) of the selection of breeds known as meat breeds through natural crossbreeding (Anonymous, 2014). As a result of long-lasting studies, "broiler" breed emerges as a species that comes to the weight of slaughter in as short as 45 days. It is thought that this new hybrid breed may not be well understood by some poultry breeders. Additionally, misleading news about broilers creates a perception of this species as if a new genetically modified breed has been discovered. To determine the breeders' perspective on this situation, a yes/no question was asked to breeders as "The growth process that chickens reach the slaughter weight in a short time, such as 45 days, is not perceived as a natural process by the consumers. Do you agree with this statement?" Three hundred and five of the 323 chicken breeders who participated in the study answered this question. 31.10% of the breeders who responded to this question stated that they agree with that statement indicating it is not a natural period. In comparison, 68.90% said they disagree

with the statement indicating that it is the natural growth process.

Evaluation of the effects of lighting and light sources

To the question of "Do you agree with the statement that chickens are left under light all night for rapid growth?" Three hundred eight breeders responded. Among the responders, 46.80% agree that chickens are left under the light at night for rapid growth, while 53.20% disagree with this statement.

185 of the 323 chicken breeders answered the question of "How do the light sources/colors such as daylight, red and blue light application affect broiler eating habits and development?" This question was open-ended. The results obtained according to the answers received were categorized and compiled according to the following headings: effects on stress, effects on feed consumption, effects on broiler injury, effects on performance and yield increase, effects on bone development, effects on reproductive and growth hormones, and has no impact on broilers. Some breeders reported that they heard/know daylight, blue light, green light, and low light intensity calm broilers and reduce stress; however, high light intensity and red light make broilers angry and increase stress. Besides, some of them stated that they heard/know green light and daylight increase feed and water consumption, performance and yield, bone development, and production of reproductive and growth hormones. However, some of them emphasized that broilers that stay in the dark for a long time become famished during the dark period and attack the managers when they get light, and there may be injuries during this time. On the other hand, most breeders claim that different light sources do not affect broilers' feedings, growth, or reproduction. However, controlled light application is recommended (Lewis, 2009).

Evaluation of hormone usage

Ninety-five percent of the breeders reported that hormones are not used in broiler breeding; however, 5% said they use hormones.

Evaluation of the attention paid to the time of antibiotic withdrawal from the body before slaughter

Among the 323 breeders that participated in the survey, 311 breeders answered the question, "Do you consider the time of withdrawal from the body of the antibiotics before cutting broilers?" 98% of the responders reported that they pay attention to the time of withdrawal of the antibiotic from the broiler body before slaughter, while 2% did not.

Evaluation of the GMO contents of the feed used in broiler breeding

To the question "Do the feeds you use for raising chickens contain GMOs?" Three hundred four of the participants answered, and 46.40% reported that the feeds they use contain GMOs.

Evaluation of the effects of the news that publish in written or visual media on the poultry sector

There is a lot of misleading information about dietary habits and food production in the visual and print media. In order to assess the effects of news on the poultry sector, the question "Do visual or written news published in the media about chicken breeding processes affect your sector? If so, can you briefly mention the effects?" was asked the breeders. While 303 of the breeders answered this question, 87% stated that the news about the poultry affected the sector. Besides, 133 of them gave brief mentions, and they pointed out that the statements made by non-experts in the media, caused a serious misunderstanding. For example, because of false or inaccurate statements, consumers are losing their trust in the sector, they stop eating poultry meat. Thus they may stay away from an essential source of animal protein. In addition, the news about the use of antibiotics and hormones in poultry breeding brings a question mark to most consumers' minds, and therefore, they may avoid eating poultry meat. However, 50.80% of 301 breeders stated that there is an initiative/action to eliminate consumers' concerns that occur as a result of inappropriate/misleading news published in media, and 49.20% of them say that such an initiative/action does not exist.

Evaluation of the "Salmonella Control Program"

In developed countries, especially in the European Union countries, "National *Salmonella* Control Programs" are applied according to the appropriate sampling method at all stages of poultry breeding processes, from the first stage of production to reach the consumer. With the program, it is aimed that the frequency of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* in poultry production will be below 1% in accordance with the appropriate sampling model according to European Union standards. After the studies conducted in this context, most European Union countries have reported that they have reached the target. In this monitoring, breeder flocks, commercial production poultry houses, slaughterhouses, and poultry products are used as material (Anonymous, 2018). In 2018, "Salmonella Control Program" was started to apply by the Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry to the poultry sector (started from hatcheries and breeder farms to the slaughterhouse). Within the scope of the breeder survey conducted in this study, the breeders were asked about their satisfaction with the "Salmonella Control Program" Seventy-nine percent of the 294 breeders responding to this question is satisfied with the *Salmonella* Control Program, while 21% are unsatisfied with this program. Forty-three of the chicken breeders who were unsatisfied with the *Salmonella* Control Program had some complaints and made suggestions to address these problems. These complaints can be categorized as non-effective and insufficient inspections, lack of necessary sensitivity and control in inspections, the dominant effect of integrated facilities. Some breeders pointed out that inspections should be done more effectively, temperately, tightly, and frequently.

DISCUSSION

Consumer Survey

According to the consumer survey, a significant difference was observed between income levels and the frequency of chicken meat consumption. As stated by Şengül et al. (2002), it has been determined that as families' income levels increase, the frequency of consumption of chicken meat and meat products also increases.

In the current study, the most consumed poultry part was breast (59%), while the consumption rate was only 21% for whole poultry. Similarly, in the survey studies carried out in Turkey by Şengül et al. (2002), Durmus et al. (2012), Kizilaslan and Nalinci (2013), and Eleroğlu et al. (2018), it is reported that 60%, 44%, 52%, and 44% of participants preferred to buy poultry meat as whole poultry, respectively. These rates were found to be much higher than our result. The decrease in whole chicken consumption may be due to the year differences between the studies or the age and income differences of the population surveyed.

Fresh poultry meat has a very short shelf life. Therefore, the expiration date was the most important factor that consumers paid attention to when purchasing poultry meat, followed by freshness (Table 3). Similarly, a study carried out by Durmuş et al. (2012) stated that the most crucial factor affecting the preference for fresh poultry meat is the expiration date (67.35%) which is followed by the brand (22.88%).

Although the advertisements were found the least affecting factor of consumer purchasing behavior, nearly half of the participants (45%) reported that their poultry meat consumption was affected by the news about poultry meat published on TV, social media, or newspapers. Up-to-date research indicated that advertisements, news, and information published in the mass media could have significant and measurable effects on consumer cognitions, emotions, and behaviors (Kemp et al., 2015; Vukmirovic, 2015; Pechmann and Catlin, 2016). These notifications show a significant positive association between exposure to food advertising and food choices (Vukmirovic, 2015). Misleading news and information are published in the media about poultry meat as an unhealthy food source due to hormone use, antibiotic use, keeping animals constantly in the daylight, etc. A substantial majority of the participants (43%) stated that they did not investigate the accuracy of the news about poultry meat published in the media. Thus, the accuracy of the news and information published

in the media is of great importance, and the information of experts in the field should be published in the media more frequently.

On the other hand, with the information published in the mass media and personal justice, people create their consumption habits. Washing of raw meat is a widely applied mishandling practice among the public. Because during the washing of meat, several microorganisms found in washing water can contaminate the meat, or bacteria in raw poultry juices can be spread onto other foods, utensils, and surfaces (Henley et al., 2016; USDA-FSIS, 2020). Therefore, the washing process before cooking is not a highly recommended practice. However, 66% of the participants were reported that they wash poultry before cooking. There may be a suggestion on the labels to warn the consumer not to wash the raw meat before cooking.

Thawing of the perishable foods also needs extra attention because, during the thawing, the outer layer of the food could easily reach the danger zone, and the bacteria found on the surface of the food before could multiply rapidly. Thus, thawing of perishable foods such as poultry meat, thawing in the refrigerator, cold water, and microwave was recommended; however, thawing on the counter and in hot water was not recommended (USDA-FSIS, 2013). In the current study, it was observed that most of the participants know that it was a wrong practice thawing poultry meat in hot water (64%).

A vast majority of the participants (89%) thought that GMO feeds used in poultry breeding bring poultry to the cutting weight in a short time. Although GMO feeds can be used in poultry farming, but in the literature data, there is still speculation about whether it has adverse on humans. However, broilers are hybrid poultry formed by the crossbreeding of the most productive breeds. Thus, today broilers come to the cutting weight in approximately 42 days. So, this is not a result of their feeding. In addition, in the mass media, there is some news about the excessive consumption of poultry meat causes early puberty. Studies in the literature stated that

excessive consumption of poultry meat may and may not cause early puberty (Al-Agha et al., 2015; Chen et al., 2018; Subashree, 2020). However, there is not enough evidence stating the excessive consumption of poultry meat causes early puberty. In the current study, 69% of the surveyed people stated that they thought the excessive consumption of poultry meat could not cause early puberty; however, the rest thought it would.

On the other hand, there is also news about the usage of hormones and antibiotics in poultry breeding, and the mass media publish news about it periodically because this topic takes consumers' attention and media like to take their attention. Many poultry breeders try to explain that hormones are not used in breeding, that the use of hormones is not an economic practice, and that hormones are prohibited in many countries, including Turkey. But, still, the mass media publish the news about the use of hormones in breeding. In addition, antibiotics are used only in case of poultry disease, and veterinarians follow their elimination time before slaughter. However, 80% of the participants still believe that hormones and antibiotics have been used in poultry breeding processes. Although most (55%) of the participants reported that their purchasing habits were not affected by the news, it was observed that the news has important effects on their purchasing habits and their perceptions of 45%.

Packaging is important in poultry production and manufacturing because it protects the product from contamination by physical, chemical, and microbial risks. The current commercial application in poultry packaging is modified atmosphere packaging to increase the shelf life. However, it is highly desirable to apply new and innovative technologies called active and smart or intelligent packaging that will increase the shelf life of the product, give an idea about the freshness of the product, maximize meat quality and safety, and enhance customer engagement (Chowdhury and Morey, 2019) since the food loss is high due to very short shelf life of poultry meat products. The current study has also provided evidence that consumers have an interest and are

willing to buy poultry products packaged with innovative technologies such as smart color indicators.

Breeder Survey

Broilers, a long-term study hybrid breed, can reach 2-2.5 kg slaughtering weight naturally by completing their development in 40-45 days by meeting their nutritional needs in a sufficient and balanced way and by being housed in a temperature and ventilation controlled and hygienic hen environment. Thus, breeders who are thought it is not a natural growth period for poultry should be informed/educated by the favor of written or visual media about broiler chickens and their production processes.

The effects of different lighting applications (different lighting times, different light colors, etc.) on poultry development have been studied in various studies in poultry farming (Wabeck and Skoglund, 1974; Yıldırım et al., 2009; Başer and Yetişir, 2010). Başer and Yetişir (2010) reported that different lighting programs applied in the breeder growing period regulate the daily rhythmic movements of the broilers, affect the access to food and water, and significantly affect the welfare level and yield performance of the animal. The study, evaluated the effects of different light treatments on mortality, body weight, weight gain, and feed consumption. Significant improvements were found in body weight, feed consumption, and body weight gain in green light or green-blue light-mixed groups. Additionally, significant improvements were determined in terms of carcass weight in the green or green-blue mixed group. It was recommended to apply green light for the first three weeks of the breeding period and green-blue mixed lighting for the remaining three weeks, especially for female broiler breeding (Başer and Yetişir, 2010).

Yıldırım et al. (2009) stated that the short lighting periods applied in the early period of breeding reduced the growth rate of broilers. Still, it was recovered in the form of compensatory growth in the later periods. It has also been stated that short lighting times improve feed conversion and reduce mortality. Besides, Wabeck and Skoglund

(1974) reported that the light spectrum affects the growth of broilers. They emphasized that broilers grown under blue or green light fluorescent lamps gained significantly more weight than broilers raised under red or white light, but feed yield and mortality were not affected by this factor.

As in many other European countries, the use of hormones in broiler breeding is prohibited in Turkey. Turkish Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Food and Control stated that it is not economical and feasible to give hormones to chickens, hormone application is not applied to ensure the rapid growth of chickens, and there is no hormone used for this purpose in chickens in our country and the world. Hormone use in poultry breeding in Turkey has not been encountered so far, and not a single case has been reported by authorized institutions (Anonymous, 2014).

From time to time, there are many false news about the use of antibiotics in the written and visual media, just like the use of hormones. As with humans, of course, antibiotics are used to heal animals. However, removing the antibiotic from the poultry body before slaughter is taken into account, and strict rules are applied by the Turkish Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Food and Control. As confirmed and reported by the breeders participating in the current survey, it was observed that breeders pay attention to the time of removal of the antibiotic from the broiler body before slaughter.

On the other hand, using GMO-containing feeds has been one of the most argued and taking attention topics by consumers. According to the statement made by the European Food Safety Authority (EFSA), it has been stated that no GMO DNA or proteins have been found in the tissues, fluids, and products of animals fed with GMO feeds (EFSA, 2007). Still, again, EFSA reported that the allergenicity of this new protein should continue to be assessed (EFSA, 2017). Consumers have serious concerns about the poultry meats that are fed with GMO-containing feeds. As the breeders' responses demonstrated, GMO feeds can be used in poultry breeding in

Turkey. But the safety issues and permissions are evaluated by the Turkish Ministry of Agriculture and Forestry, Biosafety Council. The latest decisions of the Biosafety council have been published in the Official Gazette on January 23, 2021, which is responsible for determining the GMOs that can be used in our country and their areas of use. Accordingly, the approvals of 3 GMO soybeans, whose permit period expired on January 26, 2021, have been revoked. The use of 2 GMO soybean (305423 and FG72) and 1 GMO corn (MON 87427) varieties in feeds, which were previously applied for and are in the evaluation process, was approved (Anonymous, 2021).

Misleading information in the media occurs by exaggerating the effect of food, expressing functions that do not exist in food, and conveying that food is unhealthy or dangerous in an unscientific way (Sağlam and Gümüş, 2019). Breeders who participated in our survey reported that such news published in the media, whose source is unknown, undermines the trust in chicken meat and consumption of chicken meat. It was emphasized that the fabricated news, negatively affects not only the consumers but also the breeders. However, they stated that despite the news that had an instant impact, chicken meat consumption and production increased from year to year. This inconsistent situation may arise as a result of the increase in red meat prices and the necessity to meet animal protein needs. In order to prevent this information pollution presented in the media, it is critical to make a bridge between scientific facts and consumers to educate people for a better and healthier life.

The target of the “*Salmonella* Control Program” is to ensure that the frequency of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* in broilers, layer hens, and turkeys is below 1%. For this purpose, environmental control, frequency of disinfection, and production period are important as the main factors to be controlled (Şahin and Öztap, 2018). With full compliance with the *Salmonella* Control Program, the *Salmonella* problem, an important problem in the poultry industry, will be solved. As relevant to “*Salmonella* Control Program” it was observed that most of the breeders are happy with

the application (79%). But, the rest of the breeders (21%) stated that there were points that they were not satisfied within the program. As mentioned in Part 3.2 under the subtitle of “Evaluation of the “*Salmonella* Control Program” breeders addressed some problems. For the dissatisfied breeders to be satisfied with the program, it has been observed that the ministry should conduct stricter and more effective inspections and that the samples must be taken objectively and by expert people.

CONCLUSION

Poultry meat is one of the most consumed meat products. Besides, 98% of the participants consumed poultry meat and a total 78% consumed it between 1 and 4 times a week. Trustworthiness was the most important parameter for choosing a purchasing place. Additionally, expiration date, freshness, and healthiness were other important parameters during shopping for poultry meat. Although more than half of the participants (55%) reported that they were not affected by the news published in the mass media, the rest (45%) was affected much more by the news, and this misleading information also affected the poultry sector adversely. Moreover, it has been observed that more awareness should be raised about poultry breeding among the breeders. According to the results, it was observed that there is no need to create a perception from scratch. But, still, there is a necessity to make arrangements in the existing system in order to reduce the number of unconscious breeders and consumers. It is predicted that to prevent wrong, insufficient/inadequate information and perceptions, correct information and instructions that can be supported by scientific data should be distributed to the public through visual and written media, educational programs, and prospectuses. It is also critical that taking part of the experts in these programs that the public can trust. In addition, most consumers were found open to the innovative process/package technologies in poultry packaging. Smart packaging applications will apparently reduce food loss, possibly due to inappropriate storage conditions, and prevent consumers from buying

spoiled products still with valid expiration date saving their time and money.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Güliz Haskaraca: Writing original draft, formal analysis, investigation, methodology, reviewing and editing; Yusuf Arslan: Statistical analysis, reviewing and editing; Zehra Ayhan: Writing original draft, methodology, reviewing and editing

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank to Betül Tekyildiz, Elif Kuru, Esra Çoban, Gamze Kurtoğlu for their support during conducting of the survey.

FUNDING

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

- Ahmed, I., Lin, H., Zou, L., Li, Z., Brody, A. L., Qazi, I. M., Lv, L., Pavase, T. R., Khan, M. U., Khan, S., Sun, L. (2018) An overview of smart packaging technologies for monitoring safety and quality of meat and meat products. *Packaging Technology and Science*, 31:7, 449-471.
- Al-Agha, A. E., Saeedi, R. J., Tatwany, B. O. (2015) Correlation between Nutrition and Early Puberty in Girls Living in Jeddah, Saudi Arabia. *Journal of Women's Health Care*, 4, Article 233. doi:10.4172/2167-0420.1000233
- Anonymous (2014) T.R. Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Food and Control, Misconceptions About Chicken Meat / T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Piliç Eti Hakkında Doğru Bilinen Yanlışlar (In Turkish) Retrieved from <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Duyuru/79/Pilic-Eti-Hakkinda-Dogru-Bilinen-Yanlislar>, 2014. Accessed May 11, 2021
- Anonymous (2017) Food outlook- November 2017 OECD-FAO Agricultural outlook 2018-2027. Retrieved from <https://www.fao.org/>

- 3/i9166e/i9166e_Chapter6_Meat.pdf Accessed May 11, 2021
- Anonymous (2018) National *Salmonella* Control Program (in Turkish). Published by Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Food and Control, publish date: 16.2.2018. Retrieved from <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Duyuru/323/Ulusal-Salmonella-Kontrol-Programi-Yayinlanmistir> Accessed May 16, 2021
- Anonymous (2021) Official Gazette dated 23 January 2021 and numbered 31373. Retrieved from <https://www.resmigazete.gov.tr/23.01.2021> Accessed July 1, 2021.
- Başer, E., Yetişir, R. (2010) Effects of Different Lighting Schedules on Broiler Performance and Welfare. *Animal Production/ Hayvansal Üretim*, 51(2), 68-76.
- Chen C., Chen, Y., Zhang, Y., Sun, W., Jiang, Y., Song, Y., Zhu, Q., Mei, H., Wang, X., Liu, S., Jiang, F. (2018) Association between Dietary Patterns and Precocious Puberty in Children: A Population-Based Study. *International Journal of Endocrinology*, 4528704. doi: 10.1155/2018/4528704
- Chowdhury, E.U., Morey, A. (2019) Intelligent Packaging for Poultry Industry. *Journal of Applied Poultry Research*, 28 (4): 791-800. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz098>
- Durmuş, İ., Mızrak, C., Kamanlı, S., Erdoğan Demirtaş, Ş., Kalebaş, S., Karademir, E., Doğu, M. (2012). Poultry meat consumption and consumer trends in Turkey. *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, 2, 10-14.
- EFSA, (2007) EFSA statement on the fate of recombinant DNA or proteins in meat, milk and eggs from animals fed with GM feed. Retrieved from <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2007.744>. Accessed July 1, 2021
- EFSA, (2017) Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. Retrieved from <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2017.4862>. Accessed October 11, 2021
- Eleroğlu, H., Bircan, H., Arslan, R. (2018) Yozgat İl Merkezinde Yumurta ve Tavuk eti Tüketimi Üzerine Etki Eden Faktörler/ The Factors Affecting Egg and Poultry Meat Consumption in Yozgat Province (in Turkish with English abstract). *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, 15 (1): 29-33.
- Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R. D., Johnso, S. K. (2017) Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science and Technology*, 61, 60-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.002>
- Henley, S. C., Gleason, J., Quinlan, J. J. (2016) Don't Wash Your Chicken!: A Food Safety Education Campaign to Address a Common Food Mishandling Practice. *Food Protection Trends*, 36(1), 43-53.
- IBM Corp. (2011) IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Kemp, E., Bui, M., Chapa, S. (2015). The role of advertising in consumer emotion management. *International Journal of Advertising*, 31(2), 339-353. <https://doi.org/10.2501/IJA-31-2-339-353>
- Kizilaslan, H., Nalinci, S. (2013) The poultry consumption habits of households and the factors affecting their poultry consumption in the province of Amasya. *Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research*, 6, 1-18.
- Lewis, P. (2009) Lighting for Broiler Breeders. Aviagen. Retrieved from http://ar.staging.aviagen.com/ssets/Tech_Center/Broiler_Breeder_Tech_Articles/English/Lighting_for_Breeders.pdf. Accessed May 18, 2021.
- Pechmann, C., Catlin, J. R. (2016) The effects of advertising and other marketing communications on health-related consumer behaviors. *Current Opinion in Psychology*, 10, 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2015.12.008>
- Petracci, M., Mudalal, S., Babini, E., Cavani, C. (2014) Effect of White Striping on Chemical Composition and Nutritional Value of Chicken Breast Meat. *Italian Journal of Animal Science*, 13:1. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3138>

- Popova, T. (2017) Effect of probiotics in poultry for improving meat quality. *Current Opinion in Food Science*, 14, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.01.008>
- Sağlam, K., Gümüş, T. (2019) The effects of food-related misconception in printed, visual and social media on the consumer. *GIDA*, 44:1, 153-162. <https://doi.org/10.15237/gida.GD18108>
- Şahin, G., Öztap, G. (2018) Ulusal *Salmonella* Kontrol Programı. Oral presentation at the meeting of 6th Food Safety Congress, Istanbul, Turkey.
- Şengül, A., Çelik, Y., Doğan, Z. (2002) Determination of Level of Chicken Meat Consumption and Consumption Pattern of Consumers in Şanlıurfa Urban Areas/ Şanlıurfa İli Kentsel Alanda Tavuk Eti Tüketim Düzeyi ve Tüketim Alışkanlıklarının Belirlenmesi (In Turkish). *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University (JAFAG)*, 19(1), 145-150.
- Subashree, A. (2020) Impact of poultry consumption by adolescent females – An analytical study. *Drug Invention Today*, 13(7), 1220-1223.
- USDA-FSIS (2013) The Big Thaw - Safe Defrosting Methods. Retrieved from [https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-](https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/big-thaw-safe-defrosting-methods)
- [food-handling-and-preparation/food-safety-basics/big-thaw-safe-defrosting-methods](https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/big-thaw-safe-defrosting-methods). Accessed May 29, 2021
- USDA-FSIS (2020) Washing Food: Does it Promote Food Safety? Retrieved from [https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-](https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/washing-food-does-it-promote-food)
- [food-handling-and-preparation/food-safety-basics/washing-food-does-it-promote-food](https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/washing-food-does-it-promote-food). Accessed May 29, 2021
- Vukmirovic, M. (2015) The effects of food advertising on food-related behaviors and perceptions in adults: a review. *Food Research International*, 75, 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.011>
- Wabeck, C. J., Skoglund, W. C. (1974) Influence of radiant energy from fluorescent light source on growth, mortality and feed conversion of broilers. *Poultry Science*, 53, 2055-2059. <https://doi.org/10.3382/ps.0532055>
- Yıldırım, İ., Parlat, S.S., Tiryaki, S., Bülbül H. (2009) Effects of monochromatic illuminance from light emitting diodes (led) on broiler performance. *Selçuk University Journal of Agricultural and Food Sciences*, 23 (47): 73-76. ISSN: 1309-0550

ET VE ET ÜRÜNLERİNDE POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN OLUŞUM MEKANİZMALARI VE AZALTICI YAKLAŞIMLAR

Betül KARSLIOĞLU*

Hasan Kalyoncu Üniversitesi, Güzel Sanatlar ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü,
Gaziantep, Türkiye

Geliş / Received: 16.04.2022; Kabul / Accepted: 17.11.2022; Online baskı / Published online: 24.11.2022

Karslıoğlu, B. (2022). Et ve et ürünlerinde polisiklik aromatik hidrokarbonların oluşum mekanizmaları ve azaltıcı yaklaşımlar. *GIDA* (2022) 47 (6) 1032-1045 doi: 10.15237/ gida.GD22045

Karslıoğlu, B. (2022). *Formation mechanisms and reduction strategies for polycyclic aromatic hydrocarbons in meat and meat products*. *GIDA* (2022) 47 (6) 1032-1045 doi: 10.15237/ gida.GD22045

ÖZ

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) et ve et ürünlerinin yüksek sıcaklıklarda pişirilmesi sonucu oluşan mutajenik ve kanserojenik bileşikler olup, bu bileşiklere maruz kalmanın en yaygın yolu diyet alımıdır. Et ve et ürünlerinde yüksek miktarda oluşan bu PAH bileşiklerinin oluşumuna pişirme yöntemi, pişirme sıcaklığı, pişirme süresi, etin yağ içeriği gibi birçok faktör etkilidir. PAH bileşiklerinin oluşumu kaçınılmaz olmakla birlikte, oluşum mekanizmalarının bilinmesi oluşan PAH seviyelerinin azaltılması ve engellenmesi açısından önemlidir. Bu organik kirleticilerin sağlık üzerine olumsuz etkilerinin bulunması, gıdalarda bu bileşiklerin oluşumunun azaltılmasına veya engellenmesine dair stratejiler uygulanmasına neden olmaktadır. PAH oluşumunu azaltıcı yaklaşımlar ısı işlem sıcaklığının ve süresinin mümkün olduğunca düşürülmesi, alternatif pişirme yöntemlerinin kullanımı, pişirme yöntemlerinin modifikasyonu, marinasyon uygulaması, et ve et ürünlerinin kimyasal kompozisyonundaki değişiklikler gibi önlemleri kapsamaktadır. Bu çalışmada et ve et ürünlerinde PAH oluşum mekanizmaları ve oluşum düzeyinin azaltılmasına dair stratejilerin detaylı olarak açıklanması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Polisiklik aromatik hidrokarbon, et, PAH oluşum, sağlık, azaltma stratejileri

FORMATION MECHANISMS AND REDUCTION STRATEGIES FOR POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN MEAT AND MEAT PRODUCTS

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are mutagenic and carcinogenic compounds formed as a result of cooking meat and meat products at high temperatures, and the most common way of exposure to these compounds is dietary intake. Many factors such as cooking method, cooking temperature, cooking time, fat content of meat are effective on the formation of these PAH compounds, which occur in high amounts in meat and meat products. The adverse effects of this organic contaminants on health have led to the development of strategies to reduce the formation of these compounds in foods. Approaches to reduce PAH formation include reducing the cooking temperature and time as much as possible, using alternative cooking methods, marination, changes in the chemical composition of meat and meat products. In this study, it was aimed to explain in

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: betul.kokay@hku.edu.tr

☎: (+90) 342 211 80 80

☎: (+90) 342 211 80 81

Betül Karslıoğlu; ORCID no: 0000-0002-8956-4245

detail the mechanisms of PAH formation in meat and meat products and the strategies to reduce its formation level.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons, meat, PAH formation, health, reduction strategies

GİRİŞ

İnsan beslenmesinde sağlık için önemli bir yeri olan et; mineral maddeleri, vitaminleri ve özellikle elzem amino asitleri ve yağ asitlerini yeterli miktarda yapısında bulundurmaktadır (Çiçek ve Bulgan, 2013; Zubariova vd., 2022). Ancak et, beslenme için elzem bir gıda maddesi olmakla birlikte, kanser gibi hastalıkların kaynağı da olabilmektedir. Son yıllarda yapılan birçok epidemiyolojik çalışmalarda et tüketimi ile kanser oluşum riski arasında pozitif bir korelasyonun söz konusu olduğu vurgulanmaktadır (Lourenço vd., 2018; Zhao vd., 2019; Knuppel vd., 2020; Farvid vd., 2021; Mota vd., 2021). Bu çalışmalara paralel olarak Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gibi birçok kuruluş tarafından da etin yüksek yağ içeriğine sahip oluşu, karsinojenik bir metal olan heme-demirini ve N-nitrozo bileşiklerini içermesi nedeniyle kırmızı et ve et ürünlerinin tüketiminin kanser oluşumuna sebep olduğu bildirilmiştir (Domingo ve Nadal, 2017).

Mikrobiyolojik güvenilirliğinin sağlanması ve organoleptik özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla et ve et ürünleri çeşitli yöntemlerle pişirilmektedir. Pişirme işlemi ile istenen değişikliklerin yanı sıra insan sağlığına potansiyel olarak tehlikeli olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH)'lar gibi kimyasal kontaminantlar da oluşmaktadır (Nauta vd., 2018; Molognoni vd., 2019; Mota vd., 2021). Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi, Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), Avrupa Bilimsel Gıda Komitesi (SCF) gibi birçok kuruluş tarafından PAH bileşiklerinin mutajenitesi ve karsinojenitesi ile ilgili raporlar yayınlanmıştır. Ancak toksik etkisinin daha fazla olduğu düşünülen 15 PAH (benzo[a]antrasen (BaA), benzo[b]florenten (BbF), benzo[j]florenten (BjF), benzo[k]florenten (BkF), benzo[ghi]perilen (BgP), benzo[a]piren (BaP), krisen (CHR), cyclopenta[cd]piren (CPP), dibenzo[a,h]antrasen (DhA), dibenzo[a,e]piren (DeP), dibenzo[a,h]piren (DhP), dibenzo[a,i]piren (DiP), dibenzo[a,l]piren (DlP), indeno [1,2,3-

cd]piren (IcP) ve 5 metilkrisen (5MC) bileşiği SCF tarafından öncelikli kirlenici listesine alınmış ve bu bileşiklerin insanlar üzerinde potansiyel genotoksik ve karsinojenik etkili olduğu bildirilmiştir. Bu bileşikler içerisinde ise üzerinde en çok çalışılan ve gıdalarda PAH varlığının bir göstergesi olarak kabul edilen bileşik BaP olmuştur (Bella vd., 2020). Bununla birlikte gıdalarda BaP bileşiğinin indikatör olarak kullanımının tek başına yeterli olmadığı, PAH4 (BbF, BaA, BaP, CHR) ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (Sobral vd., 2018). Ayrıca bu raporlarda sağlık açısından risk taşıyan PAH bileşiklerine maruz kalınması sonucunda akciğer, mesane, özofagus, mide, pankreas ve prostat kanserine yakalanma riskinin yüksek olduğu da ifade edilmiştir (Jiang vd., 2018; Lu vd., 2018; Tarafdar vd., 2018; Farvid vd., 2021). Bu yüzden PAH bileşikler insanlar, hayvanlar ve bitkiler için önemli bir risk kaynağıdır.

Isıl işlem kontaminantı PAH'lar; organik materyallerin eksik yanması sonucu ortaya çıkan uzun süre çevrede kalmaları ve birikmeleri sonucunda çevre kirliliğine neden olabilen ve biyolojik dengeyi bozabilen, oluşumu istenmeyen organik yapıdaki bileşiklerdir (Kılıç vd., 2017; El Hussein vd., 2018; Cachada vd., 2019; Bella vd., 2020). Doğada 100'ün üzerinde PAH bileşiği tespit edilmiş olup, hava, toprak, su gibi farklı ortamlarda veya tükettiğimiz birçok gıdada PAH'lar bulunmaktadır (Co ve Jn 2018). Bu bakımdan, besleyici değerleri ve gereklilikleri nedeniyle diyetle önemli bir yeri olan et ve et ürünleri, PAH maruziyeti açısından en fazla risk oluşturan grupta yer almaktadır. Isıl işlem görmüş etlerde oluşan PAH seviyeleri; pişirme yöntemi, pişirme sıcaklığı ve süresi, yakıt türü, gıdanın ısı kaynağına olan mesafesi ve yağ içeriği gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Gysel vd., 2018; Sobral vd., 2018; Jiang vd., 2018; Malarut vd., 2018; Tarafdar vd., 2018; Ghorbani vd., 2020; Kim vd., 2021a; Karşıoğlu ve Kolsarıcı, 2022). PAH bileşiklerinin en önemli alım kaynaklarından biri olan et ve et

ürünlerinde oluşum mekanizmasının incelenmesi, oluşan PAH miktarının azaltılması veya engellenmesi sağlık açısından önemlidir. Et ve et ürünlerinde PAH oluşum mekanizmaları ve azaltıcı yaklaşımların araştırılması ile ilgili çalışmaların sınırlı sayıda olması nedeniyle, bu literatür çalışmasında, PAH bileşiklerinin oluşumunda rol oynayan mekanizmalar ile azaltıcı stratejiler ile ilgili çalışmalar hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

PAH'LARIN OLUŞUM MEKANİZMASI

PAH'lar, organik maddelerin eksik yanması sonucu ve çeşitli endüstriyel kaynaklardan çevreye yayılan serbest radikallerden oluşan iki veya daha fazla aromatik halka içeren organik kirleticilerdir (Rozantele vd., 2018; El Hussein vd., 2021; Portet-Koltalo vd., 2020; Rekanovic vd., 2021). Bu kirleticiler esasen sadece karbon ve hidrojen atomu bulunan iki veya daha fazla benzen halkasının lineer, açılal veya küme halinde düzenlenmesi ile meydana gelen kimyasal bileşiklerdir (Onopiuk vd., 2021, Hamidi vd., 2022).

PAH bileşikleri lipofilik, yüksek erime ve kaynama noktası ile düşük buhar basıncına sahip, yüksek moleküler ağırlıklı organik maddeler için yüksek afinite gösteren, kimyasal olarak kararlı, apolar, düşük uçuculuğa sahip, hidroliz yoluyla zayıf bir şekilde parçalanıran, hidrofobik yapılarından dolayı sudaki çözünürlükleri az ve organik asitlerde veya organik çözücülerde ise kolayca çözünebilen yapıdadır (Kataoka ve Ishizaki 2013, Abdel-Shafy ve Mansour 2016).

PAH'ların çevreye yayılımlarında sudaki çözünürlükleri, buhar basınçları, uçuculukları, kimyasal reaktivitesi, biyotik ve abiyotik parçalanabilirliği, oktanol-su ayrılma katsayısı (Kow), organik karbon ayrılma katsayısı (Koc) gibi birçok fiziksel ve kimyasal faktör etkilidir (Abdel-Shafy ve Mansour 2016; Pirsaneb vd., 2018). Bu faktörler arasında Kow bileşiğin sudan lipide geçiş potansiyelini, Koc ise bileşiğin toprakta bulunan organik karbon üzerine adsorblanma potansiyelini gösteren katsayılardır. Ayrıca PAH'ların oluşum mekanizmasını kavrayabilmek ve PAH bileşiklerinin yapıları hakkında daha fazla bilgi

sahibi olmak için bu bileşiklerin davranış ve reaksiyon kinetiği, oluşum entalpileri gibi termokimyasal değerlerin bilinmesi de mekanizmayı anlamaya yardımcı olan verilerdir (Roux vd., 2008).

PAH bileşiklerinin oluşumunu önlemek veya azaltmak için, bu bileşiklerin oluşum mekanizmalarının tam olarak anlaşılması gerekmektedir. PAH oluşumu ile ilgili pek çok varsayım mevcuttur. PAH oluşumunun kesin mekanizması tam anlamı ile açıklanamamış olmakla birlikte, pirosentez ve pirolizin PAH oluşumuna neden olan iki baskın mekanizma olduğu düşünülmektedir (Grochowicz vd., 2019; Ghorbani vd., 2020). Genel olarak düşük molekül ağırlıklı hidrokarbonlar, pirosentezle PAH'ları oluştururken (Chen ve Chen 2001), yakıt ve bitki materyallerinde bulunan yüksek molekül ağırlıklı alkanlar, piroliz yoluyla PAH'ları oluşturmaktadırlar (Ekaye vd., 2019). Ancak bazı araştırmacılar PAH oluşumunda bu iki baskın yol dışında serbest radikal reaksiyonlarının intramoleküler katılma veya küçük moleküllerin polimerizasyonu mekanizmalarının da rol oynadığını raporlamışlardır (Wongmaneepratap vd., 2019).

Genel olarak gıdadaki PAH bileşiklerinin en önemli oluşum kaynağı yanma prosesidir. PAH oluşumunun birçok önemli detayı anlaşılammış olmasına rağmen, yanma prosesinin genel özellikleri ile ilgili birçok önemli noktası aydınlatılmıştır. PAH oluşumundaki ilk aromatik halka benzen kabul edilmekle birlikte, bazı reaksiyonlar aromatiklerin benzen olmadan da oluşabileceğini kanıtlamıştır (Kataoka ve Ishizaki, 2013; Reizer vd., 2019). En çok bilinen PAH oluşum mekanizmaları hidrojen ayrılması ve asetilen (C_2H_2) ilavesi olarak bilinen HACA mekanizması ve Diels-Alder reaksiyonlarıdır (Richter ve Howard, 2000; Basu, 2010; Kislov vd., 2013; Liu vd., 2015; Yang vd., 2017; Onopiuk vd., 2021). Ancak bununla birlikte henüz bilinmeyen ve PAH oluşumuna katkısı olduğu düşünülen diğer birçok alternatif oluşum mekanizmaları da söz konusudur (Reizer vd., 2019). Yanma prosesi sırasında kullanılan yakıtın cinsi ve miktarı, sıcaklığı, yanma süresi ve oksijenin bulunabilirliği

gibi birçok faktör PAH'ların oluşum mekanizmasını ve yapısını belirlemektedir (Han vd., 2020). Ayrıca biyokütlenin dönüşümü sırasında hücre duvarı bileşenleri (hemiselüloz, selüloz ve lignin) ve ağır metal içeriği de PAH oluşumunda etkilidir (Basu 2010).

Araştırmacılar tütsülenmiş ve ızgara et ürünlerinde PAH oluşumunun üç farklı mekanizmasından bahsetmişlerdir (Onopiuk vd., 2021; Molognoni vd., 2019).

a) Yağ ve proteinler başta olmak üzere organik maddelerin pirolizi veya pirosentezi

b) Pişirilen etteki suyun ve/veya yağın ısı kaynağı üzerine düşmesi

c) Yakıt olan organik maddenin (odun, kömür) tam yanmaması

PAH bileşikleri ete çeşitli kaynaklardan (toprak, su, hava vb.), kullanılan baharat vb. ingredienler aracılığıyla ve gıda işleme yöntemlerinden (pişirme, tütsüleme, kurutma vb.) kontamine olabilmektedirler. Et ve et ürünlerinin pişirilmesi sırasında gerçekleşen yanma prosesinde odunun kurumaya başlaması ile beraber alevin bazı kısımlarında piroliz başlamakta ve alev en yakın kısımlarda ise tam yanma meydana gelmektedir (Ledesma vd., 2016). Bu aşamada oluşan katran, aerosoller vasıtasıyla etin yüzeyinin kontamine olmasına ve PAH bileşiklerinin etin içine nüfuz etmesine neden olmaktadır (Purcaro vd., 2009). Bununla birlikte, etlerin kömür ateşinde pişirilmesi esnasında yağların eriyerek sıcak kömür üzerine düşmesi ile uçucu PAH bileşikleri oluşmakta ve böylelikle duman içeriğindeki PAH konsantrasyonu da artış göstermektedir (Ledesma vd., 2016). Oluşan bu uçucu PAH bileşikleri dumanlanma arttıkça gıdanın yüzeyinin daha çok kontamine olmasına yol açmaktadır (Kılıç vd., 2017). Sonuç olarak etlerin yüksek sıcaklıkta (200 °C ve üzeri) pişirilmesi sırasında oluşan serbest radikaller, hidrofobik gıda zincirine taşınarak önce hafif PAH bileşiklerini ardından ağır PAH bileşiklerini oluşturmak için rekombinasyona uğrarlar ve sonunda lipit açısından zengin gıda maddelerinde birikmektedirler (Singh vd., 2016).

ET VE ET ÜRÜNLERİNDE PAH BİLEŞİKLERİNİN OLUŞUMUNU AZALTICI VEYA ENGELLEYİCİ YAKLAŞIMLAR

Et ve et ürünlerinin önemli bir PAH kaynağı olduğu düşünüldüğünde, bu bileşiklerin azaltılması veya önlenmesi konusu son yıllarda önem arz eden konuların başında gelmektedir. Bu bileşiklerin oluşumunun azaltılması için uygulanacak işlemlerin PAH içeriğini minimize edecek veya engelleyecek şekilde modifiye edilmesi gerekmektedir. PAH bileşiklerinin oluşum düzeyi uygulanan pişirme yöntemi, pişirme süresi, pişmişlik derecesi, gıdanın ısı kaynağına olan mesafesi, kullanılan yanıcı türü ve sıcaklığına bağlı olmakla birlikte, hayvanın cinsiyeti, ısı işlem gören etin türü (dana, domuz, kanatlı eti vb.), oksijene erişilebilirlik, etin nem ve yağ içeriği (doymamışlık derecesi) gibi faktörler ile baharat, doğal ve yapay antioksidan varlığı gibi etmenlere bağlıdır (Jiang vd., 2018; Haiba vd., 2021; Sampaio vd., 2021; Rekanovic vd., 2021; Hamidi vd., 2022). Bütün bunlara ilaveten kullanılan et türünün kimyasal kompozisyonu, mozaik yapısı, miyogloblin içeriği; pişirmede kullanılan kömürün veya odunun tipi, karbon içeriği, karbonizasyon sıcaklığı, etin su içeriği, su aktivitesi, pH değeri, öncü amino asitlerin ve şekerlerin varlığı, yüzey/kütle oranı, pişirme işlemi sırasında etin bir veya birden fazla alt-üst edilmesi, döndürülmesi vb. bir çok faktörün de etkili olduğu belirtilmektedir (Kamal vd., 2018; Karslıoğlu ve Kolsarıcı 2022; Pouzou vd., 2018; Wang vd., 2019; El Hussein vd., 2018; Kim vd., 2021a).

Et ve et ürünlerinde PAH oluşumunu azaltıcı veya engelleyici yaklaşımlar ile ilgili çeşitli çalışmalar Çizelge 1'de özetlenmiştir. Pişirme koşulları bu kirleticilerin oluşumunu etkileyen en önemli parametrelerden biri olmasından dolayı, doğru pişirme yönteminin seçimi, kontrollü pişirme işleminin yapılması, doğrudan alev üzerinde pişirmeden ve oluşan dumandan kaçınmak, damlayan yağın uzaklaştırılması veya yağın yanmasını önlemek, çok yüksek sıcaklıklarda pişirmemek, ateşi tutuşturmak için çıra vb. ürünlerinin kullanılmaması, ısı kaynağı ile olan mesafe seçimi ile PAH oluşumunun

azaltılabileceği araştırmalarda gösterilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda; pişirme işlemi öncesi buharda veya mikrodalgada bir ön ısıtma uygulamasının, daha az yağlı ürün seçiminin, ürünün alevle direkt temasının engellenmesinin, gıdanın direk ısı kaynağına temasının engellenmesinin, gıdanın bir film ile veya herhangi

bir malzeme ile kaplanmasının/sarılmasının, marinasyon uygulamasının, marinat (baharat, soğan, sarımsak, yeşil çay vb.) veya doğal/yapay antioksidan ilavesinin de PAH oluşumunu azaltıcı yönde etkisinin olduğu gösterilmiştir (El Badry, 2010; Farhadian vd., 2011; Tkacz vd. 2012).

Çizelge 1. Et ve et ürünlerinde PAH oluşumunu azaltıcı veya engelleyici yaklaşımlara ilişkin çalışmalar

Et ve et ürünleri	Uygulanan strateji	İncelenen PAH bileşikleri	Elde edilen bulgular	Kaynak
Izgarada pişirilmiş tavuk ve dana eti	Ön pişirme işlemi (mikrodalgada ve buhar ile) ve sarma (Muz yaprağı ve alüminyum film kullanımı)	BaP, BbFln ve Fln	Her iki et türünde de buharla ve mikrodalgayla ön pişirme veya alüminyuma sarmanın BaP ve BbFln bileşiklerini azaltmada etkili olduğu; tavuk etlerinde alüminyuma sarmanın ön pişirme uygulamasına göre daha fazla azaltıcı etkisinin olduğu tespit edilmiştir.	Farhadian vd., 2011
Izgarada pişirilmiş dana eti	7 farklı formülasyonda marinasyon işlemi (Klasik marinasyon; Ticari marinasyon; Klasik+yağ ilaveli; Klasik+yağ+ limon suyu ilaveli; Klasik+limon suyu ilaveli; Klasik+yağ+demirhindi ilaveli; Ticari+ Demirhindi ilaveli ve 4 farklı marinasyon süresi (0, 4, 8 ve 12 saat)	BaP, BbFln ve Fln	% 1.2 konsantrasyonunda asidik marinasyon sosu ile marinasyonun PAH oluşumunu % 70'e kadar düşürdüğü, PAH azaltılmasında marinasyon süresinin etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.	Farhadian vd., 2012
Dana köfte	Alternatif pişirme yöntemi (ohmik ön pişirme ve farklı sıcaklıklarda infrared pişirme)	BaP ve PAH4	Ohmik ön pişirme ve ardından infrared pişirmenin PAH4 oluşumunu azalttığını belirtmişlerdir.	Kendirci vd., 2014
Izgarada pişirilmiş domuz eti	Bira marinatlarının kullanımı (siyah bira, alkolsüz bira, geleneksel bira)	BaA, BaP, Ch, BbF, BkF, DbA, BgP, IP ve PAH 8	Marinasyon sosuna siyah bira ilavesinin PAH8 oluşumunun engellenmesinde en etkili marinat olduğu bulgulanmıştır.	Viegas vd., 2014
Dana ve tavuk köfte	4 farklı marinat kullanımı (sarımsak, soğan, zencefil, karabiber)	BaA, BaP ve toplam PAH	Zencefil tozunun hem dana hem de tavuk köftelerinde toplam PAH'ların oluşumunu % 97.9 oranında engelleyen tek baharat olduğu tespit edilmiştir.	Lu vd., 2018

Çizelge 1. devam

Tütsülenmiş sazan balığı	Farklı tütsüleme filtrelerinin kullanımı (filtresiz, zeolit, granül aktif karbon ve gravel filtre)	Toplam PAH	Filtre tütsülenen örneklerine göre, özellikle zeolit filtre kullanımının toplam PAH oluşumunu önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir.	kullanılmadan sazan balığı, özellikle kullanımının oluşumunu azalttığı tespit	Babic vd., 2018
Kömürde ızgara edilmiş tavuk kanat eti	Fenolik asit kullanımı (protokatesik asit, gallik asit ve ferulik asit) ve farklı pişirme sıcaklıkları uygulaması (210°C, 240°C, 270 °C)	BaA, BaP, Ch, BbF, BkF, DbA, BgP, IP ve PAH8	Marinasyon işleminin PAH oluşumuna inhibitör etkisinin farklı sıcaklık uygulamasından daha etkili olduğu bulunmuştur.		Wang vd., 2019
Izgarada pişirilmiş domuz eti	Marinasyon sosuna diallil disülfid ve kuversetin ilavesi	BaP, PAH4, PAH16	Marinasyon sosuna diallil disülfid ilavesinin BaP oluşumunu %100 azalttığı, ağır PAH bileşiklerini ise %80 oranında azalttığı bulgulanmıştır.		Wongmaneepratip vd., 2019
Kömürde ızgara edilmiş domuz eti	5 farklı sirke (kara mürver, beyaz şarap, kırmızı şarap, elma, ahududulu elma sirkesi) ile marinasyon uygulaması	BaA, BaP, Ch, BbF ve PAH4	Pişirmeden önce püskürtülen sirke çeşitlerinden en fazla inhibisyon sağlayan kara mürver sirkesi olduğu ve ete sirke püskürtmenin inhibisyon açısından doğru bir strateji olduğu kanısına varmışlardır.		Corderio vd., 2020
Izgarada pişirilmiş tavuk baget	Pişirme yöntemi (kömürlü ve elektrikli) ve farklı çay marinatlarının kullanımı	BaA, BaP, Ch, BbF ve PAH4	Elektrikli ızgarada pişirmenin ve beyaz çay marinatı kullanımının BaP oluşumunu daha fazla önlediğini belirlemişlerdir.		Yao vd., 2020
Kömürde ızgara edilmiş domuz eti	Marinasyon sosuna kore tipi kırmızı biber (Gochujang) ilavesi ve iki farklı pişirme süresi uygulaması (Orta ve çok pişmiş)	BaA, BaP, Ch, BbF PAH4 ve PAH 16	Gochujang ile marine edilmiş örneklerin 71°C'de ızgara yapılmasının, toplam PAH oluşumunu azaltabileceği bulunmuştur.		Kim vd., 2021b
Sodyumu azaltılmış domuz pastırma	6 farklı formülasyonda kalsiyum klorür, magnezyum klorür, potasyum laktat ve kalsiyum laktat tuzlarının ikame kullanımı	BaA, BaP, Ch, BbF ve PAH4	Sodyumu azaltılmış et ürünlerinde ikame tuzların kullanımının PAH oluşumunu engellediği bulgulanmıştır.		Li vd., 2021
Izgarada pişirilmiş domuz eti	Çeşitli bitki ekstraktlarının (yaprak, karabiber, zerdeçal, jalapeno biberi ve demirhindi) kullanımı	BaA, BaP, Ch, BbF PAH4 ve PAH 16	Jalapeno biberi ekstraktı ile marine etmenin PAH seviyeleri üzerinde önemli bir azaltıcı etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.		Onopiuk vd., 2022

Marinasyon uygulaması

Etin pişirilmeden önce bir çeşni karışımı içinde marine edilmesi, lezzetini, aromasını ve/veya tekstürünü geliştirmek için kullanılan yaygın bir uygulamadır. Marinasyon işleminin, kullanılan marinatların içeriğine göre PAH oluşumu üzerine olumlu ve olumsuz etki mekanizmaları bulunmaktadır. Çalışmalarda pişirme işlemi öncesi, etlere uygulanan farklı marinasyon uygulamasının ve marinasyon bileşimine bazı bileşenlerin ilavesinin pişmiş etlerde PAH oluşumunu veya konsantrasyonunu azaltmada oldukça etkili olduğu gösterilmiştir (Molognoli vd., 2019; Büyükkurt vd., 2020; Wang vd., 2021; Duedahl-Olesen ve Ionas, 2022).

Yapılan çalışmalarda etlerin soğan, sarımsak, çay, kırmızı şarap posası, bira, salamura, sirke, ve çeşitli baharatların marinasyon sosuna ilave edilmesinin PAH miktarının azaltılmasında etkili katkı maddeleri olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte fenolik bileşikler açısından zengin bileşiklerle marine edilmesinin ve/veya marinasyon sosuna bazı antioksidanların (diallil disülfid, tert-butyl-hydroquinone-TBHQ vb.) ilavesinin de PAH oluşum seviyelerini azaltmaya yardımcı bileşikler olduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2019; Wongmaneepratip vd., 2019). Bu nedenle, et ürünlerine antioksidanların ilave edilmesi, pişmiş et ürünlerinde PAH seviyesini azaltmada etkili bir yol olarak kabul edilmiştir (Lu vd., 2018). Ayrıca bazı marinatların (alkali veya asidik marinat) ilavesi ile gıdanın kimyasal yapısının değiştirilmesi yoluyla da PAH oluşumunun azaltılabileceği ifade edilmiştir (Farhadian vd., 2012).

PAH oluşum mekanizmasında serbest radikal oluşumu nedeniyle antioksidanlar bu serbest radikalleri tutarak PAH oluşumunu azaltabilmektedir. Soğan, sarımsak, kırmızıbiber, zencefil ve karabiberin 180 °C'de derin yağda kızartılmış dana ve tavuk köftelerine eklenmesi ile PAH inhibisyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, zencefilin hem sığır hem de tavuk köftelerinde toplam PAH'ların oluşumunu %97.93 oranında engelleyen tek baharat olduğu tespit edilmiştir (Lu vd. 2018). Bu çalışmaya paralel olarak, domuz eti ve domuz et sularında PAH oluşumu üzerine soğan ve sarımsağın etkileri araştırılmış, soğanın

toplam PAH içeriğini tavada kızartılan etlerde ortalama %60, et sularında ise %90'nın üzerinde azalttığı; sarımsağın ise tavada kızartılan etlerde konsantrasyonu %54, et sularında ise %13.5-79 oranında azalttığı bildirilmiştir (Janoszka 2011). Wongmaneepratip ve Vangnai (2017) ızgarada pişirilmiş tavuk etine sitrik asit ve sodyum bikarbonat ilave ederek PAH düzeyini azaltma etkinliğini inceledikleri çalışmada, sitrik asit ilaveli asidik marinatın PAH düzeylerinde özellikle BbF ve BaP konsantrasyonunu önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuşlardır.

Marinasyon işleminin veya marinat kullanımının engelleyici etkisinin genellikle PAH'ların ara ürünleri olan serbest radikal ürünlerinin oluşumunda azalmaya yol açması sayesinde olduğu belirtilmektedir. Ancak marinasyon işleminin veya marinat kullanımının PAH oluşumunu engellemede tek başına etkili olmadığı, PAH oluşumunu etkileyen faktörlerin oldukça değişken olması nedeniyle diğer faktörlerle birlikte modifiye edilmesinin PAH düzeyini azaltmada daha etkili olacağı vurgulanmıştır (Duedahl-Olesen ve Ionas, 2022).

Pişirme koşulları

Et ve et ürünleri haşlama, kızartma, ızgara, barbekü, tutsüleme gibi birçok yöntemle pişirilebilmekte ve bütün pişirme yöntemlerinin farklı seviyelerde PAH oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, tutsüleme, ızgarada pişirme ve kızartma işlemlerinin yüksek düzeyde PAH oluşumuna sebep olduğu, pişirme yöntemi seçiminin, pişirme koşullarının modifikasyonu veya alternatif pişirme yöntemlerinin kullanımı (ohmik, mikrodalga, infrared pişirme yöntemleri vb.) ile PAH oluşumunun azaltılabileceği rapor edilmiştir (Singh vd. 2016). Cheng vd. (2019) ızgarada pişirilmiş etin PAH seviyesinin pişmemiş haliyle kıyasladıkları çalışmalarında, pişirme işleminin 3.43 kat daha fazla PAH oluşumuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yine benzer şekilde Chung vd. (2011) mangalda pişirilmiş sığır ve domuz etinin kavurma yöntemine göre daha fazla PAH oluşumuna neden olduğunu bulgulamışlardır. Lee vd. (2016) etin pişirilmesi sırasında damlayan yağı bir beher içinde toplamak

suretiyle pişirme süresince oluşabilecek toplam PAH konsantrasyonunun %89'a kadar azaltılabileceğini ortaya koymuşlardır.

PAH oluşumunu azaltmak amacıyla kullanılan alternatif pişirme yöntemlerinden biri olan ohmik pişirme yöntemiyle yapılan bir çalışmada, üç farklı voltaj gradyanı kullanarak pişirilmiş sığır köftelerinin BaP seviyelerinin sırasıyla 0.10 ppb, 0.09 ppb ve 0.09 ppb olduğu bildirilmiştir (İcier vd., 2014). Bu çalışmaya benzer başka bir çalışmada ise; ohmik ön pişirme uygulanan köftelere infrared pişirmenin etkileri incelenmiş, toplam PAH seviyelerinin kabul edilebilir seviyelerde (4.47 ile 64 µg/kg) olduğu ve ohmik ön pişirme ardından infrared pişirme yöntemlerinin PAH oluşum düzeyi açısından güvenli bir pişirme işlemi olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir (Kendirci vd., 2014). Bu noktadan hareketle, PAH'ların azaltılmasında en önde gelen yaklaşım gıdaların doğrudan ısı kaynağına maruz bırakılmaması, yanı sıra indirekt pişirme yöntemleri kullanılarak pişirilmesi, pişirme sıcaklığı ve/veya pişirme süresinin azaltılması, buhar ve mikrodalga ile ön ısıtma gibi alternatif pişirme yöntemlerinin gıdaların hazırlanmasının ilk aşamasına dahil edilmesi ve pişirme sırasında ortaya çıkan duman kontaminasyonunun engellenmesi olmuştur.

Kaplama/Sarma

Gıdaların PAH seviyelerini azaltmanın bir diğer yolunun ise ürünün herhangi bir materyale sarılması veya kaplanması olduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar gıdayı herhangi bir ambalaj materyali ile kaplamanın bariyer oluşturmak ve eriyen yağın ısı kaynağı üzerine düşmesini engellemek suretiyle PAH oluşumunu önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. (Wang vd. 2021). Ayrıca kaplama/sarma için kullanılan malzemenin gözeneklerinin boyutu, polaritesi ve geçirgenlik özelliğinin de PAH migrasyonunda belirleyici olduğu bildirilmiştir (Fasano vd., 2016; Semanová vd., 2016; Kuźmicz ve Ciemniak vd., 2018). Yapılan bir çalışmada düşük yoğunluklu polietilen lamine film bazlı plastik ambalaj kullanımının kavrulmuş ördekte PAH oluşumunu (BaA, BbFA ve BaP) %50 oranında azalttığı bulgulanmıştır

(Semanova vd., 2016). Araştırmacılar bu durumu, polarite özellikleri ile ilişkilendirmişlerdir. Yine benzer bir çalışmada tütsülenmiş hamsi örneklerinin 4 farklı plastik ambalaj materyaline sarılmak suretiyle PAH adsorbsiyonları incelenmiş ve en yüksek adsorbsiyonu yüksek yoğunluklu polietilen ambalaj materyalinin, en düşük adsorbsiyonu ise polietilen tereftalat materyalinin gösterdiği ortaya konmuştur (Kuźmicz ve Ciemniak vd., 2018). Ancak araştırmacılar et örneğinin, PAH bileşiklerine benzer bir polariteye sahip olduğunda veya kullanılan ambalaj materyalinden daha fazla polariteye sahip olduğunda, kullanılan materyalin PAH'ları gıdadan uzaklaştırmada yetersiz kalabileceğini de vurgulamışlardır (Kuźmicz ve Ciemniak vd., 2018).

Yapılan başka bir çalışmada PAH kontaminasyonunu engellemek amacıyla et örnekleri buhar ve mikrodalga ile bir ön ısıtmanın ardından alüminyum ve muz yaprağına sarılarak kömür ateşinde pişirilmiş, ön ısıtma ve sarma işlemleri yapılan örneklerde BaP, BbF ve Fln bileşikleri tespit edilmemiştir (Farhadian vd., 2011). Bu çalışmaya paralel olarak, mangalda pişirilen sığır ve koyun etlerinde toplam PAH seviyeleri 6.83 µg/kg ve 26.82 µg/kg olarak tespit edilirken, alüminyum kaplanarak mangalda pişirilen sığır ve koyun etlerinde 1.26 µg/kg ve 6.29 µg/kg olarak belirlenmiştir (Eldaly vd., 2016). Domuz etiyle yapılan başka bir çalışmada ise, alüminyum tepsi içinde pişirilmiş marine edilmiş domuz bifteğinde hem marinasyon işlemi hem de tepsi kullanımı ile BaP konsantrasyonunun %81 ile %92.8 arasında azaldığı görülmüştür (Tkacz vd., 2012).

Diğer uygulamalar

Tütsülenmiş et ürünlerinde kullanılan kılıf tipi (doğal veya sentetik kılıf), tütsüleme metodu (direkt veya indirekt) ve tütsüleme sıcaklığı vb. seçimlerin de PAH oluşumun da etkili olduğu bildirilmiştir (Onopiuk vd., 2021). Tütsülenmiş et ürünlerinde kullanılan kılıf, PAH oluşum seviyesini etkileyebilecek en önemli malzemedir. Araştırmacılar tarafından tütsülenmiş et ürünlerinde doğal kılıf kullanımına kıyasla sentetik kılıf kullanımının daha iyi bariyer oluşturması

nedeniyle daha az PAH oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir (Wang vd., 2021).

Youssef vd., (2016) koyun kılıfı yerine selüloz kılıf seçiminin PAH oluşumunu %78 oranında azalttığını saptamışlardır. Bazı araştırmacılar, PAH bileşiklerinin %90'lık bir kısmının sosis kılıflarının yüzeyinde birikmesinden dolayı, tüketimden önce, kılıfların çıkarılarak tüketilmesinin PAH maruziyetini azalttığını vurgulamışlardır (Gomes vd., 2013). Tütsülenmiş et ürünlerinde PAH maruziyetini azaltmanın diğer bir yolunun ise, son tüketimden önce bu ürünlerin su ile yıkanması olduğu belirtilmiştir. Mahugija ve Njale (2018) tütsülenmiş balıkların su ile yıkanmasının ardından tüketilmesinin %31.5'dan %86.5'a kadar PAH düzeyini azalttığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca araştırmacılar tütsülenmiş et ürünlerinin tütsülenmesinde indirekt bir tütsüleme yönteminin seçiminin ve proses esnasında tütsü dumanının karbon filtreden geçirilmesinin PAH oluşumunu önemli ölçüde azalttığını da belirlemişlerdir (Gomes vd., 2013; Pöhlmann vd., 2013; Babic vd., 2018; Mahugija ve Njale, 2018).

Bununla birlikte PAH konsantrasyonunu azaltan diğer bir stratejinin ise doğal mikroorganizma popülasyonları tarafından biyolojik olarak parçalanmaları yoluyla olduğu ifade edilmiştir (Sampaio vd., 2021). Yayımlanmış çalışmalardan hareketle, hem toprak hem de deniz ortamlarında en önemli hidrokarbon-parçalayan bakterilerin *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas* ve *Korineformlar* oldukları tespit edilmiştir (Demir ve Demirbağ, 1999).

SONUÇ

Günümüzde oldukça yüksek tüketim oranına sahip et ve et ürünlerinde PAH bileşiklerinin oluşumu önemli bir problemdir. Bu bileşiklerin kanser etiolojisinde önemli rol oynaması et ve et ürünlerinde oluşumunun azaltılması veya önlenmesini zorunlu hale getirmiştir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda PAH oluşumunu azaltıcı yaklaşımlar ile ilgili çalışmalar yapılmış, doğru pişirme yöntemlerinin seçimi, daha düşük sıcaklıklarda ve daha uzun sürede pişirme, etin

direkt alevle temasının engellenmesi, az yağlı et tercihi, uygun yakıt ve ısı kaynağının seçimi, erimiş yağın ısı kaynağından uzaklaştırılması, baharat, doğal veya sentetik antioksidan ilavesi vb. uygulamaların PAH'ların oluşumunu önemli düzeyde azaltan stratejiler olduğu görülmüştür. Bu nedenle etin ateşle temasını engellemek amacıyla indirekt yöntemlerle pişirilmesi, düşük sıcaklıklarda pişirme işleminin yapılması, yağlı, fazla pişmiş et tüketilmemesi veya etin kömürleşmiş kısmının ayrılması önerilmektedir. Tüm bu nedenler göz önünde bulundurulduğunda et ve et ürünlerinde, PAH oluşum mekanizmasının incelenmesi ve oluşumu engelleyici veya azaltıcı yaklaşımların bilinmesi büyük bir önem teşkil etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Shafy, H. I., Mansour M. S. M. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*. 25: 107–123.
- Babic, J., Vidakovic, S., Skaljic, S., Kartalovic, B., Ljubojevic, D., Cirkovic, M. Teodorovic, V. (2018). Reduction of polycyclic aromatic hydrocarbons in common carp meat smoked in traditional conditions. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 11(3): 208-213.
- Basu, P. (2010). Biomass gasification and pyrolysis practical design and theory. 3- 364.
- Bella, C. D., Traina, AN., Giosuè, C., Carpintieri, D., Dico, G. M. L., Bellante, A., Core, M. D., Falco, F., Gherardi, S., Uccello, M. M., Ferrantelli, V. (2020). Heavy metals and PAHs in meat, milk, and seafood from augusta area (Southern Italy): contamination levels, dietary intake, and human exposure assessment. contaminants in foodstuff and human exposure, *Frontier Public Health*, 8: 1-16.
- Büyükkurt, Ö. K., Dinçer, E. A., Çam, İ. B., Candal, C., Erbaş, M. (2020). The influence of cooking methods and some marinades on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in beef meat. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 40 (2): 195-205.

- Cachada, A., Dias, A. C., Reis, A. P., Silva, E. F., Pereira, R., Duarte, A. C., Patinha, C. (2019). Multivariate analysis for assessing sources, and potential risks of polycyclic aromatic hydrocarbons in Lisbon urban soils. *Minerals*, 9: 139.
- Chen B.H., Chen Y.C. (2001). Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the smoke from heated model lipids and food lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5238-5243.
- Cheng, J., Zhang, X., Ma, Y., Zhao, J., Tang, Z. (2019). Concentrations and distributions of polycyclic aromatic hydrocarbon in vegetables and animal-based foods before and after grilling: Implication for human exposure. *Science of the Total Environment*, 690: 965–972.
- Chung, S.Y., Yettella, R.R., Kim, J.S., Kwon, K., Kim, M.C., Min, D.B. (2011). Effects of grilling and roasting on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in beef and pork. *Food Chemistry*, 129: 1420-1426.
- Co, E and JN, O. (2018). Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in hardwood and softwood - smoked fish. *International Journal of Animal Science*, 2 (1): 1012.
- Cordeiro, T., Viegas, O., Silva, M., Martins, Z. E., Fernandes, I., Ferreira, I. M. L. P. V. O., Pinho, O., Mateus, N., Calhau, C. (2020). Inhibitory effect of vinegars on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled pork. *Meat Science*, 167: 108083.
- Çiçek, Ü., Bulgan, A. (2013). Et ve et ürünlerinde heterosiklik aminler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1: 25-32.
- Demir, İ., Demirbağ, Z. (1999). Polisiklik aromatik hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanması. *Turkish Journal of Biology*, 23: 293–302.
- Domingo, J. L., Nadal, M. (2017). Carcinogenicity of consumption of red meat and processed meat: A review of scientific news since the IARC decision. *Food and Chemical Toxicology*, 105: 256-261.
- Duedahl- Olesen, L., Ionas, A. C. (2022). Formation and mitigation of PAHs in barbecued meat -A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1867056>.
- El Badry, N. (2010). Effect of household cooking methods and some food additives on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) formation in chicken meat. *World Applied Science Journal*, 9: 963–74.
- Eldaly, E. A., Hafez, A.E., Darwish, W.S. and Elmalt, D. (2016). Effect of Heat Treatments on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Formation in Meat. *Zagazig Veterinary Journal*, 44(3): 263-272.
- Ekaye, S., Osazee, E. N., Osaro, A. C. (2019). Levels of PAHs in commonly consumed barbecued chicken and grilled meat (Suya) in benin metropolis. *Journal of the Nigerian Society for Experimental Biology*, 19(3): 117-126.
- El Husseini, M., Makkouk, R., Rabaa, A., Al Omar, F., Jaber, F. (2018). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH 4) in the traditional lebanese grilled chicken: implementation of new, rapid and economic analysis method. *Food Analytical Methods*, 11: 201–214.
- El Husseini, M., Mourad, R., Rahim, H. A., Al Omar, F and Jaber, F. (2021). Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH4) in the traditional lebanese grilled meat products and investigation of broasted frying cooking method and meat size on the PAH4 formation. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 41(1):124-142.
- Farhadian, A., Jinap, S., Hanifah, H.N and Zaidul, L.S. (2011). Effects of meat preheating and wrapping on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled meat. *Food Chemistry*, 124: 141-146.
- Farhadian, A., Jinap, S., Faridah, A., Zaidul, I.S.M. (2012). Effects of marinating on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene and fluoranthene) in grilled beef meat. *Food Control*, 28: 420-442.
- Farvid, M. S., Sidahmed, E., Spence, N. D., Angua, K. M., Rosner, B. A., Barnett, J. B. (2021). Consumption of red meat and processed meat

- and cancer incidence: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European Journal of Epidemiology*, 36: 937–951.
- Fasano, E., Yebra-Pimentel, I., Martinez-Carballo, E., Simal-Gandara, J. (2016). Profiling, distribution and levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked plant and animal foods. *Food Control*, 59: 581–590.
- Ghorbani, M., Saleh, H. N., Barjasteh-Askari, F., Nasser, S., Davoudi, M. (2020). The effect of gas versus charcoal open flames on the induction of polycyclic aromatic hydrocarbons in cooked meat: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 18: 345–354.
- Gomes, A., Santos, C., Almeida, J., Elias, M., Roseiro, L. C. (2013). Effect of fat content, casing type and smoking procedures on PAHs contents of Portuguese traditional dry fermented sausages. *Food and Chemical Toxicology*, 58: 369–374.
- Grochowicz, J. (2019). Chemical threats in thermally processed traditional food and possibilities of their reduction. *Agricultural Engineering*, 23 (1): 39–47.
- Gysel, N., Dixit, P., Schmitz, D. A., Engling, G., Cho, A. K., Cocker, D. R., Karavalakis, G. (2018). Chemical speciation, including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and toxicity of particles emitted from meat cooking operations. *Science of the Total Environment*, 63: 1429–1436.
- Haiba, N. S., Asaala, A. M., Massry, A. M. E., Ismail, I., Basahi, J., Hassan, I. A. (2021). Effects of “doneness” level on PAH concentrations in charcoal-grilled beef and chicken: an Egyptian study case. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 41(3): 553–563.
- Hamidi, E. N., Hajeb, P., Selamat, J., Lee, S. Y., Razis, A. F. A. (2022). Bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled meat: the effects of meat doneness and fat content. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19: 736.
- Han, Y., Chen, Y., Feng, Y., Song, W., Cao, F., Zhang, Y. (2020). Different formation mechanisms of PAH during wood and coal combustion under different temperatures. *Atmospheric Environment*, 222: 117084.
- İcier, F., Yücel Sengün, I., Turp, Y. G., Arserim E. H. (2014). Effects of process variables on some quality properties of meatballs semi-cooked in a continuous type ohmic cooking system. *Meat Science*, 96:1345–1354.
- Janoszka, B. (2011). HPLC-fluorescence analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in pork meat and its gravy fried without additives and in the presence of onion and garlic. *Food Chemistry*, 126: 1344–1353.
- Jiang, D., Wang, G., Li, L., Wang, X., Li, W., Li, X., Shao, L., Li, F. (2018). Occurrence, dietary exposure, and health risk estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled and fried meats in Shandong of China. *Food Science & Nutrition*, 6: 2431–2439.
- Kamal, N. H. A., Selamat, A., Sanny, M. (2018). Simultaneous formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and heterocyclic aromatic amines (HCAs) in gas-grilled beef satay at different temperatures. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(5): 848–869.
- Karslıoğlu, B., Kolsarıcı, N. (2022). The effects of fat content and cooking procedures on the PAH content of beef doner kebabs. *Polycyclic Aromatic Compounds*, doi: 10.1080/10406638.2022.2067879.
- Kılıç, Ö., Dinçer, E. A., Erbaş, M. (2017). Gıdalarda polisiklik aromatik hidrokarbon bileşiklerinin bulunuşu ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda*, 42 (2): 127–135.
- Kataoka, H., Ishizaki, A. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods and herbal medicines analysis and occurrence. *Handbook of polycyclic aromatic hydrocarbons*. 46–81.
- Kendirci, P., İcier, F., Kor, G., Altug Onogur, T. (2014). Influence of infrared final cooking on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in ohmically pre-cooked beef meatballs. *Meat Science*, 97: 123–129.
- Kim, H-J., Cho, J., Jang, A. (2021a). Effect of charcoal type on the formation of polycyclic

- aromatic hydrocarbons in grilled meats. *Food Chemistry*, 343: 128453.
- Kim, H.-J., Cho, J., Kim, D., Park T.-S., Jin, S., K., Hur, S. J., Lee, S. K., Jang, A. (2021b). Effects of gochujang (korean red pepper paste) marinade on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in charcoal-grilled pork belly. *Food Science of Animal Resources*, 41(3):481- 496.
- Kislov, V. V., Sadovnikov, A. I., Mebel, A. M. (2013). Formation Mechanism of polycyclic aromatic hydrocarbons beyond the second aromatic ring. *The Journal of Physical Chemistry*, 117 (23): 4794–4816.
- Knuppel, A., Papier, K., Fensom, G. K., Appleby, P. N., Schmidt, J. A., Tong, T. YN., Travis, R., Key, T. J., Perez-Cornago, A. (2020). Meat intake and cancer risk: prospective analyses in UK Biobank. *International Journal of Epidemiology*, 49 (5): 1540–1552.
- Kuzmicz, K., Ciemniak, A. (2018). Assessing contamination of smoked sprats (*Sprattus sprattus*) with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and changes in its level during storage in various types of packaging. *Journal of Environmental Science and Health - Part B*, 53(1): 1–11.
- Ledesma, E., Rendueles M., Díaz M. 2016. Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control*, 60: 64-87.
- Lee J-G, Kim S-Y, Moon J-S, Kim S-H, Kang D-H, Yoon H-J. 2016. Effects of grilling procedures on levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meats. *Food Chemistry* 199: 632–638.
- Li, Y., Cai, K., Hu, G., Gu, Q., Li, P., Xu, B., Chen, C. (2021). Substitute salts influencing the formation of PAHs in sodium-reduced bacon relevant to maillard reactions. *Food Control*, 121: 107631.
- Liu, P., Lin H., Yang, Y., Shao, C., Guan, B and Huang, Z. (2015). Investigating the role of CH₂ radicals in the HACA mechanism. *The Journal of Physical Chemistry A*, 119: 3261–3268.
- Lourenço, S., Gunge, V. B., Andersson, T. M. L., Andersen, C. L. E., Lund, A. S. Q., Køster, B., Hansen, G. L. (2018). Avoidable colorectal cancer cases in Denmark – The impact of red and processed meat. *Cancer Epidemiology*, 55: 1-7.
- Lu, F., Kuhnle, G. K., Cheng, Q. (2018). The effect of common spices and meat type on the formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in deep-fried meatballs. *Food Control*, 92: 399–411.
- Mahugija, J. A. M., Njale, E. (2018). Effects of washing on the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contents in smoked fish. *Food Control*, 93: 139-143.
- Malarut, J. A., Vangnai, K. (2018). Influence of wood types on quality and carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of smoked sausages. *Food Control*, 85: 98–106.
- Molognoni, L., Daguer, H., Motta, G. E., Merlo, T. C., Lindner, J. D. D. (2019). Interactions of preservatives in meat processing: Formation of carcinogenic compounds, analytical methods, and inhibitory agents. *Food Research International*, 125:108608.
- Mota, J. D. O., Guillou, S., Pierre, F., Membr'e, J.- M. (2021). Public health risk-benefit assessment of red meat in France: Current consumption and alternative scenarios. *Food and Chemical Toxicology*, 149: 111994.
- Nauta, M. J., Andersen, R., Pilegaard, K., Pires, S. M., Ravn-Haren, G., Tetens, I. and Poulsen, M. (2018). Meeting the challenges in the development of risk-benefit assessment of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 76: 90-100.
- Onopiuk, A., Kołodziejczak, K., Szpicer, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A., P'oltorak, A. (2021). Analysis of factors that influence the PAH profile and amount in meat products subjected to thermal processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 366–379.
- Onopiuk, A., Kołodziejczak, K., Marcinkowska-Lesiak, M., Wojtasik-Kalinowska, I., Szpicer, A., Stelmasiak, A., P'oltorak, A. (2022). Influence of plant extract addition to marinades on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in grilled pork meat. *Molecules*, 27: 175.
- Pirsaheb, M., Irandost, M., Asadi, F., Fakhri, Y., Asadi, A. (2018). Evaluation of polycyclic

- aromatic hydrocarbons (PAHs) in fish: a review and meta-analysis. *Toxin Reviews*, <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1522643>.
- Pouzou, J. G., Costard, S., Zagmutt, F. J. (2018). Probabilistic estimates of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons concentrations in meats and breads applicable to exposure assessments. *Food and Chemical Toxicology*, 114:346–360.
- Pöhlmann, M., Hitzel, A., Schwagele, F., Speer, K., Jira, W. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and phenolic substances in smoked Frankfurter-type sausages depending on type of casing and fat content. *Food Control*, 31:136–144.
- Purcaro, G., Moret, S., Conte, L.S. (2009). Optimisation of microwave assisted extraction (MAE) for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) determination in smoked meat. *Meat Science*, 81: 275–280.
- Portet-Koltalo, F., Gardes, T., Debret, M., Copard, Y., Marcotte, S., Morin, C., Laperdrix, Q. (2020). Bioaccessibility of polycyclic aromatic compounds (PAHs, PCBs) and trace elements: influencing factors and determination in a river sediment core. *Journal of Hazardous Materials*, 384: 121499.
- Reizer, E., Csizmadia, I. G., Palotás, A. B., Viskolcz, B., Fiser, B. (2019). Formation mechanism of benzo(a)pyrene: one of the most carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). *Molecules*, 24: 1040.
- Rekanovic, S., Grujic, R., Tomovic, V., Stojanovic, N. (2021). Thermal treatment effect on polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content in sheep and chicken meat products. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 1–9.
- Richter, H and Howard, J. B. (2000). Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons and their growth to soot—a review of chemical reaction pathways. *Progress in Energy and Combustion Science*, 26: 565–608.
- Roux, M. T., Temprado, M., James S. C., Nagano, Y. (2008). Critically evaluated thermochemical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 37(4): 1855–1996.
- Rozentale, I., Zacsá, D., Bartkiene, E., Bartkevics, V. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked meat products from the Baltic States. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 11(2): 138–145.
- Singh, L., Varshney, J. G., Agarwal. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food. *Food Chemistry*, 199: 768–781.
- Sampaio, G. R., Guizellini, G. M., Silva, S. A., Almeida, A. P., Pinaffi-Langley, C. C., Rogero, M. M., Camargo, A. C., Torres, E. A. E. S. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. *International Journal of Molecular Science*, 22: 6010.
- Semanová J, Sklársová B, Simon P, Simko P. (2016). Elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked sausages by migration into polyethylene packaging. *Food Chemistry*, 201:1–6.
- Sobral, M. M. C., Cunha, S.C., Faria, M. A., Ferreira, I.MPLVO. (2018). Domestic cooking of muscle foods: impact on composition of nutrients and contaminants. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17: 309–333.
- Tarafdar, A., Chawda, S., Sinha, A. (2018). Health risk assessment from polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) present in dietary components: A meta-analysis on a global scale. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 40 (3): 850–861.
- Tkacz, K., Wiek, A., Kubiak, M. S. (2012). Influence of marinades on the level of PAHs in grilled meat products. *Italian Journal of Food Science*, 24: 270–8.
- Viegas, O., Yebra- Pimentel, I., Martinez-Carbollo, E., Simal- Gandara, J., Ferreira, I.M.P.L.V.O. (2014). Effect of beer marinades on formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62: 2638–2643.

- Wang, W., Wang, C., Li, C., Xu, X., Zhou, G. (2019). Effects of phenolic acid marinades on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled chicken wings. *Journal of Food Protection*, 82 (4): 684-690.
- Wang, Z., Ng, K., Warner, R. D., Stockmann, R., Fang, Z. (2021). Reduction strategies for polycyclic aromatic hydrocarbons in processed foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21: 1598–1626.
- Wongmaneepratip, W., Vangnai, K. (2017). Effects of oil types and pH on carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled chicken. *Food Control*, 79: 119-125.
- Wongmaneepratip, W., Jom, K. N., Vangnai, K. (2019). Inhibitory effects of dietary antioxidants on the formation of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled pork. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(8): 1205-1210.
- Yang, T., Kaiser, R. I., Troy, T. P., Xu, B., Kostko, B. O., Ahmed, M., Mebel, A. M., Zagidullin, M. V and Azyazov, V. N. (2017). HACA's heritage: A free-radical pathway to phenanthrene in circumstellar envelopes of asymptotic giant branch stars. *Angewandte Chemie*, 56: 4515 –4519.
- Yao, M., Khan, I. A., Cheng, Y., Ang, Y., Zhou, X., Huang, M. (2020). Effects of cooking methods and tea marinades on the formation of heterocyclic amines and benzo[a]pyrene in grilled drumsticks. *Journal of Food Protection*, 83 (2): 365–376.
- Youssef, M. K. E., Abou- El-Hawa S. H., Hussein, S. M., Mahmoud, A. R. (2016). Influence of casing types and cold storage on polycyclic aromatic hydro carbons (PAHs) in smoked beef sausage. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 47(2): 1–12.
- Zhao, Z., Wang, F., Chen, D., and Zhang, C. (2019). Red and processed meat consumption and esophageal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Clinical and Translational Oncology*, 22: 532–545.
- Zubairova, L., Tagirov, H., Mironova, I., Iskhakov, R., Vagapov, I. (2022). Biotechnological techniques in animal nutrition for improving quality indicators of meat and dairy products. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2022.01.001>.

**KIRMIZI TURP (*Raphanus sativus* L.) İÇ VE KABUKLARINDAN
POLİFENOLİKLERİN ULTRASES SU BANYOSU VE ULTRASES PROB
DESTEKLİ EKSTRAKSİYONU: IN VITRO SİNDİRİM SIRASINDA
ANTIOKSİDAN AKTİVİTEDEKİ DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**

Özlem Gökdemir, Aysun Yücepete*

Aksaray Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Aksaray, Türkiye

Geliş / Received: 28.06.2022; Kabul / Accepted: 10.11.2022; Online baskı / Published online: 28.11.2022

Gökdemir, Ö., Yücepete, A. (2022). Kırmızı turp (*Raphanus sativus* L.) iç ve kabuklarından polifenoliklerin ultrases su banyosu ve ultrases prob destekli ekstraksiyonu: In vitro sindirim sırasında antioksidan aktivitedeki değişimin araştırılması. *GIDA* (2022) 47 (6) 1046-1058 doi: 10.15237/gida.GD22072

Gökdemir, Ö., Yücepete, A. (2022). Ultrasound bath- and ultrasound probe-assisted extractions of polyphenolics from pulp and peel of red radish (*Raphanus sativus* L.): Investigation of changes in antioxidant activity during in vitro digestion. *GIDA* (2022) 47 (6) 1046-1058 doi: 10.15237/gida.GD22072

ÖZ

Bu çalışmada, kırmızı turp (*Raphanus sativus* L.) kabuk ve içlerinden elde edilen polifenolik ekstraktların in vitro sindirim sırasında toplam fenolik madde miktarı (TFMM) ve antioksidan aktivitesindeki (AOA) değişim araştırılmıştır. Öncelikle, ultrases su banyosu destekli ekstraksiyon (USDE) ve ultrases prob destekli ekstraksiyon (UPDE), farklı ultrasonikasyon süreleri (20, 60, 180, 540 saniye) ile uygulanarak en yüksek TFMM ve AOA sağlayan ekstraksiyon yöntemi belirlenmiştir. Örneklerin TFMM içeriği Folin-Ciocalteu metodu ile AOA'si ise DPPH ve CUPRAC metotları ile belirlenmiştir. Sonuçlara göre, en yüksek TFMM ve AOA_{CUPRAC} değerleri, turp içleri için sırasıyla 41.17±0.70 mg GAE/g kuru madde (KM) ve 12.67±0.00 mg TE/g KM, turp kabukları için sırasıyla 243.26±5.44 mg GAE/g KM ve 89.65±0.48 mg TE/g KM olarak 60 saniye ultrasonikasyon süresinde USDE ile elde edilmiştir. Turp iç ve kabuklarından ekstraktların in vitro sindirimden sonra biyoerişilebilirliği (%) sırasıyla, TFMM için %54.21±1.94 ve %32.20±2.61, AOA_{CUPRAC} için %66.46±0.40 ve %27.89±0.99 ve AOA_{DPPH} için %302.03±28.52 ve %80.43±1.03 olarak gerçekleşmiştir.

Anahtar kelimeler: Kırmızı turp, polifenolikler, antioksidan aktivite, in vitro sindirim.

**ULTRASOUND BATH- AND ULTRASOUND PROBE-ASSISTED
EXTRACTIONS OF POLYPHENOLICS FROM PULP AND PEEL OF RED
RADISH (*Raphanus sativus* L.): INVESTIGATION OF CHANGES IN
ANTIOXIDANT ACTIVITY DURING IN VITRO DIGESTION**

ABSTRACT

In this study, changes in total phenolic content (TPC) and antioxidant activity (AOA) of polyphenolics from pulp and peel of red radish (*Raphanus sativus* L.) were investigated during in vitro digestion. Firstly, ultrasound bath-assisted extraction (UBAE) and ultrasound probe-assisted extraction (UPAE) were applied with different ultrasonication time (20, 60, 180, 540 seconds) to

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: aysunyucepete@aksaray.edu.tr

☎: (+90) 382 288 35 02

Özlem Gökdemir; ORCID no: 0000-0002-8142-4862

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

determine the extraction method providing the highest TPC and AOA. The TPC and AOA (two methods) were determined by the Folin-Ciocalteu, DPPH and CUPRAC methods, respectively. According to the results, the highest TPC and AOA_{CUPRAC} were 41.17 ± 0.70 mg GAE/g dry weight (DW) and 12.67 ± 0.00 mg TE/g DW for pulp and 243.26 ± 5.44 mg GAE/g DW and 89.65 ± 0.48 mg TE/g DW for peel extracts in UBAE, respectively. The bioaccessibilities (%) of extracts from pulp and peel after in vitro digestion process were 54.21 ± 1.94 and 32.20 ± 2.61 for TPC, 66.46 ± 0.40 and 27.89 ± 0.99 for AOA_{CUPRAC} and 302.03 ± 28.52 and 80.43 ± 1.03 for AOA_{DPPH}, respectively.

Keywords: Red radish, polyphenolics, antioxidant activity, in vitro digestion.

GİRİŞ

Gıda bilimi ve teknolojisi alanında sıklıkla uygulanan proseslerden biri olan ekstraksiyon prosesinin amacı, gıda matrisinden hedef biyoaktif moleküllerin en yüksek ekstraksiyon verimi ve biyoaktif ve fonksiyonel özellikleri üzerinde en düşük düzeyde olumsuz etki ile elde edilmesini sağlamaktır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri organik çözücülerin kullanılması, yüksek enerji giderleri, uzun ekstraksiyon süresi ve ısı uygulaması gerektirmesi gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Bu nedenlere ilave olarak, ekstrakte edilmiş moleküllerde toksik etkilere sahip organik çözücülerin varlığı, yeni ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesini teşvik etmektedir (Kulkarni ve Rathod, 2014; Tiwari, 2015; Ojha vd., 2020). Ekonomik ve çevre dostu yeni ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan ultrases destekli ekstraksiyon (UDE) ile daha kısa sürede, daha düşük çözücü tüketimi ile daha yüksek seçicilik ve ekstraksiyon verimliliği sağlanabilmektedir (Albero vd., 2019). UDE'da 20-1000 kHz aralığındaki ses dalgaları kullanılmaktadır. Bu dalgaların çözücü içerisinde yayılması, çözücüde negatif bir basınca neden olmakta ve mikroskobik olarak küçük boşluklar veya kabarcıklar oluşmaktadır. Bu kabarcık veya boşluklar gaz ya da su buharı ile doldurulduğunda, kabarcıklar çökene kadar, kabarcıkların oluşması, giderek büyümesi, salınması ve daha fazla enerji absorplayamayacak kritik hacme ulaştıklarında da içeri doğru büzülmesi/sönümlenmesi olayları meydana gelmektedir. Kaviteasyon balonlarında meydana gelen bu iç patlamalar, olduğu bölgeden enerji birikimine neden olmakta ve meydana gelen yüksek sıcaklık ve basınç nedeniyle kaviteasyon bölgesinde yüksek enerjili kesme dalgaları ve türbülans oluşturmaktadır. Tüm bunların sonucunda hücre duvarının bütünlüğü bozularak, hücre içindeki hedef bileşiklerin ekstraksiyon ortamına geçişi kolaylaşmaktadır

(Tüfekçi ve Özkal, 2015; Bleakley ve Hayes, 2017; Ojha vd., 2020).

Serbest radikaller, mitokondrideki solunum zincir reaksiyonlar gibi normal hücresel metabolizmanın olağan bir sonucu olarak üretilen oksijen ya da nitrojen türevli moleküllerdir (Birben vd., 2012). Serbest radikallerin yüksek konsantrasyonlarda bulunması durumunda oksidatif stres oluşmakta ve hücresel yapı zarar görmeye başlamaktadır. Oksidatif stres ise kanser, yaşlanma, diyabet, otoimmün ve kardiyovasküler hastalıkların en önemli nedenidir (Khalid vd., 2020; Sarmadi ve İsmail, 2010). Biyoaktif bileşiklerin, serbest radikal oluşumunu engelleme özelliği olarak tanımlanan antioksidan aktivite ise fenolik bileşiklerin en temel özelliklerinden birini oluşturmaktadır (Gawlik-Dziki vd., 2012).

Antioksidan özellikteki fenolik bileşikler bitkilerin ikincil metabolitleri arasında önemli bir grubu temsil etmektedir. Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan en az bir aromatik halkaya sahiptirler ve antioksidan etkileri, esas olarak, belirtilen gruplar tarafından metalleri şelatlama eğilimlerinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (Roleira vd., 2015). Fenolik maddelerin önemli kaynakları meyve ve sebzelerdir ve bunların düzenli tüketimi antikanser aktivite gibi bazı sağlık faydaları ile ilişkilendirilmektedir. Bu etkiler gıda matrisinde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan etkisinden kaynaklanmaktadır (Roleira vd., 2015).

Son yıllarda bitkilerden fenolik maddelerin ekstraksiyonunda ultrases destekli ekstraksiyon uygulaması hakkında pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Örneğin, Ma vd., (2009)'nin çalışmasında turuncgil (*Citrus unshiu* Marc) kabuklarından kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit, protokateşik asit, *p*-

hidrokibenzoik asit ve vanilik asidin ultrases su banyosu destekli ekstraksiyonunda farklı ekstraksiyon süresi (10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dak) ve ekstraksiyon sıcaklığının (15, 30 ve 40 °C) ekstraktlardaki fenolik bileşenlerin miktarlarına etkisi araştırılmıştır. İlgili çalışmanın sonuçlarına göre, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin artması ile artmıştır (Ma vd., 2009). Altemimi vd. (2016)'nin çalışmasında ise şeftali ve kabaktan fenolik maddelerin ultrases su banyosu destekli ekstraksiyonunda 3 farklı ekstraksiyon sıcaklığının (30, 40 ve 50 °C), ultrasonik gücün (30, 50 ve %70) ve ekstraksiyon süresinin (10, 20 ve 30 dak) etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, kabak ve şeftaliden fenolik ekstraksiyonunda optimum ekstraksiyon koşulları sırasıyla 41.45 °C ve 41.53 °C ekstraksiyon sıcaklığı, %44.60 ve %43.99 ultrasonik güç ve 25.67 dak ve 27.86 dak ekstraksiyon süresidir. Medina-Torres vd. (2017)'nin çalışmasında, fenolik maddelerin ultrases destekli ekstraksiyonunda 20-60 kHz arasında uygulanan ultrasonikasyon uygulamasının biyoaktif fenoliklerin stabilitesini olumsuz yönde etkilemediği belirtilmiştir.

Turp (*Raphanus sativus*), *Cruciferae* (ya da *Brassicaceae*) bitki ailesine mensup, kolay büyüyen ve hızlı olgunlaşan soğuk mevsim bitkilerinden biridir. Kırmızı, mor, siyah, pembe, sarı, beyaz gibi farklı kabuk renklerine sahip türleri bulunan turp sebzesinin yetiştiriciliği Çin, Japonya ve Kore başta olmak üzere tüm dünyada yapılabilmektedir (He ve Giusti, 2011; Banihani, 2017; Jiang ve Zhou, 2019). Örneğin Japonya'da yılda 3.7 milyon ton turp üretimi gerçekleştirilirken, Çin'de 2016 yılındaki turp üretimi, dünya turp hasadının %47'sine tekabül eden 44.6 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Fransa, Çek Cumhuriyeti, Almanya ve Hollanda'da kış ve yaz turpları ve küçük turplardan oluşan geniş bir ürün yelpazesi bulunmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu'nun 2019 yılı verilerine göre, dünyada 70.773 hektarlık bir alanda küçük turp yetiştiriciliği yapılmaktadır (Kurina vd., 2021). Türkiye'deki turp yetiştiriciliği ile ilgili verilere bakıldığında, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'na göre, 2020 yılında Türkiye'de toplam

turp üretim miktarı 223.394 ton, 2019 yılında 218 816 ton, 2018 yılında ise 196 984 ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2020a). Ayrıca, yine TÜİK'e göre, tüm sebze ürünlerinin 2020-2021 piyasa döneminde yurt içi üretimin, yurt içi talebi karşılama derecesi %110.9 olurken, turp sebzesinin yeterlilik derecesi %101.3 olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2020b).

Fenolik bileşenler açısından zengin olan turp sebzesi, sağlıklı bir insan diyetinin ayrılmaz bir parçasını temsil eden ve ekonomik açıdan önemli bir kök sebzedir (Kurina vd., 2021; Manzoor vd., 2021). Literatürde daha önce yapılan çalışmalarda, turpların kimyasal kompozisyonu ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır (Barillari vd., 2006; Hanlon vd., 2009; Azam vd., 2013; Pajak vd., 2014; Yücepe vd., 2021). Bildiğimiz kadarıyla, kırmızı turp iç ve kabuklarından polifenoliklerin ekstraksiyonunda ultrases su banyosu destekli ekstraksiyon (USDE) ile ultrases prob destekli ekstraksiyonun (UPDE), ekstraktların toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite üzerine etkisi açısından kıyaslaması henüz yapılmamıştır. Bu çalışmada öncelikle, kırmızı turp kabuk ve iç kısımlarından polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda farklı süreler (20, 60, 180 ve 540 saniye) boyunca uygulanan ultrases su banyosu ve ultrases prob uygulaması ile elde edilen ekstraktlar, toplam fenolik madde miktarı (TFMM) ve antioksidan aktivite (AOA) açısından kıyaslanmıştır. Daha sonra, en yüksek TFMM ve AOA'ye sahip ekstraktların in vitro mide-bağırsak sindirim sırasındaki TFMM ve AOA değerlerindeki değişim araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Yerel bir marketten temin edilen kırmızı turp (*Raphanus sativus* L.) örneklerinin, çeşme suyu altında yıkanarak yüzey kirlilikleri uzaklaştırıldıktan sonra, bıçak kullanılarak elle dikkatli bir şekilde kabuk kısımları ayrılmış ve iç ve kabuk kısımları küçük dilimler şeklinde doğranmıştır. Doğranmış iç ve kabuk kısımlar, -80 °C'deki liyofilizatördeki (Operon Fdb-8603 Liyofilizatör, Operon, Korea) kurutmanın 18. saatinde, turp içleri 0.129 ± 0.002 kg su/kg, turp kabukları 0.033 ± 0.001 g su/kg kuru madde içeriğine düşürüldükten sonra kurutma işlemi

sonlandırılmış ve kurutulmuş örnekler, ışık ve oksijenden zarar görmemeleri için uygun şekilde ambalajlanarak, ekstraksiyon işlemine kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Hidroklorik asit, sodyum hidroksit, etanol, metanol, formik asit, gallik asit, potasyum klorit, sodyum bikarbonat, sodyum klorit, sodyum karbonat, bakır (II) klorit, neokuprin, amonyum asetat, 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil (DPPH), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolox), potasyum dihidrojen fosfat, disodium fosfat, potasyum klorit, safra tuzu, α -amilaz, pepsin ve pankreatin Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Chemie, St. Louis, Missouri, ABD)'den temin edilmiştir. Folin Ciocalteu fenol reaktifi ise Merck (Merck, Darmstadt, Germany)'den satın alınmıştır.

Metot

Ultrases su banyosu destekli ekstraksiyon

Turp iç ve kabuk fraksiyonlarından polifenoliklerin ekstraksiyonu bazı modifikasyonlarla Gras vd. (2017)'nin ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Özetle, 1.5 g liyofilize kırmızı turp iç ve kabukları ayrı ayrı %80'lik 45 ml metanol çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra, dört farklı ultrases uygulama süresi (20, 60, 180, 540 saniye) boyunca, bir ultrases su banyosu (SK3310HP, 53 kHz, 180 W, Kudos LHC ultrasonic cleaners, Kudos, Çin) kullanılarak ultrases uygulamasına maruz bırakılmıştır. Sonikasyon sırasında örneklerin ısınmasını engellemek için cihaz tankına (iç ebatlar: 30×15×15 cm, hacim: 6 L) soğuk su ilavesi yapılarak tanktaki su sıcaklığının ve örneğin sıcaklığının en fazla 20-25 °C arasında olması sağlanmıştır. Daha sonra örnekler, ekstrakte edilen fenolik madde miktarının artırılması amacıyla 25 °C sıcaklığında ve 75 rpm çalkalama hızındaki bir çalkalamalı su banyosunda (N-Biotek-303, Biotek Co., Ltd. Kore) 1 saat boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur. USDE'dan sonra elde edilen turp kabuğundan fenolik ekstraktlar (TKFE-B) ve turp içinden fenolik ekstraktlar (TİFE-B) bir santrifüj cihazı (NF 1200R, Nüve, Türkiye) kullanılarak 4100 rpm'de 15 dakika koşullarında santrifüj edilmiştir. Üst faz analizlere kadar -20 °C'de ve karanlıkta muhafaza edilmiştir.

Ultrases prob destekli ekstraksiyon

Örneklerin ultrases prob destekli ekstraksiyonu bazı modifikasyonlarla Gras vd. (2017)'nin ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Özetle, 1.5 g liyofilize kırmızı turp iç ve kabukları ayrı ayrı %80'lik 45 ml metanol çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra, dört farklı ultrases uygulama süresi (20, 60, 180, 540 saniye) boyunca, bir 13 mm çapında titanyum tip problu ultrases homojenizatör (Sonopuls HD 2200, 53 kHz, 200 W, ultrasonic homogeniser, Bandelin Electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Almanya) kullanılarak 20, 60, 180, 540 saniye boyunca 53 kHz frekansta ses dalgaları ile muamele edilmiştir. Ultrasonikasyon uygulaması, 50 ml'lik bir beher içindeki karışımın içine 2.5 cm derinliğine kadar ultrases probunun daldırılması ile gerçekleştirilmiştir. Ultrasonikasyon uygulaması sırasında örneklerin ısınmasını önlemek için uygulama soğuk koşullarda yapılarak, örneklerin sıcaklığının en fazla 20-25 °C arasında kalması sağlanmıştır. Daha sonra örnekler, ekstrakte edilen fenolik madde miktarının artırılması amacıyla 25 °C sıcaklığında ve 75 rpm çalkalama hızındaki bir çalkalamalı su banyosunda (N-Biotek-303, Biotek Co., Ltd. Kore) 1 saat boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur. Ultrases prob destekli ekstraksiyondan sonra elde edilen turp kabuğundan fenolik ekstraktlara (TKFE-P) ve turp içinden fenolik ekstraktlara (TİFE-P), 4100 rpm'de 15 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Üst faz alınıp analizlere kadar -20 °C'de ve karanlıkta muhafaza edilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini

TKFE-B, TİFE-B, TKFE-P ve TİFE-P'nin toplam fenolik madde miktarı, Folin-Ciocalteu metodu ile belirlenmiştir. Özetle, 200 μ l örnek, 1,5 mL 10 kat seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi ve 1.2 mL %7.5'lik Na₂CO₃ çözeltisi ile karıştırılarak karanlık ortamda, oda sıcaklığında 90 dakikalık bir inkübasyon süresi sonunda bir UV spektrofotometre (Sciologex Sci-UV1000 Spectrofotometre, Sciologex, ABD) kullanılarak 765 nm'deki absorbanşı köre karşı okunmuştur. Örneklerin TFMM, gallik asit standardı kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımı

ile hesaplanmış ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru madde (KM) olarak verilmiştir (Toor ve Savage, 2006).

Antioksidan aktivite tayini

TKFE-B, TİFE-B, TKFE-P ve TİFE-P'nin antioksidan aktiviteleri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal yakalama ve bakır iyonu indirgeme kapasitesi (CUPRAC) metodları ile belirlenmiştir. DPPH metodunda, 100 µl örnek ekstraktı üzerine 2 ml 0,1 mM DPPH çözeltisi (metanol içinde) ilave edilmiştir ve 10 saniye çalkalama işleminden sonra oda sıcaklığında, karanlık ortamda 30 dakika bekletilerek, örneklerin 517 nm'de absorbansları bir UV spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar, mg Trolox eşdeğeri (TE)/g KM olarak ifade edilmiştir (Kumaran vd., 2006). CUPRAC metodunda ise 100 µl örnek ekstraktı üzerine sırasıyla 1 ml 10^{-2} M bakır (II) klorür çözeltisi, 1 ml 7.5×10^{-3} M neokuprin çözeltisi (etanol içinde), 1 ml amonyum asetat tampon çözeltisi (pH:7.0) ve 1 ml saf su eklenmiştir. Oda sıcaklığında ve aydınlıkta 30 dakika bekletildikten sonra örneklerin 450 nm'de absorbansları bir UV spektrofotometre kullanılarak okunmuştur. Örneklerin AOA Trolox standardı kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımı ile hesaplanmış sonuçlar ve mg TE/g KM olarak ifade edilmiştir (Apak vd., 2004).

In vitro mide-bağırsak sindirimi

TKFE-B, TİFE-B, TKFE-P ve TİFE-P'nin in vitro mide-bağırsak sindirimi deneyi Minekus vd. (2014) tarafından geliştirilen INFOGEST metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Tükürük ortamını taklit etmek için hazırlanan çözelti (SSF); 0.5 M'lık KCl çözeltisinden 15.1 ml, 0.5 M'lık KH_2PO_4 çözeltisinden 3.7 ml, 1 M'lık NaHCO_3 çözeltisinden 6.8 ml, 0.15 M'lık $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ çözeltisinden 0.5 ml ve 0.5 M'lık $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ çözeltisinden 0.06 ml içermektedir. Mide ortamını taklit etmek için kullanılan çözelti (SGF); 0.5 M'lık KCl çözeltisinden 6.9 ml, 0.5 M'lık KH_2PO_4 çözeltisinden 0.9 ml, 1 M'lık NaHCO_3 çözeltisinden 12.5 ml, 2 M'lık NaCl çözeltisinden 11.8 ml, 0.15 M'lık $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ çözeltisinden 0.4 ml ve 0.5 M'lık $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ çözeltisinden 0.5 ml içermektedir. Bağırsak ortamını taklit etmek için

kullanılan çözelti (SIF) ise 0.5 M'lık KCl çözeltisinden 15.1 ml, 6.8 M'lık KH_2PO_4 çözeltisinden 0.8 ml, 1 M'lık NaHCO_3 çözeltisinden 42.5 ml, 2 M'lık NaCl çözeltisinden 9.6 ml ve 0.15 M'lık $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ çözeltisinden 1.1 ml içermektedir. Ağız fazı sindirimi için 5 g örnek ile 5 g SSF çözeltisi karıştırılarak, üzerine tükürük amilaz enzimi (75 U/ml) ve SSF'nin her ml için 0.5 µl CaCl_2 (588 g/l) eklenerek, pH 7'de 2 dakika bekletilmiştir. Mide fazı sindirimi için ağız ortamı sindirimi sonucu oluşan çözelti:SGF karışımı (1:1) oluşturulmuştur. Bu karışıma pepsin enzimi (2000 U/ml) ve 0.17 mM fosfolipit eklenerek ve 37 °C'de pH 2.0'de 250 rpm'de çalkalamalı su banyosunda 1 saat boyunca inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Mide sindirimi sonrası toplanan örnekler 10000 rpm, 15 dakika ve 4 °C santrifüj koşullarında santrifüj edilerek süzüntü kısmı alınarak ve -80 °C'de analizlere kadar muhafaza edilmiştir. Daha sonra bağırsak fazı sindirimi deneyine geçilerek, mide fazı sindirimi sonucu oluşan mide karışımı ile SIF+enzim ekstraktı (pankreatin (100 U/ml)+safra (safra ekstraktı) karışımı (1:1) hazırlanmıştır. Karışım, 37 °C'de pH 7'de 75 rpm'de çalkalamalı su banyosunda 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bağırsak sindirimi sonrası alınan örnekler 10000 rpm, 15 dakika ve 4 °C santrifüj koşullarında santrifüj edilerek süzüntü kısmı alınmış ve -80 °C'de analizlere kadar muhafaza edilmiştir. In vitro mide ve bağırsak sindirimi sonunda elde edilen örneklerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir.

Ayrıca, ekstraktların TFM ve AOA açısından biyoerişilebilirliği (%) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

Biyoerişilebilirlik (%)

$$\text{In vitro mide ve bağırsak sindiriminden sonra} \\ = \frac{\text{TFMM ve AOA değeri}}{\text{In vitro mide ve bağırsak sindiriminden önce} \\ \text{TFMM ve AOA değeri}} \times 100$$

İstatistiksel analiz

Bütün analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Datalar Minitab istatistik programı (Minitab, Version 17, Minitab Inc., State

College, Pensilvanya, ABD) kullanılarak analizlenmiş ve veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. Deney verileri varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılık $p=0.05$ önem seviyesinde Tukey testi kullanılarak belirlenmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Polifenolik ekstraktların toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi

Kırmızı turp kabuk ve iç kısımlarından polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda 20, 60, 180 ve 540 saniye boyunca uygulanan ultrases su banyosu ve ultrases prob uygulaması ile elde edilen ekstraktların (TKFE-B, TİFE-B, TKFE-P ve TİFE-P) TFMM ve AOA değerleri Çizelge 1 ve 2'de verilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, turp içlerinin USDE'nundan elde edilen ekstraktların TFMM'ları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) iken, AOA'leri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$, Çizelge 1). Ekstraktlar arasında en yüksek TFMM (41.17 ± 0.70 mg GAE/g KM) 60 saniye ultrases su banyosu koşullarında elde edilen turp içi ekstraktlarında elde edilmiştir ($P < 0.05$, Çizelge 1). Benzer şekilde, turp kabuklarının USDE'nunda 60 saniye ultrases uygulaması ile elde edilen polifenoliklerin en yüksek TFMM 243.26 ± 5.44 mg GAE/g KM olarak belirlenmiştir ($P \geq 0.05$). Yücepe vd. (2021)'nin çalışmasında ise siyah turp kabuklarından polifenolik ekstraktların TFMM 169.29 ± 6.89 mg GAE/g KM olarak tespit edilmiştir (Yücepe vd., 2021). Ayrıca, Kim vd. (2016) iki farklı turp çeşidinin TFMM'nı 124-160 mg GAE/g KM olarak tespit etmişlerdir. Xie vd. (2017), bitkinin varyete, olgunlaşma seviyesi ve ekstraksiyon koşulları gibi farklılıklar nedeniyle fenolik ekstraktların farklı TFMM ve AOA'ye sahip olabileceğini ifade etmişlerdir. Diğer taraftan, Goyeneche vd. (2015)'nin çalışmasında, kırmızı turpta rutin, vanilik asit, pirogalol, gallik asit, kumarik asit, kafeik asit ve trans ferulik asit fenolik bileşenleri tespit edilmiştir. Ayrıca, Li vd. (2022)'nin çalışmasında, kırmızı turp sebzesine 138, 208, 286 ve 358 W güç ile 30, 60, 90 ve 120 dak. süre koşullarında ultrases uygulamasında, antosiyaninlerde meydana gelen yıkımlanma neticesinde, *p*-hidroksibenzoik asit ve protokateşik asit fenolik asitleri oluşmuş ve bu

durum antioksidan aktivitede bir artışa neden olmuştur. Bu nedenle, Li vd. (2022), kırmızı turp antosiyaninleri üzerinde bozucu etkide olan yüksek enerjili ultrases uygulamalarının, kırmızı turp antosiyaninlerinin renginde belirgin bir değişikliğe yol açtığını, buna karşılık antioksidan aktivitede artışa neden olduğundan, ultrasonikasyonun ekstraksiyonda uygulanabilme potansiyeline sahip olabileceğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda, USDE ile elde edilen ekstraktların TFMM'nın, UPDE ile elde edilen ekstraktların TFMM'dan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Capelo vd. (2005)'ne göre, ultrases prob uygulaması ile ultrases su banyosu uygulamasına göre yaklaşık 100 kat daha yoğun bir ultrasonikasyon uygulaması söz konusudur. Ultrases su banyosu uygulamasında ultrases prob sistemlere göre cihaz haznesindeki su hacmi, suyun sıcaklığı, örneğin pozisyonu ve suda bulunan deterjan yüzdesi gibi daha fazla sayıda değişken, fenoliklerin ekstrakte edilebilirliğini etkilemektedir (Capelo vd., 2005). Diğer taraftan, Han vd. (2018)'nin çalışmasında, ceviz kabuğundan fenolik maddelerin ekstraksiyonunda ultrases su banyosu ve ultrases prob destekli ekstraksiyonlar ile elde edilen ekstraktlar TFMM açısından kıyaslanmıştır. İlgili çalışmanın sonuçlarına göre, ultrases su banyosu destekli ekstraksiyonda tank boyunca düzensiz ve kontrolsüz bir kavitasyon meydana gelirken, ultrases prob destekli ekstraksiyonda oldukça lokalize bir kavitasyon yoğunluğu sağlanmıştır ve bu nedenle UPDE ile UBDE'da elde edilen fenolik madde miktarının yaklaşık 2 katı verimle fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirilebilmiştir (Han vd., 2018). Benzer şekilde, Jerman vd. (2010) çalışmasında ultrases su banyosu ve ultrases prob destekli ekstraksiyonlar, zeytin (*Olea europaea*) meyvesinden fenoliklerin ekstraksiyonunda ekstraksiyon verimine etkileri bakımından kıyaslanmıştır. Bu çalışmada da UBDE'da zeytinden fenoliklerin %33'ü geri kazanılabilişken, UPDE'da bu oran %80'dir ve UPDE'da daha fazla fenolik maddenin ekstrakte edilmesi ile artan ekstraksiyon verimi söz konusudur. Bakht vd. (2019)'nin çalışmasında da, çay örneklerinden fenoliklerin ekstraksiyonunda

26 kHz ultrasonik prob uygulaması ile 40 kHz ultrasonik banyo ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri kıyaslanmış ve ekstraktların TFMM ve

AOA değerleri arasında ultrasonik prob (26 kHz) > ultrasonik su banyosu (40 kHz) > kontrol şekilde bir sıralama elde edilmiştir.

Çizelge 1. In vitro sindirim öncesi turp içlerinin ultrasu su banyosu ve ultrasu prob destekli ekstraksiyonunda elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi.
Table 1: Total phenolic content and antioxidant activity of the extracts obtained in ultrasound bath- and ultrasound probe-assisted extraction of radish pulp before in vitro digestion.

Örnek (Sample)	TFMM (mg GAE/g KM) (TPC (mg GAE/g DW))	AOA _{CUPRAC} (mg TE/g KM) (AOA _{CUPRAC} (mg TE/g DW))	AOA _{DPPH} (mg TE/g KM) (AOA _{DPPH} (mg TE/g DW))
20-TİFE-B	39.91±1.29 ^{ab}	9.90±1.30 ^a	2.55±0.05 ^a
20-TİFE-P	39.21±1.52 ^{ab}	9.25±1.26 ^a	2.77±0.11 ^a
60-TİFE-B	41.17±0.70 ^a	12.67±0.00 ^a	2.94±0.01 ^a
60-TİFE-P	40.05±0.91 ^{ab}	11.79±0.03 ^a	2.93±0.01 ^a
180-TİFE-B	35.40±1.59 ^{ab}	10.56±0.02 ^a	2.89±0.07 ^a
180-TİFE-P	35.32±1.40 ^{ab}	10.50±0.48 ^a	2.93±0.15 ^a
540-TİFE-B	33.98±2.23 ^{ab}	11.30±0.06 ^a	3.03±0.04 ^a
540-TİFE-P	33.46±0.41 ^b	9.35±0.02 ^a	2.86±0.08 ^a

20-TİFE-B, 60-TİFE-B, 180-TİFE-B ve 540-TİFE-B: Kırmızı turp içlerine sırasıyla 20, 60, 180 ve 540 saniye ultrasu su banyosu uygulaması ile elde edilen polifenolik ekstraktlar. 20-TİFE-P, 60-TİFE-P, 180-TİFE-P ve 540-TİFE-P: Kırmızı turp içlerine sırasıyla 20, 60, 180 ve 540 saniye ultrasu prob uygulaması ile elde edilen polifenolik ekstraktlar. TFMM: Toplam fenolik madde miktarı. AOA: Antioksidan aktivite. Çizelgede aynı sütunda harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (P < 0.05, Tukey).

20-TİFE-B, 60-TİFE-B, 180-TİFE-B and 540-TİFE-B: Polyphenolic extracts obtained by ultrasound bath application to red radish pulp for 20, 60, 180 and 540 seconds, respectively. 20-TİFE-P, 60-TİFE-P, 180-TİFE-P and 540-TİFE-P: Polyphenolic extracts obtained by ultrasound probe application to red radish pulp for 20, 60, 180 and 540 seconds, respectively. TPC: Total phenolic content. AOA: Antioxidant activity. Differences between means in letters in the table are statistically significant (P < 0.05, Tukey).

Çizelge 2. In vitro sindirim öncesi turp kabuklarının ultrasu su banyosu ve ultrasu prob destekli ekstraksiyonunda elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi.

Table 2. Total phenolic content and antioxidant activity of the extracts obtained in ultrasound bath- and ultrasound probe-assisted extraction of radish peel before in vitro digestion.

Örnek (Sample)	TFMM (mg GAE/g KM) (TPC (mg GAE/g DW))	AOA _{CUPRAC} (mg TE/g KM) (AOA _{CUPRAC} (mg TE/g DW))	AOA _{DPPH} (mg TE/g KM) (AOA _{DPPH} (mg TE/g DW))
20-TKFE-B	237.24±0.19 ^a	79.67±1.73 ^b	34.91±0.42 ^a
20-TKFE-P	238.94±1.31 ^a	82.55±0.23 ^b	36.35±1.20 ^a
60-TKFE-B	243.26±5.44 ^a	89.65±0.48 ^a	35.67±1.21 ^a
60-TKFE-P	226.50±1.07 ^a	83.12±0.10 ^{ab}	34.79±0.01 ^a
180-TKFE-B	229.08±0.84 ^a	79.30±0.09 ^b	33.50±0.45 ^a
180-TKFE-P	228.59±2.48 ^a	76.11±0.01 ^b	34.37±1.53 ^a
540-TKFE-B	235.38±0.34 ^a	79.47±0.97 ^b	34.69±0.63 ^a
540-TKFE-P	117.46±11.34 ^b	51.54±2.32 ^c	20.72±0.60 ^b

20-TKFE-B, 60-TKFE-B, 180-TKFE-B ve 540-TKFE-B: Kırmızı turp kabuklarına sırasıyla 20, 60, 180 ve 540 saniye ultrasu su banyosu uygulaması ile elde edilen polifenolik ekstraktlar. 20-TKFE-P, 60-TKFE-P, 180-TKFE-P ve 540-TKFE-P: Kırmızı turp kabuklarına sırasıyla 20, 60, 180 ve 540 saniye ultrasu prob uygulaması ile elde edilen polifenolik ekstraktlar. TFMM: Toplam fenolik madde miktarı. AOA: Antioksidan aktivite. Çizelgede aynı sütunda harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (P < 0.05, Tukey).

20-TİFE-B, 60-TİFE-B, 180-TİFE-B and 540-TİFE-B: Polyphenolic extracts obtained by ultrasound bath application to red radish peel for 20, 60, 180 and 540 seconds, respectively. 20-TİFE-P, 60-TİFE-P, 180-TİFE-P and 540-TİFE-P: Polyphenolic extracts obtained by ultrasound probe application to red radish peel for 20, 60, 180 and 540 seconds, respectively. TPC: Total phenolic content. AOA: Antioxidant activity. Differences between means in letters in the table are statistically significant (P < 0.05).

Ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri ile paralel olarak, turp kabuklarından polifenoliklerin ultrases su banyosu destekli ekstraksiyonunda, ekstraktların AOA_{CUPRAC} değeri (89.65 ± 0.48 mg TE/g KM), diğer örneklerin AOA_{CUPRAC} değerinden istatistiksel olarak daha yüksektir ($P < 0.05$). Uygulanan farklı ultrasonikasyon süreleri arasında en yüksek TFMM ve AOA değerleri 60 saniye uygulama süresinde elde edilen ekstraktlarda sağlanmıştır (Çizelge 1 ve 2). Bu nedenle, çalışmanın bundan sonraki kısmında turp kabuk ve turp içlerinin 60 saniye ultrases su banyosu ve 60 saniye ultrases prob uygulamalarını içeren ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktların *in vitro* sindirim sırasındaki TFMM ve AOA değerlerindeki değişim araştırılmıştır.

Ekstraktların *in vitro* mide-bağırsak sindirim sırasında toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesindeki değişimi

In vitro mide-bağırsak sindirim sonrasında, TKFE-B ve TİFE-B'nin TFMM'ları sırasıyla 41.17 ± 0.70 mg GAE/g KM'den 22.47 ± 1.04 mg GAE/g KM'ye ve 243.26 ± 5.44 mg GAE/g KM'den 78.48 ± 8.09 mg GAE/g KM'ye düşmüştür (Çizelge 3, $P < 0.05$). Ayrıca iç ve kabuk ekstraktların her ikisinin de *in vitro* mide sindirimi sonrası TFMM ile *in vitro* bağırsak sindirimi TFMM değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli değildir ($P \geq 0.05$). *In vitro* sindirimden sonra TFMM'da meydana gelen bu düşüş daha önce yapılan diğer çalışmalarda da gösterilmiştir (Perez-Vicente vd., 2002; Pavan vd., 2014; Fawole ve Opara, 2016; Martínez-Las Heras vd., 2017). Fenolik bileşikler pH değişikliklerine karşı oldukça hassastır ve ortam koşullarına ve gıda matrisinde bulunan her bir fenolik bileşiğin stabilitesine bağlı olarak sindirimden sonra örneklerdeki bazı fenolik bileşiklerin kısmen yıkımlanması nedeni ile örneklerin TFMM'da azalmalar meydana gelebilmektedir (Jara-Palacios vd., 2018; Ma vd., 2020).

Diğer taraftan, Çizelge 3'de görüldüğü gibi örneklerin *in vitro* sindirim öncesi AOA değerleri; CUPRAC yöntemi ile TİFE-B için 12.67 ± 0.00 mg TE/g KM ve TKFE-B için 89.65 ± 0.48 mg TE/g KM ($P < 0.05$), DPPH yöntemi ile TİFE-B için 2.94 ± 0.01 mg TE/g KM ve TKFE-B için

35.67 ± 1.21 mg TE/g KM olarak belirlenmiştir ($P < 0.05$). *In vitro* bağırsak sindirimi sonrasında, TKFE'nin AOA_{CUPRAC} değerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir ($P < 0.05$). Bu bulgular, sindirim prosesindeki farklı pH koşullarına maruz kalan örneklerdeki antioksidan aktivitedeki polifenoliklerin, farklı kimyasal özellikleri ile farklı yapısal formlara dönüşmesi nedeni ile farklı biyoerişilebilirlik ve biyolojik aktivite sergileyebileceğini göstermektedir (Albero vd., 2019). İlave olarak, TİFE'nin AOA_{DPPH} değeri, *in vitro* sindirimden sonra artış göstermiştir ($P < 0.05$). Bouayed vd. (2011)'ne göre, diyetle alınan polifenoller *in vivo* koşullarda, mide-bağırsak sindiriminde ekstrakte edilirler ve gıda matrisi, pH, sıcaklık, inhibitörlerin ya da absorpsiyonu arttırıcı faktörlerin ve enzimlerin varlığına bağlı olarak; ekstrakte edilebilir fitokimyasalların doğası, stabilitesi ve antioksidan aktivitesi değişebilmektedir. Çalışmamıza benzer olarak, Chen vd. (2015)'in çalışmasında da 23 farklı yenilebilir çiçeğin *in vitro* bağırsak sindirimden sonraki AOA_{DPPH}, *in vitro* mide sindirimden sonraki AOA_{DPPH}'e göre artış göstermiştir. Bir molekülün pH değeri molekülün rasemizasyonunu etkiler ve ilgili reaktife karşı farklı reaktiviteye sahip iki kiral enantiomerler oluşabilir (Chen vd., 2015). Bu nedenle simüle edilen mide ve bağırsak ortamlarının farklı pH değerleri, fenoliklerin farklı mide ve bağırsak ortamlarında farklı antioksidan aktivite sergilemesine neden olabilir. Akillioglu ve Karakaya (2010)'nın çalışmasında da benzer bir eğilim gözlemlenmiştir ve *in vitro* bağırsak sindirim sırasındaki enzimatik hidrolizden dolayı polifenollerin serbest hale gelmesi ile bağırsak sindirimden sonra antioksidan aktivitede bir artışın gözlemlenebileceği ifade edilmiştir.

Kırmızı turp kabuk ve içlerinden USDE ile elde edilen polifenolik ekstraktlardaki fenolik maddeler ve ekstraktların AOA'nin biyoerişilebilirlik (%) değerlerindeki değişim Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir. Buna göre, TİFE'daki fenolik maddelerin biyoerişilebilirliği (%), *in vitro* mide sindiriminden sonra 63.63 ± 0.93 ve *in vitro* bağırsak sindiriminden sonra 54.21 ± 1.94 ($P < 0.05$) olarak hesaplanmıştır (Şekil 1). Diğer taraftan, TKFE'daki fenolik bileşiklerin

biyoerişilebilirliği (%) *in vitro* mide sindiriminden sonra 44.87 ± 2.96 olarak değişmiştir (Şekil 2, $P < 0.05$). TİFE'nin AOA_{CUPRAC} biyoerişilebilirliği (%) ise 66.46 ± 0.40 ($P < 0.05$)'dır. Diğer taraftan

TKFE'nin AOA_{CUPRAC} biyoerişilebilirliği (%) *in vitro* mide sindirimden sonra 47.33 ± 0.58 ve *in vitro* bağırsak sindiriminden sonra 27.89 ± 0.99 olarak hesaplanmıştır ($P < 0.05$).

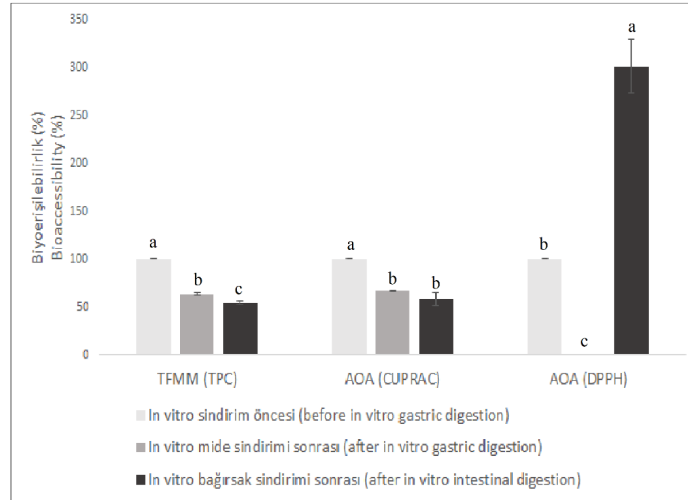
Çizelge 3: *In vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* sindirim sırasında ultrases su banyosu destekli ekstraksiyon ile elde edilen kırmızı turp kabuk ve içlerinden polifenolik ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesindeki değişim.

Table 3: *Changes in total phenolic content and antioxidant activity of polyphenolic extracts from red radish peel and pulp obtained by ultrasound bath-assisted extraction before and during in vitro digestion.*

Örnek (Sample)	In vitro sindirim öncesi (Before in vitro digestion)	In vitro mide sindirimi sonrası (After in vitro gastric digestion)	In vitro bağırsak sindirimi sonrası (After in vitro intestinal digestion)
TFMM (mg GAE/g KM) (TPC (mg GAE/g DW))	60-TİFE-B 41.17±0.70 ^{b,x}	26.37±0.66 ^{b,y}	22.47±1.04 ^{b,y}
	60-TKFE-B 243.26±5.44 ^{a,x}	109.30±9.63 ^{a,y}	78.48±8.09 ^{a,y}
AOA_{CUPRAC} (mg TE/g KM) (AOA_{CUPRAC} (mg TE/g DW))	60-TİFE-B 12.67±0.00 ^{b,x}	8.42±0.05 ^{b,y}	7.39±0.80 ^{b,y}
	60-TKFE-B 89.65±0.48 ^{a,x}	42.43±0.75 ^{a,y}	25.01±1.02 ^{a,z}
AOA_{DPPH} (mg TE/g KM) (AOA_{DPPH} (mg TE/g DW))	60-TİFE-B 2.94±0.01 ^{b,y}	0.00±0.00 ^{b,y}	7.92±0.99 ^{b,x}
	60-TKFE-B 35.67±1.21 ^{a,x}	39.35±7.29 ^{a,x}	28.70±1.34 ^{a,x}

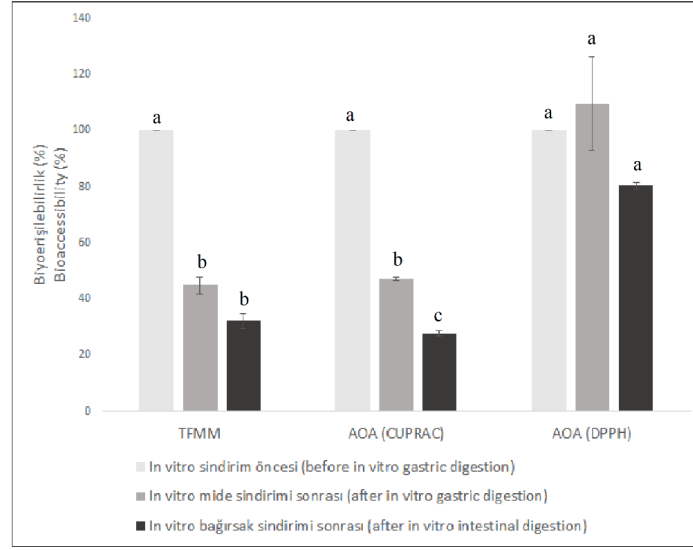
Çizelgede bulunan satır ve sütunlarda harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$, Tukey). TFMM: Toplam fenolik madde miktarı. AOA: Antioksidan aktivite.

Differences between means in letters within a line and column are statistically significant ($P < 0.05$, Tukey). TPC: Total phenolic content. AOA: Antioxidant activity.



Şekil 1: Turp içinden elde edilen ekstraktların *in vitro* mide-bağırsak sindirimi sırasında % biyoerişilebilirliğindeki değişim. Şekilde harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$, Tukey).

Figure 1: *Changes in bioaccessibility (%) of the extracts from radish pulp during in vitro gastric-intestinal digestion. Differences between means in letters in the figure are statistically significant ($P < 0.05$, Tukey).*



Şekil 2: Turp kabuğundan elde edilen ekstraktların in vitro mide-bağırsak sindirimi sırasında % biyoerişilebilirliğindeki değişim. Şekilde harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$, Tukey).

Figure 2: Changes in bioaccessibility (%) of the extracts from radish peel during in vitro gastric-intestinal digestion. Differences between means in letters in the figure are statistically significant ($P < 0.05$, Tukey).

SONUÇ

Bu çalışmada, doğal bir antioksidan kaynağı olarak kırmızı turp sebzisinin (*Raphanus sativus* L.) iç ve kabuk fraksiyonlarından elde edilen polifenolik ekstraktların in vitro mide-bağırsak sindirim sırasında toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesindeki değişim araştırılmıştır. Sunulan çalışma ile kırmızı turp sebzisinin iç ve kabuk kısımlarından ultrases su banyosu ve ultrases prob destekli ekstraksiyonun ekstraktların toplam fenolik madde miktarı ve fenoliklerin antioksidan aktivitesi üzerine etkisi ortaya konulmuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre, turp kabuklarından elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi, iç fraksiyonlardan elde edilen ekstraktlarınkinden daha yüksektir. Diğer taraftan her iki fraksiyonun in vitro sindirim sırasında fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesinde azalmalar meydana gelmiştir. Ayrıca, in vitro sindirim sonrasında, DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite ya korunmuştur ya da artmıştır. Bu nedenle, gelecekte yapılacak çalışmalarda, ultrases uygulamasının kırmızı turp fenolik bileşiklerinin antioksidan aktivitesi üzerine etkisi, fenoliklerin

kromatografik tanımlaması yapılarak daha iyi açıklanabilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Sunulan çalışma, Aysun Yüce tepe tarafından planlandı. Bütün analizler Özlem Gökdemir tarafından yapıldı. Makalenin yazımı Aysun Yüce tepe ve Özlem Gökdemir tarafından gerçekleştirildi.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Desteği Programı “Kırmızı turp (*Raphanus sativus* L.) içlerinden polifenolik bileşenlerin ekstraksiyonu: In vitro mide-bağırsak sindirim sırasında ekstraktların toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivitesindeki değişimin araştırılması” başlıklı (Başvuru no: 1919B012102006) proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akillioglu, H. G., Karakaya, S. (2010). Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and *in vitro* digestion process. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 633-639.
- Albero, B., Tadeo, J. L., Pérez, R. A. (2019). Ultrasound-assisted extraction of organic contaminants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 739-750.
- Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., Dasari, M. R., Lightfoot, D. A. (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PloS One*, 11(2), e0148758.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Azam, A., Khan, I., Mahmood, A., Hameed, A. (2013). Yield, chemical composition and nutritional quality responses of carrot, radish and turnip to elevated atmospheric carbon dioxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(13), 3237-3244.
- Bakht, M. A., Geesi, M. H., Riadi, Y., Imran, M., Ali, M. I., Ahsan, M. J., Ajmal, N. (2019). Ultrasound-assisted extraction of some branded tea: Optimization based on polyphenol content, antioxidant potential and thermodynamic study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(5), 1043-1052.
- Banihani, S. A. (2017). Radish (*Raphanus sativus*) and diabetes. *Nutrients*, 9(9), 1014.
- Barillari, J., Cervellati, R., Costa, S., Guerra, M. C., Speroni, E., Utan, A., Iori, R. (2006). Antioxidant and choleretic properties of *Raphanus sativus* L. sprout (Kaiware Daikon) extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 9773-9778.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
- Bleakley, S., Hayes, M. (2017). Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), 33. <https://doi.org/doi:10.3390/foods6050033>
- Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131(4), 1466-1472.
- Capelo, J. L., Maduro, C., Vilhena, C. (2005). Discussion of parameters associated with the ultrasonic solid-liquid extraction for elemental analysis (total content) by electrothermal atomic absorption spectrometry. An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, 12(3), 225-232.
- Chen, G. L., Chen, S. G., Xie, Y. Q., Chen, F., Zhao, Y. Y., Luo, C. X., Gao, Y. Q. (2015). Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to *in vitro* digestion. *Journal of Functional Foods*, 17, 243-259.
- Fawole, O. A., Opara, U. L. (2016). Stability of total phenolic concentration and antioxidant capacity of extracts from pomegranate co-products subjected to *in vitro* digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1-10.
- Gawlik-Dziki, U., Jeżyna, M., Świeca, M., Dziki, D., Baraniak, B., Czyż, J. (2012). Effect of bioaccessibility of phenolic compounds on *in vitro* anticancer activity of broccoli sprouts. *Food Research International*, 49(1), 469-476.
- Gras, C. C., Nemetz, N., Carle, R., Schweiggert, R. M. (2017). Anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and their color modulation by the addition of phenolic acids and food-grade phenolic plant extracts. *Food Chemistry*, 235, 265-274.
- Han, H., Wang, S., Rakita, M., Wang, Y., Han, Q., Xu, Q. (2018). Effect of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds on the characteristics of walnut shells. *Food and Nutrition Sciences*, 9(8), 1034-1045.
- Hanlon, P. R., Robbins, M. G., Hammon, L. D., Barnes, D. M. (2009). Aqueous extract from the vegetative portion of Spanish black radish (*Raphanus sativus* L. var. *niger*) induces

- detoxification enzyme expression in HepG2 cells. *Journal of Functional Foods*, 1(4), 356-365.
- He, J., Giusti, M. M. (2011). High-purity isolation of anthocyanins mixtures from fruits and vegetables—A novel solid-phase extraction method using mixed mode cation-exchange chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1218(44), 7914-7922.
- Jara-Palacios, M. J., Gonçalves, S., Hernanz, D., Heredia, F. J., & Romano, A. (2018). Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant activity of different white winemaking byproducts extracts. *Food Research International*, 109, 433-439.
- Jerman, T., Trebše, P., Vodopivec, B. M. (2010). Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chemistry*, 123(1), 175-182.
- Jiang, W., Zhou, X. (2019). Hydrolysis of radish anthocyanins to enhance the antioxidant and antiproliferative capacities. *Food Chemistry*, 294, 477-485.
- Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, A., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., Di Scala, K. (2015). Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots. *Journal of Functional Foods*, 16, 256-264.
- Khalid, M., Ayayda, R., Gheith, N., Salah, Z., Abu-Lafi, S., Jaber, A., . . . Al-Mazaideh, G. (2020). Assessment of antimicrobial and anticancer activity of radish sprouts extracts. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 13(4).
- Kim, J. K., Baskar, T. B., Park, S. U. (2016). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of two *Raphanus sativus* L. cultivars (cherry belle and valentine). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13(1), 31-36.
- Kulkarni, V. M., Rathod, V. K. (2014). Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 606-611.
- Kumaran, A., Karunakaran, R. J. (2006). Anti-oxidant activity of polyphenols from *Phyllanthus debilis* Klein ex Willd. *Journal of Natural remedies*, 6(2), 141-146.
- Kurina, A. B., Kornukhin, D. L., Solovyeva, A. E., Artemyeva, A. M. (2021). Genetic diversity of phenotypic and biochemical traits in VIR radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm collection. *Plants*, 10(9), 1799.
- Li, W., Gong, P., Ma, H., Xie, R., Wei, J., Xu, M. (2022). Ultrasound treatment degrades, changes the color, and improves the antioxidant activity of the anthocyanins in red radish. *LWT*, 165, 113761.
- Ma, Y. Q., Chen, J. C., Liu, D. H., Ye, X. Q. (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(1), 57-62.
- Ma, Y., Yang, Y., Gao, J., Feng, J., Shang, Y., Wei, Z. (2020). Phenolics and antioxidant activity of bamboo leaves soup as affected by *in vitro* digestion. *Food and Chemical Toxicology*, 135, 110941.
- Manzoor, A., Bashir, M. A., Naveed, M. S., Cheema, K. L., Cardarelli, M. (2021). Role of different abiotic factors in inducing pre-harvest physiological disorders in radish (*Raphanus sativus*). *Plants*, 10(10), 2003.
- Martínez-Las Heras, R., Pinazo, A., Heredia, A., Andrés, A. (2017). Evaluation studies of persimmon plant (*Diospyros kaki*) for physiological benefits and bioaccessibility of antioxidants by *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 214, 478-485.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T. O. R. S. T. E. N., Bourlieu, C., ... Dufour, C. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124.
- Ojha, K. S., Aznar, R., O'Donnell, C., Tiwari, B. K. (2020). Ultrasound technology for the

- extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 122, 115663.
- Pajak, P., Socha, R., Gałkowska, D., Rożnowski, J., Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 143, 300-306.
- Pavan, V., Sancho, R. A. S., Pastore, G. M. (2014). The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona muricata*). *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 1247-1251.
- Pérez-Vicente, A., Gil-Izquierdo, A., García-Viguera, C. (2002). *In vitro* gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins, and vitamin C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2308-2312.
- Roleira, F. M., Tavares-da-Silva, E. J., Varela, C. L., Costa, S. C., Silva, T., Garrido, J., Borges, F. (2015). Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. *Food Chemistry*, 183, 235-258.
- Sarmadi, B. H., Ismail, A. (2010). Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, 31(10), 1949-1956.
- Tiwari, B. K. 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100-109.
- Toor, R. K., Savage, G. P. (2006). Changes in major antioxidant components of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry*, 99(4), 724-727.
- Tüfekçi, S., Özkal, S. G. (2015). Gıdaların Kurutulmasında Ultrases Kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21(9), 408-413.
- TÜİK (2020a). Bitkisel Üretim İstatistikleri 2020-2021 <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> (Erişim Tarihi: 10.09.2022).
- TÜİK (2020b). Bitkisel Ürün Denge Tabloları, 2020-2021. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Urun-Denge-Tablolari-2020-2021-5505> (Erişim Tarihi: 10.09.2022).
- Xie P, You F, Huang L, Zhang C (2017) Comprehensive assessment of phenolic compounds and antioxidant performance in the developmental process of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *J Funct Foods*, 36, 233-242. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.012>
- Yüceetepe, A., Altın, G., Özçelik, B. (2021). A novel antioxidant source: evaluation of *in vitro* bioaccessibility, antioxidant activity and polyphenol profile of phenolic extract from black radish peel wastes (*Raphanus sativus* L. var. *niger*) during simulated gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(3), 1376-1384.

**GELENEKSEL YOĞURTLARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
MALDI TOF MS BIOTYPER SİSTEMİ İLE TANIMLANMASI VE BAZI STARTER
KÜLTÜR ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ****Şeyma Betül ENCU*, Esra ACAR SOYKUT, İbrahim ÇAKIR**

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

Geliş / Received: 09.09.2022; Kabul / Accepted: 10.11.2022; Online baskı / Published online: 28.11.2022

Encu, Ş.B., Acar-Soykut, E., Çakır, İ. (2022). Geleneksel yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin MALDI TOF MS biotyper sistemi ile tanımlanması ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2022) 47 (6) 1059-1082 doi: 10.15237/ gida.GD22088

Encu, Ş.B., Acar-Soykut, E., Çakır, İ. (2022). Isolation of lactic acid bacteria from traditional yoghurts, identification by MALDI TOF MS biotyper system and determination of some starter culture properties. GIDA (2022) 47 (6) 1059-1082 doi: 10.15237/ gida.GD22088

ÖZ

Bu çalışmada Batı Karadeniz Bölgesi'nde, beş ilden toplanan, geleneksel yöntemlerle üretilmiş yoğurtlardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlanması, bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Suşların tanımlanması MALDI-TOF MS Biotyper sistemi ile gerçekleştirilmiştir. İzole edilen 84 izolattan 2'si *Lactobacillus helveticus*, 2'si *Lactiplantibacillus plantarum*, 3'ü *Limosilactobacillus fermentum*, 1'i *Enterococcus faecalis* ve 76'sı *Lactobacillus delbrueckii* olarak tanımlanmıştır. İzolatların eritromisin, teikoplanin, streptomisin, rifampisin, amfisilin, klindamisin, sefotaksim, kloramfenikol, tetrasiklin ve vankomisine karşı duyarlı, nalidiksik asit, siprofloksasin, ofloksasin, gentamisin ve trimetoprim sülfametoksazole karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir. İzolatların *Salmonella* Typhimurium ve *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ancak *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisinin düşük olduğu tespit edilmiştir. İzolatlardan 8'inin ürettiği asitliğin %0.9 ve 0.95 arasında olduğu bulunmuştur. Ayrıca 74 izolatin diasetil üretimi gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Starter olma potansiyeli yüksek 26 suşun proteinaz aktivitesi ve fajlara karşı direnç durumu incelenmiştir. Suşlardan 5'inin proteolitik aktivite göstermediği ve faj direnci testi sonuçlarına göre izolatlardan 8 tanesi Φ709-X1 fajına karşı duyarlı olup, 12 adet *Lactobacillus delbrueckii* izolatının ise çalışmada kullanılan 15 farklı bakteriyofaja karşı dirençli oldukları belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre izole edilen kültürlerin incelenen özellikler açısından starter kültür olarak kullanılabilme potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterileri, MALDI TOF MS, starter kültür özellikleri

**ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA FROM TRADITIONAL YOGHURTS,
IDENTIFICATION BY MALDI TOF MS BIOTYPER SYSTEM AND DETERMINATION
OF SOME STARTER CULTURE PROPERTIES****ABSTRACT**

In this study, it was aimed to isolate, identify, and determine some starter culture characteristics of lactic acid bacteria from yoghurts produced by traditional methods, collected from five provinces in the Western Black Sea Region. Identification of strains was performed with the MALDI-TOF MS

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: betulkuloglu@hotmail.com

☎: (+90) 374 254 1000 / 4848

Şeyma Betül Encu ORCID no: 0000-0001-9155-1868

Esra Acar Soykut ORCID no: 0000-0002-6639-4212

İbrahim Çakır ORCID no: 0000-0001-7775-1871

Biotyper system. Of the 84 isolates isolated, 2 were identified as *Lactobacillus helveticus*, 2 as *Lactiplantibacillus plantarum*, 3 as *Limosilactobacillus fermentum*, 1 as *Enterococcus faecalis* and 76 as *Lactobacillus delbrueckii*. The isolates were found to be susceptible to erythromycin, teicoplanin, streptomycin, rifampicin, ampicillin, clindamycin, cefotaxime, chloramphenicol, tetracycline, and vancomycin, and resistant to nalidixic acid, ciprofloxacin, ofloxacin, gentamicin and trimethoprim sulfamethoxazole. It was determined that the isolates showed antimicrobial activity against *Salmonella* Typhimurium and *E. coli* O157:H7, but the antimicrobial effect was low against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. The acidity produced by 8 of the isolates was found to be between 0.9 and 0.95 %. In addition, it was determined that 74 isolates produced diacetyl. Proteinase activity and resistance to phages of 26 strains with high starter potential were investigated. It was determined that 5 of the strains did not show proteinase activity and according to the phage resistance test results, 8 of the isolates were sensitive to Φ709-X1 phage, and 12 *Lactobacillus delbrueckii* isolates were resistant to 15 different bacteriophages used in the study. According to the results of the study, it was determined that the isolated cultures have the potential to be used as a starter culture in terms of the investigated characteristics.

Keywords: Lactic acid bacteria, MALDI TOF MS, starter culture properties

GİRİŞ

Starter kültürler, fermentasyon işlemlerinin verimliliğini artırmak için kullanılan, seçilmiş mikrobiyal preparatlar olarak tanımlanmaktadır (Vinicius De Melo Pereira vd., 2020). Fermentasyon kolaylığı ve laktik asit bakterilerinin (LAB) çeşitli fonksiyonel özellikleri, onları fermente gıdaların üretiminde uygun bir starter kültür haline getirmektedir (Kavitate vd., 2018). Bu bakteriler, organik asit, hidrojen peroksit, bakteriyosin ve benzeri maddeler, postbiyotik bileşikler üretmek suretiyle gıdada bulunan patojen ve bozucu mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermektedirler (Moradi vd., 2020; Chen vd., 2020). Laktik asit bakterilerinin ürettiği aminoasit ve peptitler sayesinde fermente ettiği ürüne duyuşal özellikler kazandırması, yine aynı şekilde ürettikleri çeşitli polisakkarit veya glikanlar sayesinde ürünün dokusunda iyileştirici etkisinin olması, ürünün besinsel değerini artırması ve ürünün raf ömrünü uzatması gibi özellikleri laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanımını cazip hale getirmektedir (Canon vd., 2020).

Starter kültür olarak kullanılacak bakterilerin kesin tanısının yapılmış olması ve endüstriyel özelliklerinin doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanılabilmesi konusunda belirleyici olan endüstriyel özellikler; laktik asit üretimi, proteolitik aktivite, aroma maddeleri üretimi, antimikrobiyal aktivite ve bakteriyofaj

dirençlilik gibi özellikleridir (Demirgöl ve Sağdıç, 2017; Aydın ve Çakır, 2022). Laktik asit bakterilerinin laktozu fermente ederek laktik asit oluşturmaları en önemli özelliklerinden biridir. Laktik asit ortam pH'ını düşürerek ortamda istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini inhibe eder. Ayrıca asit üretimini önemli kılan bir diğer özellik ise pH düşüşüne bağlı olarak proteinlerin koagüle olması yani sütün pıhtılaşarak yoğurt oluşum mekanizmasının temelini oluşturmasıdır. Ancak fermentasyon sırasında yavaş gelişen asitlik serum ayrılması gibi kalite kusurlarına neden olmaktadır (Shah, 2017; Uzunsoy, 2018). Laktik asit bakterileri yaşamsal döngüleri için gerekli olan amino asitleri sentezleyemezler bu yüzden bu aminoasitlerin eksojen kaynaklardan karşılanması zorunludur. Laktik asit bakterileri, gelişimleri için ihtiyaç duydukları aminoasitleri, proteinaz ve peptidaz enzimleri sayesinde ortamdan karşılarlar. Böylece proteolitik aktivite ile bakterilerin gelişimleri teşvik edilirken, protein parçalanma ürünleriyle tipik aroma ve tat oluşumu gerçekleşir. Ancak yüksek proteolitik aktivite gösteren suşların yoğurt yapımında kullanılması durumunda yoğurtta acı tat oluşumu gözlemlenebilir (Kılıç 2008). Starter kültürlerde aranan en önemli özelliklerden birisi de suşların fajlara karşı dirençli olmasıdır. Kullanılacak kültürlerden birinin bile ortamda bulunabilecek faj veya fajlara duyarlı olması, fermentasyonun yavaşlaması veya durma noktasına gelmesi demektir; dolayısıyla bu durum ciddi bir ürün

kayıbı ve ekonomik zarar anlamına gelmektedir (Acar Soykut ve Tunail, 2009).

Laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanılabilirmeleri konusunda birçok çalışma yapılmıştır (Bratulić vd., 2021; Çelik vd., 2021; Islam vd., 2021; Kılıç vd., 2022). Pourahmad ve Assadi (2007), geleneksel starter kültürlerin kullanımını amaçladıkları çalışmada izole ettikleri *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşları ile yoğurt üretimi sağlamışlardır. Üretim sonrası yoğurtların kimyasal, mikrobiyal ve organoleptik özelliklerini incelemişler ve yoğurt üretiminde geleneksel starter kültürlerin yeterli olabileceğini, bu kültürlerin kullanılabilceğini ve ulusal kültür koleksiyonuna eklenebileceğini belirtmişlerdir. Akoğlu vd., (2017) Mengen peynirlerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin asidifikasyon kapasitelerini ve proteolitik aktivitelerini incelemişlerdir. En iyi asidifikasyon ve proteolitik aktiviteye sahip izolatları starter kültür olabilecek suşlar olarak işaretlemişlerdir.

MALDI-TOF MS (Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu-Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi) Biotyper, bir organizmanın özgün proteomik parmak izini belirlemek için kullanılan ve dakikalar içerisinde mikroorganizmaların spesifik ve güvenilir bir şekilde tanımlanmasını sağlayan bir sistemdir. Bu sistem, çok sayıda geleneksel ve biyokimyasal tanımlama yönteminin yerine geçmiş ve DNA dizi analizlerindeki birden fazla adım ve farklı gereksinimlerinin yükünü ortadan kaldırmıştır (Akyar, 2011; Aydın ve Ardıç, 2019; Bruker, 2019). MALDI-TOF MS Biotyper yönteminin klasik yöntemlere göre en büyük avantajı, çok kısa bir sürede tanımlama yapılabilmesidir. Bu teknik, tanısı yapılacak kültür için kullanılan besiyerlerinden ve üreme koşullarından etkilenmeden çalışabilmektedir. Ancak analiz için alınacak koloninin 48 saatten daha yaşlı olmaması gerekmektedir. Yaşlı kültür ile çalışılması durumunda, kültürlerde meydana gelen ribozomal proteinlerin parçalanmasına bağlı olarak ayırt edici pik sayısı ve bu piklerin yoğunluğu düşmektedir (Wieser vd., 2012). MALDI-TOF MS Biotyper yöntemi mikrobiyolojik tanımlama için nispeten

yeni bir yöntem olduğundan yanlış tanımlama yapılması ya da tanımlama yapılamamasının nedeni genellikle veri tabanında yeterli referans spektrumlarının bulunmamasıdır. Veri tabanının gün geçtikçe gelişmesi ile bu eksikliğin giderileceği düşünülmektedir. MALDI-TOF MS Biotyper'ın tür bazında doğru tanımlama oranının %84.1 ile %95.2 arasında değiştiği bildirilmiştir (Yılmaz, 2014).

Ülkemizde bulunan fermente ürün zenginliğinden faydalanmak ve starter kültür olarak kullanım potansiyeli olan suşların sayısını arttırmak, yerli starter kültür üretim çalışmalarına ve mikrobiyal gen kaynaklarımızın korunmasına katkı sağlamak amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir. Araştırma kapsamında geleneksel olarak üretilmiş olan yoğurt örneklerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu yapılmış, MALDI TOF MS Biotyper sistemi ile tanımlanan bu suşların, bazı teknolojik özellikleri ve antibiyotik dirençlilikleri belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada Batı Karadeniz Bölgesi'nden (Bolu, Bartın, Kastamonu, Karabük ve Zonguldak illerinden) geleneksel yöntemlerle manda ve inek sütü ile üretilen yoğurtlar temin edilmiştir (Çizelge 1). Toplanan örnekler steril kaplarda soğutucu hazne içerisinde laboratuvara getirilmiş ve aynı gün içerisinde izolasyon yapılmaya kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

İzole edilen suşların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan indikatör mikroorganizmalar Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir. Araştırmada *Escherichia coli* O157:H7 KUEN 1461 (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu), *Salmonella* Typhimurium ATCC 13076, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Bacillus cereus* RSKK709 türleri indikatör olarak kullanılmıştır. Suşların antibiyotiklere olan duyarlılıklarının ölçülmesi amacıyla da çeşitli antibiyotik diskleri (Liofilchem, İtalya) kullanılmıştır. Çalışmada

kullanılan antibiyotiklere ait bilgiler Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 1. Bakteri izolasyonu yapılan yoğurt örneklerine ait bilgiler

Table 1. Information of yogurt samples isolated from bacteria

Örneklere Ait Bilgiler / Information of Samples		
Alındığı İl / Province Taken	Kaynak / Source	Sayı / Number
Bartın	Manda yoğurdu	15
Bolu	Manda yoğurdu	15
	İnek yoğurdu	10
Karabük	Manda yoğurdu	15
Kastamonu	Manda yoğurdu	10
Zonguldak	Manda yoğurdu	10

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri

Table 2. Antibiotic discs used in study

Antibiyotik / Antibiotic	
Adı / Name	Konsantrasyonu / Concentration (µg/disk)
Eritromisin (E)	15
Trimetoprim (TM)	5
Nalidiksik Asit (NA)	30
Siprofloksasin (CIP)	5
Teikoplanin (TEC)	30
Streptomisin (S)	300
Rifampisin (RD)	5
Ampisilin (AMP)	10
Sefotaksim (CTX)	30
Ofloksasin (OFX)	5
Klindamisin (CD)	2
Kloramfenikol (C)	30
Tetrasiklin (TE)	30
Trimetoprim	25
sülfametoksazol (SXT)	
Gentamisin (CN)	10
Vankomisin (VA)	5

Metot

Laktik asit bakterilerinin izolasyonu, fenotipik, biyokimyasal ve moleküler tanımlanması

Laboratuvara getirilen yoğurt numunelerinden 10 g alınarak 90 mL MRD (Maximum Recovery Diluent) ortamında homojenize edilmiş sonra

aynı ortamda 10^{-6} desimale kadar seyreltme yapılmıştır. Her bir seyreltiden 2 paralel olacak şekilde 0.1 mL alınarak MRS Agar ve M17 Agara yayma kültür yöntemi ile ekim yapılmıştır. MRS Agar Petrileri 37°C’de, M17 Agar Petrileri ise 42°C’de 48-72 saat inkübe edildikten sonra Petrilerde gelişen farklı tipteki koloniler seçilmiş, MRS Broth ve M17 Broth besiyeri ortamlarında geliştirilerek saflık kontrolleri yapılmıştır. Kültürler, %20 steril gliserol ortamında stoğa alınarak -18°C’de muhafaza edilmiştir (Randazzo vd., 2004; Somashekaraiah vd., 2019).

İzolatların morfolojik, fenotipik ve biyokimyasal özelliklerini tanımlamak amacıyla Gram boyama, katalaz reaksiyonu (Temiz, 1996), glukozdan gaz oluşturma (Randazzo vd., 2004), farklı sıcaklıklarda (10°, 15° ve 45°C) gelişme, farklı tuz konsantrasyonlarında (%2, %4 ve %6.5 NaCl) gelişme ve farklı pH’larda (pH 3.5 ve pH 9) gelişme testleri yapılmıştır (Hugas, 1998; Yüce, 2017).

İzolatların moleküler düzeyde tanımlanması için MALDI-TOF MS Biotyper sistemi (Bruker, Almanya) kullanılmıştır. Tanımlama işlemi Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezinde hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Mikroorganizma tanısında direkt transfer yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem Petride geliştirilen kültürün direkt olarak cihaza ait tabla üzerinde işaretleri bölgelere aktarılması ve kültürün lazer ışınlarından korunması için matriks ile kaplanması şeklindedir. Matriks olarak her bir kültür 1 µL HCCA (α -siyano-4- hidroksisinnamik asit) ile kaplanmıştır ve oda sıcaklığında kuruması beklenmiştir. Daha sonra tabla cihaza verilerek sonuç alma işlemi gerçekleştirilmiştir (Aydın ve Ardic, 2019; Aydın vd., 2020).

İzolatların antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi

İzole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençlerinin ölçümü amacıyla Charteris vd., (1998) tarafından önerilen disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Mikroorganizmaların antibiyotik direnç özelliklerinin belirlenmesi amacıyla sıvı

besiyerinde geliştirilmiş, 18-24 saatlik aktif LAB kültürlerinden steril eküvyonla alınan kültür, aseptik koşullarda MRS ve M17 Agar yüzeyine tüm yüzeyi kapatacak şekilde yayılmıştır. Daha sonra antibiyotik diskleri, bir Petriye 6 antibiyotik diski gelecek şekilde disk dağıtıcı (Liofilchem, İtalya) ile yerleştirilmiştir ve Petriler düz bir şekilde inkübatöre konularak, indikatör mikroorganizmanın gelişebileceği uygun sıcaklıklarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu disklerin etrafında oluşan zonlar mm olarak ölçülmüştür (Cheesbrough, 2002).

İzolatların yüzde asitlik ve asidifikasyon özelliklerinin belirlenmesi

İzole edilen laktik asit bakterilerinin %asit üretim miktarlarını belirlemek amacıyla 18 saatlik aktif kültürlerden 0.1 mL alınarak 10 mL yağsız süt tozu besiyerine ilave edilmiş ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyona bırakılan örneklerden steril bir şekilde 6. ve 24. saat sonunda 2 mL alınarak 1-2 damla fenol fitalein damlatılmış ve 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan NaOH miktarına göre üretilen asitlik belirlenmiş ve %laktik asit miktarı olarak verilmiştir (Kırmacı, 2010; Tortum, 2018).

İzolatların asidifikasyon kapasitesi, pH değerinin zaman içindeki değişiminin ölçümü ile belirlenmiştir. Bu amaçla 18 saatlik aktif kültürlerden 10 mL yağsız süt tozu besiyerine 0.1 mL ilave edilerek inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyona bırakılan kültürlerden 6. ve 24. saat sonunda 2'şer mL örnek alınarak pH metre ile pH'ları ölçülmüştür ve sonuçlar Δ pH olarak verilmiştir (Ertürkmen ve Öner, 2015; Ribeiro vd., 2021).

İzolatların proteinaz aktivitesinin kalitatif belirlenmesi

Proteinaz testi için 1 g yağsız süt tozu ve 1.5 g agaroz 100 mL distile su içerisinde çözündürülmüş ve mikrodalgada kaynatılarak besiyeri hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri Petrilere dökülmüş ve her bir Petriye 6 örnek konulacak şekilde Petri kapları alttan çizilmiştir. Ekim amacıyla her bakteri kültüründen 10 μ L damlatılmış ve kuruması beklendikten sonra

Petriler 37°C'de 5 saat inkübasyona bırakılmış ardından Petrilerde oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüştür (Fox, 1989).

İzolatların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

İzolatların antimikrobiyal aktivite testleri agar yüzeyine nokta ekim yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla önce MRS Agar yüzeyine aktif kültürlerden yaklaşık 1-2 μ L olacak şekilde nokta ekim yapılmış ve inkübatörde uygun sıcaklıkta 24 saat gelişmeleri sağlanmıştır. Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan patojenler (*E. coli* O157:H7 KUEN 1461, *S. Typhimurium* ATCC 13076, *Lb. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 6538 ve *B. cereus* RSKK709) ise Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde geliştirilmiştir. İzolatların gelişmelerinin ardından 5 mL Tryptic Soy Yumuşak Agar (%0.7 agar içeren) besiyerine 100 μ L aktif patojenlerden ilave edilerek karıştırılmış ve gelişmiş olan izolatların üzerine Petri yüzeyini kaplayacak şekilde dökülmüştür. Daha sonra Petriler patojenlerin gelişmesine uygun olan 37°C'ye bırakılmış ve gelişmeleri sağlanmıştır. Ardından oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüştür (Fleming vd., 1975).

İzolatların diasetil oluşturmalarının kalitatif belirlenmesi

İzolatların sitratı metabolize ederek diasetil oluşturup oluşturmadıklarını incelemek amacıyla 18-24 saatlik aktif kültürler 5'er mL steril yağsız süt tozu besiyeri içeren tüplere inoküle edilmiş ve 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu tüplerden 1'er mL alınarak üzerlerine 0.5 mL α -Naftol (%1 w/v) çözeltisi ve KOH (%16 w/v) ilave edilmiş ve 30°C'de 1 dakika inkübe edildikten sonra besiyeri yüzeyinde kırmızı renkte halka oluşumu diasetil üretimi olarak değerlendirilmiştir (Franciosi vd., 2009).

İzolatların bakteriyofajlara karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi

İzolatların faj dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla, araştırmacıların daha önceki çalışmalarından izole ettikleri ve Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Kültür Koleksiyonunda bulunan fajlar kullanılmıştır. İzolatlara karşı restriksiyon fragment uzunluk

polimorfizmi (RFLP), yapısal protein şablonları ve konakçı spektrumlarına göre sınıflandırılan 15 farklı *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* fajı kullanılmıştır (Acar Soykut ve Tunail, 2014).

İzolatların fajlara karşı duyarlı olup olmadıklarını belirlemek için çift tabaka agar yöntemi (Acar Soykut, 2007) kullanılmıştır. Bu amaçla logaritmik fazda olan bakteri, 3 mL yumuşak agar ile karıştırılarak önceden dökülmüş agar plakları üzerine yayılmıştır. Daha sonra titresi 10^8 - 10^9 pfu/mL olan fajlar katılaştıran agar yüzeyinde işaretlenmiş bölgelere 10'ar µL olacak şekilde damlatılmıştır. İnkübasyon sonrası işaretlenen bölgelerde plak oluşumu varlığı izolatin o bölgedeki faja duyarlı olduğunu göstermiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

İzolatların fenotipik, biyokimyasal ve MALDI-TOF MS Biotyper tanı sonuçları

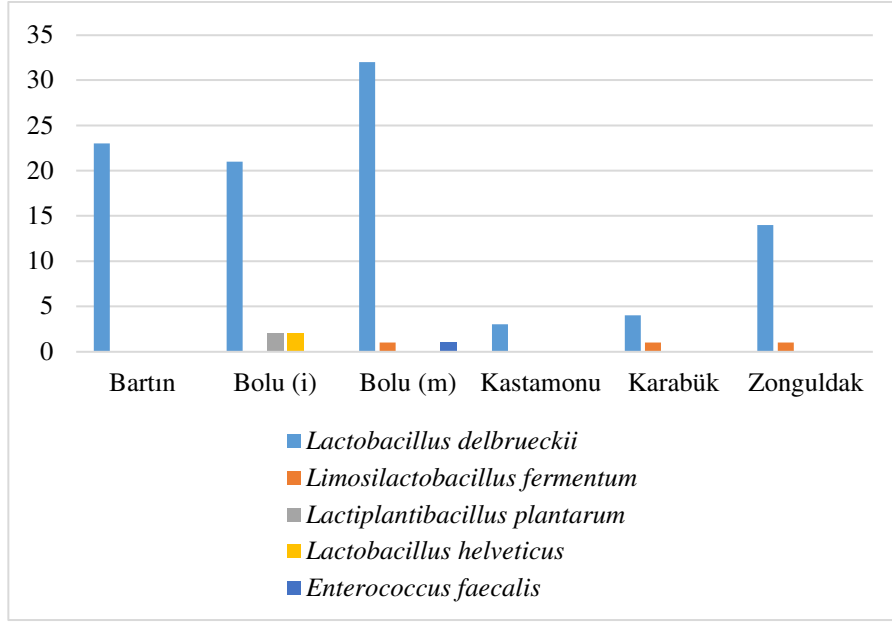
Çalışmada Batı Karadeniz'in 5 farklı ilinden geleneksel olarak üretilmiş 75 adet inek ve manda yoğurdu örneğinden seçici besiyeri kullanılarak (M17 ve MRS), Gram boyama ve katalaz reaksiyonu sonuçlarına göre muhtemel laktik asit bakterileri izole edilmiştir. Gram pozitif ve katalaz negatif özellik gösteren 84 adet muhtemel izolatin 82 tanesi glukozdan gaz oluşturma yeteneklerine göre homofermantatif özellikte bulunmuştur. İzolatlardan *Lb. delbrueckii* Z4-3 hariç diğerlerinin 45°C'de iyi geliştiği ancak 10-15°C gibi düşük sıcaklıklarda gelişimin zayıfladığı, dolayısıyla termofil karakterde oldukları belirlenmiştir. İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimlerine bakıldığında ise %2 NaCl konsantrasyonunda tüm izolatların gelişebildiği; %4 NaCl konsantrasyonunda ise 7 izolatin (*Lb. delbrueckii* P2, P3-3, P4, Y15, Z1, Z4-3, Br17-2) gelişebildiği; %6 NaCl konsantrasyonunda ise yalnızca 5 izolatin (*Lb. delbrueckii* P2, P4, Y15, Z1, Z4-3) gelişebildiği görülmüştür. İzolatların farklı pH değerlerinde gelişmelerine bakıldığında 4 izolat (Br17-2, Y1, P1, Z3-3) hariç tüm izolatların pH 9'da gelişme gösterdiği, buna karşın pH 3.5'te ise yalnızca 6 izolatin (P3, P3-3, C2, C3, C4, E2) zayıf gelişme gösterdiği, geri kalan izolatların ise gelişme gösteremedikleri belirlenmiştir. Enterokok türlerinin yüksek tuz (%6.5) ve yüksek pH (9.6) değerlerinde gelişebildikleri bilinmektedir

(Salminen ve Von Wright, 2000). Bu durumda %6 NaCl konsantrasyonunda gelişebilen P2, P4, Y15, Z1, Z4-3 izolatları *Enterococcus* olabileceği düşünülmüştür. Ancak MALDI-TOF sonuçlarına göre izolatlarının hepsi *Lb. delbrueckii* olarak tanımlanmıştır.

Fenotipik ve biyokimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilen suşların tanısının yapılabilmesi amacıyla MALDI TOF MS Biotyper sistemi kullanılmıştır. MALDI TOF MS Biotyper tanı sonuçlarına göre izole edilen 84 izolatın 2 tanesi *Lb. helveticus*, 2 tanesi *Lb. plantarum*, 3 tanesi *Lb. fermentum*, 1 tanesi *E. faecalis* ve 76 tanesi *Lb. delbrueckii* olarak tanımlanmıştır. İzolatların toplanan örneklere göre dağılımı Şekil 1'de verilmiştir.

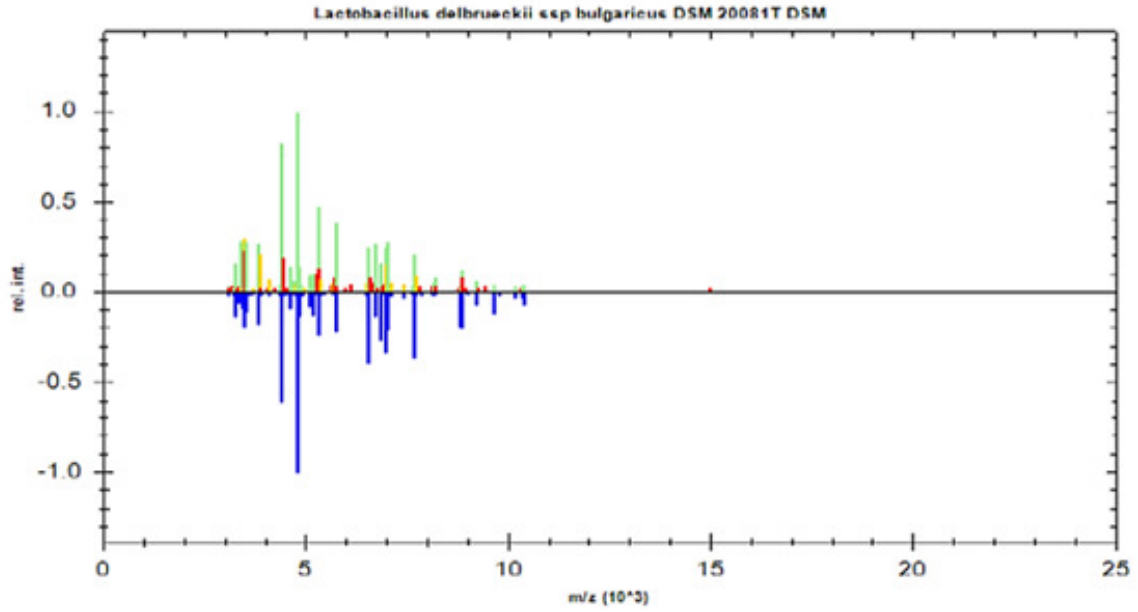
Bu sonuçlara göre izolatların yaklaşık %90'ının *Lb. delbrueckii* olduğu tespit edilmiştir. Yoğurdun oluşum mekanizmasında kullanılan starterlerin faaliyetleri göz önünde bulundurulacak olursa fermentasyonun ilk aşamalarında *S. thermophilus* ortama hâkim iken oluşan fazla serbest amino asit ve laktik asidin etkisiyle *S. thermophilus*'un üremesi yavaşlamaktadır. Ortamda bulunan formik asit ve karbondioksitin etkisiyle *Lb. bulgaricus* üremesinin hızlandığı ve fermentasyonun ilerleyen aşamasında yüksek asit toleransları ile baskın duruma geçtiği bilinmektedir (Tekinşen, 2005; Shah, 2017). Farklı olarak Gezginc (2010), Türkiye'nin farklı yörelerinden topladığı geleneksel yöntemlerle yapılmış yoğurt örneklerinden 115 adet *S. thermophilus* ve 35 adet *Lb. bulgaricus* türü izole etmiştir. Bu farklılığın üretilen yoğurtların fermentasyon sürelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tavşanlı (2015), yaptıkları çalışmada bitki, yağmur suyu ve çiy damlalarını kullanarak üretmiş olduğu yoğurt örneklerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonunu gerçekleştirmiştir. Araştırma sonucuna göre geleneksel yollarla üretilmiş yoğurtlardan MALDI-TOF yöntemi ile 27 adet *Lb. delbrueckii* ve 42 adet *S. thermophilus* suşu tanımlanmıştır. Bu suşların dışında ayrıca 19 adet *Lb. fermentum*, 5 adet *Pediococcus acidilactici*, 3 adet *Lb. plantarum*, 3 *E. faecium*, 1 adet *Lb. casei*, 1 adet *Lb. acidophilus* suşu tanımlanmıştır. Çalışmamızda tanısı yapılan suşlardan *Lb. delbrueckii* Z4-3'ün

MALDI TOF MS Biotyper sonucu Şekil 2’de verilmiştir.



(İ): İnek sütü ile yapılmış yoğurtlar, (M): Manda sütü ile yapılmış yoğurtlar
(İ): Yogurts made with cow's milk, (M): Yogurts made with buffalo milk

Şekil 1. İzolatların örnek toplanan illere göre dağılımı
Figure 1. Distribution of isolates according to the provinces where samples were collected



Şekil 2. *Lb. delbrueckii* Z4-3 suşunun MALDI TOF-MS Biotyper sonucu
Figure 2. MALDI TOF-MS Biotyper result of *Lb. delbrueckii* Z4-3 strain

Kültürlerin tanımlanmasında kullanılan MALDI-TOF MS Biotyper yöntemi, özellikle izolat sayısının çok fazla olduğu çalışmalarda hızlı ve yüksek güvenilirlikte sonuç vermesi açısından oldukça etkindir. Ancak tanımlama kapasitesinin veri tabanında bulunan mikroorganizma sayısı ve çeşitliliğine bağlı olması, alt türler arasındaki farklılıkları ortaya koymada bazen yetersiz kalması gibi nedenlerle sonuçların doğruluğunun

moleküler genetik çalışmaları ile de desteklenmesi gerektiği göz ardı edilmemelidir.

İzolatların antibiyotik duyarlılıkları

İzolatların antibiyotiklere karşı oluşturdukları zon çapları ve antibiyotik duyarlılıkları Charteris vd., (1998) tarafından kullanılan yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları

Table 3. Antibiotic susceptibility of isolates

Antibiyotik / <i>Antibiotic</i>	Dirençli / <i>Resistance (R)</i>	Zon Çapı (mm)	
		Orta Düzeyde Duyarlı / <i>Moderately susceptible (MS)</i>	Duyarlı / <i>Sensitive (S)</i>
Eritromisin	≤ 13	14-18	≥ 19
Trimethoprim	≤ 11	12-14	≥ 15
Nalidiksik asit	≤ 13	14-17	≥ 18
Siprofloksasin	≤ 13	14-18	≥ 19
Teikoplanin	≤ 10	11-13	≥ 14
Streptomisin	≤ 11	12-14	≥ 15
Rifampisin	≤ 14	15-17	≥ 18
Ampisilin	≤ 12	13-15	≥ 16
Sefotaksim	≤ 10	11-15	≥ 16
Ofloksasin	≤ 14	15-17	≥ 18
Klindamisin	≤ 14	15-20	≥ 21
Kloramfenikol	≤ 13	14-17	≥ 18
Tetrasiklin	≤ 14	15-18	≥ 19
Trimetoprim	≤ 11	12-14	≥ 15
sülfametoksazol	≤ 12	—	≥ 13
Gentamisin	≤ 12	—	≥ 13
Vankomisin	≤ 14	15-16	≥ 17

Antibiyotiklerin bilinçsizce kullanımı patojen bakterilerde antibiyotik dirençliliğine sebep olmakta ve bu durum bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için kullanılan ajanların etkinliğini tehlikeye atmaktadır. Bununla birlikte, son zamanlarda birçok araştırmacı, laktik asit bakterilerinin, insan patojenlerinde bulunanlara benzer antibiyotik direnç genlerinin rezervuarı olarak hareket edebileceğini öne sürmüştür. Bu bakterilerle ilişkili ana tehdit, direnç genlerini patojenik bakterilere aktarabilmeleridir (Bartkiene vd., 2020; de Amorim Trindade vd., 2022). İzolatların antibiyotik duyarlılıkları Şekil 3'te verilmiştir.

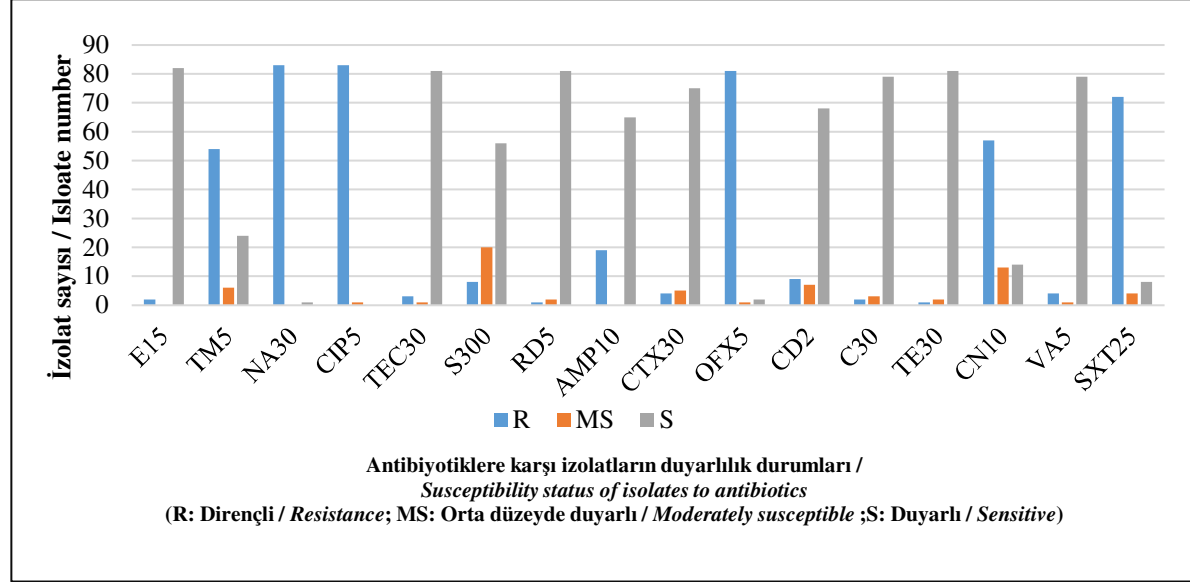
Bu çalışmada izolatların nalidiksik asit (83 adet), siproflaksasin (83 adet), ofloksasin (81 adet)

trimetoprim sülfametoksazol (72 adet) ve gentamisin (57 adet) antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzolatların duyarlılıklarına bakıldığında eritromisin (82 adet), teikoplanin (81 adet), rifampisin (81 adet), sefotaksim (75 adet), kloramfenikol (79 adet), tetrasiklin (81 adet) ve vankomisin (79 adet) antibiyotiklerine karşı duyarlılığın streptomisin (56 adet), amfisilin (65 adet), klindamisin (68 adet) antibiyotiklerinden daha fazla olduğu görülmektedir.

Hoxha vd., (2022) fermente gıdalardan izole ettikleri laktik asit bakterilerinin tamamının siproflaksasine dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Campedelli vd., (2019) yaptıkları

çalışmada *Lactobacillus* cinsi 197 suşun antibiyotik duyarlılıklarını fenotipik ve genotipik olarak belirlemiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre *Lb. delbrueckii* suşlarının %92'sinin vankomisine duyarlı olduğu tespit edilmiş olup, bu bulgular çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzerlik

göstermektedir. Çalışma sonuçlarımızdan farklı olarak Gad vd., (2014) ise izole ettikleri *Lactobacillus* suşlarının vankomisin ve streptomisine karşı oldukça dirençli olduklarını belirtmişlerdir.



Şekil 3. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları
Figure 3. Antibiotic susceptibility of isolates

Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre *Lb. plantarum* suşlarından biri vankomisine karşı dirençli iken diğeri duyarlı bulunmuştur. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde *Lb. plantarum*'un vankomisine dirençli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Park ve Lim, 2015; Guo vd., 2017). Enterokokların streptomisin, tetrasiklin, gentamisin, vankomisin, eritromisin, kloramfenikol antibiyotiklerine kazanılmış direnç geliştirebildikleri bilinmektedir (Karaalioglu, 2019). Çalışmamızda izole edilen *E. faecalis* B10-2 eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin ve vankomisine duyarlı; streptomisin, gentamisin antibiyotiklerine ise dirençli bulunmuştur.

Alameri vd., (2022) taze sebzelerden izole ettikleri tüm laktik asit bakterilerinin sonuçlarımızdan farklı olarak vankomisine dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada sofralık zeytinlerden izole edilen 15 laktik asit bakterisi

suşunun tümünün çalışmamızdan farklı olarak eritromisin ve tetrasikline karşı bir dirençli olduğu bulunmuştur (El Issaoui vd., 2020). Çalışmalardaki farklı duyarlılık sonuçlarının izolatların farklı plazmit profillerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

İzolatların yüzde asitlik ve asidifikasyon aktiviteleri

Asitlik, özellikle süt endüstrisinde önemli bir parametredir. Laktik asit bakterileri, laktozu fermente ederek laktik asit oluşturmakta ve ortam pH'nın düşmesine neden olmaktadır. Asitlik gelişimi LAB gelişimini de etkilemekte, dolayısıyla gıdanın yapı, tat ve aroma özelliklerini değiştirebilmektedir (Aydın ve Çakır, 2022). Ayrıca fermentasyon sırasında yavaş gelişen asitlik, serum ayrılması gibi kalite kusurlarına neden olmakla birlikte, fermentasyon süresinin uzaması da ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Uzunsoy, 2018). Yoğurdun oluşum

mekanizmasında asitlik pH 5.1 değerinde iken kazein proteinlerinde agregasyon başlamakta ve pH 4.6-4.7 düzeyinde tamamlanmaktadır (Demirci ve Ocak, 2020). Dolayısıyla izole edilen suşların zamana bağlı pH değişiminin belirtilen düzeyde olması gerekmektedir. Çalışmada

kullanılan izolatların zamana bağlı pH değişimleri ve ürettikleri yüzde asit miktarı Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. İzolatların yüzde laktik asitlik ve asidifikasyon sonuçları

Table 4. Percent lactic acidity and acidification results of isolates

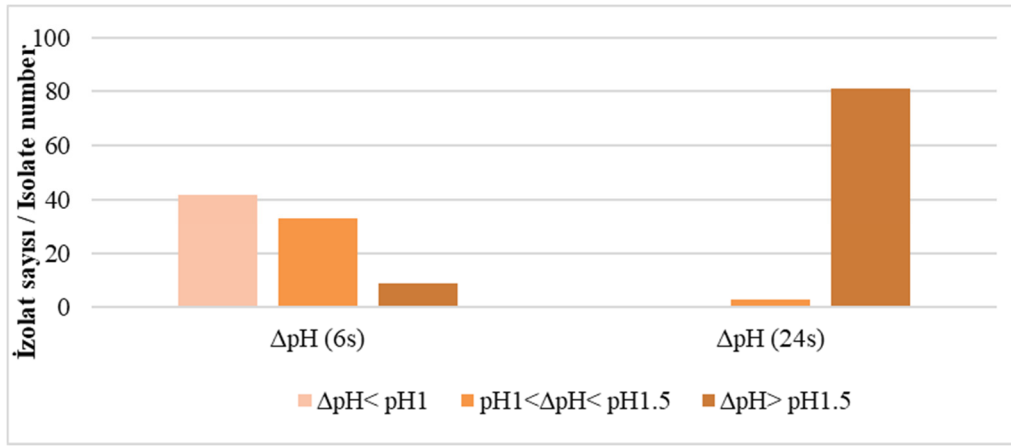
İzolat Adı / Isolate Name	pH Değeri / pH Value		ΔpH		Laktik Asit Üretimi / Lactic Acid Production (%)
	6. sa	24. sa	ΔpH 6 sa	ΔpH 24 sa	
<i>Lb. belveticus</i> A1	6.40	3.96	1.10	3.54	1.71
<i>Lb. belveticus</i> A2	5.59	4.02	1.91	3.48	1.30
<i>Lb. delbrueckii</i> P1	5.76	4.10	1.74	3.40	1.17
<i>Lb. plantarum</i> P2	6.52	5.79	0.98	1.71	0.18
<i>Lb. delbrueckii</i> P3	5.68	4.09	1.82	3.41	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> P3-2	5.84	4.10	1.66	3.40	1.17
<i>Lb. delbrueckii</i> P3-3	6.00	4.10	1.50	3.40	0.94
<i>Lb. plantarum</i> P4	6.61	6.18	0.89	1.32	0.13
<i>Lb. delbrueckii</i> C1	6.51	4.44	0.99	3.06	0.99
<i>Lb. delbrueckii</i> C2	6.88	4.24	0.62	3.26	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> C3	6.93	5.69	0.57	1.81	0.45
<i>Lb. delbrueckii</i> C4	7.28	4.21	0.22	3.29	1.08
<i>Lb. delbrueckii</i> D1	6.85	6.20	0.65	1.30	0.04
<i>Lb. delbrueckii</i> D2	6.71	4.38	0.79	3.12	0.76
<i>Lb. delbrueckii</i> D3	6.41	4.4	1.09	3.10	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> D4	6.46	4.58	1.04	2.92	0.81
<i>Lb. delbrueckii</i> D5	6.22	4.22	1.28	3.28	0.81
<i>Lb. delbrueckii</i> E2	6.74	4.93	0.76	2.57	0.58
<i>Lb. delbrueckii</i> E2-2	5.81	4.15	1.69	3.35	0.92
<i>Lb. delbrueckii</i> E3	5.54	4.10	1.96	3.40	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> E4	6.06	4.15	1.44	3.35	0.94
<i>Lb. delbrueckii</i> E5	6.36	4.24	1.14	3.26	0.85
<i>Lb. delbrueckii</i> F3	6.73	4.39	0.77	3.11	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> F5	6.27	4.21	1.23	3.29	1.03
<i>Lb. delbrueckii</i> F6	6.67	4.52	0.83	2.98	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> B4	6.56	4.95	0.94	2.55	0.49
<i>Lb. delbrueckii</i> B6	6.18	4.31	1.32	3.19	0.81
<i>Lb. delbrueckii</i> B7	6.50	4.28	1.00	3.22	0.85
<i>Lb. delbrueckii</i> B8	6.78	4.57	0.72	2.93	0.81
<i>Lb. delbrueckii</i> B9	6.75	4.64	0.75	2.86	0.67
<i>Lb. delbrueckii</i> B9-2	6.33	4.66	1.17	2.84	0.81
<i>E. faecalis</i> B10-2	6.86	4.50	0.64	3.00	0.85
<i>Lb. delbrueckii</i> B10-3	6.63	4.75	0.87	2.75	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> B11-2	6.82	4.87	0.68	2.63	0.63
<i>Lb. delbrueckii</i> B12	6.48	4.22	1.02	3.28	0.90
<i>Lb. delbrueckii</i> B14	6.79	4.39	0.71	3.11	0.85
<i>Lb. fermentum</i> B15-2	6.50	4.40	1.00	3.10	0.81
İzolat Adı / Isolate Name	pH Değeri / pH Value		ΔpH		

LAB izolasyonu, MALDI TOF MS tanısı ve starter kültür özellikleri

	6. sa	24. sa	Δ pH 6 sa	Δ pH 24 sa	Laktik Asit Üretimi / <i>Lactic Acid Production</i> (%)
<i>L.b. delbrueckii</i> Y1	6.77	4.93	0.73	2.57	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Y1-2	6.08	4.68	1.42	2.82	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Y2	6.71	4.60	0.79	2.90	0.76
<i>L.b. delbrueckii</i> Y3-2	6.62	5.93	0.82	1.57	0.27
<i>L.b. delbrueckii</i> Y5	6.54	5.22	0.96	2.28	0.27
<i>L.b. fermentum</i> Y15	6.62	6.16	0.88	1.34	0.18
<i>L.b. fermentum</i> Z1	6.55	4.48	0.95	3.02	0.90
<i>L.b. delbrueckii</i> Z3-3	6.79	4.88	0.71	2.62	0.63
<i>L.b. delbrueckii</i> Z4	6.81	4.72	0.69	2.78	0.58
<i>L.b. delbrueckii</i> Z4-3	6.95	4.50	0.55	3.00	0.81
<i>L.b. delbrueckii</i> Z5	6.36	5.76	1.14	1.74	0.22
<i>L.b. delbrueckii</i> Z5-2	6.28	5.42	1.22	2.08	0.27
<i>L.b. delbrueckii</i> Z5-3	6.51	4.92	0.99	2.58	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Z5-4	6.21	5.35	1.29	2.15	0.31
<i>L.b. delbrueckii</i> Z6	6.54	4.68	0.96	2.82	0.81
<i>L.b. delbrueckii</i> Z6-2	6.73	4.75	0.77	2.75	0.40
<i>L.b. delbrueckii</i> Z6-3	6.22	4.61	1.28	2.89	0.58
<i>L.b. delbrueckii</i> Z6-4	6.18	4.56	1.32	2.94	0.67
<i>L.b. delbrueckii</i> Z7	6.76	5.62	0.74	1.88	0.31
<i>L.b. delbrueckii</i> Z8	6.63	4.80	0.87	2.70	0.67
<i>L.b. delbrueckii</i> Z8-2	6.69	4.71	0.81	2.79	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Br1	6.45	4.81	1.05	2.69	0.45
<i>L.b. delbrueckii</i> Br1-2	6.14	4.88	1.36	2.62	0.27
<i>L.b. delbrueckii</i> Br6	6.73	5.81	0.77	1.69	0.18
<i>L.b. delbrueckii</i> Br7-2	6.38	4.59	1.12	2.91	0.40
<i>L.b. delbrueckii</i> Br11	6.40	4.68	1.10	2.82	0.72
<i>L.b. delbrueckii</i> Br12	6.45	5.07	1.05	2.43	0.58
<i>L.b. delbrueckii</i> Br12-2	6.83	5.15	0.67	2.35	0.40
<i>L.b. delbrueckii</i> Br15	6.75	4.62	0.75	2.88	0.76
<i>L.b. delbrueckii</i> Br17	6.23	4.50	1.27	3.00	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Br17-2	6.59	4.63	0.91	2.87	0.81
<i>L.b. delbrueckii</i> Br17-3	6.03	4.52	1.47	2.98	0.58
<i>L.b. delbrueckii</i> Br18-2	6.38	4.78	1.12	2.72	0.40
<i>L.b. delbrueckii</i> Br22	6.71	5.19	0.79	2.31	0.36
<i>L.b. delbrueckii</i> Br22-2	6.82	5.03	0.68	2.47	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Br22-3	6.47	4.35	1.03	3.15	0.72
<i>L.b. delbrueckii</i> Br23	6.08	4.60	1.42	2.90	0.36
<i>L.b. delbrueckii</i> Br23-2	6.53	4.54	0.97	2.96	0.72
<i>L.b. delbrueckii</i> Br25	6.47	4.69	1.03	2.81	0.63
<i>L.b. delbrueckii</i> Br25-2	6.48	4.82	1.02	2.68	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Br25-3	6.78	4.65	0.72	2.85	0.58
<i>L.b. delbrueckii</i> Br26	5.95	4.45	1.55	3.05	0.54
<i>L.b. delbrueckii</i> Br29	6.43	4.98	1.07	2.52	0.49
<i>L.b. delbrueckii</i> Br29-2	6.25	4.61	1.25	2.89	0.72
<i>L.b. delbrueckii</i> Ks7	6.29	5.06	1.21	2.44	0.42
<i>L.b. delbrueckii</i> Ks9	6.70	4.73	0.80	2.77	0.72
<i>L.b. delbrueckii</i> Ks9-2	5.99	4.24	1.51	3.26	0.67

Ertürkmen ve Öner (2015), Beyaz peynirden izole ettikleri laktik asit bakterileri ile olan çalışmalarında Δ pH değerlerinde meydana gelen değişimi 1'in altında olanlar için düşük düzeyde, 1-1.5 arasında olanlar için orta düzeyde, 1.5'ten yüksek olanlar suşlar için ise yüksek düzeyde asit üreten suşlar olarak tanımlamışlardır. İzolatların 6 saatlik pH değişimleri incelendiğinde 9 izolatin (*Lb. helveticus* A2, *Lb. delbrueckii* P1, *Lb. delbrueckii* P3, *Lb. delbrueckii* P3-2, *Lb. delbrueckii* P3-3, *Lb.*

delbrueckii E2-2, *Lb. delbrueckii* E3, *Lb. delbrueckii* Br26, *Lb. delbrueckii* Ks9-2) yüksek düzeyde asit ürettiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda 24 saat sonunda *Lb. helveticus* A1, pH 3.96 ile ortam pH'sını en çok düşüren izolat olurken, *Lb. plantarum* P4, pH 6.18 ile ortam pH'sını en az düşüren izolat olmuştur. İzolatların 24 saat sonunda %81'inin ortam pH'sını 5'in altına düşürdüğü tespit edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. İzolatların zamana bağlı pH değişimi

Figure 4. Time dependent pH change of isolates

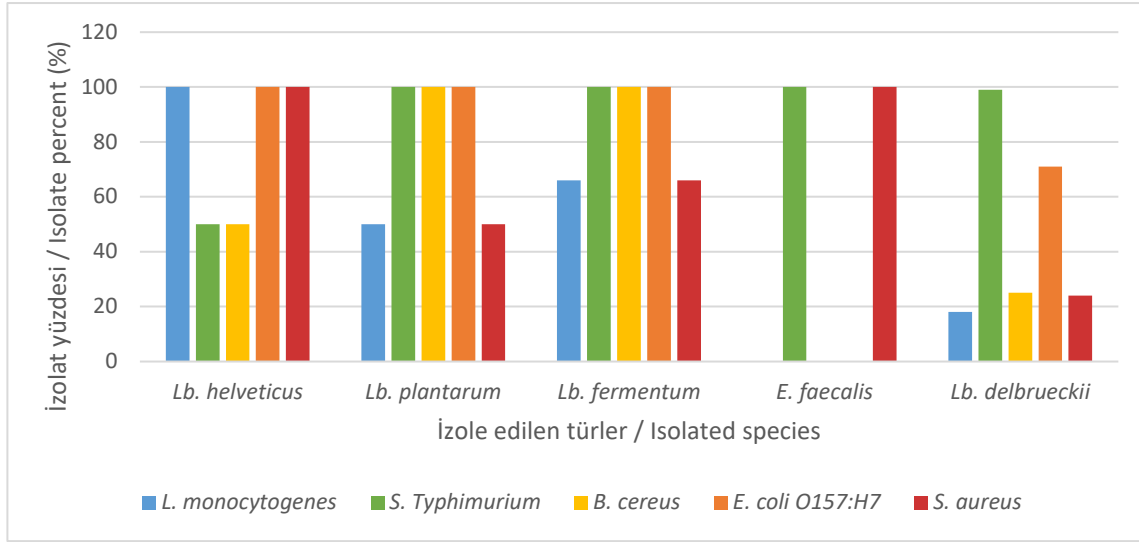
Benzer olarak Hoque vd., (2010) geleneksel olarak üretilen iki farklı bölgeden alınmış yoğurtlardan izole ettikleri laktik asit bakterilerinin 24 saat sonunda ölçülen pH değerleri 5.09 ve 5.13 olarak rapor etmiştir. Yoğurdun üretiminde %0.9 asitliğe ulaşılana kadar yaklaşık 4 saat boyunca 42°C'de inkübasyon yoluyla fermente olmasına ve pıhtılaşmasına izin verilmektedir (Shah, 2017). Buna göre izolatlarımızdan 7 adet *Lb. delbrueckii* ve 1 adet *Lb. fermentum* suşunun ürettiği asitliğin %0.9 ve 0.95 arasında olduğu bulunmuş olup, bu *Lactobacillus* suşlarının asitlik üretimi açısından starter kültür potansiyeli taşıdığı tespit edilmiştir.

Akoğlu vd., (2017) Mengen peynirlerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin 6. saat ve 24. saat sonundaki Δ pH değerlerinin laktobasillerde 0.11-0.36 ve 0.7-2.35 arasında değişim gösterdiğini rapor etmişlerdir. Benzer olarak Uzunsoy (2018) geleneksel yöntemlerle üretilmiş yoğurtlardan izole ettiği *Lb. bulgaricus* izolatlarından 3 adedinin çok güçlü asit üretme yeteneğine sahip olduğunu

bulmuştur. Nachi vd., (2019) ise çalışmamızdan farklı olarak izole ettikleri *Lb. plantarum*'un yüksek asit üretimi sağladığını bildirmişlerdir.

Antimikrobiyal aktivite

Laktik asit bakterilerinin sebep olduğu antimikrobiyal aktivite, pH'nın ve peptit olmayan inhibitörlerin oluşumu, antibakteriyel etkiye sahip H₂O₂, organik asitler ve bakteriyosinlerden kaynaklanmaktadır (Evren vd., 2006). Yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin gıda patojenlerine karşı oluşturduğu inhibisyon değerleri, inhibisyon çapı sınır olarak 2 mm'ye göre incelenip (İşleroğlu vd., 2008) sonuçlar değerlendirildiğinde izolatların %97'si *S. Typhimurium*'a, %76'sı *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği, buna karşın %76'sının *Lb. monocytogenes*'e, %73'ünün *B. cereus*'a ve %68'inin ise *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 5). Her bir izolatın test mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları zon çapları Çizelge 5 verilmiştir.



Şekil 5. Tanımlanan türlerin antimikrobiyal aktiviteleri

Figure 5. Antimicrobial activities of identified species

Gram negatif bakterilerin sahip olduğu hücre duvarı, bakterileri antibiyotiklere ve antimikrobiyallere karşı Gram pozitif bakterilere göre daha dirençli hale getirmektedir. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit, asetik asit ve bakteriyosinler Gram negatif bakteriler

üzerinde antibakteriyel etki göstermektedir. *Lb. plantarum* tarafından üretilen benzoik asit, mevalonik asit ve diasetil gibi çeşitli bileşiklerin Gram negatif bakterilerin gelişimini inhibe ettiği bilinmektedir (Dinçer, 2007; Breijyeh vd., 2020).

Çizelge 5. İzolatların patojenlere karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)

Table 5. Inhibition zone diameters of isolates against pathogens

İzolat Adı / Isolate Name	<i>Lb.monocytogenes</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli O157:H7</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Lb. helveticus</i> A1	9	(-)	(-)	>	5
<i>Lb. helveticus</i> A2	3	37	3	>	7
<i>Lb. delbrueckii</i> P1	9	47	3	>	6
<i>Lb. plantarum</i> P2	12	4	18	>	7
<i>Lb. delbrueckii</i> P3	3	18	4	>	1
<i>Lb. delbrueckii</i> P3-2	4	>	5	31	5
<i>Lb. delbrueckii</i> P3-3	5	>	5	43	6
<i>Lb. plantarum</i> P4	1	>	11	23	1
<i>Lb. delbrueckii</i> C1	(-)	>	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> C2	2	>	(-)	4	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> C3	(-)	>	(-)	3	3
<i>Lb. delbrueckii</i> C4	(-)	>	(-)	6	5
<i>Lb. delbrueckii</i> D1	(-)	5	3	21	4
<i>Lb. delbrueckii</i> D2	(-)	5	(-)	7	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> D3	(-)	26	(-)	3	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> D4	(-)	5	1	1	2

İzolat Adı / Isolate Name	<i>Lb.monocytogenes</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. aureus</i>
<i>Lb. delbrueckii</i> D5	4	43	4	3	5
<i>Lb. delbrueckii</i> E2	6	>	6	13	1
<i>Lb. delbrueckii</i> E2-2	4	>	6	11	6
<i>Lb. delbrueckii</i> E3	4	>	4	21	5
<i>Lb. delbrueckii</i> E4	4	>	3	21	3
<i>Lb. delbrueckii</i> E5	2	>	(-)	9	6
<i>Lb. delbrueckii</i> F3	1	>	(-)	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> F5	(-)	>	(-)	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> F6	(-)	>	(-)	7	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B4	(-)	>	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B6	2	>	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B7	(-)	>	(-)	3	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B8	(-)	>	(-)	18	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B9	1	>	(-)	13	4
<i>Lb. delbrueckii</i> B9-2	(-)	>	(-)	26	(-)
<i>E. faecalis</i> B10-2	(-)	>	(-)	(-)	2
<i>Lb. delbrueckii</i> B10-3	(-)	>	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B11-2	(-)	>	(-)	1	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B12	(-)	>	(-)	43	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> B14	3	>	5	18	5
<i>Lb. fermentum</i> B15-2	(-)	>	3	19	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Y1	1	>	(-)	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Y1-2	(-)	>	(-)	18	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Y2	(-)	>	(-)	21	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Y3-2	(-)	>	(-)	14	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Y4-2	(-)	>	(-)	1	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Y5	(-)	>	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. fermentum</i> Y15	16	>	18	11	21
<i>Lb. fermentum</i> Z1	2	>	18	52	23
<i>Lb. delbrueckii</i> Z3-3	1	>	3	21	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z4	3	>	(-)	34	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z4-3	4	>	2	9	4
<i>Lb. delbrueckii</i> Z5	(-)	>	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z5-2	(-)	>	1	31	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z5-3	(-)	>	2	28	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z5-4	(-)	>	(-)	14	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z6	(-)	>	(-)	8	3
<i>Lb. delbrueckii</i> Z6-2	(-)	>	(-)	1	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z6-3	(-)	>	(-)	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z6-4	(-)	>	3	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z7	(-)	>	(-)	1	(-)

LAB izolasyonu, MALDI TOF MS tanısı ve starter kültür özellikleri

İzolat Adı / Isolate Name	<i>Lb.monocytogenes</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. aureus</i>
<i>Lb. delbrueckii</i> Z8	(-)	>	3	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Z8-2	(-)	>	3	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br1	(-)	>	(-)	8	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br1-2	(-)	>	(-)	5	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br6	(-)	>	(-)	1	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br7-2	(-)	>	(-)	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br11	(-)	>	(-)	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br12	(-)	>	(-)	>	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br12-2	(-)	47	(-)	>	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br15	(-)	>	(-)	4	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br17	(-)	>	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br17-2	(-)	38	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br17-3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br18-2	(-)	04	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br22	(-)	26	(-)	26	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br22-2	(-)	42	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br22-3	(-)	12	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br23	(-)	6	(-)	6	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br23-2	(-)	39	(-)	3	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br25	(-)	41	(-)	2	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br25-2	(-)	43	(-)	(-)	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br25-3	(-)	>	(-)	4	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br26	(-)	53	(-)	29	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Br29	(-)	1	(-)	18	2
<i>Lb. delbrueckii</i> Br29-2	(-)	25	(-)	2	4
<i>Lb. delbrueckii</i> Ks7	(-)	41	(-)	(-)	2
<i>Lb. delbrueckii</i> Ks9	(-)	27	(-)	6	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> Ks9-2	(-)	9	(-)	3	(-)

(-): Zon oluşumu yok, (>): 6 cm ve üzeri zon oluşumu

(-): No zone formation, (>): 6 cm and above zone formation

Antimikrobiyal aktivite testlerine göre *Lb. plantarum* izolatlarının test edilen tüm patojenlere karşı yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bin Masalam vd., (2018) *Lb. plantarum* suşları ile yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar almış; Arriola vd., (2020) de çalışmalarında *Lb. plantarum*'un, *S. Typhimurium* ve *Lb. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkisinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında izole edilen *Lb. delbrueckii* suşlarından yalnızca *Lb. delbrueckii* Br17-3, *S.*

Typhimurium'a karşı antimikrobiyal etki göstermezken diğer *Lb. delbrueckii* suşlarının antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Rubbani ve Iqbal (2020) probiyotik yoğurtlardan izole ettikleri *Lactobacillus* suşlarının en yüksek *Salmonella* Typhi'ye karşı antibakteriyel etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Abedi vd., (2013), *Lb. delbrueckii* suşlarının *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etkisini inceledikleri çalışmada suşların yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ve bu etkinin laktik asitten

kaynaklandığını rapor etmişlerdir. Abushelaibi vd., (2017) deve sütünden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin *S. aureus*'a karşı yüksek inhibisyon gösterdiğini rapor etmişlerdir. Kanak ve Yılmaz (2018), geleneksel olarak üretilmiş peynirlerden izole etmiş oldukları laktik asit bakterilerinin hiçbirinin *S. aureus* ATCC 25923 patojenine karşı inhibisyon etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada izole edilen *Lb. plantarum* IS2 izolatının *Lb. monocytogenes* ATCC 7644, *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* patojenlerine karşı etkili olduğu; *E. faecalis* IA2 izolatının ise sadece *S. Typhimurium* ATCC 140828 suşuna karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Diasetil üretimi

Diasetil ve asetaldehit, laktik asit bakterilerinde sitrat metabolizmasının son ürünü olarak ortaya çıkan temel aroma bileşikleridir (Elçioğlu, 2010). Diasetil üretim özelliği, tereyağı starteri olarak kullanılabilecek kültürler için önemli bir kriterdir. Ayrıca diasetil, Gram negatif mikroorganizmalar için antimikrobiyal etkiye sahip bir metabolittir. Geleneksel yoğurt üretiminde, bazı yörelerde, özellikle yaylalarda yapılan üretimlerde, mayalama işleminde tereyağı kullanılmaktadır. Bu nedenle izole edilen kültürlerin diasetil üretim özellikleri de belirlenmiştir. Bu çalışmada izolatların diasetil

üretimleri test sonunda oluşan pembe-kırmızı halka oluşumu dikkate alınarak, kalitatif yöntemle tespit edilmiştir. Oluşan renk değişimine bağlı olarak izolatların %90'ının diasetil ürettiği ancak %10'unun ise diasetil üretmediği tespit edilmiştir. Benzer olarak Yüce (2017), yoğurt ve peynirlerden izole etmiş olduğu 101 bakteriden 41'inde, deney sonrası ilk 10 dakika içerisinde diasetil oluşumunun gerçekleştiği, inkübasyonun 24. saatinde ise tüm izolatlarda diasetil oluşumu görüldüğünü rapor etmiştir. Elçioğlu (2010) ise çalışmasında Tulum peynirlerinden izole ettiği 96 adet laktik asit bakterisinden 38'inin diasetil ürettiğini, diasetil üreten suşların da ağırlıklı olarak *Enterococcus* türlerinden oluştuğunu tespit etmiştir. De Almeida Júnior vd., (2015) ise keçi sütünden izole ettikleri 50 adet LAB kültürünün diasetil üretimi açısından zayıf gelişme gösterdiğini bildirmiştir.

Proteinaz aktivitesi

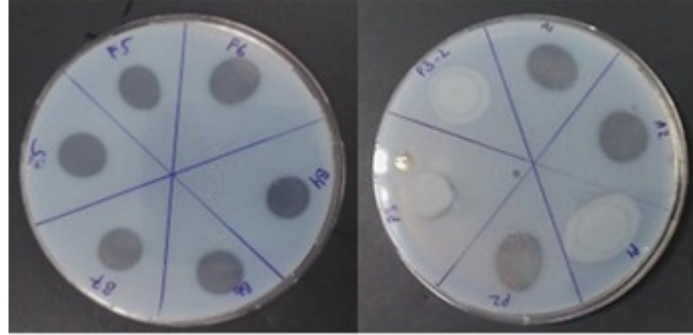
Çalışma kapsamında izolatlardan antibiyotik duyarlılıkları, asidifikasyon özellikleri, antimikrobiyal özellikleri ve diasetil üretimi özellikleri göz önünde bulundurularak seçilen 26 adet potansiyeli yüksek suşun proteinaz aktivitesi tespit edilmiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. İzolatların proteinaz aktivitesi
Table 6. Proteinase activity of isolates

İzolat Adı / Isolate Name	Zon Çapı / Diameter of Zone (mm)	İzolat Adı / Isolate Name	Zon Çapı / Diameter of Zone (mm)
<i>Lb. helveticus</i> A2	13	<i>Lb. delbrueckii</i> E2-2	11
<i>Lb. delbrueckii</i> P1	(-)	<i>Lb. delbrueckii</i> E3	(-)
<i>Lb. plantarum</i> P2	13	<i>Lb. delbrueckii</i> E4	(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> P3-2	(-)	<i>Lb. delbrueckii</i> E5	12
<i>Lb. delbrueckii</i> P3-3	(-)	<i>Lb. delbrueckii</i> B8	11
<i>Lb. delbrueckii</i> C2	10	<i>Lb. delbrueckii</i> B9	10
<i>Lb. delbrueckii</i> C4	11	<i>Lb. delbrueckii</i> B14	10
<i>Lb. delbrueckii</i> D1	13	<i>Lb. fermentum</i> B15-2	10
<i>Lb. delbrueckii</i> D2	14	<i>Lb. delbrueckii</i> F5	10
<i>Lb. delbrueckii</i> D3	11	<i>Lb. delbrueckii</i> F6	13
<i>Lb. delbrueckii</i> D4	8	<i>Lb. delbrueckii</i> Br23	9
<i>Lb. delbrueckii</i> D5	14	<i>Lb. delbrueckii</i> Br26	10
<i>Lb. delbrueckii</i> E2	13	<i>Lb. delbrueckii</i> Ks7	10

Thapa vd., (2006), 2 mm'den büyük hidroliz bölgesine sahip suşların proteolitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Buna göre test edilen 26 izolattan 21'i proteolitik aktiviteye sahiptir. Test edilen izolatlardan en yüksek zon çapı *Lb. delbrueckii* D2 (14 mm) ve *Lb. delbrueckii* D5 (14 mm) suşlarında, en düşük proteolitik aktivitesi ise en düşük zon çapına sahip *Lb. delbrueckii* D4 (8 mm) suşunda görülmüş; *Lb. delbrueckii* P1, P3-2, P3-3, E3, E4 suşlarının ise herhangi bir zon

oluşturmadığı için proteinaz aktivitesi göstermediği belirlenmiştir (Şekil 6). Ektik (2022), çalışmada proteolitik aktivite seviyesini, berrak hidroliz bölgesinin çapına göre; düşük (<10mm), orta (≥10 mm ve <20 mm) ve yüksek (≥21 mm) olarak değerlendirmiştir. Bu durumda izolatlardan *Lb. delbrueckii* D4 ve *Lb. delbrueckii* Br23 düşük proteolitik aktivite gösterirken diğer 19 izolat orta seviyede proteolitik aktivite göstermiştir.



Şekil 6. İzolatların proteinaz aktivitesi zonları

Figure 6. Proteinase activity zones of isolates

Laktik asit bakterileri sahip oldukları proteolitik enzimlerle kazeini hidrolize ederek fermentasyon sırasında ürünün yapı ve aroma oluşumunda etkili olmaktadır (Karakuş, 1994). Proteolitik aktivite aynı zamanda *S. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* bakterileri arasındaki simbiyotik ilişkinin en önemli parametrelerinden biridir. Ancak yüksek proteolitik aktivite acı tat oluşumuna sebep olmaktadır (Tavşanlı, 2015). Al-Bayati (2014) geleneksel olarak üretilmiş fermente ürünlerden laktik asit bakterilerini izole etmiş ve proteinaz aktivitesine bakmıştır. Çalışmada izole edilen *Enterococcus* ssp. suşlarında zon çaplarını 9.51 ile 13.71 mm arasında belirlemiştir. Ramadan (2014), Kuzey Irak'ta yapılmış 40 farklı fermente üründen laktik asit bakterilerini izole ettiği çalışmada suşların proteinaz aktivitesini incelemiş, sonuç olarak tüm izolatların yüksek proteinaz aktivitesi gösterdiğini rapor etmiştir. Tavşanlı (2015) geleneksel olarak üretilen yoğurtlardan izole ettiği *Lb. delbrueckii* suşlarının 17 tanesinin kuvvetli, 12 tanesinin orta ve 16 tanesinin ise zayıf proteolitik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmiştir. Uzunsoy (2018), geleneksel yöntemlerle üretilmiş yoğurtlardan izole ettikleri *Lb. bulgaricus*

izolatlarının *S. thermophilus* izolatlarından daha yüksek proteolitik aktivite gösterdiklerini belirtmiştir.

İzolatların bakteriyofajlara karşı direnç özellikleri

Süt endüstrisinde kullanılan starter kültürlerin ortamda bulunabilecek fajlara duyarlı olması durumunda, fajların laktik asit bakterilerini parçalaması sonucu fermentasyon süreci durma noktasına gelebilmektedir (Acar Soykut ve Tunail, 2009; Polaska ve Sokolowska 2019). Bu nedenle izole edilen suşların faj dirençlilikleri de incelenmiştir (Çizelge 7).

Test edilen 26 izolattan 12'si çalışmada kullanılan 15 farklı faja karşı direnç göstermiştir. Dolayısıyla izolatların yaklaşık %46'sı fajlara dirençli bulunmuştur. Benzer olarak Sprotte vd., (2022) yaptıkları çalışmada, 21 *Lb. delbrueckii* suşundan 11'inin çalışmada kullanılan PMBT4, Ld3 ve Ld17 fajlarına dirençli olduğunu tespit etmiştir. Çalışmamızda fajlara duyarlı bulunan izolatlar, diğer özellikleri gereği yüksek potansiyele sahip olsalar dahi starter kültür olarak kullanılamazlar.

Deng vd. (2018) ise geleneksel Çin süt ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus delbrueckii* suşlarının bakteriyofaj dirençli mutantlarını inceledikleri çalışmada, dirençli suşların büyüme ve faj direnç özelliklerini kararlı bir şekilde kalıtsal

olarak aldıklarını ayrıca lizogen olmadıklarını bu yüzden *Lb. bulgaricus* BIM8 ve BIM12 mutantlarının süt endüstrisinde starter kültür olarak büyük potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 7. İzolatların faj dirençlilikleri
Table 7. Phage resistance of isolates

Faj Kodu / Phage Code															
Suş Kodu / Strain Code	Φ 709-X1	Φ 231L-P24	Φ Y4-X9	Φ 231L-P8	Φ 231L-P26	Φ LbA-A	Φ LbA-Z	Φ Y4L-X11	Φ Y4L-X6	Φ Y4L-X4	Φ V1-P19	Φ V1-P20	Φ V1-X19	Φ V1L-X20	Φ V1L-A
A2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P3-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P3-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
C2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
C3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
C4	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
D2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E2-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E3	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+
E4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E5	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-
B8	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
B9	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B10-2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
B14	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-
B15-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F6	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Br23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Br26	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ks7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

+: Faja dirençli; -: Faja duyarlı; +: Phage resistant; -: Phage sensitive

Sanitasyon uygulamaları, ham maddelerin mikrobiyal inaktivasyonu, aerosol dezenfektanların kullanımı, starter/suşun rotasyonu veya kültür rotasyonu rejimleri, faj inhibe edici bileşenlerin kullanımı dahil olmak

üzere sıkı kontrol önlemlerine rağmen, fajlar süt endüstrisinde hala varlığını sürdürmektedir (Sadiq vd., 2019; Gradashi vd., 2021). Atamer vd., (2011) *Leuconostoc* starter kültürlerine etkili fajların termal direncini inceledikleri çalışmada, sütün

Leuconostoc fajlarının yok edilmesine karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Oliveira vd., (2018) ise 16 ülkede bulunan endüstriyel tesislerden alınan peynir altı sularından faj izole ederek *Lactococcus lactis* starter kültürlerini enfekte eden bakteriyofajların biyolojik çeşitliliğini araştırmış ve sonuç olarak, laktik asit bakterilerine etkili fajların endüstriyel fermentasyonlar için hala ciddi bir tehdit oluşturduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmalarda elde edilen bulgular starter kültürler için faj sorununun devam ettiğini bu nedenle işletmede kullanılacak kültürlerin fajlara karşı dirençli olmasının önemini göstermektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada MALDI-TOF MS Biotyper sisteminin laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında hızlı ve pratik bir yöntem olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. İzole edilen laktik asit bakterilerinin farklı asidifikasyon, antibiyotik duyarlılık ve antimikrobiyal aktivite özelliklerine sahip oldukları belirlenmiştir. Kalitatif olarak tespit edilen diasetil üretim yeteneklerine göre izolatların yaklaşık %86'sının diasetil üretimi özeliğine sahip olduğu, 12 adet *Lb. delbrueckii* suşunun ise çalışmada kullanılan 15 farklı bakteriyofaja karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Araştırılan tüm özellikler dikkate alındığında 8 adet *Lb. delbrueckii* izolatının ve 1 adet *Lb. fermentum* suşunun teknolojik özelliklerinin starter kültür olarak kullanılabilme potansiyeli taşıdığı belirlenmiştir. Dolayısıyla ülkemize özgü yerel suşların seçimi yapılmıştır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, izolatların aroma profillerinin belirlenmesi, ikincil metabolitlerin kantitatif olarak tespit edilmesi, seçilen suşlarla yoğurt üretim denemelerinin gerçekleştirilerek üretilen yoğurtların duyu ve reolojik özelliklerinin araştırılması önerilmektedir. Sonrasında ise potansiyeli yüksek olan suşların endüstriyel starter kültür üretimi amacıyla laboratuvar ve pilot ölçekli üretim denemelerinin yapılması gerekmektedir. Fermente ürün çeşitliliği açısından oldukça zengin olan ülkemizde yerli starter kültür üretimine katkı sağlayacağı düşünülen bu çalışmaların sayısının artırılması, izole edilen suşların ise Ulusal Starter Kültür Koleksiyonuna dahil edilerek yerli üretime katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen 116G012 numaralı KAMAG 1007 projesi kapsamında desteklenen, Şeyma Betül Encu'nun yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır. Maddi katkılarından dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Şeyma Betül Encu, laboratuvar çalışmalarını gerçekleştirmiş ve makale taslağını oluşturmuş, Esra Acar Soykut bakteriyofaj duyarlılıklarının belirlenmesine, laboratuvar çalışmalarına katkı sağlamış, İbrahim Çakır konunun seçilmesi, denemelerin planlanması ve sonuçların değerlendirilmesine katkı sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okuyarak onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

- Abedi, D., Feizizadeh, S., Akbari, V., and Jafarian-Dehkordi, A. (2013). In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 8(4), 261-268.
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P., and Ayyash, M. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT-Food Science and Technology*, 79, 316-325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.041>
- 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.
- Acar Soykut, E. ve Tunail, N. (2009). Süt endüstrisinde sorun yaratan termofilik fajlar. *Gıda*, 34(2), 107-113.
- Acar Soykut, E. ve Tunail, N. (2014). *Lactobacillus bulgaricus* fajlarının restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi, protein profilleri ve konakçı

özgüllüklerine göre tanımlanması. *Gıda*, 39(2), 95-102.

Akoğlu, A., Yaman, H., Coşkun, H., ve Sarı, K. (2017). Mengen Peynirinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler tanımlanması ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2): 453-459.

Akyar, I. (2011). Kütle Spektrometrisinin Mikrobiyolojide Kullanımı, *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2:4.

Alameri, F., Tarique, M., Osaili, T., Obaid, R., Abdalla, A., Masad, R., ... and Ayyash, M. (2022). Lactic acid bacteria isolated from fresh vegetable products: Potential probiotic and postbiotic characteristics Including immunomodulatory effects. *Microorganisms*, 10(2), 389. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020389>

Al-Bayati, A.AK. (2014). Isolation and molecular identification of some lactic acid bacteria from traditionally made fermented food, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.

Arrioja, D., Mani-López, E., Palou, E. and López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. *Food Control*, 107286. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107286>

Atamer, Z., Ali, Y., Neve, H., Heller, K. J., and Hinrichs, J. (2011). Thermal resistance of bacteriophages attacking flavour-producing dairy *Leuconostoc* starter cultures. *International Dairy Journal*, 21(5), 327-334. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.11.005>

Aydın, F., Ardiç, M. (2019). Determination of microbiological and chemical properties of sıkma cheeses collected from different provinces. *Gıda*, 44 (5): 826-6.

Aydın, F., Kahve, H. İ., Ardiç, M., & Çakır, İ. (2020). Identification of enterococci by MALDI-TOF-MS & 16S rRNA sequencing isolated from

squeezed cheeses and evaluation of antibiotic susceptibility and antibacterial activity. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 77(4), doi:10.5505/TurkHijyen.2020.92332.

Aydın, F., Çakır, İ. (2022). Gıda Teknolojisinde Kullanılan Starter Mikroorganizmalar. In: *Ensütriyel Gıda Üretim Teknikleri*. 1. Basım. Ed.: Pınar Şanlıbaba, Yalçın Güçer. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti. Ankara, Türkiye, pp 19-38. ISBN: 978-625-417-615-9.

Bartkiene, E., Ruzauskas, M., Bartkevics, V., Pugajeva, I., Zavistanaviciute, P., Starkute, V., ... and Hoelzle, L. E. (2020). Study of the antibiotic residues in poultry meat in some of the EU countries and selection of the best compositions of lactic acid bacteria and essential oils against *Salmonella enterica*. *Poultry Science*, 99(8), 4065-4076. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.002>

Bin Masalam, M. S., Bahieldin, A., Alharbi, M. G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S. K., Harakeh, S. M., and Al-Hindi, R. R. (2018). Isolation, molecular characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria in Saudi raw and fermented milk. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, <https://doi.org/10.1155/2018/7970463>

Bratulić, M., Mikuš, T., Cvrtila, Ž., Cenci-Goga, B. T., Grispoldi, L., Pavunc, A. L., ... and Kozačinski, L. (2021). Quality of traditionally produced Istrian sausage and identification of autochthonous lactic acid bacteria strains as potential functional starter cultures. *European Food Research and Technology*, 247(11), 2847-2860.

Brejijeh, Z., Jubeh, B., and Karaman, R. (2020). Resistance of Gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. *Molecules*, 25(6), 1340.

Bruker (2019). MALDI Biotyper, In Food Microbiology, Speed and Accuracy Matter, <https://www.bruker.com/en/applications/microbiology-and-diagnostics/food-beverage-microbiology/maldi-biotyper-for-food-microbiology.html> (Erişim tarihi: 29 Mart 2019)

Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., ... and O'Toole, P. W. (2019). Genus-wide assessment of antibiotic

- resistance in *Lactobacillus* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(1). <https://doi.org/10.1128/AEM.01738-18>
- Canon, F., Nidelet, T., Guédon, E., Thierry, A., and Gagnaire, V. (2020). Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria co-cultures. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2088. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02088>
- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., and Collins, J. K. (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *Journal of food protection*, 61(12), 1636-1643.
- Cheesbrough, M. (2002). *District laboratory practice in tropical countries*. Cambridge University Press, Part II pp 136–141.
- Chen, T., Wang, L., Li, Q., Long, Y., Lin, Y., Yin, J., ... and Yang, H. (2020). Functional probiotics of lactic acid bacteria from Hu sheep milk. *BMC microbiology*, 20(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01920-6>
- Çelik, Ö. F., Çon, A. H., Saygın, H., Şahin, N., ve Temiz, H. (2021). Isolation and identification of *Lactobacilli* from traditional yogurts as potential starter cultures. *LWT-Food Science and Technology*, 148, 111774. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111774>
- De Almeida Júnior, W. L. G., da Silva Ferrari, Í., de Souza, J. V., da Silva, C. D. A., da Costa, M. M. and Dias, F. S., (2015). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk, *Food Control*, 53, 96-103
- De Amorim Trindade, D. P., Barbosa, J. P., Martins, E. M. F., and Tette, P. A. S. (2022). Isolation and identification of lactic acid bacteria in fruit processing residues from the Brazilian Cerrado and its probiotic potential. *Food Bioscience*, 48, 101739. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101739>
- Demirci, A., Ocak E. (2020). Sağlıklı ve kaliteli yoğurt nasıl mayalanır? *Akademik Platform Helal Yaşam Dergisi*, 2(1), 14-22.
- Demirgöl, F., Sağdıç, O. (2017). Laktik starter kültür üretim teknolojisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11), 27-37.
- Deng, K., Fang, W., Zheng, B., Miao, S., and Huo, G. (2018). Phenotypic, fermentation characterization, and resistance mechanism analysis of bacteriophage-resistant mutants of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* isolated from traditional Chinese dairy products. *Journal of dairy science*, 101(3), 1901-1914. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13823>
- Diñçer E. (2007). Et ve Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bunların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, Türkiye.
- Ektik, N. (2022). Klasik (olgunlaştırılmış) Beyaz peynir üretiminin farklı aşamalarından laktik asit bakterilerinin izolasyonu, identifikasyonu ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Balıkesir, Türkiye.
- El Issaoui, K., Abrini, J., Zinebi, S., Amajoud, N., Senhaji, N. S., and Abriouel, H. (2020). Molecular identification and antibiotic resistance of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from table olives. *Archives of Microbiology*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02053-0>
- Elçioğlu, Ö. (2010). Kargı Tulum Peynir'inden izole edilen laktik asit bakterilerinin starter ve probiyotik kültür özelliklerinin belirlenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, Türkiye.
- Ertürkmen, P., Öner, Z. (2015) Beyaz Peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3): 9-16. <https://doi.org/10.19113/sdufbed.25545>
- Evren, M., Albayram, C., ve Apan, M. (2006). Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu antimikrobiyel maddeler. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, 9, 24-26.
- Fleming, H.P., Etchells, J.L., and Costilow, R.N. (1975). Microbial inhibition by an isolate of

- Pediococcus* from Cucumber Brines, *Applied and Environmental Microbiology*, 30(6): 1040-1042. <https://doi.org/10.1128/am.30.6.1040-1042.1975>
- Fox, P.F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening, *Journal of Dairy Sciences*. 72: 1379–1400. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79246-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79246-8)
- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A., and Poznanski, E. (2009). Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, 19(1): 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.008>
- Gad, G. F. M., Abdel-Hamid, A. M., & Farag, Z. S. H. (2014). Antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from some pharmaceutical and dairy products. *Brazilian journal of Microbiology*, 45, 25-33. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000100005>
- Gezginç, Y. (2010). Geleneksel yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin plazmit içeriği ve biyojenik amin üretimi bakımından gıda endüstrisinde kullanılabilirliğinin araştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Gradaschi, V., Payaslian, F., Dieterle, M. E., Rondón Salazar, L., Urdániz, E., Di Paola, M., ... and Piuri, M. (2021). Genome sequence and characterization of *Lactobacillus casei* phage, vB_LcaM_Lbab1 isolated from raw milk. *Therapy, Applications, and Research*, 2(1), 57-63. <https://doi.org/10.1089/phage.2020.0029>
- Guo, H., Pan, L., Li, L., Lu, J., Kwok, L., Menghe, B., ... and Zhang, W. (2017). Characterization of antibiotic resistance genes from *Lactobacillus* isolated from traditional dairy products. *Journal of Food Science*, 82(3), 724-730. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13645>
- Hoque, M.Z., Akter, F., Hossain, K.M., Rahman, M.S.M., Billah, M.M. and Islam, K.M.D. (2010). Isolation, identification and analysis of probiotic properties of *Lactobacillus* ssp. from selective regional yoghurts, *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 5(1): 39-46.
- Hoxha, R., Nikolova, D., and Evstatieva, Y. (2022). Antibiotic resistance profile of the newly isolated lactic acid bacteria strains from traditional fermented foods. *Current trends in natural sciences*, 11(21), 247-253. <https://doi.org/10.47068/ctns.2022.v11i21.027>
- Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, 49,1.
- Islam, M. Z., Uddin, M. E., Rahman, M. T., Islam, M. A., and Harun-ur-Rashid, M. (2021). Isolation and characterization of dominant lactic acid bacteria from raw goat milk: Assessment of probiotic potential and technological properties. *Small Ruminant Research*, 205, 106532.
- İşleroglu, H., Yıldırım, Z., Yıldırım M. (2008). Yöresel peynirden antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterisinin izolasyonu ve tanısı. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2008(1), 1-6.
- Kanak, E.K., Yılmaz, S.Ö. (2018). MALDI-TOF Mass spectrometry for the identification and detection of antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from local cheeses. *Food Science And Technology*. <https://doi.org/10.1590/fst.19418>
- Karaalioglu, O. (2019). Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokokların gıda güvenliği yönünden değerlendirilmesi. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Bursa, Türkiye.
- Karakuş, M. (1994). Beyaz Peynirden izole edilen laktik asit bakterilerinin asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri, *GIDA/The Journal of Food*, 19(4).
- Kavitate, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., and Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods—A review. *Food Bioscience*, 21, 34-44. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.11.003>
- Kılıç, S. (2008). *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*, 2. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.

- Kırmacı, H.A. (2010). Geleneksel Urfa peynirinde yer alan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve starter kültür olarak kullanım olanakları. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 152s.
- Moradi, M., Kousheh, S. A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J. T., Yılmaz, N., and Lotfi, A. (2020). Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3390-3415. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12613>
- Nachi, I., Fhoula, I., Smida, I., Ouzari, H. I., and Hassouna, M. (2019). Microbiological analysis and assessment of biotechnological potential of lactic acid bacteria isolated from Tunisian flours. *Annals of Microbiology*, 69(1), 29-40. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1365-8>
- Oliveira, J., Mahony, J., Hanemaaijer, L., Kouwen, T. R., and van Sinderen, D. (2018). Biodiversity of bacteriophages infecting *Lactococcus lactis* starter cultures. *Journal of dairy science*, 101(1), 96-105. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13403>
- Park, S. Y., and Lim, S. D. (2015). Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* FH185 isolated from human feces. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(5), 615.
- Polaska, M., and Sokolowska, B. (2019). Bacteriophages—a new hope or a huge problem in the food industry. *AIMS microbiology*, 5(4), 324. doi: 10.3934/microbiol.2019.4.324.
- Pourahmad, R., and Assadi, M.M. (2007). Used of isolated autochthonous starter cultures in yogurt production. *International Journal of Dairy Technology*, 60: 259- 262. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2007.00343.x>
- Ramadan, A.K.R. (2014). Isolation and characterization of some lactic acid bacteria from home-made dairy products and investigation of some antimicrobial and enzymatic properties, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Randazzo, L.R., Restuccia, C., Romaro, D.A., and Caggia, C., (2004). *Lactobacillus casei*, Dominant Species in Naturally Fermented Sicilian Green Olives. *International Journal of Food Microbiology*, 90: 9-14. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00159-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00159-4)
- Ribeiro, S. C., Coelho, M. C., and Silva, C. C. G. (2021). A rapid screening method to evaluate acidifying activity by lactic acid bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 185, 106227. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106227>
- Rubbani, U., and Iqbal, A. (2020). Evaluation of isolated *Lactobacillus* strains as probiotics in yogurt preparation. *Advancements in Life Sciences*, 7(2), 79-85.
- Sadiq, F. A., He, G., Sakandar, H. A., Li, Y., and Ou, K. (2019). *Lactococcus lactis* phages from the perspective of their diversity, thermal and biocidal resistance. *International Dairy Journal*, 90, 28-38. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.11.001>
- Salminen, S., and Von Wright, A. (2004). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*, CRC Press, New York.
- Shah, N. P. (Ed.). (2017). *Yogurt in health and disease prevention*. Academic Press, London, United Kingdom. ISBN: 978-0-12-805134-4.
- Somashekaraiah, R., Shruthi, B., Deepthi, B. V., and Sreenivasa, M.Y. (2019). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from neera: a naturally fermenting coconut palm nectar. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1382. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01382>
- Sprotte, S., Fagbemigun, O., Brinks, E., Cho, G. S., Casey, E., Oguntuyinbo, F. A., ... and Franz, C. M. (2022). Novel *Siphoviridae* phage PMBT4 belonging to the group b *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* phages. *Virus Research*, 308, 198635. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198635>
- Tavşanlı, H. (2015). Geleneksel tekniklerle üretilen yoğurtlardan ve doğadaki bitkisel örneklerden yoğurt kültürlerinin izolasyonu identifikasyonu ve karakterizasyonu, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin

Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Bursa, Türkiye.

Tekinşen, O.C. (2005). *Süt ve Süt Ürünleri*. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, Türkiye. 75-100.

Temiz, A. (1996). Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Hatiboğlu Yayınları, Ankara, Türkiye.

Thapa, N., Pal, J., and Tamang, J. P. (2006). Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 107(1), 33-38.

Tortum, M.Y. (2018). Trakya Bölgesinde üretilen bozalardan laktik asit bakterileri ve mayaların izolasyonu ve PZR yöntemi ile tanımlanması, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye.

Uzunsoy, İ. (2018). Geleneksel yoğurt örneklerinden izole edilen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşlarının endüstriyel yoğurt üretimine uygunluğunun saptanarak starter kombinasyonlarının geliştirilmesi, Ankara

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye.

Vinicius De Melo Pereira, G., De Carvalho Neto, D. P., Junqueira, A. C. D. O., Karp, S. G., Letti, L. A., Magalhães Júnior, A. I., and Soccol, C. R. (2020). A review of selection criteria for starter culture development in the food fermentation industry. *Food Reviews International*, 36(2), 135-167. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1630636>

Wieser, A., Schneider, L., Jung, J. and Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS In Microbiological Diagnostics-Identification of Microorganisms and Beyond, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3): 965-974.

Yüce, S. (2017). Peynir ve yoğurtlardan izole edilmiş olan laktik asit bakterilerinin bazı teknolojik özelliklerinin araştırılması, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Burdur, Türkiye.

Yılmaz, S., Duyan, S., Artuk, C. ve Diktaş, H. (2014). Mikrobiyolojik Tanımlamada MALDI-TOF MS Uygulamaları, *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 13(5).

**THE EFFECT OF THE USE OF FRESH AND LYOPHILIZED BOZA ON
BREAD QUALITY PROPERTIES****Hilal Kılmanoglu^{1*}, Meryem Akbaş¹, Seher Kumcuoglu², Şebnem Tavman²**¹ Kutahya Dumlupınar University Pazarlar Vocational School Pazarlar/Kutahya, Türkiye² Ege University Food Engineering Department Bornova/İzmir, Türkiye

Received / Geliş: 18.02.2022; Accepted / Kabul: 20.10.2022; Published online / Online baskı: 02.12.2022

*Kılmanoglu, H., Akbaş, M., Kumcuoglu, S., Tavman, Ş. (2022). The effect of the use of fresh and lyophilized boza on bread quality properties. GIDA (2022) 47 (6) 1083-1091 doi: 10.15237/gida.GD22024*Kılmanoglu, H., Akbaş, M., Kumcuoglu, S., Tavman, Ş. (2022). Taze ve liyofilize boza kullanımının ekmekek kalite özelliklerine etkisi. *GIDA* (2022) 47 (6) 1083-1091 doi: 10.15237/gida.GD22024**ABSTRACT**

Boza, a functional traditional beverage, is a product obtained by fermenting grains. In this study, the use of different proportions of boza (25%, 50%, 60% on flour basis) and lyophilized boza (5%, 8%, 10% on flour basis) as a starter and their effects on the microbiological, chemical, textural and sensory properties of bread were investigated. The addition of boza was found to increase dough extensibility and resistance to extension compared to control bread. The proportions of fresh boza or lyophilized boza were significantly correlated with the hardness of breads. In addition, the L value in boza added breads were significantly decreased compared with the control bread. It was determined that the lyophilization caused a significant decrease in lactic acid bacteria compared with yeast counts. The most acceptable group after the control bread was determined to be 25% fresh boza added bread and 5% lyophilized boza added bread.

Keywords: Boza, bread, lyophilization, starter culture**TAZE VE LİYOFİLİZE BOZA KULLANIMININ EKMEK KALİTE
ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ****ÖZ**

Fonksiyonel bir geleneksel içecek olan boza, tahılların fermente edilmesiyle elde edilen bir üründür. Bu çalışmada farklı oranlarda boza (un bazında %25, %50, %60) ve liyofilize boza (un bazında %5, %8, %10) ilavelerinin starter olarak kullanımı ve ekmeğin mikrobiyolojik, kimyasal, tekstürel ve duyuşsal özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Kontrol ekmeğine kıyasla boza ilavesinin hamur uzayabilirliği ve uzamaya karşı direnci arttırdığı görülmüştür. Taze boza veya liyofilize boza oranları, ekmeğin sertliği ile önemli ölçüde ilişkilidir. Ayrıca boza ilave edilen ekmekeklerde L değeri, kontrol ekmeğine göre önemli ölçüde azalmıştır. Liyofilizasyonun maya sayısına göre laktik asit bakterilerinde önemli bir düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Kontrol ekmeğinden sonra en kabul edilebilir grup %25 taze boza katkılı ekmekek ve %5 liyofilize boza katkılı ekmekek olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Boza, ekmekek, liyofilizasyon, starter kültür

* Corresponding Author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: hilal.kilmanoglu@dpu.edu.tr

☎: (+90) 535 238 2295

☎: (+90) 274 571 2518

Hilal Kılmanoglu; ORCID no: 0000-0003-0561-4653

Meryem Akbaş; ORCID no: 0000-0001-8626-4012

Seher Kumcuoglu; ORCID no: 0000-0002-3663-2881

Şebnem Tavman; ORCID no: 0000-0002-6042-7482

INTRODUCTION

With the development of technology, people want to consume healthier and higher quality food. Functional foods have come to the fore recently due to increasing the life span of people, maintaining their well-being, and improving health (Roberfroid, 2000). One of the first methods that comes to mind when it comes to improving the quality of food is fermentation technology. Bread, yoghurt, cheese, tarhana, beer, wine, kefir, pickles, vinegar, turnip, and boza are examples of fermented foods produced (Uçok and Tosun, 2012). Among these products, bread is the most consumed traditional, grain-based fermented product. For this reason, many studies are carried out on bread. Among these, the use of different flour and additives, the use of different fermentation technologies and cooking methods, and finally, the starter culture studies for bread with different types of yeast and bacteria combinations draw attention.

Boza is a valuable beverage with a high nutritive value, consumed especially in winter, produced by the fermentation of many grains, slightly sour, and has a unique smell (Altay et al., 2013; Bayat and Yıldız, 2019). The microbial flora involved in the fermentation of boza consists of lactic acid bacteria and yeasts (Zorba et al., 2003). Studies have shown that yeast isolated from boza belong to *Candida*, *Geotrichum*, *Saccharomyces* genera, and bacteria belong to *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Weissella*, and *Leuconostoc* genera. As a result of the co-operation of lactic acid bacteria and yeasts, many metabolites are released into the product that improve its sensory, functional, and nutritional properties. These include lactic acid, acetic acid, aroma compounds, exopolysaccharides (EPS), bacteriocin, various enzymes, and vitamins. In addition, boza has positive effects on health as a product with rich fiber content and high digestibility.

Heperkan et al. (2014) evaluated the enzyme activities and EPS production of 13 lactic acid bacteria isolated from boza and aimed to find the best starter for boza. *L. Paracasei*, *L. Lactis*, *L. Coyniformis*, *L. Plantarum*, and *P. Parvulus* have been proposed as potential starter cultures. Another

study evaluating the enzyme activity of boza is aimed at reducing the amount of phytic acid by the phytase activity of lactic acid bacteria. The bacterium with the highest phytase activity was determined to be *Pediococcus pentosaceus*. As a result of the study, it has been shown that traditionally produced boza has high phytase activity and offers the opportunity to reduce antinutritional substances such as phytate. Boza has been reported to be a potential source of starter culture for sourdough fermentation (Doğan and Tekiner, 2020; Milanovic et al., 2020). There have no many studies investigating the use of boza as a starter in bakery products. Bircan et al. (2017) examined the sensory and technological effects of yoghurt, boza, and traditional sourdough on bread. It was reported that the best result in the sensory evaluation was in the bread with yoghurt, and the best result in the shelf life evaluation was in the bread with boza. In another study, the physical, microbiological, and rheological properties of bread dough and the effect of boza powder obtained by drying and grinding boza under vacuum and air circulation, on bread quality were investigated. It has been concluded that up to 8% of boza powder can be used in bread production for both drying methods in terms of all its properties (Pala, 2012).

When the literature was examined, it was seen that no study has been found on investigating the effect of adding fresh boza and lyophilized boza at different rates on the quality of bread. In this direction, the aim of this study is to evaluate the use of boza as an alternative starter in bread production and to examine how it affects bread quality.

MATERIAL AND METHOD

Material

Wheat and millet for boza production, boza culture (*L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. plantarum*, *L. lactis* ssp. *cremocis*, *L. lactis* ssp. *diacetylactis*, *L. lactis* ssp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremocetils*, *S. diacetylactis*, Dogadanbizim maya, Istanbul, Türkiye), instant yeast (Dr. Oetker, İzmir, Türkiye), wheat flour (Soke, Aydın, Türkiye) and salt (Billur, İzmir, Türkiye) were obtained from local stores.

Method

Boza production

Boza production was carried out according to the method of Arıcı and Daglioglu (2002) (Figure 1). A mixture of 1 kg of wheat (80%) and millet (20%) was used as raw material. Fermented boza was stored at 4 °C until analysis.

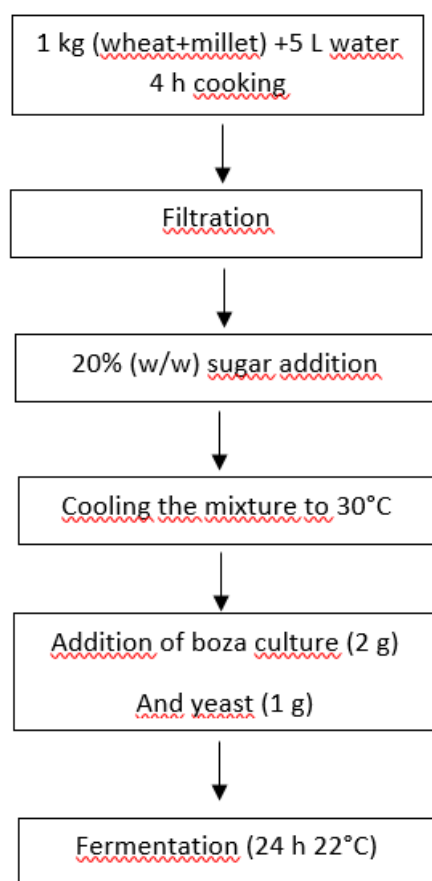


Figure 1. Boza Production Stages

Determination of chemical properties of boza

Total acidity and pH analysis

The pH value of the samples was measured by immersing the probe of the pH meter (OHAUS ST 300 Portable pH Meter, USA) calibrated with standard buffer solutions into the sample brought to 20±2 °C. The total acidity was determined by the volumetric analysis method using 0.1 N NaOH solution and phenolphthalein solution as an indicator, and the total acidity value was calculated as g/100 mL in terms of lactic acid according to Equation 1 (AOAC, 1990;

Cemeroğlu, 2018). Total acidity and pH analyzes were carried out at 0th and 24th h.

% Total acidity=0.009* titration consumption (mL)*100/ sample volume (mL) (Equation 1)

Total dry matter analysis

The total dry matter of boza was determined following the AOAC method (AOAC, 1990; Cemeroğlu, 2018). Total dry matter analyzes were carried out at 0th and 24th h.

Total ash analysis

Total ash content of boza was detected by incineration method (AOAC, 1990). Total ash analyzes were carried out at 0th and 24th h.

Production of lyophilized boza

The produced fresh boza was pre-frozen at -40 °C for 2 h. It was then placed in a freeze-dryer (CoolerMed, Türkiye) and dried for 24 h. Lyophilization was carried out at a vacuum of 0.04 mbar and at -50 °C. Dried boza was ground and stored in airtight containers (Boyacı-Gündüz et al., 2018).

Microbiological analysis

The spread plate method was used for total yeast and bacteria counts in fresh and lyophilized boza. The boza samples were diluted 1:10 in physiological saline (0.85% NaCl), and 100 µL was spread-plated on agar. YPDA (Yeast Peptone Dextrose Agar) was used for yeast count and MRS (de MAN, ROGOSA and SHARPE) agar was used for lactic acid bacteria count. The plates were enumerated after incubation at 30 °C and 37 °C for 48 h, respectively. Results were given as cfu/mL (Heperken et al., 2014; Arslan-Tontul & Erbas, 2020).

Bread production

Bread dough was prepared using wheat flour, salt, and drinkable water. Bread formulations are shown in Table 1. After mixing all the components for 7 min, they were fermented at 30 °C for 1 h. After they were shaped, it was kept at 30 °C /30 min for the final fermentation. At the end of fermentation, they were baked for 30 min in an oven (Venarro, Türkiye) (bottom temperature of 220 °C and upper temperature of 210 °C) (Pala,

2012; Alkay et al., 2020). Breads were subjected to a 2 h cooling period at room temperature. The

breads for analyses stored in polyethylene bags at 21 °C.

Table 1. Ingredients Used in Bread Production

	Wheat Flour (g)	Lyophilized Boza (g)	Fresh Boza (g)	Water (mL)	Yeast (g)	Salt (g)
Control	250.00	0.00	0.00	160.00	5.00	3.75
YB1	250.00	0.00	62.50	110.00	0.00	3.75
YB2	250.00	0.00	125.00	100.00	0.00	3.75
YB3	250.00	0.00	150.00	65.00	0.00	3.75
LB1	250.00	12.50	0.00	190.00	0.00	3.75
LB2	250.00	20.00	0.00	185.00	0.00	3.75
LB3	250.00	25.00	0.00	120.00	0.00	3.75

Control: Bread without Boza, YB: Bread with Fresh Boza, LB: Bread with Lyophilized Boza

Extensibility properties of dough

To determine the extensibility (mm) and resistance to extension (g) of the dough, the method given by Kieffer et al. (1998) was used with some modifications. After weighing 10 g of fermented dough, it was compressed between greased hard plastic plates at 30 °C for 40 min. Then, the dough pieces divided between the plates were carefully removed with the help of a thin spatula and placed in the device. The device parameters were determined as test speed of 3.3 mm/s and target distance of 75 mm. Analysis was performed on TA, XT Plus C Texture Analyzer (Stable Micro Systems, England) device using SMS/Kieffer Dough and Gluten Extensibility Rig (Buresova et al., 2014).

Texture analysis of bread

Texture Profile Analysis (TPA) of all breads was carried out using a 36 mm cylinder probe in TA, XT Plus C Texture Analyzer (Stable Micro Systems, England). After baking, the breads were cooled and tested by cutting them at a height of 2.5 cm. Analysis parameters of the device; test speed is 5 mm/s, pre-test speed is 1 mm/s, post-test speed is 5 mm/s, target distance is 10 mm, trigger force is 5 g and load cell with 5 kg capacity. The results are given over the hardness, springiness, cohesiveness, gumminess, chewiness, and resilience of breads (Kadan et al., 2001; Su et al., 2005; Alkay et al., 2020).

Color analysis of bread

L, a, b values, which are a criterion for determining the color characteristics of all breads, were determined with a colorimeter device (PCE-CSM 4 Colorimeter, Türkiye). L value indicates brightness, a value indicates red-green, and b value indicates yellow-blue. Inner color measurements were made 1 h after the breads were baked (Su et al., 2005).

Sensory analysis

Descriptive analysis was applied to determine the sensory properties of all breads. For this purpose, 15 semi-trained panelists evaluated the breads in terms of taste, odour, firmness, color, and general acceptability 1 h after baking. A scoring scale of 7 was used (1 the minimum and 7 the maximum) (Feili et al., 2013).

Statistical analysis

The significance of the difference ($P < 0.05$) between the data to be obtained in these whole analysis were calculated using the Tukey test and revealed by one-way analysis of variance (ANOVA). All analyzes were repeated three times and data were expressed as mean $\pm$ standard deviation. SPSS Statistic 22 (SPSS INC., Chicago, IL, USA) software package was used for statistical analysis.

RESULT AND DISCUSSION

The results of the chemical analyzes of boza samples are shown in Table 2. The pH values were determined as 6.73 at the 0th h and as 4.99 at the end of the 24th h. Akpınar-Bayizit et al. (2010), reported that the fermentation was terminated because pH change less after the 24th h in boza production. The total acidity was determined as 0.31% at 0th h. In parallel with the decrease in pH, the total acidity increased at the 24th h and reached the acidity value of 0.83%. With the lyophilization, the total acidity decreased from 0.83% to 0.4%. Boyacı Gündüz et al. (2018) reported that the total acidity of fermented instant turnip decreased by approximately 45% after the lyophilization process. According to TS 9778 Turkish Boza Standard (TSE, 2017), the total acidity for boza is determined as 0.5-1% for sour boza and 0.2-0.5% for sweet boza in terms of

lactic acid. Furthermore, it was requested that the total dry matter content should be at least 20%. As a result of the analysis, the total dry matter content for fresh boza at the end of the 0th and 24th h was found to be 13.21% and 10.55%, respectively. The chemical composition of 9 different boza samples were evaluated in the study of Yücel and Köse (2002) and it was reported that the dry matter content varied between 17-22%. The evaluation of different grains and the use of different amounts of sugar in boza samples affect the viscosity and dry matter content of the boza (Gotcheva, 2000). When the results of the ash analyzes were examined, the ash content for the 0th and 24th h were calculated as 1.28% and 0.18%, respectively. After the lyophilization process, there was no change in the ash content of the boza and it was calculated as 0.19%.

Table 2. Chemical Properties of Fresh and Lyophilized Boza

	pH	Total acidity (%)	Total Dry Matter (%)	Ash(%)
Fresh boza (T ₀)	6.73	0.31±0.01 ^a	13.21±0.65 ^b	1.28±0.03 ^b
Fresh Boza (T ₂₄)	4.99	0.83±0.05 ^b	10.55±0.23 ^a	0.18±0.01 ^a
Lyophilized Boza		0.40±0.04 ^a	97.46±0.15 ^c	0.19±0.01 ^a

T₀: 0th h of fermentation, T₂₄: 24th h of fermentation

Different letters within the same column indicate significant differences (P <0.05) according to Tukey multiple comparison test.

When the production of boza is examined, it is stated that the fermentation occurs in two stages. First, yeasts perform alcohol fermentation using sucrose. Then, lactic acid bacteria convert the formed metabolites into lactic acid by lactic acid fermentation. In these fermentations, the most significant microbial activities take place within 24

h. As a result of the 24 h fermentation of boza, the yeast and lactic acid bacteria ratios increased (Table 3) and were similar to other studies in the literature (Gotcheva et al., 2001; Moncheva et al., 2003; Arici and Daglioglu, 2002; Hancioğlu and Karapinar, 1997; Gotcheva et al., 2000).

Table 3. Microbial Counts of Fresh and Lyophilized Boza

	Yeast (log cfu/mL)	Bacteria (log cfu/mL)
Fresh boza (T ₀)	4.62±0.36 ^{ab}	5.23±0.25 ^b
Fresh Boza (T ₂₄)	5.09±0.03 ^b	6.10±0.02 ^c
Lyophilized Boza	4.37±0.14 ^a	3.24±0.12 ^a

Different letters within the same column indicate significant differences (P <0.05) according to Tukey multiple comparison test.

T₀: 0th h of fermentation, T₂₄: 24th h of fermentation

The resistance to extension and extensibility values of all breads are given in Table 4. The properties of the doughs evaluated in this study were determined by the SMS/Kieffer Dough and Gluten Extensibility Rig method, which is an important method that uses a small amount of dough and shows a high correlation with the extensograph results (Kieffer et al., 1998; Yue et al., 2020). It is stated that for a good quality bread, the dough should have strong extensibility and

good resistance to extension. In addition, bread hardness is also an important parameter for quality along with sensory analysis (Buresova et al., 2014). While YB1 has the strongest resistance to extension and extensibility among breads with fresh boza, it is LB3 in breads with lyophilized boza. The results indicate that the addition of boza changes the dough and bread structure and can create values close to wheat bread.

Table 4. Extensibility Properties of Doughs and Hardness of Breads

	Resistance to Extension (g)	Extensibility (mm)	Hardness (g)
Control	16.69±1.31 ^a	15.71±1.36 ^c	196.63±26.18 ^a
YB1	23.95±1.23 ^b	20.59±2.05 ^{bc}	3549.64±345.45 ^b
YB2	17.42±0.87 ^a	18.34±0.52 ^{bc}	4177.83±324.94 ^b
YB3	18.11±1.00 ^a	17.92±0.38 ^c	4004.75±314.71 ^b
LB1	15.57±0.47 ^a	23.23±1.88 ^{ab}	3461.12±223.83 ^b
LB2	18.39±0.44 ^a	19.70±1.08 ^{bc}	3498.64±227.39 ^b
LB3	32.65±0.83 ^c	25.70±0.99 ^a	3467.67±321.88 ^b

Different letters within the same column indicate significant differences ($P < 0.05$) according to Tukey multiple comparison test. Control: Bread without Boza, YB: Bread with Fresh Boza, LB: Bread with Lyophilized Boza

The results of TPA analysis are given in Table 4. Compared to the control bread, the amount of hardness increased in all breads regardless of the substitution rate, and this increase was found to be statistically significant ($P < 0.05$). But, it is stated that breads enriched with 5% millet flour exhibit significantly lower stickiness, firmness and chewiness than wheat bread (Maktauf et al., 2016). In a study examining the effect of boza powder on bread, it is seen that as the amount of added boza powder increases, the hardness of the bread increases, and the results of this study are similar (Pala, 2012). When the breads prepared with the same amount of fresh boza and lyophilized boza were compared, it was determined that the lyophilized boza breads had less hardness values, but this difference was not statistically significant ($P > 0.05$). Arendt et al. (2007) reported that the starter culture content and applied dough technology affect the texture of the bread in the production of sourdough bread. This effect changes as a result of gas formation created by microorganisms.

Color measurements of the crumbs of all breads are shown in Table 5. It was determined that L(brightness), a, and b values of breads added to both fresh boza and lyophilized boza. In the study conducted by Pala (2012), it was reported that the a and b values increased, but the L values decreased, depending on the substitution rate, in the breads produced with the addition of dry boza. When the brightness, a, b values are examined, it was observed that the breads with 10% lyophilized boza added were similar to the control group. Bircan et al. (2017) reported that crust color was lower in sourdough breads added to fresh boza compared to traditional sourdough bread. It has been reported that the addition of millet flour to wheat flour in bread production causes lower L, a and b values in bread crumb color (Mannuramath et al., 2015).

Sensory analysis results are given in Figure 2. After control bread, the most favorite breads were the ones with 25% added of fresh boza, and the ones with 5% added of lyophilized boza. When the results are evaluated, it can be said that the increase in the substitution rate in breads added

to both wet and lyophilized boza negatively affects the sensory acceptability. Pala (2012) reported that the color, odor and texture scores of breads containing 8% boza powder were the lowest in sensory analysis. In addition, it is state that, bread added millet flour up to 30% has

sensory results similar to wheat bread (Mannuramath et al., 2015). In the study, it was stated that it would be appropriate to use up to 2% of boza powder in breads, where volume is an important criterion.

Table 5. Crumb Color Characteristic of Breads

	L	a	b
Control	62.09±1.48 ^c	1.89±0.19 ^b	14.48±0.79 ^d
YB1	46.38±0.16 ^a	1.00±0.04 ^a	10.46±0.06 ^a
YB2	49.63±3.24 ^{ab}	1.26±0.03 ^a	11.31±0.44 ^{abc}
YB3	51.96±0.39 ^b	1.28±0.01 ^a	12.27±0.23 ^c
LB1	46.45±1.03 ^a	1.31±0.06 ^a	11.06±0.11 ^{ab}
LB2	48.14±2.66 ^{ab}	1.21±0.22 ^a	11.82±0.28 ^{bc}
LB3	52.06±0.42 ^b	2.19±0.06 ^b	14.49±0.08 ^d

Different letters within the same column indicate significant differences ($P < 0.05$) according to Tukey multiple comparison test. Control: Bread without Boza, YB: Bread with Fresh Boza, LB: Bread with Lyophilized Boza

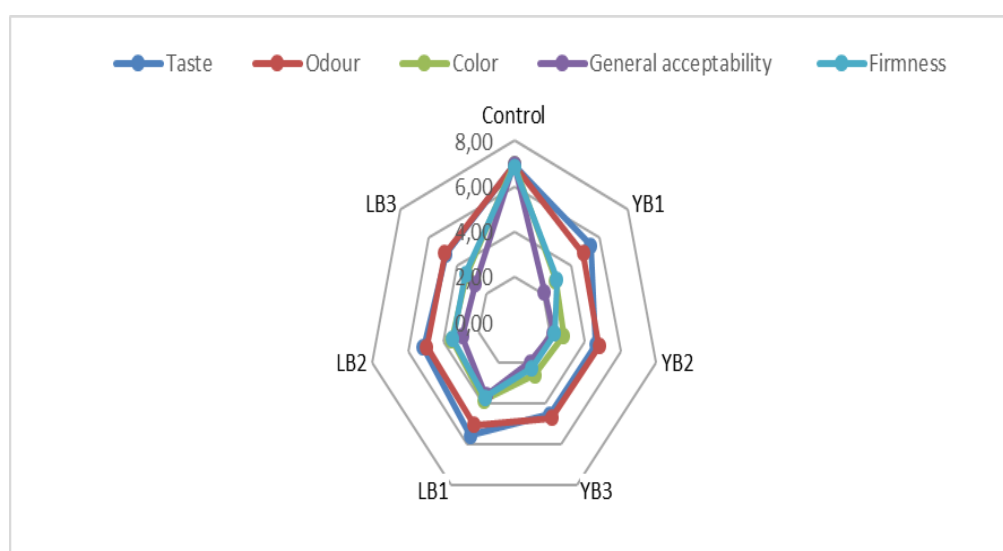


Figure 2. Spider Diagram for Descriptive Characteristics of Breads

CONCLUSION

Within the scope of the study, the effects of fresh and lyophilized boza use on the quality of bread and its use as a starter were investigated. It was observed that the lyophilization process caused a decrease of approximately 1 log in yeast count and 2.5 log in bacteria count. The addition of boza caused an increase in bread hardness and a decrease in brightness values. However, breads with boza were found acceptable in terms of taste.

Among the breads with boza, the most liked ones were 25% fresh boza and 5% lyophilized boza added bread. As a result, boza can be used in bread production as a starter, but it can be suggested to improve the bread structure that adding boza at different rates, prolonging the fermentation time or the use of different raw materials in the production of boza. It is thought that the study is important in order to increase the

consumption of boza, which is not consumed by everyone due to its unique sour taste.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

Akpınar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T. (2010). Determination of Boza's Organic Acid Composition as It Is Affected By Raw Material and Fermentation. *International Journal of Food Properties*, 13, 648–656.

Alkay, Z., Kilmanoğlu, H., Durak, M.Z. (2020). Prevention of Sourdough Bread Spoilage by Antifungal Lactic Acid Bacteria Fermentation. *European Journal of Science and Technology*, 18, 379-388.

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.

AOAC (1990). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. 15th Edition, Washington DC, the USA.

Arendt, E.K., Ryan, L.A.M., Dal Bello, F. (2007). Impact of Sourdough on the Texture on Bread. *Food Microbiology*, 24(2), 165-174.

Arıcı, M., Daglıoğlu, O. (2002). Boza: A Lactic Acid Fermented Cereal Beverage As A Traditional Turkish Food. *Food Reviews International*, 18(1), 39–48.

Arslan-Tontul, S., Erbas, M. (2020). Co-Culture Probiotic Fermentation of Protein-Enriched Cereal Medium (Boza). *Journal of The American College Of Nutrition*, 39(1), 72–81.

Bayat, G., Yıldız, G. (2019). The Special Fermented Turkish Drink: Boza. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 7 (4), 2438-2446.

Bircan, D., Güray, C.T., Bostan, K. (2017). Farklı Yöntemlerle Ekşitilmiş Hamurlardan Ekmek Yapımı Üzerine Çalışmalar. *Aydın Gastronomi*, 1 (1), 1-8.

Boyacı Gunduz, C.P., Agirman, B., Erten, H. (2018). Salgam Powder Production From Fermented Salgam: A Traditional Turkish Lactic Acid Beverage. *Carpathian Journal Of Food Science And Technology*, 10(2), 37-47.

Burešová, I., Kráčmar, S., Dvořáková, P., Středa, T. (2014). The Relationship Between Rheological Characteristics of Gluten-Free Dough and The Quality of Biologically Leavened Bread. *Journal of Cereal Science*, 60(2), 271-275.

Cemeroğlu, B. (2018). *Gıda Analizleri*. Bizim Grup Basımevi, Ankara, Türkiye, 4. Baskı. ISBN: 978-605-63419-3-9

Doğan, M., Tekiner, İ. H. (2020). Extracellular Phytase Activities of Lactic Acid Bacteria in Sourdough Mix Prepared from Traditionally Produced Boza as Starter Culture. *Food Health*, 6(2), 117-127.

Feili, R., Zzaman, W., Abdullah, W.N.W., Yang, T.A. (2013). Physical and Sensory Analysis of High Fiber Bread Incorporated with Jackfruit Rind Flour. *Food Science and Technology*, 1(2), 30-36.

Gotcheva, V., Pandiella, S. S., Angelov, A., Roshkova, Z.G., Webb, C. (2000). Microflora Identification of the Bulgarian Cereal-Based Fermented Beverage Boza. *Process Biochemistry*, 36, 127–130.

Gotcheva, V., Pandiella, S. S., Angelov, A., Roshkova, Z.G., Webb, C. (2001). Monitoring the Fermentation of the Traditional Bulgarian Beverage Boza. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 129-134.

Hancıoğlu, Ö., Karapınar, M. (1997). Microflora of Boza, a Traditional Fermented Turkish Beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 35, 271-274.

Heperkan, D., Daşkaya Dikmen, C., Bayram, B. (2014). Evaluation of Lactic Acid Bacterial Strains of Boza for Their Exopolysaccharide and Enzyme Production as a Potential Adjunct Culture. *Process Biochemistry*, 49(10), 1587-1594.

Kadan, R.S., Robinson, M.G., Thibodeaux, D.P., Pepperman, A.B. (2001). Texture and other Physicochemical Properties of Whole Rice Bread. *Journal Of Food Science*, 66, 7.

- Kieffer, R., Wieser, H., Henderson, M.H., Graveland, A. (1998). Correlations of the Breadmaking Performance of Wheat Flour with Rheological Measurements on a Micro-scale. *Journal of Cereal Science*, 27, 53–60.
- Maktouf, S., Khawla, B.J., Moulis, C., Hajji, H., Remaud-Simeon, M., Ellouz-Ghorbel, R. (2016). Evaluation of dough rheological properties and bread texture of pearl millet-wheat flour mix. *Journal Food Science Technology*, 53(4), 2061–2066.
- Mannuramath, M., Yenagi, N., Orsat, V. (2015). Quality evaluation of little millet (*Panicum miliare*) incorporated functional bread. *Journal Food Science Technology*, 52(12), 8357–8363.
- Milanović, V., Osimani, A., Garofalo, C., Belleghia, L., Maoloni, A., Cardinali, F., Mozzon, M., Foligni, R., Aquilanti, L., Clementi, F. (2020). Selection of Cereal-Sourced Lactic Acid Bacteria as Candidate Starters for the Baking Industry. *Plos One*, 15(7), 1-21.
- Moncheva, P., Chipeva, V., Kujumdzieva, A., Ivanova, I., Dousset, X., Gocheval, B. (2003). The Composition of The Microflora of Boza, An Original Bulgarian Beverage. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 17(1), 164-168.
- Pala, A. (2012). Farklı Yöntemlerle Kurutularak Elde Edilen Boza Tozunun Hamur Reolojik ve Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli.
- Roberfroid, M. B. (2000). A European Consensus of Scientific Concepts of Functional Foods. *Nutrition*, 16, 689-691.
- Su, D., Ding, C., Li, L., Su, D., Zheng, X. (2005). Effect of Endoxylanases on Dough Properties and Making Performance of Chinese Steamed Bread. *European Food Research and Technology*, 220, 540–545.
- TSE (2017). Boza. www.tse.org.tr (Accessed: 22 May 2022).
- Üçok, E.F., Tosun, H. (2012). Production of Shalgam Juice and Its' Functional Properties. *C.B.U. Journal of Science*, 8(1), 17-26.
- Zorba, M., Hancioglu, O., Genc, M. Karapinar, M., Ova, G. (2003). The Use of Starter Cultures in the Fermentation of Boza, a Traditional Turkish Beverage. *Process Biochemistry*, 38, 1405-1411.

CHARACTERIZATION OF INDUSTRIAL BONE BROTHS FORMULATED WITH VARIOUS MEAT AND NON-MEAT INGREDIENTS

Müge Urgu Öztürk*, Burcu Öztürk Kerimoğlu

Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, İzmir, Türkiye

Received / Geliş: 03.08.2022; Accepted / Kabul: 22.11.2022; Published online / Online baskı: 02.12.2022

Urgu-Öztürk, M., Öztürk-Kerimoğlu, B. (2022). Characterization of industrial bone broths formulated with various meat and non-meat ingredients. GIDA (2022) 47 (6) 1092-1103 doi: 10.15237/gida.GD22074

Urgu-Öztürk, M., Öztürk-Kerimoğlu, B. (2022). Çeşitli et ve et olmayan bileşenlerle formüle edilen endüstriyel kemik sularının karakterizasyonu. GIDA (2022) 47 (6) 1092-1103 doi: 10.15237/gida.GD22074

ABSTRACT

Bone broth has been utilized as food and as a favorite ingredient in many dishes for centuries; notwithstanding, due to the recent growing interest of the consumers, industrial production of bone broths has become widespread. This study evaluated physical and chemical quality features of industrial bone broths produced with beef bone, water, and seasonings (BC), including vegetable mixture (BV), beef trotter (BT), or beef trotter plus sheep head meat (BTH). BTH had the highest lipid and protein contents, and also lipid oxidation levels. The lowest free fatty acids were detected in BC, followed by BT, BV and BTH. SIMCA model provided distinct clusters with interclass distances of more than 3. Consequently, bone broths showed different quality characteristics when formulated with meat or non-meat ingredients. Specifically, FTIR combined with multivariate analysis might provide valuable information, but further studies are needed to quantify the amounts of ingredients added to the formulation.

Keywords: bone, marrow containing bone broth, animal by-products, Fourier-Transform infrared spectroscopy, lipid oxidation

ÇEŞİTLİ ET VE ET OLMAYAN BİLEŞENLERLE FORMÜLE EDİLEN ENDÜSTRİYEL KEMİK SULARININ KARAKTERİZASYONU

ÖZ

Son yıllarda, gıda ve gıda bileşeni olarak kullanılan kemik suyunun endüstriyel üretimi yaygınlaşmıştır. Çalışmada, dana kemik, su ve baharatlar (BC); dana kemik, su, baharatlar ve sebze karışımı (BV); dana kemik, su, baharatlar ve dana paça (BT), veya dana kemik, su, baharatlar, dana paça ve kuzu kelle eti ile (BTH) formüle edilmiş endüstriyel kemik sularının fiziksel ve kimyasal kalite özellikleri değerlendirilmiştir. En yüksek yağ ve protein miktarları ve aynı zamanda en yüksek lipit oksidasyonu BTH örneklerinde belirlenmiştir. En düşük serbest yağ asitliği BC örneklerinde bulunurken, bu grubu BT, BV ve BTH takip etmiştir. SIMCA modeli, örnek grupları için sınıflar arası mesafenin 3'ten büyük olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, kemik suyunun et veya et olmayan bileşenlerle formüle edilmesinin kalite karakteristiklerinde farklılıklar oluşturabileceği saptanmıştır. Spesifik olarak, çok değişkenli analizlerle kombine edilen FTIR analizinin, kemik suları hakkında önemli bilgiler sağlayabileceği belirlenmiştir. Ancak formülasyona eklenen bu bileşenlerin miktarlarını ölçmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kemik, ilikli kemik suyu, hayvansal yan ürünler, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi, lipit oksidasyonu

* Corresponding Author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: muge.urgu@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 3009

☎: (+90) 232 311 3048

Müge Urgu Öztürk; ORCID no: 0000-0002-6345-9252

Burcu Öztürk Kerimoğlu; ORCID no: 0000-0001-9777-8510

INTRODUCTION

Bone tissue is made up of bone cells that remain alive throughout the life of the animal (Aykın-Dinçer et al., 2021). The bone cells are responsible for the bone matrix that contains salts of several minerals like sodium, potassium, phosphorus, calcium and magnesium, type-I collagen, and other proteins (proteoglycans, glycoproteins and sialoproteins), besides acid mucopolysaccharides (hyaluronic acid, chondroitin sulfate and heparin) (Aljumaily, 2011; Hay and Dane, 2016; Ergezer et al., 2018).

Since most of the meat is deboned prior to packaging and retail, based on carcass weight, approximately 6-12% of bone is left (Song et al., 2016). Those bones are regarded as notable by-products to be further converted into high added-value products by the application of efficient strategies for ensuring sustainability (Toldrá et al., 2021). One of the effective strategies for the evaluation of bones is to produce bone broth which is an alternative food ingredient with excellent nutritional composition. Hay and Dane (2016) specified the four key reasons to consume bone broth as follows: Firstly, bone broth is a considerable source of bioavailable collagen that makes it a unique healing food. Secondly, bone broth contains several bioavailable nutrients such as amino acids, vitamins, minerals, and essential fatty acids. Third, as a by-product, bone broth could be regarded as a value-added ingredient that supports protecting the environment and presenting economical benefits. Lastly, bone broth is not only used as food itself but it could also be utilized as a healing flavor enhancer in many food formulations such as drinks, soups, and meals. Animal bone broths are associated with boosting the immune system activity, supporting the digestive system, showing anti-inflammatory properties, and building the blood cells due to high mineral concentrations (Chimeegee and Dashmaa, 2018; Mar-Solís et al., 2021). Specifically owing to its rich collagen, calcium, phosphorus, hyaluronic acid, and chondroitin sulfate contents, consumption of bone broth is highly recommended during the healing of wounds or the removal of toxins (Ergezer et al., 2018; Aykın-Dinçer et al., 2021).

Considering all of these beneficial facts, attempts should be made to reveal the important characteristics of bone broths.

The major food markets around the world for bone broth appear to be in beef or chicken bone stocks that include various flavor enhancers, vegetables, or some preservatives (Chimeegee and Dashmaa, 2018). In Türkiye, there has been a rising trend in the production of bone broths due to the recent attention of the consumers that are willing to be well-nourished. According to the latest reports on red meat manufacturing statistics, total meat production has increased by 9.3% in 2021 when compared with the previous year (Turkish Statistical Institute, 2022). However, there is a lack of information on the certain production amounts of meat by-products. Nevertheless, it has been reported in the media that new entrepreneurial companies have initiated to produce various types of ready-to-eat bone broths (Anonymous, 2018; Anonymous, 2020; Anonymous, 2021). On the other side, the characterization studies on the evaluation of remarkable quality parameters of locally produced bone broths are quite limited. Accordingly, the aim of the present research was to evaluate the physical and chemical quality characteristics of different industrial bone broths formulated with meat and non-meat ingredients. In this context, visual, physical, compositional and oxidative quality parameters were assessed, and Fourier-Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy characterization was performed with Soft Independent Modelling of Class Analogy (SIMCA) to generate classification models for different bone broths.

MATERIAL AND METHOD

Material

The bone broths used as the study material were recruited from an industrial producer located in İstanbul/Türkiye. Briefly, the production of bone broths covers the basic steps as bain-marie cooking of the marrow-containing beef tibia bones at 100 °C for 36 h with/without the addition of different vegetables, beef trotter, and/or skinless sheep head meat. After the cooking process, the mixtures were filtered using

cotton cheesecloth, filled in sterilized glass bottles, vacuum-sealed and refrigerated.

Four different bone broths were selected that were produced with different formulations as follows: Control (BC) sample was a single bone broth that contained water, tibia bone with marrow, and seasonings. BV sample included this single bone broth plus a mixture of vegetables containing carrot, mushroom, celery, and onion. BT sample was formulated with the single bone broth plus beef trotter, while BTH sample

consisted of the single bone broth plus beef trotter and skinless sheep head meat. The formulation of the bone broth samples is presented in Table 1. Five portions (600 mL) from the same batch of each group were randomly sampled at the point of sales, controlling the batch number and expiry date as well as the presence of swelling or leakage. Non-damaged and appropriate cans were transported to the laboratory and stored at 4 °C prior to analyses.

Table 1. Formulations of the bone broth samples

Samples ¹	Ingredients (%)					
	Beef tibia bone	Water	Beef trotter	Skinless sheep head meat	Vegetable mix ²	Seasoning mix ³
BC	30.0	67.0	-	-	-	3.0
BV	30.0	57.0	-	-	10.0	3.0
BT	30.0	52.0	15.0	-	-	3.0
BTH	30.0	44.5	15.0	7.5	-	3.0

¹The samples represent the following formulations: BC: Bone broth formulation containing beef bone, water, and seasonings (control), BV: Bone broth formulation containing beef bone, water, and seasonings plus vegetable mixture, BT: Bone broth formulation containing beef bone, water, and seasonings plus beef trotter, BTH: Bone broth formulation containing beef bone, water, and seasonings plus beef trotter and sheep head meat.

²Vegetable mixture consisted of fresh and chopped carrot (5.5%), mushroom (2.5%), onion (1.3%), and celery (0.7%).

³Seasoning mixture was a blend of %1.0 salt, 0.7% thyme, 0.4% garlic powder, 0.4% granule black pepper, 0.2% bay leaves, 0.2% ground ginger, and 0.1% granule clove.

All the bone broth samples were well-homogenized using a high-shear homogenizer (Ultra-Turrax, IKA, Germany) operated at 6500 rpm for 3 min before sampling. The analyses were carried out within 48 h after supplying the samples, while sampling for lipid oxidation analysis was conducted at the beginning of the storage and during two days of the refrigerated storage.

Analyses

Chemical Composition

Total moisture (oven drying method), protein (Kjeldahl method), and ash (dry combustion method) contents of the bone broths were determined according to AOAC (2012). Lipid content was analyzed by the chloroform-methanol extraction method (Flynn and Bramblett, 1975).

pH and Free Fatty Acids

pH values of the bone broths were measured at room temperature using a portable pH-meter (WTW 330i/SET, Germany) equipped with an immersion probe. Free fatty acid (FFA) content was analyzed according to Gökalp et al. (1995) by titration of the sample slurries with 0.1 N NaOH in ethanol and calculated as a percentage of oleic acid.

Refractive Index and Color

Total soluble matter (°Brix) of bone broths was measured with a refractometer at 20 °C (RFM 330; Bellingham + Stanley Limited, Tunbridge Wells, Kent, U.K.). The color of the samples was assessed by a desktop HunterLab colorimeter (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, USA). White and black standard plates were used for calibration. The following color parameters

were measured and defined as follows: L^* is an index associated with luminosity (0=black and 100=white); redness (a^*) is an index that varies from green (−) to red (+) while yellowness (b^*) is an index that varies from blue (−) to yellow (+).

Lipid oxidation

Lipid oxidation during 2 days of storage in bone broth samples was followed by Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) analysis. In summary, 5 mL of the sample homogenate was mixed with 15 mL of distilled water. After that, 1 mL of this mixture was transferred to a test tube and mixed with 50 μ L of 7.2% (w/v) butylated hydroxyanisole in ethanol and 2 mL of thiobarbituric acid (15 mM)-trichloroacetic acid (15%, w/v) solution. The tubes were incubated in a boiling water bath for 15 min, cooled, re-vortexed, and centrifuged at 2600 $\times g$ for 15 min. The absorbance of the supernatant was recorded at 531 nm against the blank sample with 1 mL of water plus 2 mL of the solution. TBARS value was expressed as mg malonaldehyde/kg sample (Due and Ahn, 2002).

FTIR spectroscopy measurements

FTIR spectroscopy measurements of the bone broths were carried out using a Perkin Elmer Spectrum Two FT-IR Spectrometer (Perkin-Elmer Inc., Norwalk, CT, USA) equipped with a DTGS detector. The sampling station was equipped with an attenuated total reflection accessory (ATR). Bone broths were firstly lyophilized, and then placed on the ATR and infrared spectra were recorded between 4000 and 650 cm^{-1} wavenumbers with a resolution of 4 cm^{-1} . Totally 32 scans were collected for each sample spectrum. Single-beam spectra of the samples were obtained and corrected against the background of the sample holder to present the spectra in absorbance units. Six spectra were recorded for each sample.

Statistical Analysis

Statistical Package for Social Science (SPSS) version 28.0 (IBM, USA) was utilized to perform the statistical evaluation. One-Way Analysis of Variance (ANOVA) was used to detect the significant differences between product

formulations, while two-way ANOVA was conducted to assess the significance depending on the formulations and storage time for lipid oxidation. Least-square differences (LSD) test was applied for comparison of the means and Duncan's Multiple Range Test was applied for posthoc comparisons at a 95% confidence interval.

Spectral data acquisition and data analysis were performed using a multivariate data analysis software Pirouette (3.11, Infometrix Inc., WA, USA). Soft Independent Modelling of Class Analogies (SIMCA) method was used to develop classification. SIMCA was evaluated based on three-dimension class projection and interclass distance (ICD).

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical Composition, pH, and FFAs

The chemical compositions of bone broth samples are presented in Table 2. No significant differences were recorded for centesimal composition between BC and BV. On the other hand, the incorporation of different meat ingredients such as beef trotter and sheep head meat significantly affected the moisture, lipid, protein and ash contents of the bone broths ($P < 0.05$). Total lipid content of the samples varied from 0.38% to 4.70%, and protein contents ranged between 3.27% and 16.58%. BC and BV samples had the lowest lipid and protein contents compared to those of BT and BTH ($P < 0.05$). In particular, BTH samples had the highest lipid and protein contents ($P < 0.05$), most probably due to the high protein and lipid contents of beef trotter and sheep head meat added to the formulation. The results showed that including both beef trotter and sheep head meat might be a good strategy to increase the nutritional value of bone broths, due to a significant increase in protein amount.

The pH value of bone broth is important for further processing and storage stability because of the capacity to change the hydrogen ion concentration. Average pH values of the bone broths, given in Table 2, were found between 6.56-8.22. A similar pH range was obtained in a

study conducted by Hsu et al. (2017) in which the properties of different animal bone broths were determined. It was found that pH of the bone broths was significantly influenced by the ingredients added to the formulation ($P < 0.05$) (Table 2). BV had the lowest pH value while the highest value was found in BC. So the mixture of vegetables caused a significant decrease in pH

levels of bone broths ($P < 0.05$). On the other hand, beef trotter and sheep head meat had low pH values compared to control. Similarly, Choi et al. (2016) found variations in pH values of bone broths formulated with different meat mixtures. The authors stated that pH value of bone broth produced from only bones was higher than those of bone broth including meat.

Table 2. Centesimal composition, pH, and FFA contents of bone broth samples

Samples*	Moisture (%)	Lipid (%)	Protein (%)	Ash (%)	pH	FFA (%)
BC	95.22 ^a ± 0.05	0.38 ^c ± 0.03	3.27 ^c ± 0.18	0.26 ^c ± 0.02	8.22 ^a ± 0.01	0.38 ^d ± 0.01
BV	95.00 ^a ± 0.12	0.24 ^c ± 0.02	3.78 ^c ± 0.37	0.43 ^c ± 0.05	6.56 ^d ± 0.01	0.66 ^b ± 0.01
BT	80.80 ^b ± 1.67	3.44 ^b ± 0.49	12.56 ^b ± 0.32	2.13 ^b ± 0.08	7.16 ^b ± 0.02	0.48 ^c ± 0.01
BTH	71.97 ^c ± 1.41	4.70 ^a ± 0.47	16.58 ^a ± 0.44	2.93 ^a ± 0.40	6.80 ^c ± 0.01	0.84 ^a ± 0.02

*Bone broths formulated with BC: Bone, water, and seasonings (control), BV: Bone, water, and seasonings plus vegetable mixture, BT: Bone, water, and seasonings plus beef trotter, BTH: Bone, water, and seasonings plus beef trotter and sheep head meat.

Data were presented as the mean values ± standard deviation. a, b, c,: Means with a different letter in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

FFAs, the main product of enzymatic hydrolysis of triacylglycerides, are important for the formation of flavor and characteristics of many foods (Pegg and Shahidi, 2007). The FFA content should be examined to gain insight into the quality of the meat products. The values of FFA for BC, BV, BT and BTH were 0.38%, 0.66%, 0.48% and 0.84%, respectively (Table 2). An increase in FFA values was observed with the addition of different ingredients to the bone broth formulation. In particular, more than a two-fold increase in FFA was observed in bone broths formulated with both beef trotter and sheep head. Similarly, in the study conducted by Choi et al. (2016), significant changes were detected in the fatty acid composition of bone extracts due to the addition of meat mixtures. It was also reported in the study of Marco et al. (2006) that the majority of FFA were derived from the triglycerides. Therefore, the FFA released in bone broth samples comes mainly from triglycerides, so high amount of meat ingredients used in the broth formulation makes the triglyceride hydrolysis was more important. Although we observed significant changes with the addition of vegetables or meat ingredients to the formulation, FFA values were found in lower limits compared to the processed meat products

studied by Kowale et al. (1996), Ercoskun et al. (2010), and Demirok-Soncu et al. (2014).

Brix and Color

The Brix is expressed by the soluble solids of bone broths in the water. This quality parameter can affect the appearance, taste, viscosity, and other quality characteristics of the end products, and hence determines the consumer impression. The Brix values of bone broths, given in Table 3, were determined to be in the range of 6.10-10.28°. The lowest Brix value was found in BC whereas the highest value was obtained in BT samples ($P < 0.05$). The addition of vegetable mixtures to the broth formulation resulted in a slight increase in Brix value, and further increases were observed by the incorporation of beef trotter and sheep head meat. This data demonstrated that higher dry matter content in the bone broths resulted in a higher Brix value. Different Brix values were obtained in the literature depending on the raw material and ingredients added to the formulation as well as depending on the process type and conditions (Aykın-Dinçer et al., 2021; Chiang et al., 2022).

Table 3. Refractive index (°Brix) and color of bone broth samples

Samples*	°Brix	L*	a*	b*
BC	6.10 ^d ± 0.08	26.30 ^c ± 0.34	0.09 ^b ± 0.04	6.94 ^c ± 0.07
BV	6.50 ^c ± 0.08	10.42 ^d ± 0.07	1.94 ^a ± 0.19	10.03 ^b ± 0.29
BT	8.58 ^b ± 0.22	30.28 ^b ± 0.08	-1.33 ^c ± 0.03	5.92 ^d ± 0.13
BTH	10.28 ^a ± 0.22	33.37 ^a ± 0.20	0.08 ^b ± 0.03	10.82 ^a ± 0.22

*Bone broths formulated with BC: Bone, water, and seasonings (control), BV: Bone, water, and seasonings plus vegetable mixture, BT: Bone, water, and seasonings plus beef trotter, BTH: Bone, water, and seasonings plus beef trotter and sheep head meat.

Data were presented as the mean values ± standard deviation. a, b, c,: Means with a different letter in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Color is known as the most important visual attribute that can affect consumer preferences and satisfaction. Because color parameters were noted to be affected by formulation for many meat systems (Jiménez-Colmenero et al., 2010), the variations in the color parameters of bone broths were evaluated (Table 3). L* values of BV samples were found to be lower than all other samples ($P < 0.05$). The highest L* value was recorded in BTH, which was followed by BT and BC ($P < 0.05$). Thus the addition of vegetables to the mixture caused a serious decrease in the lightness of the bone broths, whereas the inclusion of meat ingredients led to an opposite impact in terms of lightness characteristics. Moreover, the lowest a* and b* values were detected in BT when compared with the other bone broth samples ($P < 0.05$). In brief, our results showed that the usage of vegetable mixtures, beef trotter, and sheep head meat had significant effects on color attributes ($P < 0.05$) which may also have an impact on the sensory quality characteristics and consumer acceptance. In a similar study on bone broths by Choi et al. (2016), the addition of mixed bone and brisket meat to the bone extracts significantly decreased the sensorial color scores. Kim (2006) also reported higher sensory evaluation scores for color in rib bone extract compared to shank bone extract.

Lipid oxidation

Lipid oxidation degree is one of the most important reasons for the sensory and nutritional deterioration of meat products (Nuñez De Gonzalez et al., 2008). In the present study, the oxidative stabilities of the bone broths were compared in terms of their TBARS values throughout 2 days of refrigerated storage (Figure

1). The ingredient type added to the formulation and storage time significantly affected the oxidation level ($P < 0.05$). After the production and the first day of storage, no significant differences were found between BC and BV samples, which were found between 0.05 mg malonaldehyde/kg and 0.15 mg malonaldehyde/kg, respectively. During storage, the addition of beef trotter to the bone broth formulation caused a significant increase in the values, and further increment was observed in samples containing both beef trotter and sheep head meat ($P < 0.05$). These results showed that including beef trotter with/without sheep head meat in the bone broth formulation triggered lipid oxidation, presumably due to the increase in the lipid content. Indeed the lipid oxidation results were higher in the samples with the highest lipid contents, pointing out the increase in TBARS values with the increase in lipid concentrations. It is well-known that the initiation and progress of lipid oxidation could be promoted by several factors such as raw material, fat and free fatty acid contents, metal ions concentration, moisture contents, as well as process and storage conditions. Similar to our findings, Choi et al. (2016) determined that TBARS values of shank bone extract increased as the mixed bone and brisket meat bone were added to the formulation. Aykın-Dinçer et al. (2021) reported that TBARS values increased with the increase in the temperature applied during the production of bone broth powder. Despite of the increase in oxidation rate of bone broths containing meat ingredients, addition of vegetables to the formulation did not increase the TBARS, and this may be attributed to the presence of antioxidant

compounds in vegetable mixtures that decelerated the oxidations.

In our study, during the 2-day storage time, TBARS values steadily increased in all the samples ($P < 0.05$), which were measured between 0.10 mg malonaldehyde/kg and 0.58 mg

malonaldehyde/kg. Such an increase in TBARS values was observed during the storage period for different bone broth powders produced by Ergezer et al. (2018). Nonetheless, in the present work, all of the bone broth samples had oxidation values within acceptable limits (< 1 mg malonaldehyde/kg) during storage.

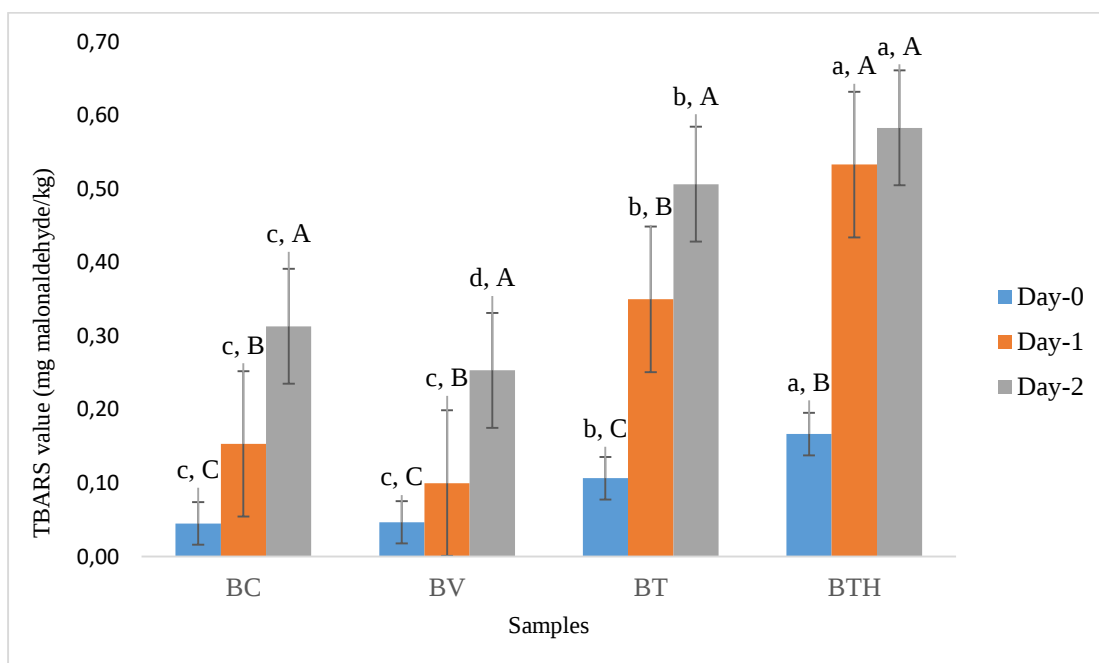


Figure 1. TBARS value of bone broth samples during short-term refrigerated storage

Samples represent the bone broths formulated with BC: Bone, water, and seasonings (control), BV: Bone, water, and seasonings plus vegetable mixture, BT: Bone, water, and seasonings plus beef trotter, BTH: Bone, water, and seasonings plus beef trotter and sheep head meat.

a, b, c, ...: The lower-case letters indicate significant differences among the samples within the same storage day ($P < 0.05$).

A, B, C, ...: The upper-case letters indicate significant differences among the storage days within the same sample ($P < 0.05$).

FTIR Spectra and SIMCA results

FTIR spectroscopy can be a unique biochemical fingerprinting method that enables rapid detection of compounds found even at a low concentration within complex food matrices (Ellis et al., 2015). Since the technique is very rapid, sensitive, and simple with minimal sample preparation and low operational costs, it can be used for routine analyses in laboratories. The importance of IR spectroscopy for qualitative analysis originates from the possibility to detect certain absorption bands related to specific

functional groups (Bendini et al., 2007). In this study, the bone broths were analyzed using FTIR spectroscopy in the mid-infrared region ($4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$). The representative FTIR spectra of the bone broths are demonstrated in Figure 2, indicating some of the spectral bands arising from specific functional group vibrations. The spectrums of BC and BV samples were mainly shown very similar. Moreover, BT had vibrations similar to BTH. All spectra obtained from the bone broth samples displayed similar bands at around 2922 , 2853 , 1639 and 1464 cm^{-1} . These

bands were quite strong and well-separated in each spectrum. In literature, the bands determined at wavenumbers between 3000 and 2850 cm^{-1} region were reported to be mainly originated from C–H stretching vibrations in aliphatic hydrocarbon compounds such as lipids (Stuart, 2004; Lohumi et al., 2015). The intensities of these bands increased with the addition of beef trotter and sheep head meat to the bone broth. Previously, Deniz et al. (2018) reported that the region from 3000 to 2800 cm^{-1} could be defined as a characteristic unsaturated and saturated lipid region for beef mixtures. Therefore, the noticeable variations observed in this specific region of the spectrum might be due to the differences in the lipid profile of beef trotter and sheep head meat added to the formulation. On the other hand, it could be stated that the addition of vegetable mixtures to the bone broth formulation did not cause a significant variation in this region. Another signal obtained from all bone broths was located in the 1639 cm^{-1} , which was related to the Amide-I region of proteins. In literature, this band was reported to be generally originated from C=O stretching, N–H bending or C–N stretching proteins (Stuart, 2004; Deniz et al., 2018). This was the broadest band in the spectrum of BC and BV samples. In addition, a band at around 1464 cm^{-1} , which was related to the bending of the CH_2 and CH_3 aliphatic groups, was observed in all samples, but the area of this band was small in the spectrums of BC and BV samples. The spectrums of BT and BTH showed some other different vibrations at around 1743, 1378, 1239, 1161, 1117 and 1098 cm^{-1} . It was reported in the literature that the bands at the wavenumbers of 1743, 1378, 1239 and 1161 cm^{-1} could be related to aliphatic C=O stretching of esters, C–H bending bands of methyl groups, aliphatic P=O stretching of phosphorus compounds and stretching vibration of C–O and C–OH groups belonging to RNA or serine, threonine and tyrosine residues of cellular proteins, respectively (Stuart, 2004; Movasaghi et al., 2008; Deniz et al., 2018). The bands located at 1117 and 1098 cm^{-1} wavenumbers were reported to arise from vibrations due to C–H bending and

CH deformation of fatty acids, respectively (Rohman et al., 2011). Moreover, Kurniawati et al. (2014) reported that this region (between 1117 and 1098 cm^{-1}) originated from the stretching vibrations of C–O in triacylglycerols could be varied due to the addition of lard to the meatball broth samples. These authors stated that the band located in this region could show variations due to the differences in the nature and composition of the meat products. Therefore, in our study, the differences in the indicated bands were related to the vibrations caused by the compositional differences of the bone broths, mainly due to the addition of beef trotter and sheep head meat.

Since some similar vibrations were observed in the spectrum of bone broths, the differences between samples were tried to be determined by using multivariate analysis. For SIMCA analysis, the spectra were 2nd derivative and smooth transformed (with second order polynomial filter with a 35-point window) to improve the spectral characteristics. SIMCA three dimension class projection was illustrated in Figure 3. Using the spectral range of 1,800 to 1,200 cm^{-1} , bone broth samples from different ingredients were grouped in well-separated clusters by the SIMCA model. Infrared spectra analysis using SIMCA classification models permitted tight clustering and clear differentiation among bone broth samples. Therefore, it was found that the classification of bone broths with different compositions could be possible using their spectral information. The interclass distances (ICD) are Euclidean distances between centers of clusters and values above 3.0 are considered good for class discrimination. The ICD value was above 3, pointing out that the bone broths could not be considered similar (Table 4). The highest differences were obtained between BC and BTH due to the highest ICD value (18.8), while the lowest (4.1) was observed between BT and BTH. These results indicated that FTIR spectroscopy combined with SIMCA analysis could have the possibility to classify the bone broths.

Table 4. Interclass distances between bone broth samples based on the SIMCA class projections

Samples*	BC	BV	BT	BTH
BC	0.0	4.3	15.7	18.8
BV	4.3	0.0	9.8	10.2
BT	15.7	9.8	0.0	4.1
BTH	18.8	10.2	4.1	0.0

*Bone broths formulated with BC: Bone, water, and seasonings (control), BV: Bone, water, and seasonings plus vegetable mixture, BT: Bone, water, and seasonings plus beef trotter, BTH: Bone, water, and seasonings plus beef trotter and sheep head meat.

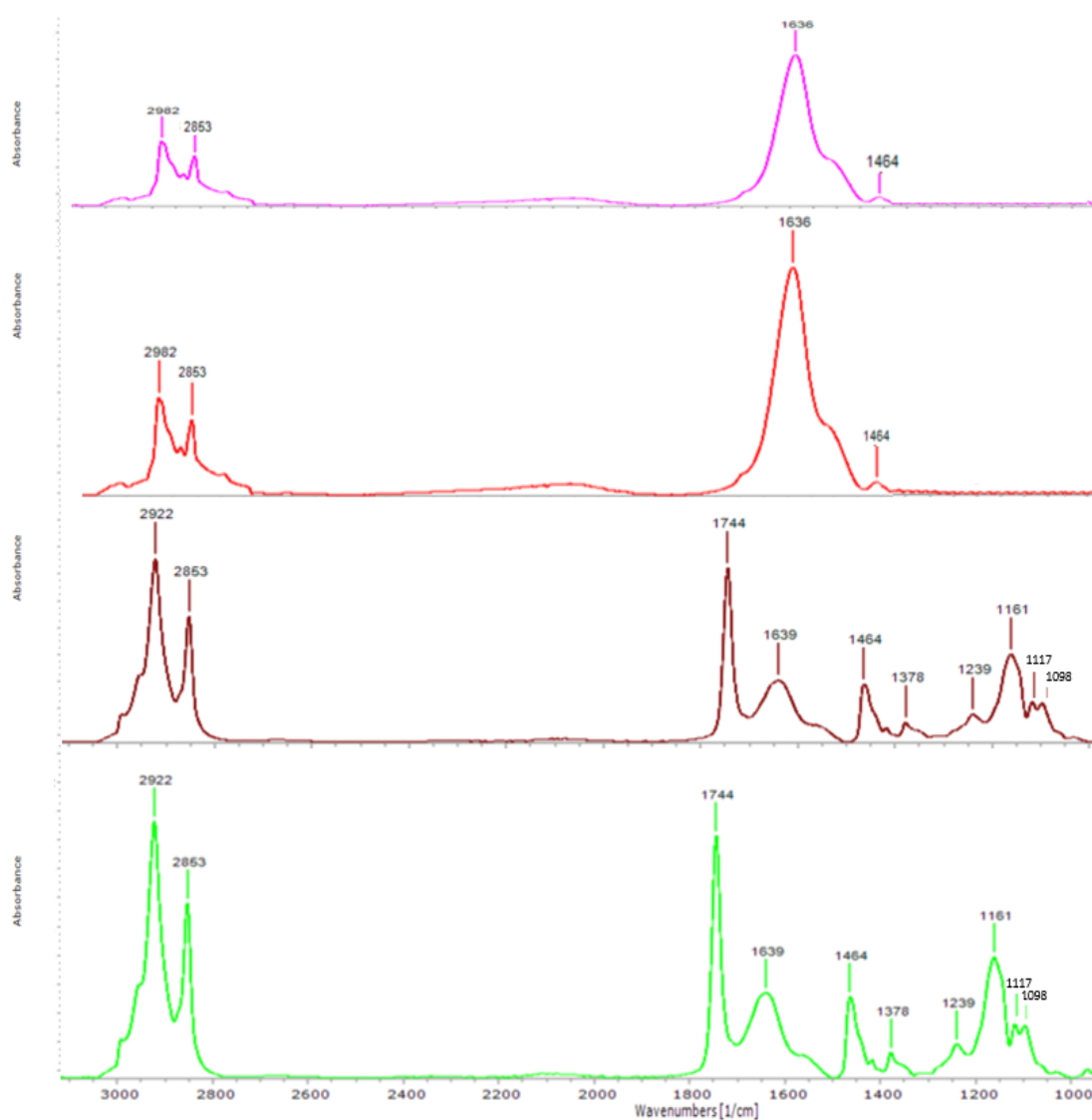


Figure 2. FTIR spectra of bone broth samples in the mid infrared region

Pink color: BC-Bone broths formulated with bone, water, and seasonings (control), Red color: BV-Bone broths formulated with bone, water, and seasonings plus vegetable mixture, Brown color: BT- bone broths formulated with bone, water, and seasonings plus beef trotter, Green color: BTH- bone broths formulated with bone, water, and seasonings plus beef trotter and sheep head meat.

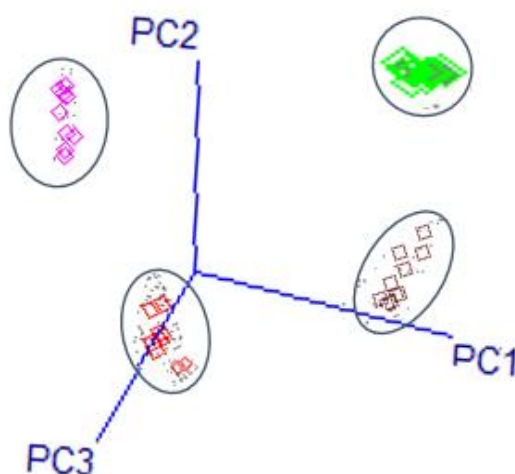


Figure 3. SIMCA class projections of transformed spectra of bone broths

Pink color: BC-Bone broths formulated with bone, water, and seasonings (control), Red color: BV-Bone broths formulated with bone, water, and seasonings plus vegetable mixture, Brown color: BT- bone broths formulated with bone, water, and seasonings plus beef trotter, Green color: BTH- bone broths formulated with bone, water, and seasonings plus beef trotter and sheep head meat.

CONCLUSION

The present research highlighted that when formulated with meat and non-meat ingredients, bone broths indicated pretty different physical and chemical quality characteristics. The incorporation of different meat-originated ingredients like beef trotter and sheep head meat into the formulation led to remarkable increments in protein and lipid contents, whereas it resulted in high FFA levels. Despite the addition of vegetable mixtures did not cause considerable alterations in composition, this addition caused an increase in FFA values. The use of vegetable mixtures, beef trotter, and sheep head meat had significant impacts on color attributes. Bone broths including beef trotter with/without sheep head meat triggered lipid oxidation during storage. However, no significant changes were observed in lipid oxidation of the bone broths including vegetable mix. Utilization of the FTIR spectrum with multivariate analysis could be useful for differentiating the bone broths. Since these results could be regarded as the first findings concerning bone broths, detailed investigations are underway in our laboratories for further

characteristics and quantification of the ingredients added to the bone broth formulation.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Both authors significantly contributed to different processes in the article. The authors also declare that they read and approved the final version of the manuscript.

REFERENCES

- Aljumaily, M.A. (2011). The effect of concentrated bone broth as a dietary supplementation on bone healing in rabbits. *Annals of the College of Medicine*, 37: 42-47. doi: 10.33899/mmed.2011.34633
- Anonymous. (2018). Opening the world with marrow containing bone broth. Anadolu Agency. <https://www.aa.com.tr/tr/yasam/ilikli-kemik-suyuyla-dunyaya-acilacak/1119583> [in Turkish]. (Accessed 16 July 2022).
- Anonymous. (2020). Enterprise for bone broth. E-bulletin of Hürriyet.

- <https://www.hurriyet.com.tr/yazarlar/meteor-tamer-omur/kemik-suyuna-girisim-41567741> [in Turkish]. (Accessed 16 July 2022).
- Anonymous. (2021). Gold Vitamin is going to grow with bone broth and odorless sheep tail fat. Dünya News Center. <https://www.dunya.com/sehirler/gold-vitamin-kemik-suyu-ve-kokusuz-kuzu-kuyruk-yagi-ile-buyuyecek-haberi-632052> [in Turkish]. (Accessed 16 July 2022).
- AOAC (2012). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. 19th Edition, Gaithersburg, MD, the USA.
- Aykin-Dinçer, E., Özdemir, M., Topuz, A. (2021). Quality characteristics of bone broth powder obtained through Refractance Window™ drying. *LWT Food Science and Technology*, 147: 111526. doi: 10.1016/j.lwt.2021.111526
- Bendini, A., Cerretani, L., Di Virgilio, F., Belloni, P., Bonoli-Carbognin, M., Lercker, G. (2007). Preliminary evaluation of the application of the FTIR spectroscopy to control the geographic origin and quality of virgin olive oils. *Journal of Food Quality*, 30: 424–437. doi: 10.1111/j.1745-4557.2007.00132.x
- Chiang, J.H., Yeo, M.T.Y., Ong, D.S.M., Henry, C.J. (2022). Comparison of the molecular properties and volatile compounds of Maillard reaction products derived from animal- and cereal-based protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 383: 132609. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132609
- Chimeegee, N., Dashmaa, D. (2018). The daily value of micronutrients in newly produced beef and horse concentrated bone broths. *Mongolian Journal of Agricultural Sciences*, 23(1): 30–34. doi: 10.5564/mjas.v23i01.1018
- Choi, H.G., Choi, H.S., Choi, Y.S., Jung, M.O., Choi, J.S., Choi, Y.I. (2016). Effects of mixed bone and brisket meat on physico-chemical characteristics of shank bone and rib extracts from Hanwoo. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36 (1): 61–67. doi: 10.5851/2Fkosfa.2016.36.1.61
- Demirok Soncu, E., Kolsarıcı, N., Akoğlu, İ., Bektaş, G. (2014). The effects of vacuum tumbling combined with sodium tripolyphosphate on lipolytic and oxidative changes in beef döner. *The Journal of Food*, 39(5): 259–266. doi: 10.15237/gida.GD14033
- Deniz, E., Altuntaş, E.G., Ayhan, B., İçci, N., Özel Demiralp, D., Candoğan, K. (2018). Differentiation of beef mixtures adulterated with chicken or turkey meat using FTIR spectroscopy. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42: 13767. doi: 10.1111/jfpp.13767
- Du, M., Ahn, D. U. (2002). Effect of antioxidants on the quality of irradiated sausages prepared with Turkey thigh meat. *Poultry Science*, 81(8): 1251–1256. doi: 10.1093/ps/81.8.1251
- Ellis, D.I., Muhamadali, H., Haughey, S.A., Elliott, C.T., Goodacre, R. (2015). Point-and-shoot: Rapid quantitative detection methods for on-site food fraud analysis—moving out of the laboratory and into the food supply chain. *Analytical Methods*, 7(22): 9401–9414. doi: 10.1039/C5AY02048D
- Ercoşkun, H., Tağı, S., Ertaş, A.H. (2010). The effect of different fermentation intervals on the quality characteristics of heat-treated and traditional sucuks. *Meat Science*, 85(1): 174–81. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.12.022
- Ergezer, H., Kara, Y., Özünlü, O. (2018). Production of bone broth powder with spray drying using three different carrier agents. *Food Science of Animal Resources*, 38: 1273–1285. doi: 10.5851/kosfa.2018.e63
- 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. doi: 10.1111/j.1365-2621.1975.tb12544.x.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö. (1995). Quality Control in Meat and Meat Products and Laboratory Practice Guide. Atatürk University, Publication no: 751, Erzurum [in Turkish].
- Hay, L., Dane, H. (2016). Bone broth secret: A culinary adventure in health, beauty, and longevity. 1st Edition, Hay House Inc., the USA, 400 p.

- Hsu, D.J., Lee, C.W., Tsai, W.C., Chien, Y.C. (2017). Essential and toxic metals in animal bone broths. *Food and Nutrition Research*, 61(1): 1347478. doi: 10.1080/16546628.2017.1347478.
- Jiménez-Colmenero, F., Herrero, A., Pintado, T., Solas, M.T., Ruiz-Capillas, C. (2010). Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. *Food Research International*, 43: 2068–2076. doi: 10.1016/j.foodres.2010.06.010
- Kim, M.S. (2006). The effect on the nutritional value of beef leg and rib bone soup by boiling time. *Journal of the Korean Society of Food Culture*, 21: 161–165.
- Kowale, B.N., Kesava, R.V., Pedda, B.N., Nagendra, S., Girdhar, S.B. (1996). Lipid oxidation and cholesterol oxidation in mutton during cooking and storage. *Meat Science*, 43: 195–202. doi: 10.1016/0309-1740(96)84591-8
- Kurniawati, E., Rohman, A., Triyana, K. (2014). Analysis of lard in meatball broth using Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. *Meat Science*, 96(1): 94–98. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.07.003
- Lohumi, S., Lee, S., Lee, H., Cho, B.K. (2015). A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. *Trends in Food Science and Technology*, 46(1): 85–98. doi: 10.1016/j.tifs.2015.08.003
- Marco, A., Navarro, J.L., Flores, M. (2006). The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Science*, 73(4): 660–673. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.03.011
- Mar-Solís, L.M., Soto-Domínguez, A., Rodríguez-Tovar, L.E., Rodríguez-Rocha, H., García-García, A., Aguirre-Arzola, V.E., Zamora-Ávila, D.E., Garza-Arredondo, A.J., Castillo-Velázquez, U. (2021). Analysis of the anti-inflammatory capacity of bone broth in a murine model of ulcerative colitis. *Medicina*, 57: 1138. doi: 10.3390/medicina57111138
- Movasaghi, Z., Rehman, S., Ur Rehman, D.I. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. doi: 10.1080/05704920701829043
- Núñez De Gonzalez, M.T., Boleman, R.M., Miller, R.K., Keeton, J.T., Rhee, K.S. (2008). Antioxidant properties of dried plum ingredients in raw and precooked pork sausage. *Journal of Food Science*, 73: 63–71. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00744.
- Pegg, R.B., Shahidi, F. (2007). Off flavors and rancidity in foods. In: *Handbook of Meat Poultry and Seafood and Quality*, Nollet, L.M.L. (ed.). Blackwell Publishing, the USA, pp. 217–228.
- Rohman, A., Erwanto, Y., Man, Y.B.C. (2011). Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Meat Science*, 88(1): 91–95. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.12.007
- Song, S., Li, S., Fan, L., Hayat, K., Xiao, Z., Chen, L., Tang, Q. (2016). A novel method for beef bone protein extraction by lipase-pretreatment and its application in the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 208: 81–88. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.062
- Stuart, B. (2004). *Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications*. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, the UK, 248 p.
- Toldrá, F., Reig, M., Mora, L. (2021). Management of meat by- and co-products for an improved meat processing sustainability. *Meat Science*, 181: 108608. doi: 10.1016/j.meatsci.2021.108608
- Turkish Statistical Institute. (2022). Red Meat Production Statistics, 2020–2021. No:45671, Publisment Date: 06.05.2022. Cankaya, Ankara [in Turkish].

KURKUMİN TABANLI BİYOPOLİMER FİLMLERİN GÖRÜNÜR IŞIK ALTINDA GELİŞTİRİLMESİ

İdil Kit, Leyla Nesrin Kahyaoğlu*

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 11.08.2022; Kabul / Accepted: 22.11.2022; Online baskı / Published online: 05.12.2022

Kit, İ., Kahyaoğlu, L., N. (2022). Kurkumin tabanlı biyopolimer filmlerin görünür ışık altında geliştirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (6) 1104-1117 doi: 10.15237/gida.GD22079

Kit, İ., Kahyaoğlu, L., N. (2022). Development of curcumin based biopolymer films under visible light irradiation. *GIDA* (2022) 47 (6) 1104-1117 doi: 10.15237/gida.GD22079

ÖZ

Çalışmanın amacı, kurkumin ve furan modifiye jelatin kullanarak görünür ışık altında gerçekleşen fotooksidasyon reaksiyonu ile bir kolorimetrik film geliştirmektir. Bu amaçla, sığır jelatini furfuril izosiyanat ile modifiye edilerek görünür ışığa duyarlı furan modifiye jelatin (f-jelatin) sentezlenmiştir. Çalışmada kurkuminin hem görünür ışığa duyarlaştırıcı olarak hem de toplam uçucu bazik azot algılayıcısı olarak kullanılması hedeflenmiştir. F-jelatin, jelatin ve kurkumin oranları değiştirilerek hazırlanan beş farklı filmle mekanik, bariyer, ısı ve mikro yapı karakterizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. %20 (h/h) kurkumin eklenmiş f-jelatin ile hazırlanan filmlerin (K20-FG), karakterizasyon deneyleri sonucu en iyi sonucu verdiği ortaya konmuştur. Daha sonra K20-FG filmlerinin farklı amonyak gazı konsantrasyonlarındaki renk değişim miktarına karar verilmiştir. Gaz algı testleri sonucunda proteince yüksek gıdaların bozulma takibinin geliştirilen K20-FG filmleri ile mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kolorimetrik film, furan modifiye jelatin, kurkumin, görünür ışık, fotooksidasyon

DEVELOPMENT OF CURCUMIN BASED BIOPOLYMER FILMS UNDER VISIBLE LIGHT IRRADIATION

ABSTRACT

The aim of the study was to develop a colorimetric film with photooxidation reaction under visible light using curcumin and furan modified gelatin. For this purpose, bovine gelatin was modified with furfuryl isocyanate to synthesize photosensitive furan modified gelatin (f-gelatin). In the study, curcumin was expected to serve both as the visible light absorbing photosensitizer and the recognition agent for total volatile basic amines. Mechanical, barrier, thermal and micro structure characterization experiments were carried out with five different films prepared by changing f-gelatin, gelatin and curcumin ratios. Films (K20-FG) prepared with f-gelatin and 20% (v/v) curcumin was shown to give the best results as a result of characterization tests. Later, color difference values of K20-FG films against different concentrations of volatile ammonia were monitored. Gas sensing tests were shown that monitoring of protein rich food spoilage, could be possible with the developed K20-FG films.

Keywords: colorimetric film, furan modified gelatin, curcumin, visible light, photooxidation

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: kaleyla@metu.edu.tr,

☎: (+90) 312 210 56 41

☎: (+90) 312 210 2767

İdil Kit; ORCID no: 0000-0003-3725-3039

Leyla Nesrin Kahyaoğlu; ORCID no: 0000-0003-3548-4378

GİRİŞ

Gıda kaynaklı hastalıklar, bazı zararlı bakteri, parazit veya virüslerle kirletilmiş gıdaların tüketilmesi sonucu ortaya çıkan gastrointestinal sistem enfeksiyonları veya tahrişleridir. Akut semptomlar kusma, ishal, karın ağrısı ve kısa süreli ateşi içerir. Ancak gıda zehirlenmesi belirtileri şiddetli olabilir ve bu nedenle hastaneye yatışlara ve ölümlere sebebiyet verebilir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), yaklaşık 600 milyon insanın kontamine gıda tüketmekten hastalandığını ve gıda kaynaklı hastalıkların her yıl 420.000 ölüme yol açtığını tahmin etmektedir (Havelaar vd., 2015). Türkiye İstatistik Kurumu'na (TÜİK) göre; 1993-2005 yılları arasında gıda kaynaklı hastalıklardan etkilenen 108.246 kişi hastaneye kaldırılmış ve 1993-2002 yılları arasında 1702 kişi ölümü rapor edilmiştir (Öz vd., 2014).

Gıda israfı temel olarak gıda ürünlerinin üretim sırasında veya sonrasında bozulması veya zarar görmesi olarak açıklanabilir (Giroto vd., 2015). Son kullanma tarihine bağlı geleneksel gıda paketlenmesi, gıda israfının başlıca sebeplerinden biridir. Gıda ürünlerinde atık oranı %31'e ulaşmakta ve bunun yaklaşık %21'i direkt tüketicilere aittir (Buzby vd., 2014). Son kullanma tarihi yaklaştıkça çoğu tüketici gıda ürünlerini satın almamakta ve bu da gıda israfını artırmaktadır (Wilson vd., 2017). Akıllı paketlenme, gıda ürünlerinin tazeliği hakkında gerçek zamanlı bilgi vererek gıda israfını en aza indirebilecek niteliktedir.

Kolorimetrik filmler, renk değişimlerine göre gıdanın bozulma derecesini gösteren akıllı paketlenme örneklerindendir. Bu filmler, gıda ürünü bozulduğunda açığa çıkan uçucu amin gazları nedeniyle oluşan ortamdaki pH değişimini algılayarak renk değiştirirler (Biji vd., 2015). Genel olarak polimer yapıya asit-baz göstergelerinin eklenmesi ile üretilirler. Bazı sentetik asit-baz göstergesi örnekleri olarak bromokresol yeşili, fenol kırmızısı ve bromtimol mavisi verilebilir. Ancak son yıllarda ortam pH değişimlerine tepki gösterebilen doğal bileşikler ilgi görmeye başlanmıştır. Bunlara örnek olarak bazı çiçekler, ıspanak özleri, kurkumin ve antosiyaninler verilebilir (Musso vd., 2016).

Kurkumin antikanserojenik, antibakteriyel, antioksidan ve antienflamatuar pek çok ilgi çekici özelliğe sahip Curcuma longadan özütlenen bir doğal pigmenttir (Gökdemir vd., 2020). Görünür ışık tayfında ışık soğurum yeteneği ile toksik etki olmaksızın bir ışık duyarlaştırıcı görevi görebilir (Zhao vd., 2015). Bu özelliği görünür ışık altında yapılacak filmler için faydalı olabilecek niteliktedir. Ayrıca farklı pH değerlerine sahip ortamlarda kurkuminin bis-keto yapısının etkisiyle renk değiştirdiği gösterilmiştir. Bu nedenle, kurkuminin karragenan, selüloz, ve jelatin gibi biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerle kullanımına yönelik pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir (Kuswandi vd., 2014; Liu vd., 2018; Musso vd., 2019).

Kolorimetrik filmlerin renk değişiminin kolayca algılanması için kullanılan destek malzemelerinin şeffaf veya renksiz olması gerekmektedir (Musso vd., 2019). Bu kriterler düşünüldüğünde sığır jelatini tüm beklenen özellikleri sağlamakta ve akıllı paketlenme uygulamaları için mükemmel bir yapı oluşturmaktadır. Aynı zamanda jelatin et endüstrisi atıklarından düşük maliyetle elde edilen bir biyopolimer olarak film yapımı için yüksek potansiyele sahiptir. Genellikle suda çözünürlüğü ve su buharı geçirgenliğinin yüksek olmasından dolayı tek başına kullanılmayıp destekleyici maddeler ile kullanılır. Bu nedenle, kurkumin suda çözünmeyen yapısı ile jelatinin yapısını güçlendirmek adına kullanılabilir (Roy ve Rhim, 2020).

Pigmentler ve bazı biyomoleküllerin ısıya duyarlı olması nedeniyle görünür ışık veya yakın kızılötesi ışık dalga boyları ile yapılan film çalışmaları hız kazanmıştır (Son vd., 2010). Görünür ışık dalga boyu altında fotooksidasyon reaksiyonu ile çapraz bağ oluşumunu tetikleyerek ısıya ihtiyaç duymadan kolay ve hızlı bir şekilde film elde edilebileceği geçmiş çalışmalarda gösterilmiştir (Kim vd., 2018). Jelatine, furan fonksiyonel grubunun dahil edilmesiyle ışığa karşı duyarlı hale gelip görünür ışık altında fotooksidasyon kaynaklı çapraz bağlama mekanizması yoluyla film yapısı oluşturabilmektedir (Park vd., 2012). Bu çalışmadaki temel amaç görünür ışık altında

çapraz bağ yapabilen jelatin elde edip, kurkumin ile yapıyı güçlendirmektedir. Görünür ışık dalga boyu altında kolorimetrik film üretmek için sığır jelatini, furfuril jelatin ve kurkumin kombinasyonu incelenmiştir. Kurkuminin aynı anda ışık duyarlaştırıcı ve renk tespit maddesi olarak kullanımı literatürde ilk kez araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Sığır jelatini (200 bloom) Weishardt International (Liptovsky Mikulas, Slovakia) firmasından, gliserol, kurkumin, furfuril izosiyanat, dimetilsülfoksit (DMSO), etanol (EtOH) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından ve alınmıştır.

Yöntem

Furfuril jelatinin (f-jelatin) sentezi

Sentez için Son ve arkadaşlarının (2010) f-jelatin sentezlemek için kullandığı yöntem takip edilmiştir. Kısaca 2 g sığır jelatini 80 ml su içinde 50°C sıcaklıkta çözündürülmüş ve 1 M NaOH kullanılarak çözeltinin pH değeri 11'e ayarlanmıştır. 250 ul furfuril izosiyanat, 20 ml DMSO içerisinde çözündürülmüş ve daha sonra karışım, damla damla jelatin çözeltisine ilave edilmiştir. Elde edilen nihai karışım 24 saat 45°C sıcaklıkta 500 dakika devir sayısında (dds) karıştırılmıştır. 24 saat sonunda çözeltinin pH değeri 1 M HCl ile 7'ye ayarlanmıştır. Çözelti, 48 saat süreyle distile su ile 1000 Dalton moleküler ağırlık kesimli diyaliz membranı kullanılarak her 12 saatte bir distile su yenilenerek diyaliz edilmiştir. Diyalizin ardından karışım dondurarak kurutucuda (Christ Alpha 2-4 LD Plus, Martin Christ, Almanya) 48 saat süre ile kurutulmuştur. Sonuçta katı formda furan ile değiştirilmiş jelatin (f-jelatin) elde edilmiştir.

F-jelatin karakterizasyonu

Bruker Avance 300 MHz Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR) kullanılarak, jelatin ve f-jelatinin ¹H NMR spektrumları, 10 ila 20 mg numunenin 1 ml döteryumoksit (D₂O, Aldrich, ABD) içinde çözülmesinden sonra analiz edilmiştir. Buna ek olarak Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FDKS) ile furfuril grubunu eklemenin jelatinin muhtemel kimyasal bağ etkileşim ve değişimlerine etkisine bakılmıştır.

Ölçümler transmisyon modunda 2000 ile 600 cm⁻¹ aralığında gerçekleştirilmiştir.

Kurkumin çözeltisinin spektral analizi

Gerekli miktarda kurkumin tartılmış ve oda sıcaklığında etanol ile karıştırılmıştır. Santrifüj kullanılarak maksimum verimli çözünürlük değeri belirlenmiştir. Etanol kurkumin karışımı 1/500 hacim/hacim oranında etanol ile seyreltilmiştir. Spektrometre kullanılarak 428 nm dalga boyunda solüsyonun ışık soğurma miktarı ile Beer-Lambert kanunu uygulanarak Eşitlik (1) ile konsantrasyon hesaplanmıştır. Spektrometrede referans olarak saf etanol kullanılmıştır (Calloway, 1997).

$$A = \epsilon * C * L \quad (1)$$

Eşitlik (1)'de A ışık soğurma, C molar konsantrasyonu ve L optik yol uzunluğunu (küvet ışık yolu 1 cm) göstermektedir. ϵ kurkuminin etanol içerisindeki molar soğurma katsayısını ifade etmekte ve literatürden bu değer 54954 M⁻¹cm⁻¹ olarak alınmıştır (Jasim ve Ali, 1989).

UV-Vis spektrofotometre (Optizen Pop, Mecasys, Seoul, Kore) kullanılarak kurkumin (0.015 mg/ml) çözeltisinin 100 mM fosfat süspansiyonu içerisinde pH 1 ve 12 değer aralığındaki ışık tayfı ölçülmüştür.

Film hazırlama

Öncelikle distile su içerisinde iki farklı %5 ağırlık/hacim (a/h) sığır jelatini ve f-jelatin stok çözeltileri hazırlanmıştır. Film yapım öncül çözeltisinin içerisinde %4 a/h jelatin ve %1 a/h gliserol son konsantrasyonu sabit tutulmuştur. Etanol içerisinde 1.5 mg/ml kurkumin stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden öncül çözeltiye yapılacak filmin özelliğine bağlı olarak %10 h/h veya %20 h/h kurkumin eklenmiş ve gerekli olması durumunda öncül çözelti toplam hacim etanol ile tamamlanmıştır. Deneylerde ayrıca görünür ışık etkisini net olarak gözlemleyebilmek için 3 tip kontrol film örneği ile çalışılmıştır. Bu örnekler öncül film çözeltisinin gliserol ve jelatin konsantrasyonları yukarıda ifade edildiği şekilde sabit tutularak kurkumin eklenmemiş sığır jelatini ve f-jelatin ile %20 h/h kurkumin içeren sığır jelatini filmleridir. Film öncül çözeltileri hazırlandıktan sonra polipropilen petri kaplarına (90 mm çaplı) dökülmüştür. Petri

kapları ışık almayan bir kutunun içerisine yerleştirilmiş ve petri kapları içerisindeki çözeltiler 15 cm yükseklikten 30 dakika boyunca halojen (HalogenA Par38, 100 W, Philips) ışığın görünür dalga boyuna (400-800 nm) maruz bırakılmıştır. Ardından 48 saat desikatörde silika jellerle ortam bağıl nemi %10 civarında kontrol altında tutularak 23°C sıcaklıkta kurutulmuştur. Son olarak ölçümler filmler bağıl nemi %50 olan 23°C'deki iklimlendirme kabini (TK120, Nuve, Ankara, Türkiye) içerisinde en az 48 saat koşullandırıldıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Kontrol filmler olan kurkuminsiz furfurilsiz sıgır jelatini filmi, kurkuminsiz f-jelatini filmi ve %20 h/h kurkumin ile furfurilsiz sıgır jelatini filmi sırasıyla K0-F0G, K0-FG ve K20-F0G olarak adlandırılmışlardır. Diğer taraftan %10 h/h kurkumin ve %20 h/h kurkumin ile f-jelatininden hazırlanan filmler sırasıyla K10-FG ve K20-FG olarak isimlendirilmiştir.

Üretilen Filmlerin Karakterizasyon Analizleri

Kalınlık

Filmlerin kalınlığı 7 ayrı noktadan dijital mikrometre (LOYKA 5202-25, Loyka, Ankara, Türkiye) ile ölçülmüştür. Mekanik özelliklerin ve su buharı geçirgenliğinin belirlenmesi için ortalama film kalınlığı verileri kullanılmıştır.

Mekanik özelliklerin tayini

ASTM standart (ASTM D882-09,2009) yöntemi ile filmlerin gerilme direncini ve kopma anındaki uzama miktarı (%) belirlemek için tekstür analizörü (Brookfield CT3 Texture Analyzer, Middleboro, ABD) kullanılmıştır. Cihazda kullanılan filmlerin boyutları 2 cm x 8 cm olarak belirlenmiştir. Ölçümler, 25°C sıcaklıkta kontrollü bir odada tetik yükü 0.1 Newtona ve test hızı 0.4 mm/s'ye ayarlanarak gerçekleştirilmiştir. Gerilme direnci, maksimum yükün filmin kesit alanı ile bölünmesi ile bulunmuştur. Kopma anındaki uzama miktarı (%), numunenin başlangıçtaki uzunluğu ile kopma anındaki uzunluğu arasındaki değişim yüzdesi kullanılarak karar verilmiştir.

Su buharı geçirgenliğinin tayini

Su buharı geçirgenliği için ASTM metodu (ASTM E96-05, 2005) kullanılmıştır. İç çapı 4 cm olan PTFE silindirik test kapları %100 bağıl nemi

sağlamak için 35 ml su ile doldurulmuştur. Film örnekleri kap ve kapağı arasına sıkıştırılmıştır. Kapların ilk ağırlıkları kaydedilmiş ve sonra kaplar 23°C sıcaklıkta %0 bağıl neme sahip silika jel dolu bir desikatör içerisine yerleştirilmiştir. Sıcaklık, bağıl nem ve kapların ağırlıklarındaki değişim 12 saat boyunca her saat ölçülmüş ve filmlerin su buharı geçirgenliğinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Filmlerin ölçülen su buharı geçirgenliği değerleri Eşitlik (2) kullanılarak karar verilmiştir (Mchugh vd., 1993).

$$SBG = \frac{m \cdot d}{A \cdot P \cdot (1 - R_{avg})} \quad (2)$$

Bu denklemde, m her eğrinin eğimi (Dm/Dt, g H₂O/s), d film kalınlığı (m), A nüfuz alanı (m²), P 23°C derece sıcaklıkta doymuş su buharı basıncı (P) ve R_{avg} ortalama bağıl nemi ifade etmektedir.

Suda çözünme tayini

Filmlerin suda çözünmesi değerlerine Gontard ve arkadaşlarının (1994) çalışmasındaki yöntem kullanılarak karar verilmiştir. Suda çözünme testi için filmler 1 cm x 2 cm ebadında kesilmiş ve tartılmıştır. Daha sonra distile su içerisine konulmuş ve 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Aynı anda filtre kağıtları ve nem ölçümü için 3 adet film 105°C sıcaklıkta etüv fırında sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Daha sonra filtre kağıtları ve filmler fırından çıkarılıp tartılmıştır. Nem oranı ağırlık değişimi ile hesaplanmıştır. Sonra filmler filtre kağıtları ile süzölmüştür. Toplanan çözünmemiş kısım sabit ağırlığa gelene kadar 105°C etüv fırında kurutulup filmlerin kuru ağırlıklarına karar verilmiştir. Filmlerin başlangıç ağırlığı ile çözünme testinden sonra elde edilen kuru ağırlık kullanılarak suda çözünme yüzdesi hesaplanmıştır.

Isıl özelliklerin tayini

Isıl özellikler diferansiyel tarama kalorimetre (DTK) (Perkin Elmer, DSC 4000, CT, ABD) cihazı içerisinde -20°C ile 230°C sıcaklık aralığında gösterdikleri davranışlara göre karar verilmiştir. Ölçümler için hazırlanan film numuneleri dondurarak kurutucuda 48 saat süreyle kurutulmuşlardır. Alüminyum DTK numune kabına küçük parçalar haline getirilen filmler (5-10 mg) yerleştirilmiştir. Boş olarak kapatılan numune kabı, referans olarak kullanılmıştır.

Mikro yapı tayini

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) (Nova NanoSEM 430 elektron mikroskobu (FEI, Oregon, ABD), filmlerin kesit mikro yapılarını incelemek için kullanılmıştır. Film örnekleri sıvı nitrojen içerisine daldırılmış ve sonrasında dondurarak parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Parçalama işleminden sonra numuneler çift taraflı karbon bant ile alüminyum koçan üzerine sabitlenerek karbon ile kaplanmıştır. Filmlerin kesit alanları farklı büyütme oranında 20 kV değerinde yüksek voltajda görüntülenmiştir.

Filmlerin uçucu amonyak gazıyla renk değişimi

Uçucu amonyak gazının farklı konsantrasyonlarına karşı filmlerin gösterecekleri renk değişimi akıllı paketleme uygulamaları için oldukça önemli niteliktedir. Bu amaçla 25 ml beher içerisinde uçucu amonyak gazını temsilen farklı konsantrasyonlarda amonyak çözeltisi hazırlanmıştır. Beher içerisindeki uçucu amonyak gazı konsantrasyonu (mg/100 g) Raoult yasasına göre 23°C sıcaklıkta amonyak buhar basıncı kullanılarak hesaplanmıştır (Ma vd., 2018). Hazırlanan filmler 2x2 cm ebadında kesilmiş ve çift taraflı bant ile şeffaf streç filme sabitlenmiştir. Daha sonra filmler farklı uçucu amonyak gazı konsantrasyonlarında çözelti içeren beherlerin 1 cm üzerine içeride kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Şeffaf filmlerin kalanı çözeltilerin hava ile temasını kesecek şekilde beherin ağız kısmında sıkıca kapatılmıştır. Klima ile sabitlenmiş oda sıcaklığında (23°C) 18 saat saklanan filmlerin tüm renk ölçümleri CIE L*, a*, b* değerleri okuyan kolorimetre (Model, CR-410; Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) ile gerçekleştirilmiştir. Cihazda referans olarak beyaz kalibrasyon plakası alınmıştır. ΔE^* değerleri Eşitlik (3) kullanılarak hesaplanmıştır.

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

Veri analizi

Tüm deneyler için üçerli örnekleme yapılmıştır. İstatiksel analizler tüm deney aşamalarında sonuçları değerlendirmek için istatistiksel analiz yazılımı (OriginPro) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DeneySEL verilerin istatistiksel

değerlendirmesi için Tukey posthoc testi ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) anlamlı farklılık değeri $p < 0.05$ olacak şekilde yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

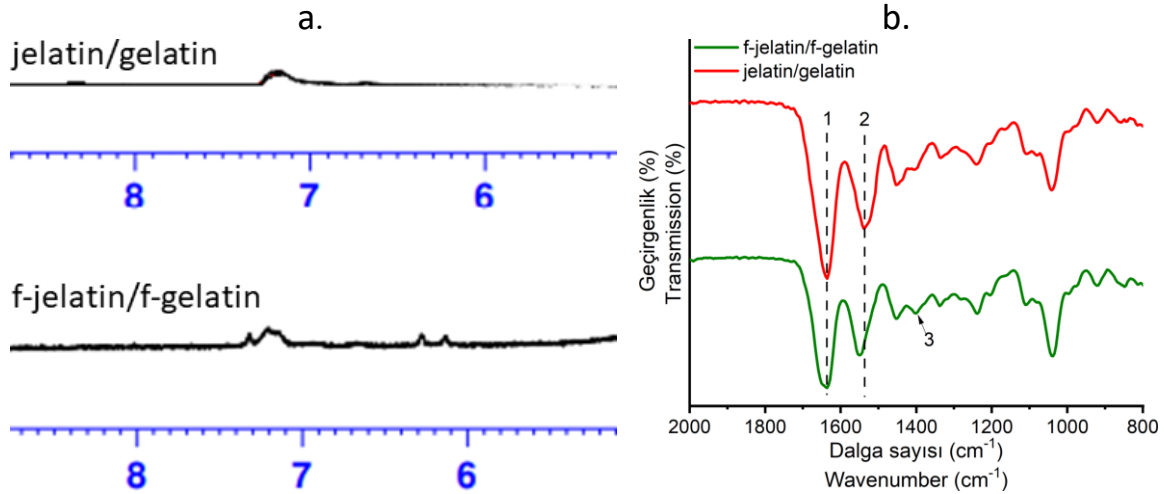
Jelatin sahip olduğu fonksiyonel hidroksil ve amin gruplarının etkisiyle izosiyanat ile aprotik ve inert dimetil sülfoksit gibi çözücülerin varlığında reaksiyona girmeye eğilimlidir. Genel olarak çapraz bağ yapımı izosiyanit ile jelatinin yapısında bulunan lizin, arginin gibi amino asitlerin bağımsız amin gruplarıyla serin, treonin ve tirozin gibi amino asitlerin hidroksil grupları arasında gerçekleşir (Bertoldo vd., 2007). Bunun yanı sıra izosiyanatların çok yönlü kimyası, furan gibi fonksiyonel gruplara sahip izosiyanat türevleri kullanıldığında çok işlevli sistemler sunar. Bu çalışmada f-jelatin furan grubunun furfural izosiyanatların yardımıyla sığır jelatinine katılmasıyla sentezlenmiş ve sentezlenen f-jelatinin ışık duyarlaştırıcı ajanlar vasıtasıyla fotooksidasyon reaksiyonuna katılarak film yapımında kullanılması hedeflenmiştir. Bu amaçla ışığa duyarlaştırıcı olduğu bilinen doğal ve biyoyoumlu kurkumin kullanılmıştır (Seidi Danyeh vd., 2020). Mevcut çalışmada görünür ışığı soğuran kurkuminin düşük enerjili atmosferik oksijeni oldukça reaktif tekli oksijene dönüştüreceği ve sentezlenen f-jelatin yapısı içerisinde çapraz bağ yapıcı olarak çalışacağı öngörülmektedir.

F-jelatin Karakterizasyonu

Jelatin ve f-jelatinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumları test edilmiştir (Şekil 1a). Jelatinde bulunan fenilalanin içindeki radikal grup bir benzen halkasıdır ve benzen protonu nedeniyle $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda 7.1604 ppm değerinde geniş bir tepe görülmüştür (Mazaki vd., 2014). F-jelatin örneklerinin $^1\text{H-NMR}$ sonuçlarında, 7.2068 ppm değerinde bu pik daha küçük gözlenmiştir. Ayrıca bu pike ek olarak 7.3234, 6.2802 ve 6.1399 ppm değerlerinde üç pik daha görülmüştür. Benzer şekilde furan grubu için $^1\text{H-NMR}$ zirvelerinin 7.435 ve 6.380 ppm değerlerinde olduğu literatürde gösterilmiştir (Son vd., 2010). Hepsi bir arada değerlendirildiğinde, f-jelatin için ekstra piklerin furan grubunun varlığını temsil ettiği sonucuna varılmıştır. Sığır jelatinini furfural grubu

ile fonksiyonel hale getirilmeden önceki ve sonraki FDKS tayfı Şekil 1b’te gösterilmiştir. İşaretlenen dalga boylarından 1. ve 2.si jelatinin karakteristik noktalarını göstermektedir. İlki 1630 cm^{-1} dalga sayısında amit 1 bandı C=O gerilme titreşimine, ikincisi 1540 cm^{-1} dalga numarasında amit 2 bandı N-H bükülme titreşimine karşılık gelmektedir (Farris vd., 2010). Jelatin FDKS tayfı

literatür ile uyum göstermektedir (García-Astrain vd., 2014). Furan varlığı f-jelatin örneğinin furan halkalarının 1480 cm^{-1} civarında gösterdiği gerilme titreşimleri ile gösterilmiştir (Guaresti vd., 2017; Nimmo vd., 2011). Özetle ^1H -NMR ve FDKS sonuçları sıgır jelatininin furan grubu ile başarı bir şekilde fonksiyonel hale getirildiğini kanıtlar niteliktedir.



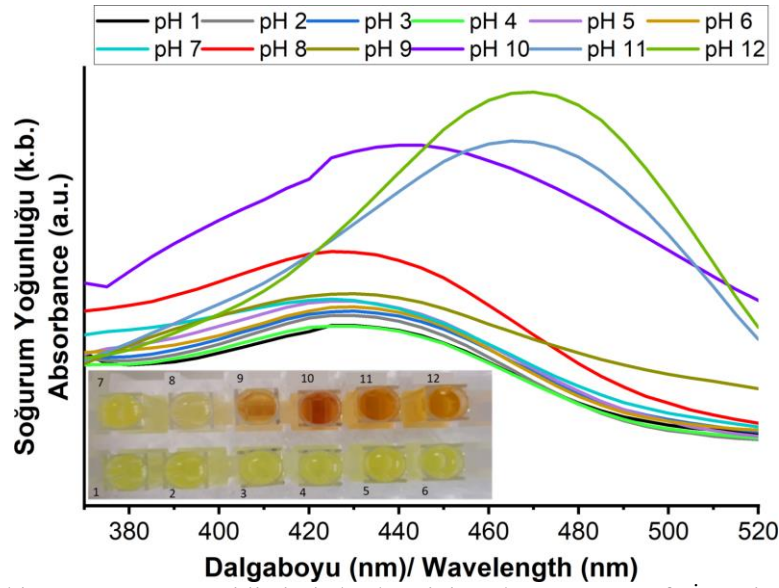
Şekil 1.a. Jelatin ve f- jelatinin ^1H -NMR spektrumları b. Sığır jelatini furfuril grubu ile fonksiyonel hale getirilmeden önce ve sonra FDKS tayfı

Figure 1.a. ^1H -NMR spectra of gelatin and f-gelatin b. FTIR spectra of gelatin before and after furfuryl functionalization

Kurkuminin optik karakterizasyonu

Kurkuminin ortam pH değerine göre beklendiği şekilde renk değiştirmesi, geliştirilmesi planlanan kolorimetrik filmlerin başarılı bir şekilde uygulanması için çok önemlidir. Çünkü özellikle proteince yüksek gıdalar bozulmaya başladıklarında salınan uçucu bazik azot gazları ortam pH değerini yükseltir (Ezati ve Rhim, 2020). Bu nedenle kurkumin çözeltisinin pH aralığı 1 ile 12 arasındaki ışık soğurması ölçülmüş ve soğurma tayfı Şekil 2’de gösterilmiştir. Maksimum ışık soğurma pH 8 değerine kadar 435 nm dalga boyunda gözlemlenirken daha yüksek pH değerlerinde maksimum ışık soğurma 470 nm dalga boyuna doğru kaymıştır. Bu kayma renkte kırmızıya eğilim olduğunu yani enerji seviyelerinin düştüğünün bir göstergesidir. Bu durum kurkuminin kimyasal yapısının pH ile değişimi ile açıklanabilir. Kurkumin bis-alpha-beta doymamış

beta kiton yapısına sahip olup, bu yapı enol tautomerik haliyle denge halindedir (Sharma vd., 2005). Kurkumin bis-keto yapısı nedeniyle asidik pH değerlerinde proton bağışlayıcı olarak davranır. Bu nedenle, asidik ortamda görünen tepe dalga boyu kurkuminin π - π geçişimlerindeki dönüşüm nedeniyle elektron uyarımına bağlıdır. Diğer taraftan bazik koşullar altında enolet yapısı baskın hale gelerek elektron bağışlayıcı olarak hareket eder. Alkali ortamda tepe dalga boyunda meydana gelen kayma ise daha önce belirtildiği gibi protondan arındırılmış kurkumin yapısına neden olur (Liu vd., 2018). Tampon çözelti içerisinde asidiktan bazik pH değerlerine geçişte sarıdan koyu turuncuya renk değişimi beklendiği gibi gerçekleşmiş ve Şekil 2 iç resimde gösterilmiştir.



Şekil 2. Farklı pH tampon çözeltilerinde kurkuminin ışık soğurma tayfı. İç resim : Farklı pH değerindeki tampon çözeltiler içerisindeki kurkuminin renk değişimi

Figure 2. Light absorption spectrum of curcumin in different pH buffer solutions. Inside image: Color change of curcumin in buffer solutions at different pH values

Film Karakterizasyonu

Filmlerin Mekanik, Bariyer ve Suda Çözünme Özellikleri

Filmlerin gıda uygulamalarında kullanılabilmesi için mekanik yapısını koruyabilmesi önem taşımaktadır. Gerilme direnci ve kopma anındaki uzama miktarı (%) değerlerini test etmek bu açıdan gereklidir. Farklı miktarlarda kurkumin ihtiva eden f-jelatin filmleri ile kontrol filmlerinin mekanik testlerinin sonuçları Çizelge 1’de gösterilmiştir. F-jelatin ile üretilmiş filmlerin gerilme direnci istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiş ve film mekanik özelliklerinin güçlendiği gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak önemli bir fark göstermemiş olsa da filmlere kurkumin eklenmesi ile gerilme direncinde artış eğilimi görülmüştür. Diğer taraftan düşük kurkumin konsantrasyonunda f-jelatin filmlerin kopma anındaki uzama miktarı (%) değerlerinde istatistiksel olarak önemli farklılık görülmemiştir. Ancak f-jelatin filmlerin en yüksek kurkumin konsantrasyonunda, K20-FG kopma uzaması değerleri diğer film örneklerine göre istatistiksel olarak önemli derecede azalmıştır. Benzer şekilde kurkumin eklenerek elde edilen sıgır jelatini filmlerin mekanik özelliklerinin iyileştiği literatürde gösterilmiştir (Roy ve Rhim, 2020). Bu

iyileşme polimer ve kurkumin arasında hidrojen bağ etkileşimine bağlanmıştır. Başka bir çalışmada f-jelatin ile görünür ışık altında eosin Y ve riboflavin çapraz bağ yapıcı ajanlar olarak kullanılarak hazırlanan hidrojellerin mekanik özelliklerinin iyileştiği ortaya konmuştur (Hussain vd., 2021). Mevcut çalışmada gözlemlenen gerilme direncindeki artış kurkuminin görünür ışık altında ışık duyarlaştırıcı olarak fotooksidasyon reaksiyonunu başlatarak f-jelatin filmlerin yapısını kuvvetlendirmesiyle açıklanabilir.

Filmlerin gıda uygulamalarında kullanılabilmesi için suda çözünürlük ve su buharı geçirgenliğinin düşük olması gerekmektedir. Kurkumin eklenmiş ve eklenmemiş kontrol jelatin filmler karşılaştırıldığında kurkuminin suda çözünme ve su buharı geçirgenliğini azaltıcı bir etki yarattığı gözlemlenmiştir (Çizelge 2). Kurkumin eklenmiş filmlerin suda çözünürlük değerlerindeki azalma kurkuminin hidrofobik yapısına bağlanabilir. Su buharı geçirgenliğinde gözlemlenen azalış ise serbest -OH/-NH gruplarını azalması veya biyopolimerin kristallik derecesinin artarak film boyunca buhar difüzyonu için dolambaçlı bir yolun oluşmasına sebebiyet vermesine

bağlanabilir (Roy ve Rhim, 2020). Diğer taraftan jelatin tek başına hidrofilik olduğundan su buharı geçirgenliği ve suda çözünürlüğü yüksektir. Bu sebeple paketleme uygulamalarında kullanılabilmesi için furan gibi destekleyici fonksiyonel gruplarla kimyasal olarak değiştirilmeye ihtiyaç duymaktadır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde f-jelatin filmlerin kurkumin etkisi altında suda çözünürlüklerinde istatistiksel olarak önemli bir düşüş olurken su buharı geçirgenliklerinde önemli bir değişiklik

olmamıştır. Benzer şekilde furan grubuyla modifiye edilen jelatinin UV ışınımına maruz bırakıldığında suda çözünmesinin azaldığı gözlemlenmiştir (García-Astrain vd., 2015). Söz konusu azalış çapraz bağ oluşumunun başarı ile gerçekleştiğini gösterir niteliktedir. Sonuç olarak kurkumin eklemenin ve jelatini furan grubu ile modifiye etmenin literatürde gösterildiği gibi görünür ışıktaki film yapımına olumlu yönde katkı sağladığı belirlenmiştir (Park vd., 2012).

Çizelge 1. Farklı özellikteki filmlerin gerilme direnci ve kopma anındaki uzama miktarı (%)

Table 1. Tensile strength and elongation at break (%) of films with different properties

Film	Kalınlık (mm) Thickness (mm)	Gerilme Direnci (N/mm ²) Tensile Strength (N/mm ²)	Kopma Uzaması (%) Elongation at Break (%)
K0-F0G	0.040±0.011 ^a	27.1 ± 2.24 ^a	38.9 ± 2.74 ^a
K20-F0G	0.036±0.005 ^a	38.5 ± 11.08 ^{ab}	33.7 ± 9.10 ^a
K0-FG	0.038±0.005 ^a	41.3 ± 7.89 ^b	32.6 ± 0.18 ^a
K10-FG	0.044±0.010 ^a	69.6 ± 6.07 ^c	33.4 ± 6.89 ^a
K20-FG	0.038±0.006 ^a	68.9 ± 0.29 ^c	20.7 ± 0.07 ^b

*Aynı sütundaki farklı harfler, Tukey testine göre örnekler arasında farklılıklar olduğunu gösterir (P < 0.05). K0-F0G: Jelatin film, K20-F0G: %20 h/h kurkumin eklenmiş jelatin film, K0-FG: f-jelatin film, K10-FG: %10 h/h kurkumin eklenmiş f-jelatin film, K20-FG: %20 h/h kurkumin eklenmiş f-jelatin film

*Different letters in the same column indicate differences between samples according to the Tukey test (P < 0.05).

K0-F0G: Gelatin film, K20-F0G: Gelatin film with 20% v/v curcumin added, K0-FG: f-gelatin film, K10-FG: f-gelatin film with 10% v/v curcumin added, K20-FG: f-gelatin film with 20% v/v added curcumin

Çizelge 2. Farklı özellikteki filmlerin suda çözünme ve su buharı geçirgenliği

Table 2. Water solubility and water vapor permeability of films with different properties

Film	Suda çözünürlük (%) Water solubility (%)	Su Buharı Geçirgenliği/ Water vapor permeability (*10 ⁻¹⁰ g*mm/h*m ² *kPa)
K0-F0G	85.82 ± 2.679 ^a	2.86 ± 0.006 ^a
K20-F0G	78.34 ± 2.351 ^b	2.37 ± 0.001 ^{ab}
K0-FG	75.75 ± 4.933 ^b	1.63 ± 0.003 ^b
K10-FG	49.72 ± 3.534 ^c	1.41 ± 0.001 ^b
K20-FG	40.37 ± 4.563 ^d	1.27 ± 0.007 ^b

*Aynı sütundaki farklı harfler, Tukey testine göre örnekler arasında farklılıklar olduğunu gösterir (P < 0.05). K0-F0G: Jelatin film, K20-F0G: %20 h/h kurkumin eklenmiş jelatin film, K0-FG: f-jelatin film, K10-FG: %10 h/h kurkumin eklenmiş f-jelatin film, K20-FG: %20 h/h kurkumin eklenmiş f-jelatin film

*Different letters in the same column indicate differences between samples according to the Tukey test (P < 0.05).

K0-F0G: Gelatin film, K20-F0G: Gelatin film with 20% v/v curcumin added, K0-FG: f-gelatin film, K10-FG: f-gelatin film with 10% v/v curcumin added, K20-FG: f-gelatin film with 20% v/v added curcumin

Filmlerin Isıl Özellikleri

DTK ile yapılan ölçümler sonucu filmlerin ısı ile etkileşimi DTK eğrilerinde endotermik tepe noktaları (T_m) olarak gözlemlenir. Çizelge 3’de farklı kurkumin konsantrasyonları ile 30 dakika görünür ışık maruziyeti sonucu elde edilen sıgır jelatini ve f-jelatin filmlerin geçiş sıcaklıkları ve entalpi değişimlerini (ΔH) listelenmiştir. Hazırlanan tüm filmlerde iki endotermik tepe noktası gözlemlenmiştir. Bunlardan 80 °C civarında olan ilk endotermik tepeler suyun buharlaşmasına atfedilirken 175 ila 200 °C arasında tespit edilen endotermik tepeler jelatinin sarmal bobin geçişine atfedilmiştir (Peña vd., 2010). Farklı film örneklerin için ilk tepe nokta sıcaklıkları ve karşılık gelen entalpi değişimlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir. İkinci endotermik geçiş sıcaklıkları jelatin furan grubu ile modifiye edildiğinde önemli bir azalış göstermiştir. Jelatin yapı içerisinde prolin ve hidroksiprolin amino asitleri üçlü sarmal oluşumu ile sonuçlanan hidrojen bağlarının oluşumundan sorumludur (Van Hoorick vd., 2018). Geçiş sıcaklığında

benzer bir azalış daha önce literatürde furan grubunun jelatin yan zincirlerine eklenmesiyle gözlemlenmiştir. Eklenen furan grubunun jelatin zincirleri arasında hidrojen bağlarının oluşumunu bozarak üçlü sarmal oluşumunu engelleyebileceği ve bu nedenle geçiş sıcaklığında azalışa sebebiyet verebileceği ortaya konmuştur (García-Astrain vd., 2014). Diğer taraftan kurkuminin f-jelatine eklenmesiyle geçiş sıcaklıkları ve ilgili entalpi değerleri yükseliş eğilimi göstermiştir. Çünkü kurkuminin varlığında oluşan tekli oksijen fotooksidasyon reaksiyonu sonucunda f-jelatinin furan grupları ile etkileşime girerek çapraz bağ oluşumunu arttırmaktadır. Benzer şekilde jelatin yapı içerisinde çapraz bağ oluşumu desteklendiğinde jelatin zincirlerinin hareketliliğinin engellenerek geçiş sıcaklığının arttığı gösterilmiştir (Son vd., 2010). Özetle furan grubu ile jelatini modifiye etmek ısı kararlılığını olumsuz etkilese de kurkumin varlığında fotooksidasyon reaksiyonunun etkisiyle filmlerin termal olarak daha kararlı hale getirildikleri ortaya konmuştur.

Çizelge 3. Farklı özellikteki filmlerin endotermik entalpileri (DH) ve sıcaklıkları (T)

Table 3. Endothermic enthalpies (DH) and temperatures (T) of films with different properties

Film	T1 (°C)	DH1 (J/g)	T2(°C)	DH2 (J/g)
K0-F0G	76.9 ± 4.75 ^a	11.8 ± 11.4 ^a	192.6 ± 5.17 ^a	29.4 ± 25.51 ^a
K20-F0G	79.3 ± 1.72 ^a	15.1 ± 10.06 ^a	184.6 ± 10.30 ^{ab}	33.3 ± 31.4 ^a
K0-FG	78.1 ± 2.31 ^a	15.4 ± 6.14 ^a	163.2 ± 7.11 ^b	72.8 ± 12.90 ^a
K10-FG	74.2 ± 11.33 ^a	15.2 ± 5.53 ^a	182.4 ± 7.87 ^{ab}	85.6 ± 7.53 ^a
K20-FG	77.2 ± 4.29 ^a	8.9 ± 7.09 ^a	190.8 ± 4.43 ^{ab}	84.9 ± 1.85 ^a

*Aynı sütundaki farklı harfler, Tukey testine göre örnekler arasında farklılıklar olduğunu gösterir ($P < 0.05$). K0-F0G: Jelatin film, K20-F0G: %20 h/h kurkumin eklenmiş jelatin film, K0-FG: f-jelatin film, K10-FG: %10 h/h kurkumin eklenmiş f-jelatin film, K20-FG: %20 h/h kurkumin eklenmiş f-jelatin film

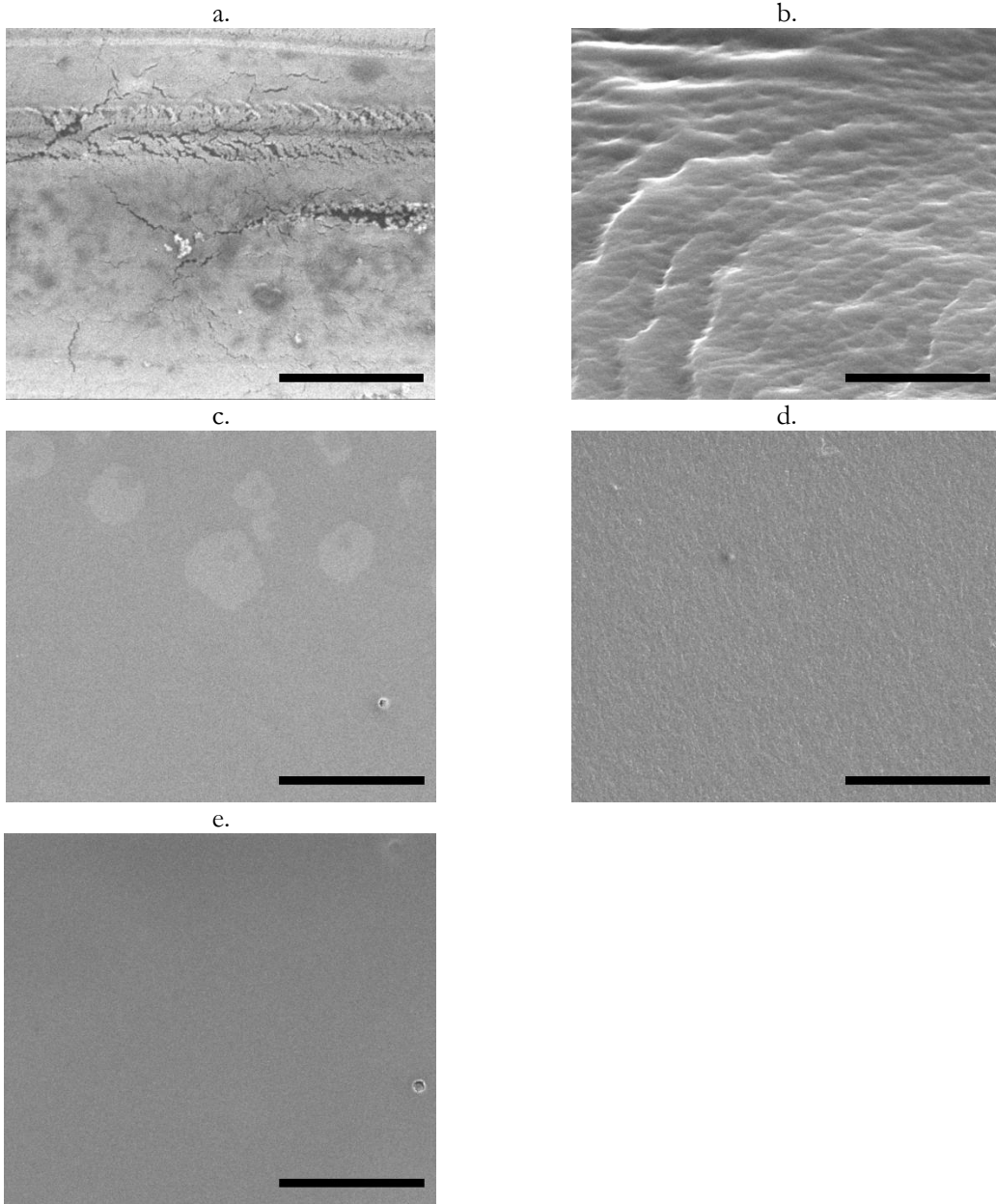
*Different letters in the same column indicate differences between samples according to the Tukey test ($P < 0.05$).

K0-F0G: Gelatin film, K20-F0G: Gelatin film with 20% v/v curcumin added, K0-FG: f-gelatin film, K10-FG: f-gelatin film with 10% v/v curcumin added, K20-FG: f-gelatin film with 20% v/v added curcumin

Filmlerin Mikro Yapı Analizleri

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) ile filmlerin kesit görüntüleri elde edilmiş ve morfolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 3’de görüldüğü üzere, kurkumin eklenmiş ve furan grubu ile modifiye edilmiş jelatinden elde edilen filmlerde daha düz ve gözeneksiz bir yapı gözlemlenmiştir.

Kurkumin eklenmesi ile pürüzsüz görünümde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Bu temiz ve pürüzsüz morfoloji kurkumin ve f-jelatin arasındaki mükemmel kimyasal uyuma bağlanabilir (Park vd., 2021). Elde edilen bu sonuçlar mekanik ve bariyer karakterizasyon test sonuçlarını doğrular niteliktedir.



Şekil 3. Farklı özellikteki filmlerin Taramalı Elektron Mikroskopundan alınmış kesit alanı görüntüleri a. K0-F0G b. K20-F0G c. K0-FG d. K10-FG e. K20-FG (ölçek çubuğu: 5 µm)

Figure 3. Cross-sectional images of films with different properties taken from Scanning Electron Microscope a. K0-F0G b. K20-F0G c. K0-FG d. K10-FG e. K20-FG (scale bar: 5 µm)

Filmlerin Renk Özellikleri

Mekanik ve bariyer karakterizasyon testleri sonucunda görünür ışık altında f-jelatinden geliştirilen filmler içinden en iyi sonucu yüksek kurkumin konsantrasyonuna sahip olan K20-FG filmlerden elde edildiği sonucuna varılmıştır.

Özellikle proteince yüksek et ve türevleri bozulmaya başladıklarında enzimatik ve bakteriyel aktiviteler sonucunda başta amonyak, trimetilamin ve dimetilamin olmak üzere uçucu azot gazları sisteme salınırlar (Moradi vd., 2019). Başlıca uçucu azot gazları içerisinde en düşük

kaynama noktasına sahip amonyak gazı kurkuminin renk değişimini gözlemlemek için model uçucu azot gazı olarak seçilmiştir. Bu amaçla uçucu amonyak gazı ile farklı konsantrasyonlarda solüsyonlar hazırlanıp K20-FG filmlerinin renk değişimleri (ΔE^*) beyaz kalibrasyon plakası baz alınarak hesaplanmıştır ve Çizelge 4'te gösterilmiştir. Kurkuminin polifenolik yapısı amonyakın hidroksil grupları ile bir asit-baz reaksiyonuna girerek daha önce farklı pH değerlerinde de gözlenen renk değişimine sebebiyet verebilmektedir (Ezati ve Rhim, 2020). Beklendiği şekilde amonyak gazı konsantrasyonu arttıkça filmlerin rengi sarıdan turuncuya

dönüştür. Bozulabilir gıdalardaki toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) miktarı gıdaların tazeliğini, bozulmasını yani raf ömrünü belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin tavuk bonfile/göğüs eti için TS 2409:2014/Tavuk-Gövde etleri (Karkas) standartlarına göre sınır toplam uçucu bazik azot değeri 30 mg/100 g olarak verilmiştir. Bu çalışmada tavuk eti için geçerli sınır değer ve üzerinde film renk değişiminin istatistiksel olarak önemli ölçüde değiştiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak geliştirilen jelatin filmin gıda tazeliğini izleyebilecek akıllı bir etiket olarak kullanılabilecek nitelikte olduğu ortaya konulmuştur.

Çizelge 4. K20-FG filmlerin farklı konsantrasyonlarda uçucu amonyak gazı ile beyaz referans değerine karşı renk değişimi değerleri ve görüntüleri

Table 4. Color difference values relative to white reference and the corresponding images of K20-FG films against different concentrations of volatile ammonia gas

Amonyak gaz konsantrasyonu/ Gaseous ammonia concentration (mg/100ml)	ΔE^*	Kesit Görüntü/ Cropped Image
0	56.3±3.29 ^a	
15	61.6 ± 0.62 ^b	
30	66.4 ± 0.87 ^c	
60	70.1 ± 2.35 ^{cd}	
120	73.1± 1.27 ^d	

*Aynı sütundaki farklı harfler, Tukey testine göre örnekler arasında farklılıklar olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

*Different letters in the same column indicate differences between samples according to the Tukey test ($P < 0.05$).

SONUÇ

Bu çalışmada ilk olarak jelatin furan grubu ile başarılı bir şekilde görünür ışığa duyarlı hale getirilmiştir. Kurkumin ve f-jelatin ile görünür ışık altında hazırlanan filmlerin mekanik ve bariyer özelliklerinin geliştiği gösterilmiştir. Aynı zamanda kurkumin ve ışık varlığında f-jelatin filmlerin çapraz bağ miktarındaki artış ile kurkuminin hidrofobik yapısı filmlerin suda çözünürlük ve su buharı geçirgenliğinde azalma

şeklinde etki etmiştir. Filmlerin morfolojik ve yapı analizleri de çıkan bu sonuçları destekleyici yönde gözlemlenmiştir. Yapılan film karakterizasyon testlerinin sonucunda K20-FG filmleri renk analizleri için seçilmiştir. Gıda bozulmasının takibinde kullanılan toplam uçucu amin gazlarının çıkışı farklı konsantrasyonlarda amonyak gazı hazırlanarak simule edilmiştir. K20-FG filmlerinin farklı amonyak gazı konsantrasyonlarındaki renk değişimi sarının

tonları şeklinde gözlemlenmiş ve renk değişim değerleri hesaplanmıştır. Amonyak gaz algı testleri, proteince yüksek gıdaların gerçek zamanlı bozulma takibinin K20-FG filmleri ile yapılabileceğini ortaya koymuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yazarların başka kişiler ya da kurumlarla çıkar çatışmaları bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma LNK tarafından tasarlanmış ve yürütülmüştür. Analizler İK tarafından gerçekleştirilmiştir. Makale LNK tarafından yazılmıştır.

TEŞEKKÜR

Orta Doğu Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine bu çalışmayı AGEP-314-2019-10101 nolu proje ile maddi olarak desteklediği için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

ASTM. (2005). Standard test method for water vapor transmission of materials (E 96- 05). Philadelphia, PA, USA.

ASTM. (2009). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-09). Philadelphia, PA, USA.

Bertoldo, M., Bronco, S., Gragnoli, T., Ciardelli, F. 2007. "Modification of gelatin by reaction with 1,6-diisocyanatohexane". *Macromolecular Bioscience*, 7(3):328-38.

Biji, K. B., Ravishankar, C. N., Mohan, C. O., Srinivasa Gopal, T. K. 2015. "Smart packaging systems for food applications: a review". *Journal of Food Science and Technology*, 52: 6125-35.

Buzby, J. C., Wells, H. F., Hyman, J. 2014. "The Estimated Amount, Value, and Calories of Postharvest Food Losses at the Retail and Consumer Levels in the United States, EIB-121, U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service". *SSRN Electronic Journal*, (121).

Calloway, D. 1997. "Beer-Lambert Law". *Journal of Chemical Education*, 74(7):744.

Ezati, P., Rhim, J. W. 2020. "pH-responsive pectin-based multifunctional films incorporated with curcumin and sulfur nanoparticles". *Carbohydrate Polymers*, 230:115638.

Farris, S., Song, J., Huang, Q. 2010. "Alternative reaction mechanism for the cross-linking of gelatin with glutaraldehyde". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2):998-1003.

García-Astrain, C., Gandini, A., Peña, C., Algar, I., Eceiza, A., Corcuera, M., Gabilondo, N. 2014. "Diels-Alder "click" chemistry for the cross-linking of furfuryl-gelatin-polyetheramine hydrogels". *RSC Advances*, 4(67): 35578-87.

García-Astrain, C., Peña-Rodriguez, C., Retegi, A., Eceiza, A., Corcuera, M. A., Gabilondo, N. 2015. "Green chemistry for the cross-linking of photo-sensitive furan modified gelatin". *Materials Letters*, 160:142-45.

Giroto, F., Alibardi, L., Cossu, R. 2015. "Food waste generation and industrial uses: A review". *Waste Management*, 45:32-41.

Gökdemir, B., Baylan, N., Çehreli, S. 2020. "Application of a Novel Ionic Liquid as an Alternative Green Solvent for the Extraction of Curcumin from Turmeric with Response Surface Methodology: Determination and Optimization Study". *Analytical Letters*, 53(13):2111-21.

Guaresti, O., García-Astrain, C., Palomares, T., Alonso-Varona, A., Eceiza, A., Gabilondo, N. 2017. "Synthesis and characterization of a biocompatible chitosan-based hydrogel cross-linked via 'click' chemistry for controlled drug release". *International Journal of Biological Macromolecules*, 102:1-9.

Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., ... Devleeschauwer, B. 2015. "World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010". *PLoS Med*, 12(12):e1001923.

Hussain, K., Aslam, Z., Ullah, S., Shah, M. R. 2021. "Synthesis of pH responsive, photocrosslinked gelatin-based hydrogel system

- for control release of ceftriaxone". *Chemistry and Physics of Lipids*, 238:105101.
- Jasim, F., Ali, F. 1989. "Measurements of some spectrophotometric parameters of curcumin in 12 polar and nonpolar organic solvents". *Microchemical Journal*, 39(2):156-9.
- Kim, S. W., Kim, J. W., Noh, S. H., Kim, E. H., Ito, Y., Nah, J. W., Son, T. Il. 2018. "Application of visible light curable furfuryl-low molecular chitosan derivative as an anti-adhesion agent". *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 66:438-45.
- Kuswandi, B., Jayus, Oktaviana, R., Abdullah, A., Heng, L. Y. 2014. "A novel on-package sticker sensor based on methyl red for real-time monitoring of broiler chicken cut freshness". *Packaging Technology and Science*, 27(1):69-81.
- Liu, J., Wang, H., Wang, P., Guo, M., Jiang, S., Li, X., Jiang, S. 2018. "Films based on κ -carrageenan incorporated with curcumin for freshness monitoring". *Food Hydrocolloids*, 83:134-142.
- Ma, Z., Chen, P., Cheng, W., Yan, K., Pan, L., Shi, Y., Yu, G. 2018. "Highly Sensitive, Printable Nanostructured Conductive Polymer Wireless Sensor for Food Spoilage Detection". *Nano Letters*, 18(7):4570-75.
- Mazaki, T., Shiozaki, Y., Yamane, K., Yoshida, A., Nakamura, M., Yoshida, Y., ... Matsukawa, A. 2014. "A novel, visible light-induced, rapidly cross-linkable gelatin scaffold for osteochondral tissue engineering". *Scientific Reports*, 4(4457):1-10.
- Mchugh, T. H., Avena-Bustillos, R., Krochta, J. M. 1993. "Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects". *Journal of Food Science*, 58(4):899-903.
- Moradi, M., Tajik, H., Almasi, H., Forough, M., Ezati, P. 2019. "A novel pH-sensing indicator based on bacterial cellulose nanofibers and black carrot anthocyanins for monitoring fish freshness". *Carbohydrate Polymers*, 222:115030.
- Musso, Y. S., Salgado, P. R., Mauri, A. N. 2016. "Gelatin based films capable of modifying its color against environmental pH changes". *Food Hydrocolloids*, 61:523-30.
- Musso, Y. S., Salgado, P. R., Mauri, A. N. 2019. "Smart gelatin films prepared using red cabbage (*Brassica oleracea* L.) extracts as solvent". *Food Hydrocolloids*, 89:674-81.
- Nimmo, C. M., Owen, S. C., Shoichet, M. S. 2011. "Diels-alder click cross-linked hyaluronic acid hydrogels for tissue engineering". *Biomacromolecules*, 12(3):824-30.
- Öz, V., Karadayi, Ş., Çakan, H., Karadayi, B., Kaya, A. 2014. "Food poisoning in emergency units". *Marmara Medical Journal*, 27(2):89-95.
- Park, J., Nam, J., Yun, H., Jin, H. J., Kwak, H. W. 2021. "Aquatic polymer-based edible films of fish gelatin crosslinked with alginate dialdehyde having enhanced physicochemical properties". *Carbohydrate Polymers*, 254:117317.
- Park, S. H., Seo, S. Y., Lee, H. J., Na, H. N., Lee, J. W., Woo, H. D., Son, T. Il. 2012. "Preparation of furfuryl-fish gelatin (F-f-gel) cured using visible-light and its application as an anti-adhesion agent". *Macromolecular Research*, 20(8):842-46.
- Peña, C., de la Caba, K., Eceiza, A., Ruseckaite, R., Mondragon, I. 2010. "Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition". *Bioresource Technology*, 101(17):6836-42.
- Roy, S., Rhim, J. W. 2020. "Preparation of antimicrobial and antioxidant gelatin/curcumin composite films for active food packaging application". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 188:110761.
- Seidi Damyeh, M., Mereddy, R., Netzel, M. E., Sultanbawa, Y. 2020. "An insight into curcumin-based photosensitization as a promising and green food preservation technology". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4):1727-59.
- Sharma, R. A., Gescher, A. J., Steward, W. P. 2005. "Curcumin: The story so far". *European Journal of Cancer*, 41(13):1955-68.
- Son, T. Il, Sakuragi, M., Takahashi, S., Obuse, S., Kang, J., Fujishiro, M., ... Ito, Y. 2010. "Visible light-induced crosslinkable gelatin". *Acta Biomaterialia*, 6(10):4005-10.

Van Hoorick, J., Ovsianikov, A., Dubruel, P., Van Vlierberghe, S. 2018. "Photo-Crosslinkable Gelatin Hydrogels, Versatile Materials for (High Resolution) Additive Manufacturing". *Material Matters*, 13(3):75-81.

Wilson, N. L. W., Rickard, B. J., Saputo, R., Ho, S. T. 2017. "Food waste: The role of date labels, package size, and product category". *Food Quality and Preference*, 55:35-44.

Zhao, J., Lalevée, J., Lu, H., MacQueen, R., Kable, S. H., Schmidt, T. W., ... Xiao, P. 2015. "A new role of curcumin: As a multicolor photoinitiator for polymer fabrication under household UV to red LED bulbs". *Polymer Chemistry*, 6(28):5053-61.

MEYVE-SEBZE KAYIPLARINDA NEDENSEL DÖNGÜ DİYAGRAMI

Y. Birol Saygı*

İstanbul Topkapı Üniversitesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş / Received: 28.06.2022; Kabul / Accepted: 22.11.2022; Online baskı / Published online: 05.12.2022

Saygı, Y.B. (2022). Meyve-sebze kayıplarında nedensel döngü diyagramı. *GIDA* (2022) 47 (6) 1118-1129 doi: 10.15237/gida.GD22109

Saygı, Y.B. (2022). *Causal loop diagram in fruit-vegetable losses. GIDA* (2022) 47 (6) 1118-1129 doi: 10.15237/gida.GD22109

ÖZ

Bir sistemin dinamiklerini belirleyen etkileşimleri anlamayı ve anlatmayı kolaylaştıran sistem davranışları, sistemin içinden ortaya çıkar ve birçok nedensel döngünün (veya geri besleme döngüsünün) sonucudur. Nedensel Döngü Diyagramları, yapının davranışı nasıl ürettiğini gösterir. Bir nedensel döngü şeması bir sistemdeki farklı değişkenler birbiriyle görselleştirmek için nasıl yardımcı olduğunu gösteren bir diyagramdır. Diyagram, bir dizi düğüm ve yaydan oluşur. Düğümler değişkenleri ve değişkenler arasındaki bağlantıları veya ilişkileri yaylar temsil etmektedir. Olumlu bir bağlantı, olumlu bir nedensel ilişkiyi ve olumsuz bir bağlantı, olumsuz bir nedensel ilişkiyi göstermektedir. Meyve ve sebzeler hasat sonrası yaşamlarını sürdürmekte olup kaliteleri düşmekte ve kayıplar oluşmaktadır. İstanbul önemli bir tüketim merkezi olup ürünlerin tamamına yakını uzak mesafelerden taşınmaktadır. Çalışmada tarladan sofraya kayıpların azaltılması için Nedensel Döngü Diyagramı oluşturularak konuya bütünsel bir yaklaşımla kayıpların azaltılması amaçlanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Nedensel döngü diyagramı, meyve ve sebzelerde kayıplar, hasat sonrası kayıplar

CAUSAL LOOP DIAGRAM IN FRUIT-VEGETABLE LOSSES

ABSTRACT

System behaviors that make it easier to understand and describe the interactions that determine the dynamics of a system arise from within the system and are the result of many causal loops (or feedback loops). Causal Loop Diagrams show how the structure produces the behavior. A causal loop diagram is a diagram that shows how different variables in a system help to visualize each other. The diagram consists of a series of nodes and arcs. Nodes represent variables and arcs represent connections or relationships between variables. A positive link indicates a positive causal relationship, and a negative link indicates a negative causal relationship. Fruits and vegetables continue their lives after harvest, their quality decreases and losses occur. Istanbul is an important consumption center and almost all of the products are transported from long distances. In the study, it is aimed to reduce losses with a holistic approach to the subject by creating a Causal Loop Diagram to reduce losses from farm to fork.

Keywords: Causal loop diagram, losses in fruits and vegetables, post-harvest losses

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: ybirolsaygi@gmail.com,

☎: (+90) 532 294 9857

Y. Birol Saygı; ORCID no: 0000-0001-9381-7295

GİRİŞ

Nedensel Döngü Diyagramları (Causal loop diagram; CLD), dinamik sistemleri kavramsal olarak bütünsel bir şekilde modellemek, değişkenlerin (yani faktörler, sorunlar, süreçler) birbirini nasıl etkilediğini haritalamak için kullanılır. Bu diyagramlar, bir sistemin altında yatan geri bildirim yapılarını ortaya çıkarmada ve bir sistemdeki yüksek ve düşük kaldıraçlı müdahale noktalarını belirlemede özellikle yararlıdır. Bu diyagramlar aynı zamanda sistem içindeki doğal kısıtlamaları da ortaya çıkararak değişim yaratma yeteneğimizle ilgili daha gerçekçi beklentiler geliştirmemize yardımcı olur (Liebovith vd., 2019; LSG, 2022).

Nedensel döngü diyagramı, "önemli tüm ilişkilerin anlık görüntüsüdür". Anahtar değişkenlerin (yani faktörler, sorunlar, süreçler) ve bunların nasıl birbirine bağlı olduğunun görsel bir temsildir. Bu diyagramlar, metin olarak temsil edilen değişkenleri ve oklarla temsil edilen aralarındaki nedensel ilişkileri gösterir. Oklar, nedenselliğin yönünü, ilişkilerin yapısını (yani orantılı veya ters) ve beklenen etkilerin ortaya çıkmasında herhangi bir gecikme olup olmadığını gösterir (Liebovith vd., 2019; Littlejohns vd., 2021; Groudstroem ve Juhola, 2021; SYSTEM THINKER, 2021; LSG, 2022).

Nedensel döngü diyagramları, sistem düşüncesinin temel ilkesini ele alır. Bir konuyu veya onun kurucu parçalarını (faktörler, aktörler, süreçler) tek başına anlayamayız. Bir sistemde her şey diğer her şeyle ilişkilidir. İlişkiler (parçaların kendileri değil) anlamak istediğimiz sonuçları ve davranışları yönlendirir. Bu ilişkileri anlamadan ve gerekirse değiştirmeden, sonuçları/davranışları kalıcı olarak değiştirmemiz mümkün değildir. Ancak, bu ilişkileri belirlemek ve açıklamak kolay değildir (Haraldsson, 2000; NRMED, 2013; Aikenhead vd. 2015; Littlejohns vd., 2021; LSG, 2022).

Karmaşık sistemlerde, neden-sonuç ilişkileri genellikle zaman ve mekanla ayrılır ve bu da bağlantıları belirsiz hale getirir. Ek olarak, nedenler ve sonuçlar arasındaki ve aynı zamanda nedenler arasındaki çok sayıda bağlantı, her ikisi

de aynı anda sınırlı sayıda ilişkiyi açıklamaya daha uygun olan normal dil ve insan zihninin yeteneklerini zorlar. Yine de her ilişki bireysel olarak önemli olsa da anlamak istediğimiz sonuçları/davranışları şekillendiren, bu ilişkilerin bir sistem üzerindeki kolektif etkisidir (Haraldsson, 2000; Liebovith vd., 2019; Littlejohns vd., 2021; Groudstroem ve Juhola, 2021; SYSTEM THINKER, 2021).

Nedensel Döngü Diyagramları, önemli olan tüm ilişkilerin bir anlık görüntüsünü tek bir sayfada sunarak, bir sorun hakkında "büyük resim" perspektifi elde etmemizi sağlar; yani, bir problem oluşturmak için farklı parçaların (faktörler, aktörler ve süreçler) etkileşime girdiği süreçleri veya bir problemin daha geniş çevresiyle nasıl etkileşime girdiğini görebiliriz. Bu, bir sistem perspektifini uyarılmanın ve olayları ayrı ayrı görme yönündeki yaygın analitik eğilimden kaçınmanın ilk adımıdır. Nedensel Döngü Diyagramları, çabanın kendisinin nihai ürünü değil, sürekli sistem analizi için bir araç temsil ettiğini belirtmek önemlidir. İdeal olarak, incelenmekte olan sistemi doğru bir şekilde tasvir eden bir Nedensel Döngü Diyagramları geliştirmek, analizi ilerleten ve kullanıcının ilgili sebep ve etkilere ilişkin anlayışını derinleştiren içgörüler sağlayacaktır. Nedensel Döngü Şemaları aşağıdaki noktalarda kullanılmaktadır (Şenaras ve Sezen, 2017; Haraldsson, 2000; Groudstroem ve Juhola, 2021; SYSTEM THINKER, 2021; LSG, 2022; Şenaras, 2021);

-Dinamik bir sistemi bütünsel bir şekilde modellemek istendiğinde: Nedensel Döngü Diyagramları, değişkenlerin (yani faktörler, sorunlar, süreçler) birbirini nasıl etkilediğini haritalayarak dinamik sistemleri bütünsel bir şekilde kavramsal olarak modellemek için kullanılır. Sorunları basit, doğrusal ve bağımsız neden/sonuç ifadeleri açısından düşünme eğilimindeyiz. Bu kısmen, dilin ve insan zihninin birbirine bağlı karmaşık neden-sonuç zincirlerini işleme konusundaki sınırlı yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Nedensel Döngü Diyagramları bu karmaşıklığı yakalayıp iletebilen bir dil sunar.

-Karmaşık bir sistemin kesin bir karakterizasyonunu sağlamak için veriler mevcut olmadığında: Bir sistemin nasıl çalıştığı hakkında kritik bilgiler elde etmek için bir Nedensel Döngü Diyagramlarını analiz etmek için çeşitli nitel yöntemler vardır. Örneğin, bir sistemdeki faktörlerin, aktörlerin ve süreçlerin zaman içinde etkileşimlerinden kaynaklanan sistemin altında yatan "geri bildirim yapılarını" ortaya çıkarmak için bir Nedensel Döngü Diyagramını inceleyebiliriz. Parçaları zaman ve mekâna göre ayrılabilirliğinden bu yapıların tanımlanması zor olabilir. Bununla birlikte, bir sistemdeki davranış ve sonuç kalıpları onlar tarafından şekillendirilip koşullandırıldığından, geri bildirim yapılarını anlamak çok önemlidir. Bu anlayış, sorunların belirtileri ve temel nedenleri arasında ayırım yapmamızı ve bir sistemdeki yüksek ve düşük kaldıraçlı müdahale noktalarını belirlememizi sağlar. Bu tür içgörülerle, bir sistemle ilişki kurmak için etkili stratejiler tasarlamak ve istenmeyen sonuçların yanı sıra önceden tahmin etmek için daha donanımlıyız. Nedensel Döngü Diyagramları ayrıca sistem içindeki doğal kısıtlamaları da göstererek, değişim yaratma yeteneğimizle ilgili daha gerçekçi beklentiler geliştirmemize yardımcı olur.

Veriler mevcutsa ve olduğunda, Nedensel Döngü Diyagramları, her değişkenin uygun bir matematiksel denklemle temsil edildiği stok ve akış diyagramlarına dönüştürülebilir ve bir sistemdeki net etkileri görmek için ilgili değişkenlerdeki çeşitli değişiklikler simüle edilebilir. Bir Nedensel Döngü Diyagramı, karmaşık bir sistemin veya bir sorunun işleyişini karakterize etmek için güçlü bir sistem düşünme aracıdır. Bir Nedensel Döngü Diyagramı, temel değişkenleri ve bunların nedensel ilişkilerini görsel olarak eşler. Değişkenler şunları içerebilir (Aikenhead vd. 2015; Groudstroem ve Juhola, 2021; LSG, 2022):

- Faktörler
- Konular
- Süreçler
- Aktörlerin davranışları ve algıları

Ek olarak, zaman içinde yinelenen olay kalıpları üreten temel yapıları ve ilişkili geri bildirim

döngülerini ortaya çıkarmak için bir Nedensel Döngü Diyagramı kullanılabilir. Yüksek düzeyde, Nedensel Döngü Diyagramları birçok program tasarımı, izleme ve değerlendirme faaliyetinin temelini oluşturabilecek aşağıdakileri yapmamıza yardımcı olur (Williams ve Hummelbrunner, 2010; Vito vd., 2017; Groudstroem ve Juhola, 2021; LSG, 2022):

-Sorunun tanımlanması: Etkili program tasarım çabaları, yerel bağlam/sistem ve ele alınacak sorun hakkında sağlam bir anlayışla başlamalıdır. Nedensel Döngü Diyagramları, yerel bir sistemdeki tüm kilit değişkenlere (yani tüm ilgili paydaşlar ve bakış açıları, STEEP faktörleri ve süreçleri) ve bunların nedensel ilişkilerine entegre bir görünüm sağlar. (STEOP, sosyal, teknolojik, ekonomik, çevresel ve politik faktörleri ifade eder.) Bu nedensel ilişkiler, yerel bir sistemdeki davranış kalıplarını ve sonuçlarını koşullandıran ve bilgilendiren olaylar / etkiler zincirini izleyebileceğimiz geri bildirim döngüleri oluşturur. Bir Nedensel Döngü Diyagramlarını inceleyerek, sorunların temel nedenlerini ve sorunu sürdüren nedensel yolları belirleyebiliriz. Ek olarak, bir Nedensel Döngü Diyagramı, yerel bir bağlamda çeşitli faktörlerin ve süreçlerin işleyişiyle ilgili olduğu için paydaş çıkarlarını, bakış açılarını ve endişelerini yakalar. Bu nedenle, belirli davranışları motive eden yerel sistemde yerleşik olan teşvikleri ve yaptırım yapılarını ortaya çıkarmamıza yardımcı olurlar. Bu, program tasarımcılarının hangi paydaşların iş birliği çabalarına dahil edilmesi gerektiğini ve iş birliği için nasıl teşvik edilebileceklerini anlamalarına yardımcı olabilir. Bu iç görüler, bir programın değişim teorisini ve katılım ve müdahale faaliyetleri için başarı ihtimalini güçlendirir.

-Müdahale noktalarının belirlenmesi: Bir Nedensel Döngü Diyagramı, sorunların belirli bir ortamda nasıl ortaya çıktığını ve sürdürüldüğünü açıklayan nedensel etkileşimleri ve karşılıklı bağımlılıkları haritalandırdığından, sistem genelinde iyileştirme için değişimi nasıl başlatabileceğimize dair bilgiler de sağlayabilir. Kaldıraç analizi yoluyla, bir sistem içindeki eyleme geçirilebilir noktaları (ör. merkez noktaları, parametreler, arabellekler, bilgi akışları, kurallar,

güç yapıları, yönetim, roller vb.) belirlemek için bir Nedensel Döngü Diyagramı değerlendirilebilir ve yüksek ve düşük kaldıraçlı müdahale noktaları, çeşitli etkilerdeki değiş tokuşlar için karşılaştırılabilir.

-İzleme ve değerlendirme çalışmalarının bilgilendirilmesi: Nedensel Döngü Diyagramları ayrıca sistem çapında izleme ve değerlendirme çabalarını destekleyen ölçüm şemasını bilgilendirebilir. İlgilenilen sonuçlarla ilişkili nedensel yollardaki temel değişkenler, izleme ve değerlendirme çerçevelerinin tasarımına yardımcı girdi sağlayarak, program uygulama ve değerlendirme sürecinde hangi kritik faktörlerin izleneceğini ve ölçüleceğini belirlemeye yardımcı olur.

-Paydaş katılımını ve girdisini artırmak: Nedensel Döngü Diyagramları, sistemleri hakkında bilgi ve fikirleri paylaşmak için çeşitli paydaşları bir araya getiren katılımcı bir modelleme süreci aracılığıyla geliştirildiğinde en etkili oldukları gösterilmiştir. Nedensel Döngü Diyagramları, paydaşların zihinsel modellerini dışsallaştırmaya yardımcı olurken, sorun hakkında ortak bir anlayış geliştirmelerine ve sonuçta ortaya çıkan program çabalarına sahip olma duygusu geliştirmelerine yardımcı olur.

CDS yapılırken anahtar (temel) uygulamalar (Groudstroem ve Juhola, 2021; LSG, 2022):

- Anahtar değişkenler arasındaki karmaşık nedensel ilişkileri karakterize edilmelidir,
- Sistemik sonuçları yönlendiren geri bildirim yapılarını ve temel nedenleri ortaya çıkarılmalıdır,
- Zaman ve mekâna göre ayrılmış sistem parçalarını/değişkenler tanımlanmalıdır,
- Tüm sistem birlikte düşünülmeli ve sonuçların tüm sistemin birlikte çalışmasının bir sonucu olduğu kabul edilmelidir.

Potansiyel Sınırlamalar (Liebovith vd., 2019; Littlejhons vd., 2021; LSG, 2022):

- Gerçeğin basitleştirilmesini temsil eder,
- Modelcilerin öznel bakış açılarına dayalıdır,
- Niteliksel (nicel değil) iç görüler ortaya çıkarılmalıdır,
- Sonuçlar kesin olarak tahmin edilemez.

Karmaşık sosyal sistemle ve bu konuda memnun olunmadığı veya düzeltmeye hevesli olunan konularla karşı karşıya kalındığında, müdahale edip büyük bir yardım umuduyla düzeltmeye başlanamaz. Karmaşık bir sistemin bir parçasına dışarıdan, diğer uzak parçalarda hesaba katılmadığında olumsuz olayları başlatma riski neredeyse kesin olmadan müdahale edilemez. Bir şey düzeltmek istenirse, önce tüm sistemi anlamak gerekmektedir. Müdahale etmek sorun çıkarmanın da bir yoludur (Groudstroem ve Juhola, 2021).

Sistem düşüncesi, yöneticilerin her gün karşılaştığı karmaşık, birbirine bağlı sorunlar hakkında konuşmak için bir dil olarak tanımlanmıştır. Bu çerçevede, nedensel döngü diyagramları, bir sistemdeki anahtar değişkenleri (“isimler”) tanımlayarak ve aralarındaki nedensel ilişkileri bağlantılar (“füller”) aracılığıyla göstererek oluşturulan cümleler olarak düşünülebilir. Birkaç döngüyü birbirine bağlayarak, belirli bir sorun veya konu hakkında özlü bir hikâye oluşturulabilir (NRMED, 2013; Littlejhons vd., 2021; LSG, 2022).

Bir nedensel döngü diyagramı dört temel unsurdan oluşur: değişkenler, aralarındaki bağlantılar, bağlantılar üzerindeki işaretler (değişkenlerin nasıl birbirine bağlı olduğunu gösterir) ve döngünün işaretidir (sistemin ne tür bir davranış üreteceğini göstermesi) (LSG, 2022). Bir sorunu veya konuyu nedensel bir bakış açısıyla temsil ederek, şaşırtıcı davranışlara neden olan yapısal güçlerin daha fazla farkına varılabilir. Birkaç döngüyü birbirine bağlayarak, belirli bir sorun veya konu hakkında özlü bir hikâye oluşturulabilir.

MEYVE VE SEBZE TÜKETİM ZİNCİRİNDE KAYIPLAR

Büyük kayıplar büyük tasarruf imkânları doğurur. Günümüzde gıda kaybı ve gıda atıklarının varlığı, besin zinciri boyunca yaygın bir olaydır. Buna rağmen, kurumlarca ve literatürde bazen tanımlar aynı olsa bile farklı terimler kullanılmakta iken bazen terimler aynıdır ve anlamları birbirinden farklı olabilmektedir. Gıdada tedarik zincirinin aşamaları açısından değerlendirirsek gıda kayıpları

çeşitli görünümlemler ile karşımıza çıkmaktadır. Bunlar, gıda tedarik zincirinin ilk halkasında, özellikle ekim, yetiştirme, hasat etme, işleme, koruma ve ilk tarımsal dönüşüm aşamalarında oluşan kayıpları ifade eden gıdadaki kayıpların altında alt başlık olarak yer alan gıda kayıpları ve gıda tedarik zincirinin bir diğer halkası olan endüstriyel işleme, dağıtım ve nihai tüketim sırasında gerçekleşen gıda atıkları olmak üzere gıda kayıpları iki farklı görünümde mevcuttur (HLPE, 2014; Hsiao ve Huang, 2016).

Zincirin ilk halkasındaki görünümde yani ekim, yetiştirme, hasat etme, işleme, koruma ve ilk tarımsal dönüşüm aşamalarında oluşan gıda kayıpları FAO tarafından "gıdanın miktarı veya kalitesinde azalma" olarak tanımlanmaktadır. Diğer taraftan gıda atıkları, gıda kaybının bir parçasıdır, ancak keskin bir şekilde ayırt edilmez ve birincil üretimden tüketim sonuna kadar gıda tedarik zincirinin tamamında insan tüketimi için güvenli ve besleyici olan atığın yok edilmesi veya alternatif (gıda dışı) gıda kullanımını ifade eder. Daha önce ifade edildiği gibi gıda atıkları, üretilen sürücüler ve bunlara verilen çözümler gıda kaybı olaylarından farklı olduğu için, üst başlık olan gıda israfının ayrı bir parçası olarak kabul edilmektedir. Yine de düzenli iletişimde "gıda kaybı ve atık" terimleri korunmaktadır (FAO, 2019).

Gıda sektöründe olmak üzere pek çok kayıp ve atık nedeni vardır. Gıda israfının nedenlerini belirlemek, besin zinciri boyunca entegre bir perspektif gerektirir ve belirli bir aşamada herhangi bir hareketi ayrı ayrı değil, bütünü bir parçası olarak düşünmek gerekir. "Neden" ile belirli bir kayıp ya da atığın "nerede" olduğunu karıştırmamak önemlidir. Besin zincirinin bir aşamasında meydana gelen gıda israfının nedeni başka bir aşamada olabilir (HLPE, 2014; Hsiao ve Huang, 2016; Garden-Robinson, 2020).

Genel anlamda gıda israfı, biyolojik, mikrobiyolojik, kimyasal, biyokimyasal, mekanik, fiziksel, fizyolojik, teknolojik, lojistik, örgütsel, psikolojik ve davranışsal nedenlere (pazarlama gibi nedenler de dahil olmak üzere) kadar değişen çok çeşitli öncüllerden kaynaklanabilir. Ayrıca çeşitli bölgelerde gıda tedarik zincirinin çeşitli aşamalarındaki yetersizlikler ve ülkelerin

gelişmişlik seviyelerine göre farklılaşmaktadır. En büyük kayıplar, öncelikle ekim, hasat ve koruma tekniklerindeki sınırlı imkanlar ve yeterli ulaşım ve depolama altyapılarının bulunmaması nedeniyle gıda tedarik zincirinin ilk halkasında yoğunlaşmaktadır. Bununla birlikte, gıda kayıpları ciddi çevresel etkilere neden olmaktadır. Gıda kayıpları ve atıkları aynı zamanda su, toprak, enerji, emek ve sermaye gibi kaynakların büyük ölçüde boşa gitmesi demektir ve açıktır ki bu kayıplar küresel ısınmaya ve iklim değişikliğine katkıda bulunan sera gazı emisyonlarına neden olmaktadır (HLPE, 2014; FAO, 2019; Gawlik ve Trafialek, 2019).

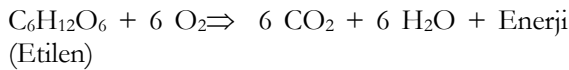
Meyve ve sebzelerde kayıplar tarladan tüketime kadar olan zincirin bütünsel değerlendirilmesi, kayıpların azaltılması için yapılması gereken önemli bir çalışmadır. Türkiye’de, hasat sonrası kayıp ve tarımsal ürünlerin bozulmasının değerlendirilmesinde ana kayıp, hasat, nakliye ve depolama sırasında yaklaşık %15-25 oranında meydana geldiği tahmin edilmektedir.

Meyve ve sebzeler hasat edildiklerinde kalitede en üst düzeydedir. Kalite ancak uygun koşullarda taşıma ve depolama yapılırca korunabilir (veya bozulabilir). Hasattan sonra ürün kalitesini korumak, herhangi bir taze pazar ürünü yetiştiricisi veya işleyicisi için önemli bir husustur. Yani taze meyve ve sebzelerin hasat sonrası ürün kalitesiyle ilgili iki önemli faktör solunum ve etilen üretmeleridir. Hasattan sonra meyve ve sebzeler “yaşamaya” devam ederler ve solunum, tüm kaynaklar tükenene kadar devam eder. Meyve ve sebzeleri taze tutmak için solunumu mümkün olduğunca uzun süre devam ettirmeye çalışmak çok önemlidir (HLPE, 2014; Hsiao ve Huang, 2016; Garden-Robinson, 2020).

Solunum, meyve ve sebzelerin iç süreçleri için kullanılabilecek serbest enerjiyi ayarlar. Meyve ve sebzeler düzgün bir şekilde muhafaza etmek için solunumu kontrol etmek çok önemlidir. Solunum süreci devam ettiği sürece meyve ve sebzeler iyi muhafaza edilebilir. Ürün artık köklere veya bitkinin diğer kısımlarına bağlı olmadığı için yeni besin alamayacak, sahip olduklarıyla yaşamak zorunda kalacaktır. Yani her şey bittiğinde, meyve ve sebzeler bozulacaktır. Solunum sürecinde

karbonhidratlar, hücrel süreçleri yürütmek için enerji üretmek üzere bileşenlerine ayrılır, böylece hücreleri ve organizmayı canlı tutar. Bu süreç boyunca oksijen tüketilir ve su, karbondioksit ve enerji açığa çıkar. Bu süreç hasattan sofraya kadar gerçekleştiğinden, hasat edilen bitki kısmında depolanan karbonhidratlar, meyve ve sebzeleri canlı tutmak için sürekli olarak enerji olarak “yakılır”, solunum devam ederken, bitki aromasını, tatlılığını, ağırlığını, turgorunu (su içeriği) ve besin değerini etkileyen bileşikler kaybolur. Bu nedenle, solunum hızının azaltılması, meyve veya sebzelerin hasat sonrası ömrünün uzatılmasında ve hasat sonrası kalitenin optimize edilmesinde önemli bir husustur. Farklı bitkilerin hasat edilen meyve ve sebzeleri farklı solunum hızlarına sahiptir; bazıları daha hızlı solunum yapar (ve dolayısıyla daha çabuk bozulurlar), bazıları ise nispeten daha yavaş solunum yapar (daha az bozulanlar). Ek olarak, saklama koşulları solunumu etkiler, daha yüksek sıcaklıklar daha hızlı solunum hızına yol açar; sıcaklıktaki her 10 °C artış için, solunum hızı ikiye hatta üçe katlanır. Sıcaklığın solunum üzerindeki önemli etkisi nedeniyle, hasat edilen bir ürünün sıcaklığa maruz kalma süresi en aza indirilmeli ve meyve-sebzelerin en uygun saklama veya taşıma sıcaklığına hızla getirilmelidir (Vigneault ve Thompson, 2009; Aliasgarian vd., 2013; Hsiao ve Huang, 2016).

Solunum süreci, glikoz ($C_6H_{12}O_6$) oksijen (O_2) kullanılarak karbondioksit (CO_2) ve suya (H_2O) dönüştürülür. Bu reaksiyon, tesisteki her türlü işlem için kullanılacak enerjiyi de serbest bırakır. Reaksiyon şu şekilde temsil edilebilir (Pala ve Saygı, 1993; Thompson vd., 2008; Rediers vd., 2009; Watkins ve Nock, 2012; Grandison, 2012; Gross vd., 2016):



Glikoz bir karbonhidrattır ve genellikle bir bitkide nişasta olarak depolanır. Tüm glikoz tükendiğinde, meyve veya sebzeyi ve çürüme setlerini sürdürmek için artık hiçbir enerji oluşmaz. Solunum oranları ürüne göre farklılık gösterir. Bir ürünün solunum hızı, kimyasal sürecin ne kadar hızlı gerçekleştiğini belirler. Hız ne kadar yüksek olursa, glikoz o kadar hızlı

dönüştürülür ve tüm kaynaklar o kadar hızlı tüketilir. Bu nedenle, meyve ve sebzelerin depolanması söz konusu olduğunda, ürünü öldürmeden solunum oranlarını mümkün olduğunca düşük tutmak önemlidir. Sıcaklığı kontrol etmenin iki nedeni vardır. Birincisi, düşük sıcaklık, yumuşamaya, pigment kaybına, olgunlaşmaya veya renk bozulmasına neden olan solunum gibi fizyolojik aktiviteleri azaltır. Böylece taze meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatabilir. İkincisi, düşük sıcaklık, bozulma mikrobiyalının büyüme hızını azaltır ve mikrobiyal bozulmayı geciktirir (Rediers vd., 2009; Andress ve Harrison, 2011; Hammond vd., 2015; Hsiao ve Huang, 2016; Garden-Robinson, 2020).

Bu çalışmanın amacı, taze meyve ve sebzelerin İstanbul hal ve marketlerine nakliyesi sırasında izlenen sıcaklık ve kayıp miktarına dayalı olarak mevcut soğuk zincir yönetimini analiz etmektir. Bu amaçla yapılan bu çalışma ilk aşama olup meyve ve sebzeler için tarladan-tüketime kadar Nedensel Döngü Diyagramının çıkarılmasına çalışılmıştır. İkinci aşamada ise deneysel çalışmaları yapılarak meyve ve sebze kayıpları için oluşturulan nedensel döngü diyagramın kullanarak çözüm yolları belirlenecektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma süreci için İstanbul haller müdürlüğünden aylara göre yıllık meyve sebze miktarları alınmıştır. Yine aylar dağılımında yıllık giriş yapan kamyon-TIR miktarlarına da ulaşılmıştır. Yapılan görüşmeler çerçevesinde bütünsel bir yaklaşım sergileyerek meyve ve sebzelerde kayıpların belirlenmesi amacıyla Nedensel Döngü Diyagramı oluşturulmuştur.

ARAŞTIRMA BULGULARI

İstanbul hallerinden alınan veriler çerçevesinde hallere giren meyve ve sebze miktarları Çizelge 1’de, bu miktarların taşınmasındaki araç miktarları ise Çizelge 2’de görülmektedir. Çizelgelerde görüleceği gibi Haziran-Eylül dönemi pik sezondur. İstanbul hallerine yıl içinde 75 çeşit sebze, 66 çeşit farklı meyve girmektedir. Çizelgede en yüksek miktardaki 15 çeşit görülmektedir.

Çizelge 1. 2021 yılı İstanbul hallerine giren meyve ve sebze miktarları kayıtları (~1000 ton)

Sıra	Sebzeler		Meyveler	
	Ürün Adı	Toplam Miktar	Ürün Adı	Toplam Miktar
1	Domates	473.1	Karpuz	141.3
2	Patates	191.9	Elma	124.1
3	Hıyar	173.1	Mandalina	121.0
4	Sivri Biber	149.0	Muz	100.1
5	Kuru Soğan	100.5	Portakal	99.3
6	Patlıcan	834.0	Üzüm	86.7
7	Havuç	79.0	Limon	85.2
8	Beyaz Lahana	57.8	Kavun	75.9
9	İspanak	43.4	Armut	43.3
10	Taze Fasulye	41.7	Çilek	34.8
11	Kabak	41.1	Şeftali	34.3
12	Karnabahar	39.9	Erik	29.1
13	Kıvırcık	27.1	Mısır Taze	29.1
14	Pırasa	24.7	Kiraz	24.3
15	Kırmızı Lahana	24.2	Nar	22.3
Hallere Giren Ürün Çeşit Sayısı		76	61	
Tüm Ürünlerin Toplam Miktarı		1795		1139
Genel Toplam		2934		

Kaynak: İstanbul Haller Müdürlüğü, 2022

Çizelge 2. 2021 yılında İstanbul hallerine giren meyve ve sebzelerin taşınmasındaki araç sayıları kayıtları (~1000 adet)

Bayrampaşa													
Araç Türü	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Toplam
Kamyon	21.7	20.9	24.8	23.7	22.8	30.3	28.1	31.1	31.3	27.9	26.1	26.1	315.0
Kamyonet	113.1	107.0	129.3	131.3	140.8	166.8	150.4	166.4	165.2	146.7	139.1	137.1	1693.2
Tır	4.5	4.2	4.9	5.0	5.6	6.1	4.9	5.0	5.4	5.2	5.0	5.3	61.34
Ataşehir													
Araç Türü	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Toplam
Kamyon	11.2	10.6	12.3	12.8	10.9	15.1	13.8	16.0	17.1	14.2	13.5	13.366	161.0
Kamyonet	37.6	35.2	42.3	42.1	43.0	51.6	46.2	50.8	52.0	45.8	45.2	45.538	537.3
Tır	2.2	2.0	2.2	2.1	2.3	2.5	2.0	2.0	2.12	2.2	2.3	2.646	26.8
Toplam													
Kamyon	33.0	31.5	37.1	36.5	33.7	45.3	41.9	47.1	48.3	42.1	39.6	40.0	475.7
Kamyonet	150.7	142.2	171.6	173.4	183.8	218.4	196.7	217.2	217.2	192.5	184.3	182.6	2230.5
Tır	6.8	6.3	7.1	7.1	7.9	8.7	6.9	6.9	7.6	7.5	7.5	7.9	88.1

Kaynak: İstanbul Haller Müdürlüğü, 2022

2021 yılında bitkisel üretim verilerine göre Türkiye'nin meyve üretimi 23.6 ton ve sebze üretimi ise 31.8 milyon ton olmak üzere toplam 55.4 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2021). Türkiye üretimi dikkate alınırsa haller üzerinden İstanbul'a giren meyve ve sebze miktarı Türkiye üretiminin yaklaşık %6'sını oluşturmaktadır. İstanbul'daki marketlerin alımı ise yaklaşık 2.5 milyon tondur (%4.6). Her iki rakam ise toplam olarak %10.6'dır. Yani Türkiye'de meyve ve sebze tüketiminin en çok gerçekleştiği il İstanbul'dur. Marketlerden veri toplama şansı olmadığı için haller için alınan verilerin marketler içinde geçerli olduğu öngörülmektedir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Değerlendirmeler sonucunda meyve ve sebze kaybının başlıca üç nedeni bulunmaktadır;

-Sebzelelerin iyi orijinal kalitesi kayıpları azaltır. Sebzelelerin orijinal kalitesi, hasat ve hasat sonrası yöntemlere bağlıdır. Uygun hasat yöntemi ve hasat sonrası işlemler, ambalajlama önemlidir. En önemlisi ise emeğin eğitimidir.

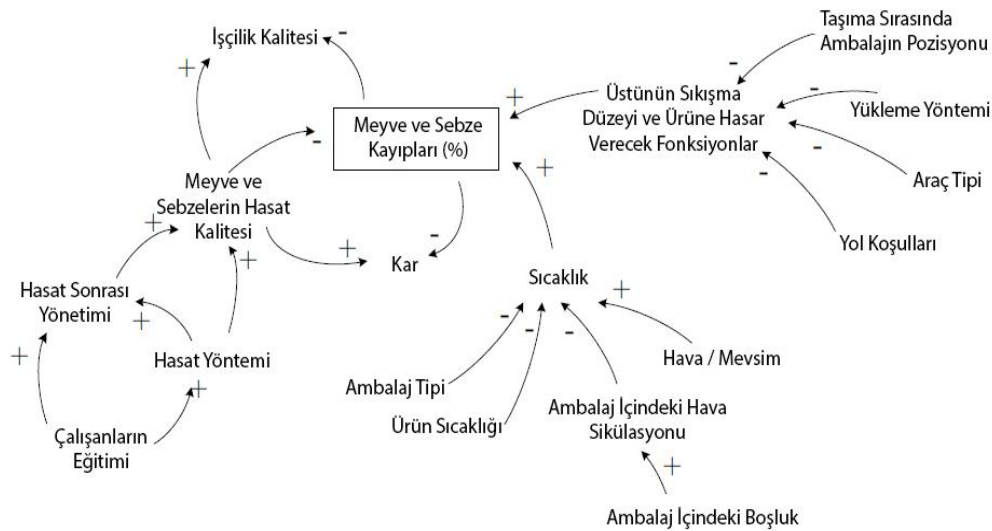
-Yüksek sıcaklık yüksek kayıplara neden olmaktadır. Uygun olmayan ambalaj türleri,

ambalaj içindeki düşük hava akışı ile hava durumu veya mevsim gibi yüksek sıcaklar önemli kayıp nedenleridir.

-Sıkıştırma ve darbe ürünlerin kaybına neden olmaktadır. Ambalajların kamyonadaki konumu, yükleme yöntemi, araç türleri ve yol durumu gibi faktörler, bu sıkıştırma ve darbelerin dört ana nedenidir. Kamyonun üst konumu, az akslı araç ve kötü yol durumu sıkıştırmayı ve darbeyi artırabilirken, uygun yükleme yöntemi sıkıştırmayı ve darbeyi azaltmaktadır. Diyagramdan, uygun yönetim ve taşıma, sıcaklığı kontrol etmek ve nakliye sırasında sıkıştırmayı ve etkiyi azaltmak için kilit faktörlerdir ve ürün kaybını azaltabilir.

Yapılan birçok çalışmada benzer bulgular detaylandırılmıştır (Boyhan, 2009; Cavicchi ve Stancova, 2016; Vossen ve Dooren, 2016; Pal ve Kant, 2017; Tama vd., 2018; Anon, 2020).

Tüm bu parametreler dikkate alınarak meyve ve sebzeler için oluşturulan Nedensel Döngü Diyagramı Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. Meyve ve sebzeler için Nedensel Döngü Diyagramı

Nedensel Döngü diyagramı bütünsel olarak ele alındığında teze meyve ve sebzelerde önemli kayıpların olduğu görülmektedir. Hallerden alınan verilerde meyve-sebze atık miktarı Çizelge 3'te görülmektedir. FAO rakamlarına göre dünya genelinde, hasat ile perakende pazarı arasında

yıllık bazda 400 milyar dolar değerindeki dünya gıdasının yaklaşık %14'ü kaybedilmektedir. Aynı zamanda, perakende ve tüketici seviyelerinde gıdaların tahminen %17'si de israf edilmektedir (FAO, 2019).

Çizelge 3. 2021 yılında İstanbul hallerinden meyve ve sebze atık kayıtları (Ton)

Aylar	Bayrampaşa Kısırmandıra	Bayrampaşa Yenibosna	Ataşehir İçerenköy	Toplam
Ocak	1193	0	238	1431
Şubat	1115	0	246	1361
Mart	840	0	270	1110
Nisan	1112	0	318	1430
Mayıs	1597	0	505	2102
Haziran	1799	0	470	2269
Temmuz	1598	0	466	2065
Ağustos	1522	0	246	1768
Eylül	1238	0	293	1532
Ekim	970	0	233	1203
Kasım	960	0	240	1200
Aralık	342	496	200	1037
Toplam	14286	496	3727	18508

Kaynak: İstanbul Haller Müdürlüğü, 2022

3'te de görüldüğü gibi en yüksek atık Haziran-Eylül ayları arasındadır. Ancak hale giren ve çıkan ürün miktarlarının tartım farkı dikkate alınmamaktadır. Doğal olarak meyve ve sebzelerin solunumları sonucu oluşan ağırlık kaybı önemli rakamlar oluşturmaktadır. Yapılan öngörüler çerçevesinde tahmin edilen ağırlık kaybı Çizelge 4'te görülmektedir. Bu değerler hem önemli bir ekonomik kayıp olup ayrıca ürün kalitesinin düşüşüne neden olmaktadır

Çizelge 4. Öngörüler çerçevesinde tahmin edilen ağırlık kaybı (~1000 Ton)

Kayıp Oranı Tahmini				
	Ürün Miktarı	%1	%5	%10
Sebze	1795.3	17.9	89.8	179.5
Meyve	1139.0	11.4	57.0	113.9

Değerlendirmeler sonucunda taze ürünlerin çıkış noktası ile kullanım noktası arasında taşınması, birden fazla nakliye adımı gerektirmektedir. Ürün, nakliye sırasında fiziksel veya biyolojik hasarın yanı sıra mikrobiyal kontaminasyona karşı hassastır. Taşıma sırasında taze ürün güvenliğini şu faktörler etkilemektedir;

-Ürün kalitesi: Meyve ve sebzeler, özellikle domates, yapraklı yeşillikler ve sefali gibi yumuşak kabuklu veya su içeriği yüksek ürünler, bitki ve insan patojenleri tarafından çapraz bulaşmaya daha duyarlıdır. Hasarlı, hastalıklı veya fazla olgunlaşmış meyveler taşınmamalıdır.

-Sıcaklık ve nem: Sıcaklık ve nem, ürünlerin ve diğer gıdaların güvenliğinde kilit rol oynamaktadır. Sıcaklık 4 ila 60 °C arasında olduğunda birçok patojen hızla büyür ve sıcaklık tehlike bölgesi olarak bilinir. Ürünü hasat edilir edilmez soğutmak ve depolama ve nakliye sırasında soğukta tutmak, üründe bulunan birçok patojenin

büyümesini yavaşlatacaktır. Ayrıca, solunum hızı da düşürülecektir.

Genel ulaşım hususları incelendiğinde nakliye araçlarının amaca uygun, iyi fiziksel durumda, kuru, bakımlı ve temiz olmaları gerekmektedir. Araçlar, ürünleri yüklemeyen ve taşımadan önce 60-70 °C'de suyla yıkanmalı ve gıda sınıfı bir dezenfektanla sterilize edilmelidir. Mikrobiyal patojenlerin büyüme potansiyelini en aza indirmek için, depolama ve nakliye ile satış sırasında ürün tipine uygun sıcaklıklarda depolanmalıdır.

Soğutmalı kamyonlar, sıcaklıkları izlemek için doğru kalibre edilmiş termometrelerle donatılmalıdır. Düzgün çalıştıklarından emin olmak için her yolculuktan önce soğutma sistemlerini kontrol edilmelidir. Araçlara ürünler uygun hava sirkülasyonu sağlayacak şekilde yerleştirilmelidir. Araçta kullanılan tüm paletler kuru, temiz ve hasarsız olmalıdır. Ürünler araç zemini ile doğrudan temas etmemelidir. Tüm ulaşım uygulamaları için standart işletim prosedürleri geliştirilmeli ve tüm çalışanlara sunulmalıdır.

Çalışanlar açısından ise ürünlerin yüklenmesi ve boşaltılmasında görev alan tüm çalışanlar sağlıklı olmalı ve uygun kişisel hijyen uygulamalarına uymalıdır. Sürücüler ve diğer nakliye ve taşıma personeli, yerleşik gıda güvenliği prosedürleri konusunda eğitilmelidir. Çalışanlar, ürünleri hasar veya mikrobiyal kontaminasyon potansiyelini en aza indirecek şekilde yüklemeli ve boşaltmalıdır. Ürünlerin yükleme öncesi aşağıdaki uygulamalar belgelenmelidir;

- Soğutulmuş araçların sıcaklığı ve nemi,
- Termometre kalibrasyonları,
- Araç muayeneleri,
- İşçiler için eğitim belgeleri,
- Araç temizliği ve sanitasyon (su sıcaklıkları ve/veya kullanılan ürünler ve konsantrasyonlar dahil).

Uygunsuz ambalajlama büyük bir sorundur. Meyve ve sebzelerin ambalajlama seçenekleri, nakliye sırasında hasar riskini azaltmak için hayati önem taşımaktadır. Meyve ve sebzelerin ambalajlanmasını yöneten bir deponun en büyük

hatalarından biri, yanlış ambalajlama seçeneğini seçmesidir. Tedarik zincirindeki herkes meyve ve sebze gibi ürünlere ihtiyaç duydukları özenle muamele etmeyeceğinden, ürünleri korumak için her adımın gönderilmeden önce atılması çok önemlidir. Kaba kullanım, uygun olmayan istiflemeyen kasaları düşürmeye, fırlatmaya veya etrafa çarpmaya kadar değişebilir. Ürünle seyahat edilemeyeceği için bu riski azaltmak zor olabilir. Ancak yapılabilecek taşınırken ürünleri korumak için doğru ambalajlama seçeneğinin kullanıldığından emin olmak gerekmektedir. Doğru ambalajlama, yatırımı korumanın yoludur. Yine de kaba kullanım olayları yaşanacak olsa da doğru ambalajlama, yanlış kullanımın yükünü kaldıracak ve içindekileri koruyabilecektir.

Mevsim koşullarına göre iklimin doğru bir şekilde kontrol edildiğinden emin olmak için hiç kimse ürününü işlemeyen son kullanıcıya kadar takip edemez. Ancak oyun alanını daraltmak için yardımcı olacak adımlar vardır. Farkı yaratan ambalajdır. Doğru ambalaj, ürünleri iklim değişikliklerine karşı yalıtılmasına olanak tanır. Taze ürün sevkiyatı zorluklarla dolu olup ancak biraz yaratıcılık ve doğru araçlarla taze ürünlerin sevkiyatına güvenilebilir. Ürünleri doğru şekilde nasıl gönderileceğini öğrenmek, kârlılığı korumanın ve müşterilerin beklentilerinin karşılanmasının doğru bir yoludur. Doğru ambalaj, kullanım kolaylığı, koruyuculuk, taşıma ve depolanmada kolaylık sağlamaktadır. Böylece işin yönetilmesi de kolaylaşır.

Tayland'da yapılan Nedensel Döngü Diyagramı çalışmasında, taze sebzelerin sıcaklık profili uygun aralıklarda bulunmamış ve ambalaj içindeki minimum sıcaklık 17.4 -25.7 °C düzeyinde belirlenmiştir. Bu sıcaklık, taze sebze en az %27 kayıp ile ilgili olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, yüksek kayıp, uzun nakliye süresinden ve TIR'ların yüksek sıkıştırma ve etkisinden kaynaklanmaktadır. Nakliye sırasında kayıpları azaltmak için, ambalaj içinde yüksek hava akışı olacak şekilde sebzelerin uygun şekilde taşınmasını önerilmiştir. Özellikle uygun soğuk zincir yönetimi uygulaması gerektiği belirtilmiştir (Rattanawong ve Ongkunaruk, 2016). Benzer

bulgular Rich ve Dizyee (2016) tarafından da saptanmıştır.

Sonuç olarak, tarladan sofraya meyve ve sebze zinciri karmaşık ve çok faktörlüdür. Problemlerin tek tek çözümü bütünü korumuna katkısı olmamaktadır. Çalışma bu yaklaşım ile başlatılmış olup Nedensel Döngü Diyagramı oluşturularak konuya bütünsel bakılarak çözümlerin üretilmesi amaçlanmıştır.

KAYNAKLAR

Aikenhead, G., Farahbakhsh, K., Halbe, J., Adamowski, A. (2015). Application of process mapping and causal loop diagramming to enhance engagement in pollution prevention in small to medium size enterprises: Case study of a dairy processing facility, *Journal of Cleaner Production*, (102). 275-284

Aliasgarian, S., Ghassemzadeh, H. R., Moghaddam, M., Ghaffari, H. (2013). Mechanical damage of strawberry during harvest and postharvest operations. *World Applied Sciences Journal*, (22) 969-974

Andress, E. L. ve Harrison, A. (2011). Food Storage for Safety and Quality, Cooperative Extension, *The University of Georgia*, 16 s.

Anon, (2020). Guideline Logistics Fruit, Vegetables, Potatoes, QS Fachgesellschaft Obst-Gemüse-Kartoffeln GmbH, 20s.

Boyhan, G. E., Hurst, W. C., Kelley, W. T., Krewer, G. W., Taylor, K. C. (2009). Postharvest Handling and Transportation of Fruits and Vegetables, The University of Georgia and Ft. Valley State University, *U.S. Department of Agriculture and counties of the state cooperating*, Fact Sheet 100, 4s.

Cavicchi, A., Stancova, K. C. (2016). Food and gastronomy as elements of regional innovation strategies, *European Commission*, JRC Science for Policy Report, 41 s.

FAO, (2019). Food and Agriculture Moving Forward on Food Loss and Waste Reduction, ISBN 978-92-5-131789-1, s. 182

file:///C:/Users/SAYGI/Downloads/Guideline_Logistics_FVP_01.01.2021.pdf

Garden-Robinson, J., (2020). Food Storage Guide, NDSU Extension, May, FN579, 16 s.

Gawlik, K. J., Trafialek, J. (2019). The Role of Suppliers of Raw Materials in Ensuring Food Safety, *Global Journal of Nutrition & Food Science*, ISSN: 2644-2981, 1(4): 2

Göktepe, E., (2014). Sistem Düşüncesi Araçları - Nedensel Döngü Diyagramı, *Eğitimde Sistem Düşüncesi Yıllığı*, (1) 26-37

Grandison, A. S. (2012). Postharvest Handling and Preparation of Foods for Processing in "Food Processing Handbook", Second Edition. Edited by James G. Brennan and Alistair S. Grandison. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 30 s.

Gross, K. C., Wang, C. Y. Saltveit, M. (2016). The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks, *Agricultural Research Service Agriculture Handbook*, Number 66, 792 s.

Groundstroem, F., Juhola, S. (2021). Using systems thinking and causal loop diagrams to identify cascading climate change impacts on bioenergy supply systems, Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, 26, Article Number: 29, <https://doi.org/10.1007/s11027-021-09967-0>

Hammond, S. T., Brown, J. H., Burger, J. R., Flanagan, T. P., Fristoe, T. S., Mercado-Silva, N., Nekola, J. C., Okie, J. K. (2015). Food Spoilage, Storage, and Transport: Implications for a Sustainable Future, *BioScience*, August, 65(8): 758-768

Haraldsson, H. V., (2000). Introduction to Systems and Causal Loop Diagrams, System Analysis Course LUMES, *Lund University*, Sweden, January, 33 s.

HLPE, (2014). HLPE Report 8: Food Losses and Waste in The Context of Sustainable Food Systems, Steering Committee, *HLPE Reports Series*, June, s. 1-115

Hsiao, H.I., K.L. Huang. (2016). Time-temperature transparency in the cold chain, *Food Control*, (64) 181-188

- Liebovitch, L. S., Coleman, P. T., Fisher, J., (2019). Approaches to Understanding Sustainable Peace: Qualitative Causal Loop Diagrams and Quantitative Mathematical Models, *American Behavioral Scientist*, s. 1–22
- Littlejohns, L. B., Hill, C., Neudorf, C. (2021). Diverse Approaches to Creating and Using Causal Loop Diagrams in Public Health Research: Recommendations From a Scoping Review, *Public health reviews*, 42, <https://doi.org/10.3389/phrs.2021.1604352>
- LSG (2022). Local Systems Practice User's Guide, <https://sites.google.com/view/lsp-users-guide/home?authuser=0>
- NRMED, (2013). Natural Resources Management and Environment Department, Food Wastage Footprint Impacts on Natural Resources, *Summary Report*, s. 1-61
- Pal, A. ve Kant, K. 2017: A Food Transportation Framework for an Efficient and Worker-Friendly Fresh Food Physical Internet, *Logistics*, 1(10): 21
- Pala, M., Saygı, Y.B. (1993). Türkiye’de Soğuk Zincir Uygulamaları ve Geliştirilmesi, İstanbul Ticaret Odası Yayını, Yayın No: 1993-6, 122 s.
- Rattanawong, A., Ongkunaruk, P. (2016). Reduce Loss during Transportation: A Case Study of Fresh Vegetables in Thailand, *ICoA Conference Proceedings, The 3rd International Conference on Agro-Industry 2016, “Competitive & Sustainable Agro-Industry: Value Creation in Agribusiness”*, Volume 2017, s. 253-260
- Rediers, H., M. Claesa, L. Peetersa, K. A. Willemsa. (2009). Evaluation of the cold chain of fresh-cut endive from farmer to plate, *Postharvest Biology and Technology*, (51) 257-262.
- Rich, K. M., Dizyee, K., (2016). Policy options for sustainability and resilience in potato value chains in Bihar: a system dynamics approach, *Norwegian Institute of International Affairs, NUPI Working Paper 870*, 49 s.
- Şenaras, A. E. (2021). COVID-19 Salgınında Sağlık Çalışanlarının Enfekte Olmasına İlişkin Nedensel Döngü Diyagramı, *Journal of Yaşar University*, 16(62):1039-1052
- Şenaras, A. E., Sezen, H. K., (2017). Sistem Düşüncesi, *Journal of Life Economics*, 4(1): 39-58
- SYSTEM THINKER, (2021). Causal Loop Construction: The Basics, <https://thesystemsthinker.com/causal-loop-construction-the-basics/>
- Tama, I. P., Akbar, Z., Eunike, A. (2018). Implementation of system dynamic simulation method to optimize profit in supply chain network of vegetable product, *International Conference on Industrial and System Engineering (IConISE), Conf. Series: Materials Science and Engineering* 337, 7 s.
- Thompson, J. F., Mitchell, F. G., Rumsey, T. R., Kasmire, R. F., Crisosto, C. H. (2008). Commercial Cooling of Fruits, Vegetables, and Flowers, *University of California, Agriculture and Natural Resources*, Pub. 21567, 54 s.
- TÜİK, (2021). Bitkisel Üretim İstatistikleri, 30 Aralık 2021, Sayı: 37249
- Vigneault, C., Thompson, T. 2009: Transportation of fresh horticultural produce, *Postharvest Technologies for Horticultural Crops*, ISBN: 978-81-308-0356-2 Editor: Nouredine Benkeblia Vol. 2, s. 1-24
- Vito, R., Portoghese, I., Pagano, A., Giordano, R., Vurro, M., Fratino, U. (2017). Sustainability assessment of agricultural production through causal loop diagrams, *European Water*, 59: 381-386
- Vossen, W., Dooren, C. (2016). Storage of food, Fact sheet, *Netherlands Nutrition Centre*, 8s.
- Watkins, C. B., Nock, J. F. (2012). Production Guide for Storage of Organic Fruits and Vegetables, *Cornell University-Integrated Pest Management, New York State Department of Agriculture&Markets, NYS IPM Publication No. 10*, 67 s.
- Williams, B., Hummelbrunner, R., (2010). Causal Loop Diagrams in “Systems Concepts in Action: A Practitioner's Toolkit”, Chapter 1, *Redwood City: Stanford University Press*, s. 31-44

KAVUN ÇEKİRDEĞİ ŞERBETİNDE (SÜBYE) FENOLİK BİLEŞİKLERİN BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nurdan Özdemirli¹, Senem Kamiloğlu^{1,2*}

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTUAM), Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 27.08.2022; Kabul / Accepted: 22.11.2022; Online baskı / Published online: 05.12.2022

Özdemirli, N., Kamiloğlu, S. (2022). Kavun çekirdeği şerbetinde (sübye) fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (6) 1130-1139 doi: 10.15237/gida.GD22083

Özdemirli, N., Kamiloğlu, S. (2022). *Evaluation of bioaccessibility of phenolic compounds in melon seed sherbet (subye)*. *GIDA* (2022) 47 (6) 1130-1139 doi: 10.15237/gida.GD22083

ÖZ

Sübye; kavun çekirdekleri, şeker ve su ile hazırlanan geleneksel bir soğuk içecektir. Bu çalışmada ağız, mide ve bağırsaktaki sindirimi taklit eden in vitro bir model kullanılarak şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimlerin belirlenerek gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar sübye formülasyonlarında şeker ilavesinin toplam fenolik madde (%42–64) ($P < 0.05$) ve toplam antioksidan kapasite (%13–172) biyoerişilebilirliğini arttırdığını göstermiştir. Tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında ise içeceklerin büyük kısmında fenolik bileşik (%80) ve antioksidanların (%16–62) biyoerişilebilirliği artmakla beraber bazı formülasyonlarda tatlandırıcının toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite biyoerişilebilirliği açısından önemli düzeyde bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular şeker veya tatlandırıcı varlığının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini genel anlamda olumlu yönde etkilediğine dikkat çekmiştir.

Anahtar kelimeler: *Cucumis melo* L., bitki bazlı süt, in vitro sindirim, gıda matrisi, toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite

EVALUATION OF BIOACCESSIBILITY OF PHENOLIC COMPOUNDS IN MELON SEED SHERBET (SUBYE)

ABSTRACT

Subye is a traditional cold drink prepared with melon seeds, sugar and water. The aim of this study was to investigate the food matrix effect on the bioaccessibility of phenolic compounds by determining the changes in total phenolics and total antioxidant capacity of subye formulations prepared with sugar/sweetener, using an in vitro model mimicking the digestion in the mouth, stomach and intestine. The results showed that presence of sugar in subye formulations increases the bioaccessibility of total phenolics (42–64%) ($P < 0.05$) and total antioxidant capacity (13–172%). Although bioaccessibility of phenolics and antioxidants increased in most of the beverages prepared with sweetener (80% and 16–62%, respectively), for some formulations presence of sweetener did not induce a significant effect on the bioaccessibility of total phenolics and total antioxidant capacity.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: skamiloglu@uludag.edu.tr,

☎: (+90) 224 2755447

☎: (+90) 224 294 1402

Nurdan Özdemirli; ORCID no: 0000-0001-8741-1416

Senem Kamiloğlu; ORCID no: 0000-0003-3902-4360

Overall, the findings obtained in this study pointed out that in general presence of sugar/sweetener positively affects the bioaccessibility of phenolics.

Keywords: *Cucumis melo* L., plant-based milk, in vitro digestion, food matrix, total phenolic content, total antioxidant capacity

GİRİŞ

Son yıllarda laktoz intoleransı, alerjiler veya farklı tüketim tercihleri sebebiyle bitki bazlı süt alternatiflerine olan ilgi artmıştır (Reyes-Jurado vd., 2021). “Sübye” ya da “İzmir şerbeti” olarak adlandırılan geleneksel soğuk içecek kavun çekirdekleri, şeker ve su ile hazırlanmakta olup (Tamer vd., 2019) bitki bazlı süt alternatifi olarak tüketilebilmektedir. Kavun çekirdekleri meyvenin sanayide işlenmesi neticesinde ortaya çıkmakta olup kavun kabukları ile birlikte dünya çapında yılda yaklaşık 8 ila 20 milyon tonluk bir atık oluşturmaktadır (Rolim vd., 2020). Sanayide üretim sonucunda açığa çıkan atıkların bertarafı hem çevre üzerinde olumsuz etkiler yaratmakta hem de gıda üreticisine ciddi bir maliyet oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalar sanayi atıklarının pek çoğunun potansiyel olarak biyoaktif özellikler gösteren bileşiklerin kaynağı olabileceğini ortaya koymuştur (Dueñas ve García-Estévez, 2020). Nitekim, *Cucurbita* cinsi bitkilerden kavunun (*Cucumis melo* L.) çekirdeklerinin antidiyabetik, antiülser, analjezik, nefroprotektif ve antikanser aktiviteler gibi farklı farmakolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Salehi vd., 2019). Görülen bu hastalıklara karşı koruyucu etkiler antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşiklerin varlığı ile de ilişkilendirilmektedir.

Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki potansiyel olumlu etkileri gastrointestinal sistemdeki salınımlarına diğer bir deyişle biyoerişilebilirliklerine bağlıdır. Gastrointestinal koşulların taklidi için hızlı, güvenilir ve in vivo yöntemlerde olduğu gibi etik kaygılarla kısıtlaması olmayan in vitro sindirim yöntemleri yaygın olarak uygulanmaktadır (Wojtunik-Kulesza vd., 2020). Özellikle INFOGEST grubu tarafından geliştirilmiş olan in vitro sindirim modelinin (Minekus vd., 2014) uygulanması, standart deneysel koşulları ve prosedürlerin net olarak tanımlanmasından dolayı oldukça avantajlıdır. Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini etkileyen pek çok parametre olup bunlardan biri gıda matrisi ile olan etkileşimdir. Bu bağlamda şekerin

fenolik bileşikler bakımından zengin gıdalarla birlikte tüketiminin, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini çoğunlukla arttırdığı görülmüştür (Kamiloglu vd., 2021). Bu çalışmada da sübyenin ana bileşenleri olan kavun çekirdeği ile şekerin birlikte tüketiminin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Öte yandan, şekerli içeceklerin tüketimi sağlık üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğinden dolayı şeker yerine düşük kalorili doğal tatlandırıcı kullanılarak alternatif formülasyonlar da geliştirilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalarda sübyenin reolojik, kimyasal, duyusal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiş olup (Sabancı vd., 2014; Apan ve Zorba, 2018) bilindiği kadarıyla daha önce yapılan hiçbir çalışmada gıda matrisinin sübyedeki fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisi incelenmemiştir. Literatürdeki bu eksiklik de dikkate alınarak, bu çalışmada INFOGEST in vitro sindirim modeli kullanılarak şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Gıda işleme sonucu açığa çıkan Mimoza ve Canpolat cinsi kavunların (*Cucumis melo* L.) çekirdekleri Ağustos 2021’de endüstriyel bir dondurulmuş gıda işleme fabrikasından (Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Bursa) temin edilmiştir. Kavun çekirdekleri liflerinden ayrılarak 48 saat boyunca oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmış ve sonrasında blender (Tefal, Türkiye) yardımıyla 0.2-1.2 mm boyutunda ince bir toz halinde öğütülmüştür. Sübye formülasyonları oluşturulurken daha önce literatürde yapılmış çalışmalar dikkate alınmış ve (Sabancı vd., 2014; Apan ve Zorba, 2018), hazırlanan karışımlar Çizelge 1’de verilmiştir. Toplam 6 formülasyon oluşturulmuş olup, formülasyon 1, 2 ve 3 Mimoza cinsi kavunların

çekirdekleri formülasyon 4, 5 ve 6 ise Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri kullanılarak elde edilmiştir. Formülasyon 1 ve 4 şeker ve tatlandırıcı içermeyen kontrol numuneleri olup, formülasyon

2 ve 5 şeker ile, formülasyon 3 ve 6 da tatlandırıcı ile hazırlanmıştır. İçecekler süzülerek numune kaplarına alınmış ve ertesi gün in vitro sindirime tabi tutulana kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 1. Kavun çekirdeği şerbeti (Sübye) formülasyonları
Table 1. Melon seed sherbet (Subye) formulations

Bileşenler Constituents	F1 ¹	F2	F3	F4	F5	F6
Kavun çekirdeği (Mimoza) Melon seed (Mimoza)	50 g	50 g	50 g			
Kavun çekirdeği (Canpolat) Melon seed (Canpolat)				50 g	50 g	50 g
Şeker Sugar		25 g			25 g	
Tatlandırıcı ² Sweetener			12.5 g			12.5 g
Su Water	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

¹F: Formülasyon. ²F: Formulation

²Stevia (Takita®, Almanya). Şekerden 2 kat tatlıdır. ²Stevia (Takita®, Germany). Twice sweet as sugar.

Kimyasallar

In vitro sindirim modeli için potasyum klorür, sodyum bikarbonat (Isolab, Türkiye), monopotasyum fosfat (Honeywell, ABD), magnezyum klorür heksahidrat, hidroklorik asit, sodyum hidroksit (Merck, Almanya), kalsiyum klorür (Tekkim, Türkiye), sodyum klorür, amonyum karbonat, α -amilaz, pepsin, pankreatin ve safra (Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite tayinleri için gallik asit, Folin-Ciocalteu reaktifi, neokuproin, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu)), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin), demir (III) klorür (Sigma-Aldrich, Almanya), sodyum karbonat, bakır (II) klorür, metanol (Merck, Almanya), Troloks® (Acros, ABD), amonyum asetat (Isolab, Türkiye), monopotasyum fosfat ve dipotasyum fosfat (Carlo Erba, Almanya) kullanılmıştır.

In Vitro Sindirim Modeli

Sübye formülasyonlarında fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin tespiti için sırasıyla ağız,

mide ve bağırsak sindirimini taklit eden INFOGEST in vitro sindirim modeli uygulanmıştır (Minekus vd., 2014). Ağız, mide ve bağırsak elektrolit solüsyonları potasyum klorür, monopotasyum fosfat, sodyum bikarbonat, sodyum klorür, magnezyum klorür heksahidrat, amonyum karbonat ve hidroklorik asit içermekte olup, protokolde belirtilen şekilde hazırlanmıştır.

Ağız sindirimini taklit etmek için 10 mL içeceğe 7 mL ağız elektrolit solüsyonu, 1 mL α -amilaz (1500 U/mL), 50 μ L 0.3 M kalsiyum klorür ve 1.95 mL distile su eklenerek karışım çalkalayıcı su banyosunda (Nüve ST 30, Türkiye) 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 2 dakika inkübasyonun ardından, her bir içecekten 4 mL örnek toplanmıştır.

Mide sindirimini taklit etmek için, kalan solüsyona 12 mL mide elektrolit solüsyonu, 2.56 mL pepsin (25000 U/mL), 8 μ L kalsiyum klorür eklenmiş ve 1 M hidroklorik asit ile pH 3'e ayarlanmıştır. Ardından distile eklenerek toplam hacim 16 mL'ye tamamlanmış ve karışım çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 2

saat inkübasyonun ardından, her bir içecekten 4 mL örnek toplanmıştır.

Bağırsak sindirimini taklit etmek için, kalan karışıma 15.4 mL bağırsak elektrolit solüsyonu, 7 mL pankreatin (800 U/mL), 3.5 mL 160 mM safra, 56 µL 0.3 M kalsiyum klorür ilave edilmiş ve 1 M sodyum hidroksit ile pH 7'ye ayarlanmıştır. Sonrasında toplam hacim 28 mL olacak şekilde distile su eklenmiş ve karışım çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 2 saat inkübasyonun ardından, her bir içecekten örnekler toplanmıştır.

Ağız, mide ve bağırsak sindirimleri sonrası toplanan örnekler 4 °C'de, 20000 g hızında 5 dakika santrifüjlenmiştir (Hitachi CF15RN, Japonya). Toplanan üst fazlar toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite analizlerine kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Bu işlemlere ek olarak, sübye katılmadan aynı koşullar altında inkübasyonlar gerçekleştirilmiş ve elde edilen kör örnekler sindirim sıvılarından kaynaklanan etkileşimlerin düzeltilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayini spektrofotometre (Agilent Cary 60, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 0.75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Karışıma 0.75 mL %6 sodyum karbonat solüsyonu ilave edilmiş ve 90 dakika inkübasyonun ardından 725 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir (Velioglu vd., 1998). Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE) /100 mL olarak ifade edilmiştir (lineer aralık: 10–600 mg/L, $R^2= 0.9999$).

Toplam Antioksidan Kapasite Tayini

Toplam antioksidan kapasite CUPRAC (bakır iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu)) yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm toplam antioksidan kapasite ölçümleri spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar mg Trolox®

eşdeğeri (TE)/100 mL olarak ifade edilmiştir (lineer aralık: 1–800 mg/L, $R^2= 0.9923$ –0.9996).

CUPRAC yönteminde 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 1'er mL 10 mM bakır (II) klorür, 7.5 mM neokuproin ve 1 M amonyum asetat ile karıştırılmıştır. Karışıma 1 mL distile su da ilave edilerek hacim 4.1 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyonun ardından 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir (Apak vd., 2004).

DPPH yönteminde 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 2 mL 0.1 mM metanolde çözünmüş, DPPH reaktifi ile karıştırılmış ve 30 dakika inkübasyonun ardından 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir (Kumaran ve Karunakaran, 2006).

ABTS yönteminde çalışma solüsyonu, pH 8 olan 50 mM potasyum fosfat tamponu içerisinde 734 nm dalga boyunda 0.90 (± 0.05) absorbans derecesine seyreltilerek hazırlanmıştır. 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 1 mL ABTS çalışma solüsyonu ile karıştırılmış ve 1 dakika inkübasyonun ardından 734 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir (Miller ve Rice-Evans, 1997).

İstatistiksel Analiz

Analizler üç tekrarlı olarak hazırlanan içeceklerin her birinde üçer ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. SPSS (IBM, ABD) kullanılarak tek yönlü ANOVA uygulanmış olup, içecekler arasındaki farklar Tukey testi ile belirlenmiştir ($P<0.05$). Toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite analizleri arası korelasyon katsayıları (R^2) ise Excel (Microsoft, ABD) ile tespit edilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Toplam Fenolik Madde

In vitro sindirimin sübye formülasyonlarının toplam fenolik madde içeriğine olan etkileri Çizelge 2'de verilmiştir. Sindirilmemiş sübye formülasyonları için Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerin toplam fenolik madde içeriklerinin, Canpolat cinsi

kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklere kıyasla ortalama %15 daha yüksek olduğu görülmüştür. Diğer taraftan, her iki cins kavun çekirdeği ile hazırlanan sübye formülasyonlarının toplam fenolik madde içeriklerinin pirinç sütü, fındık sütü ve hindistan cevizi sütü gibi bazı bitkisel bazlı sütlerden yüksek olduğu görülmüştür (5.13–13.11 mg GAE/100 mL) (Aly vd., 2022). Literatürde daha önce yapılmış olan bazı çalışmalar partikül boyutu (Brewer vd., 2014; Sparrow vd., 2016) ve ürünün hasat zamanının (Ariza vd., 2015; Özcan vd., 2019) fenolik bileşen içeriğine etki edebileceğini göstermiştir. Ağız sindirimi sonrasında tespit edilen toplam fenolik madde içeriği ile sindirilmemiş içecekler için yapılan ölçümler arasında önemli bir fark görülmemiştir ($P > 0.05$). Öte yandan mide sindirimi sonrasında tüm içeceklerin toplam fenolik madde içeriklerinde istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüştür (1.5–3.5 kat) ($P < 0.05$). Bu bulgu daha önce sebze suları (Wootton-Beard vd., 2011), kuru meyve ve kuruyemişlerle (Kamiloglu vd., 2014) yapılmış

olan çalışmalarda elde edilen veriler ile uyumludur. Toplam fenolik madde içeriğinde gözlenen bu artışlar, mide sindirimi boyunca fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunun devam ettiğine ve serbest kalan fenolik bileşiklerin midedeki asidik ortamda stabil kaldığına işaret etmektedir. Bağırsak sindiriminden sonra Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerin toplam fenolik madde içeriğinde mide sindirimi sonrası elde edilen verilere kıyasla düşüşler ya da önemsiz değişiklikler görülürken, Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerde toplam fenolik madde içeriğinde istatistiksel olarak önemli artışlar gözlenmiştir (%22–58) ($P < 0.05$). Daha önce yapılmış olan bazı çalışmalarda da bağırsak sindirimi sonrasında toplam fenolik madde içeriğinde artışlar görülmüş ve bu durum gıdaların bağırsak sıvıları ile olan temas süresinin artması ve bağırsak enzimlerinin fenolik bileşiklerin salınımını kolaylaştırması ile açıklanmıştır (Bouayed vd., 2011; Kamiloglu, 2019).

Çizelge 2. In vitro sindirim sırasında kavun çekirdeği şerbeti (Sübye) formülasyonlarının toplam fenolik madde içeriğinde meydana gelen değişimler

Table 2. Changes in total phenolic content of melon seed sherbet (Subye) formulations during in vitro digestion

Formülasyon <i>Formulation</i>	Sindirilmemiş <i>Undigested</i>	Ağız <i>Mouth</i>	Mide <i>Stomach</i>	Bağırsak <i>Intestine</i>
F1	30.8 ± 0.7 C,a	32.4 ± 1.4 C,a	76.3 ± 3.6 A,de	57.8 ± 8.7 B,d
F2	29.7 ± 1.3 C,a	32.6 ± 1.3 C,a	129.5 ± 1.6 A,a	94.9 ± 7.5 B,c
F3	27.0 ± 0.7 B,b	30.4 ± 0.5 B,ab	101.4 ± 9.3 A,bc	103.8 ± 8.8 A,bc
F4	24.1 ± 0.2 D,c	28.3 ± 0.5 C,b	74.9 ± 0.8 B,e	118.1 ± 2.8 A,b
F5	25.6 ± 1.5 C,bc	32.7 ± 0.2 C,a	114.8 ± 4.8 B,b	168.1 ± 3.9 A,a
F6	26.4 ± 0.9 C,bc	32.1 ± 0.9 C,a	90.3 ± 5.4 B,cd	110.3 ± 8.9 A,bc

Bu tabloda gösterilen veriler üç tekrarlı olarak hazırlanan içeceklerde yapılan ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir (mg GAE/100 mL). Satırlardaki büyük harfler ve sütunlardaki küçük harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$). Formülasyonlar için kullanılan kısaltmalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Data presented in this table consist of average values ± standard deviation of three beverages (mg GAE/100 mL). Capital letters in the rows and small letters in the columns represent statistically significant differences ($P < 0.05$). Abbreviations used for formulations are expressed in Table 1.

Gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırılması amacıyla sadece Mimoza ve Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ve su ile kontrol formülasyonları (F1 ve F4) (Çizelge 1) oluşturulmuş ve şeker/tatlandırıcı kullanılarak hazırlanan içecekler ile toplam fenolik madde içeriği açısından karşılaştırılmıştır. Sindirilmemiş

sübye formülasyonları için genel olarak içeceklerin şeker ya da tatlandırıcı ile hazırlanması arasında toplam fenolik madde içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemekle beraber ($P > 0.05$) in vitro sindirim sonrasında bu durum değişmiştir. Hem Mimoza hem de Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan sübye formülasyonlarında şeker ilavesi

fenolik madde biyoerişilebilirliğini istatistiksel olarak önemli düzeyde arttırmıştır (%42–64) ($P < 0.05$). Tatlandırıcı ilavesi için ise değişken sonuçlar elde edilmiştir. Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerde tatlandırıcı ilavesi fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini arttırmakla beraber (%80) ($P < 0.05$) Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerde tatlandırıcının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği üzerine bir etkisi görülmemiştir. Literatürde yapılan çalışmaların çoğunda, şeker veya tatlandırıcı varlığının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini olumlu yönde etkilediği öne sürülmüştür (Neilson vd., 2009; Carbonell-Capella vd., 2015; Kamiloglu vd., 2022). Şekerin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini artırıcı etkisi fenolik bileşiklerin çözünürlüğü üzerindeki etkisiyle ilişkilendirilmektedir (Peters vd., 2010). Folin–Ciocalteu metodu basit, sağlam ve tekrarlanabilir olma avantajlarına sahip olmasına rağmen bu yöntemin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin yanı sıra basit şekerler, askorbik asit, sitrik asit veya bazı amino asitler gibi indirgeyici ajanlar girişim yapabilmekte ve bu sebeple de elde edilen sonuçlar gerçek değerinden yukarıda değerlendirilebilmektedir. İlâveten Folin–Ciocalteu metodu sulu ortamda gerçekleştirildiğinden dolayı lipofilik fenolik bileşiklerin ölçümü sınırlı olarak gerçekleşmektedir (Capanoglu vd., 2021).

Toplam Antioksidan Kapasite

Sübye formülasyonlarında *in vitro* sindirim neticesinde toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişiklikler üç farklı yöntem (CUPRAC, DPPH ve ABTS) kullanılarak tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. En yüksek toplam antioksidan kapasite değerleri CUPRAC yöntemi ile elde edilmiş olup sonrasında sırasıyla ABTS ve DPPH yöntemleri gelmiştir: CUPRAC > ABTS > DPPH. Toplam antioksidan kapasite ölçüm metodları arasında görülen bu farklılıklar CUPRAC ve ABTS metodları ile hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar ölçülürken, DPPH yöntemi ile sadece lipofilik antioksidanların ölçülmesinden kaynaklanıyor olabilir (Capanoglu vd., 2021). Nitekim, literatürde yapılan çalışmalarda bitki bazlı süt ikamelerinin işlenmesi

sırasında, hidrofobik fenolik bileşiklerin çoğunun uzaklaştırıldığı ifade edilmiştir (Aydar vd., 2020; Aly vd., 2022). İlâveten, DPPH yönteminde biyolojik olarak ilgisiz olan nitrojen radikalının oluşumu antioksidan kapasitenin gerçek değerinden düşük olarak tahmin edilmesine neden olmaktadır (Capanoglu vd., 2021). Sindirilmemiş formülasyonlar için toplam fenolik madde içeriğinde olduğu gibi Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerin toplam antioksidan kapasitelerinin, Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklere kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde daha yüksek olduğu görülmüştür (ortalama %24–95) ($P < 0.05$). Ağız sindirimi sonrasında da yine toplam fenolik madde içeriğindeki gibi toplam antioksidan kapasitede genel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Mide sindiriminden sonra toplam antioksidan kapasite değerlerinde artışlar görülmekle beraber bağırsak sindirimi sonrasında değişken sonuçlar elde edilmiştir. DPPH ve ABTS yöntemleri ile elde edilen toplam antioksidan kapasite değerlerinde mide sindirimine kıyasla düşüşler olmakla beraber (%2–80) CUPRAC yöntemi ile elde edilen sonuçlar toplam antioksidan kapasite değerlerinde artışlar olduğuna işaret etmiştir (0.7–2.8 kat) ($P < 0.05$). Tüm sübye formülasyonları için sindirim sonrasında toplam antioksidan kapasite değerlerinde sindirilmemiş içeceklere kıyasla istatistiksel olarak önemli oranda artışlar olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Bu bulgu literatürde daha önce bitki bazlı sütler için yapılmış bir çalışma ile uyumlu olup, toplam antioksidan aktivitedeki artış sindirim sonrasında enzim faaliyetleri ile fenolik bileşenlerin serbest kalması ya da antioksidan özellikte yeni bileşiklerin oluşabilmesi ile açıklanmıştır (Aly vd., 2022).

Sindirilmemiş sübye formülasyonları için CUPRAC metodu ile elde edilen sonuçlar haricinde, içeceklerin şeker/tatlandırıcı ile hazırlanması toplam antioksidan kapasitelerini arttırmıştır (%6–42). Benzer durum sindirilmiş içecekler için de geçerli olup şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan formülasyonlarda antioksidan biyoerişilebilirliği sırasıyla %13–172 artış göstermiştir. Toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasite arası korelasyonlar da

hesaplanmıştır. In vitro sindirim öncesinde toplam fenolik madde içeriği ile toplam antioksidan kapasite arasında nispeten lineer bir ilişki elde edilmiş olup en yüksek değer CUPRAC yöntemi ile tespit edilmiştir ($R^2 = 0.6907$). Toplam antioksidan kapasite metotları arasında da özellikle CUPRAC ve ABTS metotları arasında iyi bir korelasyon olduğu görülmüştür ($R^2 = 0.6042$). Görülen bu lineer ilişki ağız sindirimi sonrasında görülmemekle beraber mide ve bağırsak sindirimleri sonrasında toplam fenolik madde

içeriği ile ABTS yöntemi arasında yine iyi bir korelasyon elde edilmiştir (sırasıyla $R^2 = 0.7162$ ve $R^2 = 0.6824$). Neticede gıda ürünlerinin antioksidan kapasitelerinin ölçümünün tek bir antioksidan kapasite ölçüm metodu kullanarak yapılması ile yeterli bir değerlendirme yapılmasının mümkün olamayacağı anlaşılmıştır. Nitekim literatürde de toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde farklı mekanizmalara sahip birden çok yöntemin uygulanması önerilmektedir (Capanoglu vd., 2021).

Çizelge 3. In vitro sindirim sırasında kavun çekirdeği şerbeti (Sübye) formülasyonlarının toplam antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler

Table 3. Changes in total antioxidant capacity of melon seed sherbet (Subye) formulations during in vitro digestion

Formülasyon Formulation	Sindirilmemiş Undigested	Ağız Mouth	Mide Stomach	Bağırsak Intestine
CUPRAC (Bakır İyonu İndirgenme Antioksidan Kapasitesi) CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)				
F1	18.1 ± 0.8 B,a	12.8 ± 2.4 B,ab	15.0 ± 3.0 B,b	36.0 ± 7.0 A,c
F2	15.9 ± 2.0 B,a	7.2 ± 1.8 B,b	30.3 ± 6.1 B,a	75.1 ± 17.8 A,ab
F3	12.6 ± 1.5 C,b	14.7 ± 3.6 C,a	32.8 ± 5.0 B,a	58.1 ± 5.1 A,bc
F4	7.7 ± 0.2 C,c	9.4 ± 1.2 BC,ab	19.6 ± 1.1 B,ab	37.8 ± 8.6 A,c
F5	8.2 ± 0.5 B,c	8.4 ± 2.5 B,b	27.2 ± 5.9 B,ab	102.7 ± 20.6 A,a
F6	6.7 ± 0.8 C,c	10.4 ± 0.2 C,ab	31.9 ± 7.6 B,a	55.0 ± 3.3 A,bc
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)				
F1	6.5 ± 0.9 C,bc	5.9 ± 0.6 C,a	45.0 ± 4.8 A,c	25.1 ± 4.2 B,c
F2	8.1 ± 0.7 C,ab	4.2 ± 1.4 C,a	158.2 ± 4.6 A,a	34.0 ± 2.9 B,ab
F3	8.2 ± 0.6 C,a	4.4 ± 1.2 C,a	152.2 ± 1.9 A,a	37.6 ± 3.7 B,a
F4	5.7 ± 0.5 C,c	3.8 ± 0.6 C,a	121.2 ± 0.6 A,b	27.3 ± 1.8 B,bc
F5	6.5 ± 0.2 C,abc	5.1 ± 0.5 C,a	150.9 ± 3.6 A,a	30.7 ± 1.7 B,abc
F6	8.1 ± 0.6 C,a	4.5 ± 0.5 C,a	150.2 ± 5.9 A,a	31.7 ± 0.2 B,abc
ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu)) ABTS (2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)				
F1	13.2 ± 0.2 D,c	16.5 ± 0.1 C,c	57.4 ± 0.4 A,e	40.2 ± 1.7 B,e
F2	14.8 ± 0.3 D,a	17.6 ± 0.1 C,b	79.9 ± 0.8 A,a	49.6 ± 0.3 B,c
F3	14.0 ± 0.3 D,b	23.6 ± 0.5 C,a	74.4 ± 0.9 A,b	53.8 ± 0.4 B,b
F4	9.6 ± 0.2 C,e	15.7 ± 0.1 B,d	49.6 ± 0.4 A,f	48.8 ± 0.6 A,c
F5	11.6 ± 0.03 D,d	18.0 ± 0.2 C,b	64.8 ± 0.6 A,c	58.6 ± 0.3 B,a
F6	11.2 ± 0.1 D,d	18.0 ± 0.2 C,b	61.7 ± 0.3 A,d	45.1 ± 1.9 B,d

Bu tabloda gösterilen veriler üç tekrarlı olarak hazırlanan içeceklerde yapılan ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir (mg TE/100 mL). Satırlardaki büyük harfler ve sütunlardaki küçük harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$). Formülasyonlar için kullanılan kısaltmalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Data presented in this table consist of average values ± standard deviation of three beverages (mg TE/100 mL). Capital letters in the rows and small letters in the columns represent statistically significant differences ($P < 0.05$). Abbreviations used for formulations are expressed in Table 1.

SONUÇ

Bilindiği kadarıyla bu çalışma şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimlerin belirlenerek gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmada elde edilen bulgular şeker veya tatlandırıcı varlığının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini genel anlamda olumlu yönde etkilediğine dikkat çekmekle beraber şeker eklenmesinin spektrofotometrik yöntemler üzerine yalnızca pozitif sonuç verme durumu söz konusu olabileceğinden, elde edilen bulguların kromatografik yöntemle fenolik bileşen tayini yapılarak teyit edilmesi gereklidir. İlave, elde edilen sonuçlar sadece bu formülasyonlar için geçerlidir. Şeker/tatlandırıcının kavun çekirdeğine oranının farklı olduğu formülasyonlarda, başka cins ya da toz boyutuna sahip kavun çekirdekleri veyahut farklı zamanda hasat edilen kavunlardan elde edilen çekirdekler kullanıldığında, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değişmesi olasıdır. Bununla birlikte, bu çalışma ile endüstriyel atık olarak ayrılan kavun çekirdeklerinin sübye yapımında kullanılarak değerlendirilmesi ile fenolik bileşik biyoerişilebilirliği yüksek fonksiyonel bir ürün geliştirilebileceği görülmüştür. Gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisini tam anlamıyla kavramak için in vivo çalışmalara da ihtiyaç vardır. Ayrıca, ileride gerçekleştirilecek çalışmalarda sübye formülasyonlarının duyu analizin de yapılması faydalı olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Nurdan Özdemirli deneysel çalışmaların yürütülmesine; Senem Kamiloğlu çalışmanın kurgulanması, sonuçların değerlendirilmesi ve makale yazımına katkı sağlamıştır.

TEŞEKKÜR

Yazarlar Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Tic. A.Ş. firmasına kavun çekirdeklerinin teminindeki desteklerinden dolayı teşekkür eder.

KAYNAKLAR

- Aly, E., Sánchez-Moya, T., Darwish, A. A., Ros-Berrueto, G., López-Nicolás, R. (2022). In vitro digestion effect on CCK and GLP-1 release and antioxidant capacity of some plant-based milk substitutes. *Journal of Food Science*, 87(5): 1999-2008, doi: 10.1111/1750-3841.16140.
- Apak, R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981, doi: 10.1021/jf048741x.
- Apan, M.A., Zorba, M. (2018). Improvement of quality and shelf-life of Sübye, a traditional beverage of Turkey. *Food Science and Technology*, 38(4):719-725, doi: 0.1590/1678-457X.12517.
- Ariza, M. T., Martínez-Ferri, E., Domínguez, P., Medina, J. J., Miranda, L., Soria, C. (2015). Effects of harvest time on functional compounds and fruit antioxidant capacity in ten strawberry cultivars. *Journal of Berry Research*, 5(2): 71-80, doi: 10.3233/JBR-150090.
- Aydar, E.F., Tutuncu, S., Ozcelik, B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *Journal of Functional Foods*, 70: 103975, doi: 10.1016/j.jff.2020.103975.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1):14-21, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.02.052.
- Brewer, L. R., Kubola, J., Siriamornpun, S., Herald, T. J., Shi, Y. C. (2014). Wheat bran particle size influence on phytochemical extractability and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 152: 483-490, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.128.
- Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Demirci Cekic, S., Sozgen Baskan, K., Avan, A. N., Uzunboy, S., Apak, R. (2021). Antioxidant activity and capacity

- measurement. In: Plant Antioxidants and Health, Ekiert, H.M., Ramawat, K.G., Arora, J. (Eds.), Springer, pp. 709-773, doi: 10.1007/978-3-030-45299-5_22-1.
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Esteve, M.J., Frígola, A. (2015). Effect of Stevia rebaudiana addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed with oat following simulated human digestion. *Food Chemistry*, 184: 122–130. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.095.
- Dueñas, M., García-Estévez, I. (2020). Agricultural and food waste: Analysis, characterization and extraction of bioactive compounds and their possible utilization. *Foods*, 9(6): 817, doi: :10.3390/foods9060817.
- Kamiloglu, S. (2019). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA*, 44(3): 409-418, doi: 10.15237/gida.gd19026.
- Kamiloglu, S., Ozdal, T., Bakir, S., Capanoglu, E. (2022). Bioaccessibility of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) coffee polyphenols: Influence of milk, sugar and sweetener addition. *Food Chemistry*, 374: 131728, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131728.
- Kamiloglu, S., Pasli, A.A., Ozcelik, B., Capanoglu, E. (2014). Evaluating the *in vitro* bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 284-289, doi: 10.1016/j.lwt.2013.11.040.
- Kamiloglu, S., Tomas, M., Ozdal, T., Capanoglu, E. (2021). Effect of food matrix on the content and bioavailability of flavonoids. *Trends in Food Science and Technology*, 117:15-33, doi: 10.1016/j.tifs.2020.10.030.
- Kumaran, A., Karunakaran R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1): 109-114, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.032.
- Miller, N.J., Rice-Evans C. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radical Reserach*, 26(6): 195-199, doi: 10.3109/10715769709097799.
- Minekus, M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carriere F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D.J., Menard O., Recio I., Santos C.N., Singh R.P., Vegarud G.E., Wickham M.S.J., Weitschies W., Brodkorb A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6): 1113-1124, doi: 10.1039/C3FO60702J.
- Neilson, A.P., George, J.C., Janle, E.M., Mattes, R.D., Rudolph, R., Matusheski, N.V., Ferruzzi, M.G. (2009). Influence of chocolate matrix composition on cocoa flavan-3- ol bioaccessibility in vitro and bioavailability in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20): 9418–9426. doi: 10.1021/jf902919.
- Özcan, M. M., Fındık, S., Aljuhaimi, F., Ghafoor, K., Babiker, E. E., Adiamo, O. Q. (2019). The effect of harvest time and varieties on total phenolics, antioxidant activity and phenolic compounds of olive fruit and leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 56(5): 2373-2385, doi: 10.1007/s13197-019-03650-8.
- Peters, C.M., Green, R.J., Janle, E.M., Ferruzzi, M.G. (2010). Formulation with ascorbic acid and sucrose modulates catechin bioavailability from green tea. *Food Research International*, 43(1): 95–102, doi: 10.1016/J. foodres.2009.08.016.
- Reyes-Jurado, F., Soto-Reyes, N., Dávila-Rodríguez, M., Lorenzo-Leal, A.C., Jiménez-Munguía, M. T., Mani-López, E., López-Malo, A. (2021). Plant-based milk alternatives: Types, processes, benefits, and characteristics. *Food Reviews International*, doi: 10.1080/87559129.2021.1952421.
- Rolim, P.M., Seabra, L.M.A.J., de Macedo, G.R. (2020). Melon by-products: Biopotential in human health and food processing. *Food Reviews*

- International*, 36(1): 15-38, doi: 10.1080/87559129.2019.1613662.
- Sabancı, S., Celebi, C., Icier, F. (2014). Rheological properties of sübye, traditional beverage. *Akademik Gıda*, 12(1): 11-15.
- Salehi, B., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., Jaffer, M., Giri, L., Suyal, R., Jugran, A.K., Calina, D., Docea, A.O., Kamiloglu, S., Kregiel, D., Antolak, H., Pawlikowska, E., Sen, S., Acharya, K., Selamoglu, Z., Sharifi-Rad, J., Martorell, M., Rodrigues, C.F., Sharopov, F., Martins, N., Capasso, R. (2019). *Cucurbits* plants: A key emphasis to its pharmacological potential. *Molecules*, 24(10): 1854, doi: 10.3390/molecules24101854.
- Sparrow, A. M., Smart, R. E., Dambergs, R. G., Close, D. C. (2016). Skin particle size affects the phenolic attributes of Pinot noir wine: Proof of concept. *American Journal of Enology and Viticulture*, 67(1): 29-37, doi: 10.5344/ajev.2015.15055.
- Tamer, C.E., Yolci Ömeroğlu, P., Çopur, Ö.U. (2019). Functional and traditional non-alcoholic beverages in Turkey. In: Non-alcoholic beverages, Grumezescu, A.M., Holban, A.M. (Eds.), Volume 6: The science of beverages, Woodhead Publishing, pp. 483-521, doi: 10.1016/B978-0-12-815270-6.00015-3.
- Velioglu, Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10): 4113-4117, doi: 10.1021/jf9801973.
- Wojtunik-Kulesza, K., Oniszcuk, A., Oniszcuk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., Matwijczuk, A. (2020). Influence of *in vitro* digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols—A non-systematic review. *Nutrients*, 12(5): 1401, doi: 10.3390/nu12051401.
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1):217-224, doi: 10.1016/j.foodres.2010.10.033.

SÜT, İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ (IGF-1) ve SAĞLIK

Sedef Nehir El*, Sibel Karakaya

Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beslenme Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 31.08.2022; Kabul / Accepted: 22.11.2022; Online baskı / Published online: 05.12.2022

El, S.N., Karakaya, S. (2022). Süt, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) ve sağlık. *GIDA* (2022) 47 (6) 1140-1152 doi: 10.15237/gida.GD22084

El, S.N., Karakaya, S. (2022). *Milk, insulin like growth factor (IGF-1) and health*. *GIDA* (2022) 47 (6) 1140-1152doi: 10.15237/gida.GD22084

ÖZ

Tüm memeli sütlerinde farklı miktarlarda bulunan insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) yenidoğan için büyüme gen sinyalizasyon sisteminin başlıca düzenleyicisidir. Önemli bir anabolik hormon olan IGF-1'in temel biyolojik fonksiyonları hücre metabolizmasının düzenlenmesi, büyüme, hücre çoğalması ve programlı hücre ölümüdür. Serumdaki IGF-1'in seviyesi ile insan sağlığı üzerine olumlu ve olumsuz etkilerini veya hastalık risklerini ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır. Serum IGF-1 seviyesindeki azalma, kalp-damar hastalıkları, kalp otofaji, hipertansiyon, sarkopeni, sinir sistemi hastalıkları ve tip 2 diyabet riskleri ile ilişkilendirilirken, yüksek IGF-1 miktarı prostat, menopoz öncesi meme ve kolorektal kanserlerle ve yaşam süresinin kısalmasıyla bağlantılı bulunmaktadır. IGF-1'in Alzheimer, demans, Parkinson hastalıklarından koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Sistematik derlemeler ve meta analiz çalışmaları incelendiğinde, süt tüketiminin IGF-1 seviyesi ve sağlık üzerine etkileri ile ilgili daha tutarlı sonuçlar elde etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca sütteki IGF-1'in miktar olarak ve moleküler düzeyde, süte uygulanan ısısal olan veya olmayan işlemlerden ve sindirimden nasıl etkilendiğine dair çalışmalar yetersizdir.

Anahtar kelimeler: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), in vitro sindirim, biyoyararlılık, süt tüketimi

MILK, INSULIN LIKE GROWTH FACTOR (IGF-1) and HEALTH

ABSTRACT

Insulin-like growth factor (IGF-1), present in varying amounts in all mammalian milks, is a major regulator of the growth gene signaling system in the newborn. The main biological functions of IGF-1, an important anabolic hormone, are the regulation of cell metabolism, growth, cell proliferation, and programmed cell death (apoptosis). There are studies that reveal positive and negative effects or disease risks on human health with the level of IGF-1 in serum. A low level of serum IGF-1 is associated with the risk of cardiovascular diseases, cardiac autophagy, hypertension, sarcopenia, nervous system diseases, and type 2 diabetes, while a high IGF-1 level is associated with prostate, premenopausal breast, and colorectal cancers and short life expectancy. IGF-1 is known to have a protective effect against Alzheimer's, dementia, and Parkinson's disease. When systematic reviews and meta-analysis studies are examined, it is clear that more studies are needed to obtain more consistent results regarding IGF-1 levels and the health effects of milk consumption. In addition, there are insufficient studies on how IGF-1 in milk is affected by milk processing and digestion, in terms of quantity and molecular level.

Keywords: Insulin-like growth factor-1 (IGF-1), in vitro digestion, bioavailability, milk consumption

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: sedef.el@ege.edu.tr,

☎: (+90) 232 311 3005

Sedef Nehir El; ORCID no: 0000-0002-2996-0537

Sibel Karakaya; ORCID no: 0000-0001-5514-9521

GİRİŞ

Tüm memeli sütleri protein karbonhidrat lipit gibi makro besin öğelerini, vitamin ve mineral gibi mikro besin öğelerini ve bunların yanı sıra prostoglandin F2alfa ve E, insulin ve lactoferrin (Lf) gibi biyoaktif bileşikler ve büyüme hormonlarını içermektedir. Büyüme hormonları, insulin benzeri büyüme faktörü 1 ve 2 (Insulin-like growth factor, IGF-1 ve IGF-2), IGF bağlayan proteinleri (IGFBPs), epidermal büyüme faktörlerini (EGF) ve dönüştürücü büyüme faktörünü (Transforming Growth Factor, TGF-Beta) içerir (Kim ve Yi 2020; Panuganti vd., 2021; Lee vd., 2022).

Bu bileşiklerin konsantrasyonları ağız sütünde (kolostrum) yüksek iken laktasyon ile normal seviyelere iner. Kolostrumda IGF-1 miktarı oldukça farklılık gösterebilir, doğumdan 2 hafta öncesi 1158 ng/mL iken doğumdan 49 gün sonra 2 ng/mL seviyelerine düşmüştür (Kang vd., 2006). İlk 6 saatte toplanan inek kolostrumun IGF-1 konsantrasyonunu 870 ng/mL iken, 11-20 saat sonra %44'lük bir azalma olduğu, 31-80 saat sonra bu değer 150 ng/mL'de (başlangıç konsantrasyonunun %16'sı) sabit kaldığı saptanmıştır. Bu seviyelerdeki IGF konsantrasyonu özellikle yeni doğmuş bebeklerin gelişiminde veya prematüre bebeklerde tedavi edici rol oynamaktadır (Elfstrand vd., 2002; Lee vd., 2022, Upners vd., 2022). İnek sütlerindeki IGF-1 miktarları farklılık göstermektedir. IGF-1 miktarı, 409 inekten sağlanan sütlerde ortalama 2.6 ng/mL olarak 1.27-8.1 ng/mL aralığında bildirilirken, bir başka çalışmada ortalama 1.1ng/mL olarak saptanmıştır (Ollikainen ve Riihimäki, 2012, Ollikainen ve Muuronen, 2013). En son yapılan bir çalışmada, on bir farklı teknolojik işleme tabi tutularak (yağsız, yarım yağlı, pastörize, sterilize, mikrofiltrasyon vb.) elde edilen süt örneklerinde IGF-1 konsantrasyonları ortalama 57.0 ± 0.2 olarak, 11.2 ± 0.3 ng/mL ile 346 ± 8 ng/mL arasındaki geniş bir aralıkta saptanmıştır. En yüksek IGF-1 miktarı taze tam yağlı süt örneklerinde bulunurken, sütün protein içeriği ile IGF-1 konsantrasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Remaggi vd., 2022)

İnsulin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) molekül yapısı insüline çok benzeyen ve 7.5 kDA ağırlıkta büyük oranda karaciğerde üretilen küçük bir polipeptittir. Memeliler yapısal olarak birbirine oldukça benzeyen IGF-1 üretirler, insan ve inek yapılarındaki IGF-1'ler aynı amino asit dizilişine sahiptirler. IGF-1 aktivitesini birçok hücrenin membranında bulunan reseptör proteinlere bağlanarak gerçekleştirir (Watling vd., 2021). IGF 6 tane reseptör proteine sahiptir. Serum ve sütte en fazla bulunan IGF protein-3 dür (IGFFBP-3). IGF-1, IGF protein reseptörleri yoluyla protein sentezini sağlayarak hücre sayılarında ve büyüklüklerinde artışı, farklılaşmayı ve metabolizmayı düzenler (Kang vd., 2006). IGF-1'in IGF reseptör proteine bağlanma oranı, bağlanmamış IGF-1'in biyoyararlılığı hakkında bilgi veren bir indikatördür (Rzehak vd., 2013).

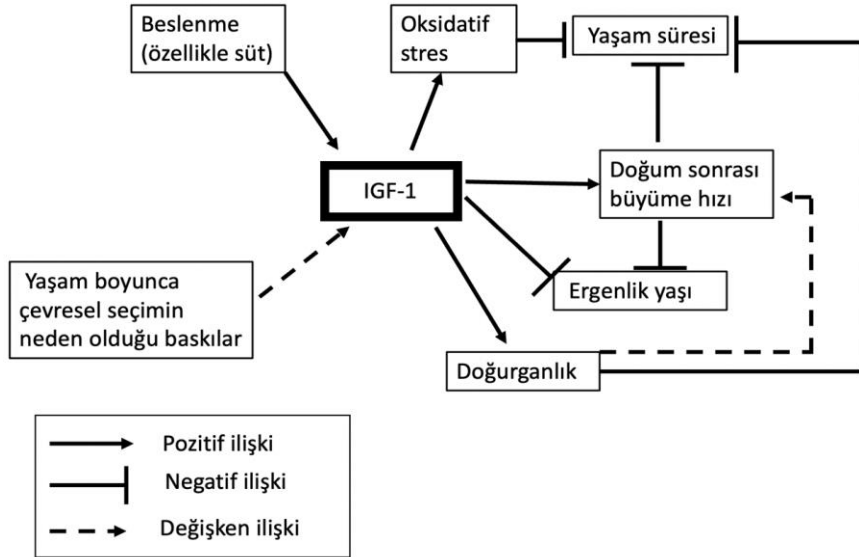
İNSAN YAŞAMINDA IGF-1'in ÖNEMİ

Önemli bir anabolik hormon olan IGF-1 büyüme için gen sinyalizasyon sisteminin başlıca düzenleyicisidir. IGF-1'in temel biyolojik fonksiyonları hücre metabolizmasının düzenlenmesi, büyüme, hücre çoğalması ve programlı hücre ölümüdür (apoptosis). Doğal olarak yenidoğanda ve çocuklarda büyüme ve gelişmeyi sağlarken, yetişkinlerde anabolik özellikler gösterir. IGF-1 fonksiyonlarındaki bozukluklar sağlık üzerine olumsuz etkilere neden olur. Son çalışmalar IGF-1 seviyesi yüksek anne sütü ile beslenen bebeklerde istatistiksel olarak anlamlı kilo artışı olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, anne sütü IGF-1 konsantrasyonları ile bebeklerin kilo alımı arasındaki ilişkiye ilişkin literatürdeki sonuçlar hala uyumsuzdur. Bazı verilerle ilgili olarak bulunan tutarsızlık, yaşamın ilk yıllarında bebeğin vücut kompozisyonunu etkileyebilecek çeşitli ve farklı faktörlerin varlığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle, daha tutarlı sonuçlar elde etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Vizzari vd., 2021).

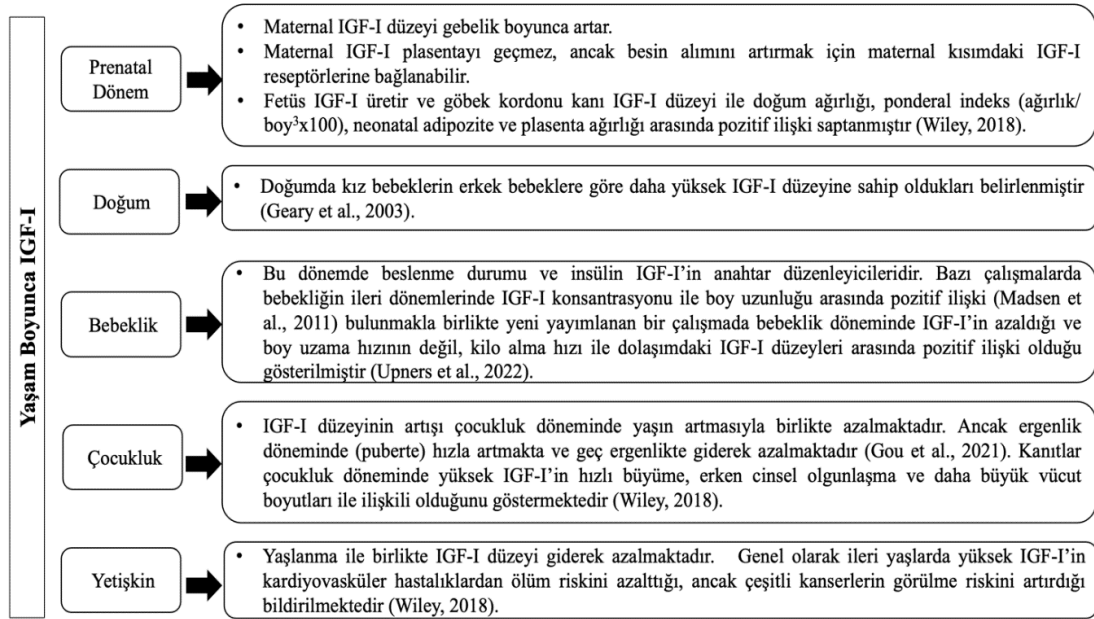
IGF-1'in insan sağlığı üzerine olumlu ve olumsuz etkilerini ortaya koyan çalışmalar (Kirovsky vd., 2021), serum IGF-1 seviyesindeki azalmayı kalp-damar hastalıkları, kalp otofaji, hipertansiyon, sarkopeni, sinir sistemi hastalıkları ve tip 2 diyabet riskleri ile ilişkilendirilmektedir (Lewitt ve Boyd,

2019; Givens 2020; Guijarro vd., 2021; Panuganti vd., 2021). Aynı zamanda Alzheimer, demans, Parkinson hastalıklarından koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir (Kirovsky vd., 2021). Diğer taraftan, yüksek IGF-1 miktarı sadece akromegali ile değil, aynı zamanda prostat, menopoz öncesi meme ve kolorektal kanserlerle ve yaşam süresinin kısalmasıyla bağlantılı bulunmaktadır (Clatici vd., 2018; Sutariya vd., 2018; Guijarro vd., 2021; Guo vd., 2021). Ancak, IGF-1'in kanser gelişimini desteklediğine dair veriler hayvan (sıçan ve fare) ve hücre kültürü çalışmalarından elde edilmiştir, insanlarda aynı etkiyi gösterip göstermediği henüz tam anlamıyla açıklığa kavuşmamıştır (Kirovsky vd., 2021). Gittikçe ilerleyen ve dönüşümsüz olarak fizyolojik fonksiyonların zamanla kaybedilmesi olarak tanımlanan yaşlanma süreci IGF-1 gibi anabolik hormonların seviyesinin gittikçe azalması ile ilişkili bulunmuştur. Tüm bu nedenler ile optimum seviyelerde IGF-1 sirkülasyonu sağlık için yaşamsal bir önemdedir (Tang vd., 2017; Tunç

vd., 2021). Kan dolaşımındaki IGF-1 seviyesinin doğal değişkenliği genetik olarak kalıtsal olsa da beslenme alışkanlıkları, diyetin bileşenleri ve fiziksel aktivite gibi yaşam tarzı faktörleri tarafından da modüle edilmektedir (Kang vd., 2006, Kord-Varkaneh vd., 2020). Endokrin sistemin bir parçası olarak IGF-1'in çevresel ipuçlarına uyum sağlayarak biyolojik yanıtlara dönüştürme potansiyeli vardır. İnsan yaşamında IGF-1'in etkileri Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir. IGF-1'in doğrudan oksidatif stres, doğum sonrası büyüme hızı ve doğurganlık ile pozitif, ergenlik yaşı ile negatif olarak ilişkili olduğu görülmektedir (Pardede vd., 2021). Ayrıca IGF-1'in yenidoğan döneminden yaşamın sonuna kadar vücut ağırlığı, boy, erken ergenlik ve ileri yaşlarda çeşitli kanserlerin görülme sıklığıyla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Şekil 2). Ancak bu ilişkinin yüksek miktardaki IGF-1 konsantrasyonlarına bağlı olduğu göz ardı edilmemelidir.



Şekil 1. IGF-1'in yaşam parametreleriyle ilişkisi (Wiley, 2018).



Şekil 2. Yaşam boyunca IGF-1'in etkileri

BESLENMENİN VE SÜT TÜKETİMİNİN KANDAKİ IGF-1 MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİ

Protein, diyetle yer alan ve vücudun birçok fonksiyonu için gerekli olan bir besin ögesidir. Son yıllarda yüksek hayvansal protein ve düşük bitkisel protein ile beslenmenin çeşitli kronik hastalıklarla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar yayımlanmıştır. Ayrıca hayvansal ve bitkisel protein tüketiminin IGF-1 düzeylerini etkileme bakımından aralarında bir fark olup olmadığı üzerinde durulan araştırma sorularından biridir (Lee vd., 2022). Schüler vd., (2021) isokalorik diyet (enerjinin %30'u hayvansal veya bitkisel proteinden, %30'u yağdan ve %40'ı karbonhidrattan sağlanan diyet) tüketen 37 tip-2 diyabet hastasında hayvansal protein tüketimi ile bitkisel protein tüketiminin IGF-1 ve IGF bağlayan proteinler olan IGFBP-1 ve IGFBP-2 üzerine farklı etkilerinin olup olmadığını araştırmışlardır. Her iki diyetin IGF-1'de artışa neden olduğu ve bu artışın benzer olduğunu saptamışlardır. Bu sonuç IGF-1'deki artışın hayvansal ve bitkisel proteinlerdeki farklı amino asit örüntüsü ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca her iki diyet IGFBP-1 ve IGFBP-2

üzerinde benzer etkiye neden olmuştur. Lee vd., (2022) Nurses' Health Study and Health Professionals Follow-up Study araştırmasına katılmış olan 14709 katılımcının kan örnekleri ve detaylı gıda tüketim sıklığı anketi ile alınan tüketimlerinin analizine dayalı olarak hayvansal protein tüketimi ile insülin ve IGF-1 miktarları arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Toplam enerjinin yüzdesi olarak hayvansal ve bitkisel protein tüketimi için medyan değerleri (%5-95 persentil) sırasıyla %13 (%8-19) ve %5 (%4-7) olarak saptanmıştır. Yüksek miktarda hayvansal protein tüketiminin IGF-1 konsantrasyonunda artışa, IGFBP-2 ve IGFBP-1 konsantrasyonlarında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Hayvansal protein tüketimi açısından en düşük 1/5'lik dilimde olanlar (41.6 g hayvansal protein/gün) ile en yüksek 1/5'lik dilimde olanlar (76.8 g hayvansal protein/gün) kıyaslandığında, en yüksek 1/5'lik dilimde olanlarda IGF-1 konsantrasyonunun yüksek (%5.3) ve IGFBP-2 ve IGFBP-1 konsantrasyonlarının düşük olduğu saptanmıştır. Ancak hayvansal protein tüketimi ile C-peptit insülin ve IGFBP-3 arasında bir ilişki saptanmamıştır. Araştırmacılar ayrıca hayvansal

protein kaynağı olarak et ve et dışındaki hayvansal proteinlerin IGF-1 üzerine etkisini araştırmışlar ve yüksek miktarda et proteini tüketimi ile IGF-1 miktarının yüksek, IGFBP-1 ve IGFBP-2 miktarlarının düşük, oysa yüksek miktarda et olmayan hayvansal protein kaynaklarının tüketimi ile yüksek IGF-1 ve IGFBP-1, düşük C-peptit saptandığını bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar bitkisel protein tüketimi için de elde edilmiştir. Bitkisel protein tüketimi açısından en düşük 1/5'lik dilimde olanlar (18.3 g bitkisel protein/gün) ile en yüksek 1/5'lik dilimde olanlar (30.7 g bitkisel protein/gün) kıyaslandığında, en yüksek 1/5'lik dilimde olanlarda yüksek IGF-1 ve IGFBP-1 konsantrasyonları ile düşük C-peptit konsantrasyonu saptanmıştır. Bitkisel proteinin hayvansal protein ile ikamesi ise daha düşük IGFBP-1 konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir.

Bir başka çalışmada 12 hafta boyunca günde 20 g peynir altı suyu proteini tüketen kolej öğrencilerinde kandaki IGF-1 miktarının %48 düzeyinde arttığı belirlenmiştir (Shalaby, 2018). Diyetteki yüksek miktarda proteinin sistemde dolaşan IGF miktarının yükselmesine neden olduğu, ancak dolaşımdaki IGF-1 miktarı ile farklı protein kaynaklarının veya protein miktarının etkisi arasındaki ilişkinin tam olarak ne olduğuna ilişkin çalışmalar yeterli değildir. Diyetteki hayvansal protein kaynaklarından özellikle süt ürünlerindeki IGF-1'in insan sindirimi sırasındaki davranışı henüz çok detaylı çalışılmamıştır. Serumdaki IGF miktarı ile diyetteki hayvansal protein kaynağı ve kalsiyum minerali alımı arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koyan çalışmalar, aynı zamanda IGF'nin bağlandığı proteinlerin biyoyararlılığını önemli ölçüde belirlediğini bildirmektedir (Crowe vd., 2009). Yüksek serum IGF konsantrasyonu ile meme, kolon ve prostat kanserleri oluşum riski ile arasında ilişkiyi, bunun yanı sıra kemik yoğunluğunu arttırıcı ve kemik kırıkları riskini azaltıcı etkisini ortaya koyan çalışmalar, sirkülasyondaki IGF-1 miktarını etkileyen faktörlerin saptanması ve bu faktörlerin modifiye edilip edilemeyeceğinin belirlenmesinin hastalık risklerinin azaltılması açısından önemli olduğunu bildirmektedir (Watling vd., 2021).

Crowe vd., (2009)'in gerçekleştirdikleri dokuz Avrupa ülkesini kapsayan diyet ile serum IGF-1 konsantrasyonu arasındaki ilişkinin kanser ve beslenmeye yönelik prospektif araştırması ve Watling vd. (2021)'in İngiliz halkı üzerine gerçekleştirdikleri diyetteki protein ve diğer makrobesin öğelerinin kandaki IGF-1 üzerine etkisi üzerine yapılan çalışma sonuçları geniş örnekleme dayanan çalışmalardır. Her iki çalışmada da elde edilen benzer sonuçlar değerlendirildiğinde; süt ürünlerinden alınan protein ve kalsiyum ile serumdaki IGF-1 miktarındaki artışın sebebi ile ilgili birkaç mekanizma bildirilmektedir. Bunlar, süt proteininde belirli konsantrasyonlarda bulunan spesifik zorunlu amino asitlerin hepatik IGF-1 gen ekspresyonunu yükselterek sentezine neden olmaları (Crowe vd., 2009; Kirovski vd., 2021) veya IGF-1'in dolaşımdan temizlenmesini azaltarak IGF-1 konsantrasyonunu yüksek kalmasıdır. Alternatif olarak, serumdaki IGF-1 miktarı ile süt ürünlerinden sağlanan protein arasındaki pozitif ilişkiyi yönlendiren, inek sütündeki IGF-1 veya büyüme hormonu gibi başka bir bileşen olabilir. Daha önceki hayvan modellerinden elde edilen kanıtlar, inek sütünde bulunan IGF-1'in iyi emilmediğini göstermekle birlikte; yeni bulgular, denek hayvanlarının I-etiketli IGF-1 ile beslendiğinde, kan dolaşımdaki etiketli IGF-1 konsantrasyonlarında küçük ama biyolojik olarak anlamlı artışlar olduğunu göstermektedir (Zhang vd., 2018; Ventura vd., 2020).

Diyetdeki kalsiyumun IGF-1 konsantrasyonunu yükseltmedeki rolünü destekleyen kanıtlar vardır. Ancak, süt serumdaki IGF-1 yükselmesine neden olabilecek protein ve kalsiyum değişkenlerini birlikte içerdiği için bu değişkenlerin hangisinin etkili olduğunu ayırt etmek güçtür. Bu konudaki açıklama ise sütte serum IGF-1 konsantrasyonunu artıran başka bileşenler olduğu üzerinedir, çünkü süt olmayan kaynaklardan alınan protein ve kalsiyum IGF-1 üzerine böyle bir etki göstermemektedir. Ayrıca kalsiyum destekleri alındığında IGF-1 seviyesini arttırdığına dair çok az kanıt vardır. Süt proteini veya kalsiyum alımı ile IGF-1 konsantrasyonları arasındaki pozitif ilişkiye ve makul biyolojik mekanizmalara

rağmen, süt veya süt tüketimini veya kalsiyum alımını azaltmanın serum IGF-1 ve IGFBP konsantrasyonları üzerindeki etkisi test edilmemiştir. Ayrıca süt proteini alımı ile kalsiyum ve IGFBP-2 serum konsantrasyonları arasında ters bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ek olarak IGF 1'in farklı mekanizmalarla kalsiyumun emilimini arttırdığı gösterilmiştir (Crowe vd., 2009; Watling vd., 2021; Wawrzyniak ve Suliburska, 2021). Benzer bulgular diyetin D vitamini ve likopence zengin olduğu zaman veya destek olarak kullanıldıkları zaman da saptanmıştır. Likopence zengin gıdaların serumdaki IGF miktarını azalttığı veya arttırdığına ilişkin çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Destek olarak likopen alımında serumdaki IGF bağlayan protein 3 (IGFBP-3) seviyesinin oldukça arttığını ancak IGF seviyesinin değişmediği, aynı zamanda likopence zengin gıda tüketimi ile serumdaki IGF-1 seviyesi ile ve/veya onun (IGFBP-3) ile molar oranı arasında negatif bir ilişki olduğu bildirilmektedir (Xie ve Yang, 2021). Yine, bazı çalışmalar D vitaminin karaciğerde IGF-1 sentezini arttırdığını, D vitamini desteğinin bu durumda önemli etkisi olabileceğini göstermiştir. Ancak, meta analiz ve sistematik derlenmiş çalışmalar, D vitamini ile IGF-1 konsantrasyonunu arasındaki korelasyona ilişkin uyumsuz sonuçları ve D vitamininin gıdalar ile veya destek olarak alındığındaki dozu ve sürenin etkileyen faktörler olduğunu bildirmektedir (Kord-Varkaneh vd., 2020).

Watling vd (2021) 11.815 katılımcı ile gerçekleştirdikleri çalışmada 24 saatlik diyet kayıtları ile başlangıçta ölçülen serum IGF-1 konsantrasyonları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Katılımcıların yüksek serum IGF değerleri ile diyetteki toplam protein, hayvansal protein ve süt ve ürünlerinden (süt ve yoğurt) gelen protein miktarları arasındaki pozitif ilişki diyetin diğer makro besin öğeleri, lif, alkol alımlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Diyetteki yağ alımı ve peynir tüketimi ile serum IGF miktarı arasında ise bir ilişki saptanmamıştır. Sütte ve yoğurtta bulunan whey proteininde bulunan dallanmış zincirli amino asitlerin (lösin, izolösin ve valin) kan dolaşım sistemine peynirde bulunan kazein proteinindeki amino asitlere kıyasla daha hızlı absorbe olması

daha yüksek serum IGF konsantrasyonu ile açıklanırken, zorunlu amino asitlerden triptofanın süt ürünleri ile alınması ile karaciğerde IGF-1 geninin düzenlenmesi ve sinyalizasyon ile karaciğerde IGF-1 sentezinin arttığı da potansiyel mekanizmalardan bir diğeridir. Bu çalışmada araştırmacılar metodolojik olarak uygulamada karşılaştıkları sınırlamaların dikkate alındığında daha detaylı çalışmalara gereksinim olduğunu bildirmişlerdir (Watling vd., 2021).

Süt tüketimi ve buna bağlı olarak insanda iskelet gelişimi ilişkisi yakın zamana kadar sütün içerdiği kalsiyum minerali ile ilişkilendirilmiştir. Ancak çalışmalar kalsiyum tüketiminin tek başına boy uzaması ile ilişkilendirilmeyeceğini göstermiştir. Bir meta analiz çalışması kalsiyum desteğinin kemik yoğunluğu üzerine etkili olduğunu ancak kırık riskini azaltmadığını göstermiştir (Tai vd., 2015). Ayrıca süt tüketiminin insan ömrü boyunca sistemik dolaşımda ve serumda yüksek IGF-1 konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Young vd., 2012; Harrison vd., 2017). Süt tüketimindeki 3 porsiyonluk artış dolaşımdaki serbest IGF-1 miktarında %18.6 artışa neden olmuştur. Başlıca inek sütü proteinlerinin IGF-1 ve insülin sinyalini stimüle ettiği gösterilmiştir. Dolaşımdaki IGF-1'in kazeinden, insülindeki artışın ise peynir altı suyu proteinlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Domuz ve inek sütlerindeki IGF-1'in yenidoğanın gastrointestinal bölgesindeki büyüme ve gelişmeyi desteklediği ve laktaz aktivitesini stimüle ettiği gösterilmiştir. Bağırsaklarda kanıtlanmış en belirgin etkileri kas gelişimi, ince bağırsağın distal bölgesi ve kolon üzerine olmakla birlikte bağırsağın olgunlaşması ve besin öğelerinin transportu gibi pozitif etkileri de gösterilmiştir. IGF-1 bileşiklerinin amino asit sekansı memeliler arasında yüksek oranda korunur ve insan ve inek için özdeştir. Süt ve süt ürünleri tüketimi ile dolaşımdaki IGF-1 arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar peynir ve yoğurt gibi süt ürünleri tüketimi ile dolaşımdaki IGF-1 veya büyüme indisleri ve gelişme arasında hiç ya da çok zayıf bir ilişki olduğunu göstermiştir (Wiley vd., 2018; Wiley, 2018). Bebeklik döneminde anne sütü veya bebek mamaları ile beslenen bebeklerdeki IGF-1 düzeyleri karşılaştırıldığında, anne sütü ile beslenenlerdeki IGF-1 düzeylerinin

çok daha düşük olduğu görülmüştür (Ong vd., 2002). Yağsız inek sütü ile beslenen bebeklerde ise mamayla beslenenlere göre çok daha yüksek IGF-1 saptanmıştır (Larnkjaer vd., 2009).

IGF-1'in BİYİYARAYIŞLILIĞI

IGF sistemi ve süt tüketimi arasındaki ilişki açısından kilit soru sütte bulunan IGF bileşiklerinin bağırsaklarda emilip, IGF bileşiklerinin sistematik konsantrasyonuna katkı sağlayıp sağlamayacağıdır. Teorik olarak bu mümkün olmakla birlikte birçok çalışmada IGF-1'in orogastrik emiliminin sistemik IGF-1 konsantrasyonuna katkı sağlayacak kadar yüksek olmadığı gösterilmiştir. Süt tüketiminin sistemik IGF konsantrasyonunu indirekt mekanizmalarla artırabileceği öne sürülmüştür. Bu mekanizmalardan bir tanesi süt proteinlerinde bulunan dallanmış amino asitlerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Hoeflich ve Meyer, 2017). Bir diğer soru ise intestinal sistemin gelişiminde IGF bileşiklerinin etkisinin olup olmadığıdır. Birçok çalışmanın sonuçları IGF bileşikleri ve IGFB'lerin ince bağırsak sistemin gelişiminde katkısı olduğunu göstermiştir. Yenidoğan buzağılarda gastro-intestinal sistem (GIS) üzerine IGF-1'in etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; parenteral IGF-1 uygulamalarının mukozal, submukozal ve muskularis kalınlığını artırdığı, GIS'in boylamasına ve kesitsel gelişimini artırdığı, sodyum emilimini ve sodyum bağımlı besin ögesi (glukoz) absorpsiyonunu artırdığı saptanmıştır. Yavru domuzların beslendiği formülasyona rekombinant insan IGF-1 eklenmesinin ince bağırsaktaki villusun gelişimini, laktaz aktivitesini ve laktaz mRNA ekspresyonunu artırdığı saptanmıştır (Blum ve Baumrucker, 2008). Özellikle yenidoğanda doğumdan kısa bir süre sonra intestinal bölgenin gelişimi üzerinde sadece morfolojik olarak değil, aynı zamanda fonksiyonlar açısından da katkısı olduğu bildirilmiştir (Hoeflich ve Meyer, 2017).

İnek sütünde bulunan IGF-1 yine inek sütü proteinleri tarafından insan sindirimi sırasında ortam pH'sı veya sindirim enzimlerine karşı korunmakta ve böylece emilimi gerçekleşmektedir. Fazla miktarda süt tüketimi ile serum IGF-1 miktarında çocuklarda %20-30,

yetişkinlerde ise %10-20 düzeyinde artış olduğu gözlenmiştir (Kirovsk vd., 2021; Remaggi vd., 2022).

Grenov vd., (2021) 4 hafta süreyle günde 1 L süt ve kolza tohumu (35 g protein içerecek miktarda) tüketen 7-8 yaşlarındaki sağlıklı çocukların lineer büyümesini araştırdıkları çalışmalarının sonuçları ve sundukları geniş literatür verileri dikkate alındığında, süt tüketimi ile kandaki IGF-1 seviyesinin arttığı, bunun çocuklarda boy uzunluğunun artması ve büyüme ile ilişkilendirildiği anlaşılmaktadır. Tüm bu sonuçlar IGF-1'in büyük ölçüde sindirim sisteminde emildiğini göstermektedir.

Ancak, bu çalışmalarda denek tüketim protokolünde içilen süt miktarlarının en az 1-1.5 L olması çalışma metodolojisi için doğru bir yaklaşım iken, her yaş için önerilen günlük süt ve süt ürünleri miktarlarından (TÜBER, 2016; Willett vd., 2019) çok fazla olması nedeniyle sonuçların dikkatle değerlendirilmesi gerekir.

Çalışmalar süttteki IGF-1'in kompleks bir molekül veya proteine bağlı olarak bulunduğunu, biyolojik olarak da ince bağırsaktan bu formda emildiğini göstermektedir. İnsan sindirim sisteminin simülasyonu ile keçi sütü protein fraksiyonlarının *in vitro* sindiriminin IGF-1 stabilitesi üzerine etkisini araştıran bir çalışma, saf IGF-1 içeren çözelti ile kıyaslanarak yapılmıştır. Keçi sütünde ve saf IGF-1 çözeltisinde sindirim süresi uzadıkça IGF-1'de azalma olduğu, 1 saat sonra IGF-1 miktarının saf çözeltide %70, sütte ise %90 düzeyinde kaldığı bulunmuştur. Sindirim süresi 3-4 saat uzadığında, süttteki IGF-1 %60 düzeyinde korunurken, bu değer saf çözelti için 2 saat sindirim sonrası saptanmıştır. Bu da saf haldeki IGF-1'in sindirim koşullarına keçi sütüne göre daha dayanıksız olduğunu göstermektedir. Sütün yapısındaki whey proteinin IGF-1'in enzimlere karşı hidrolizini kazein fraksiyonuna göre daha fazla inhibe ettiği ve mide pH'ında (2.0, yemek sonrası 4.0-5.0'a yükselir) stabil kalmasını sağladığı saptanmıştır. Whey fraksiyonunda simüle edilmiş sindirim koşullarında pepsin ve tripsin aktivitelerini azaltabilen ve IGF-1'in bozulmasını etkili bir şekilde önleyebilen bileşenler olduğu ve

bunların ileri çalışmaları ile saptanması gerektiği belirtilmiştir (Zhang vd., 2018). Benzer sonuçlar IGF-1 peptitlerin bağırsaktaki terapötik etkisini belirlemek üzere etiketlenmiş IGF-1 ile beslenen sıçanlarda elde edilmiştir. IGF-1'in midede ve kolonda önemli ölçüde daha stabil kaldığı, ancak duodenum ve ileumda çok hızlı bir şekilde parçalandığı bulunmuştur. Oral olarak alınan IGF-1'in hızla proteoliz olduğu ancak kazein, BSA (inek serum albümini) ve laktoferrinin hem mide hem de duodenum sıvılarında IGF-1 yapısal bütünlüğünü ve reseptör bağlama aktivitesini korumada etkili olduğu vurgulanmıştır (Xian vd., 1995). Park vd., (2020) diyabete bağlı kırıkların iyileştirilmesinde iskelet kasının yenilenmesi ve kemik yoğunluğunun artırılması için karaciğerde sentezlenen IGF-1 miktarının yeterli olmadığını belirterek, dışarıdan takviye olarak hazırladıkları insan IGF-1 içeren biyokapsülleri oral yoldan vermek üzere farelere diyetine eklemişlerdir. Araştırmacılar bu şekilde IGF-1 biyoyararlılığında yaklaşık 3 kat artış saptamış ve bunun bitki hücreleri içine enkapsüle edilen IGF-1'in enkapsüle edilmemiş forma göre midedeki sindirim enzimlerinin hidrolizinden veya aşırı asidik pH' dan korunduğu için gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Danimarkalı erkek çocuklar ile gerçekleştirilen bir çalışmada bir hafta boyunca günde 1.5 L inek sütü tüketen çocuklarda serum IGF miktarındaki artışın benzer miktarda et proteini tüketiminde saptanmaması, sütteki IGF-1'in sindirim sırasında bağlı olduğu protein ile korunduğu (Hoppe vd., 2005) veya 6 aylık bebeklerde IGF-1 ve IGF-BP-3 düzeylerinin formüle sütlerdeki protein türüne göre değil, miktara göre (yüksek ve düşük) değiştiğinin (Rzehak vd., 2013) saptanması daha fazla çalışmaya gerek olduğunu ve yüksek dalı zincirli amino asit alımı ile farklı mekanizmaların devreye girdiğini göstermektedir. IGF-1 ile zenginleştirilmiş sütlerde veya beslenmelerinde rekombinant büyüme hormonu kullanılan inek sütünde, IGF-1'in hayvanlarda ve insanlarda biyoyararlanımı hakkındaki veriler eksiktir ve tüketilen süt ürünlerindeki IGF-1 ne oranda kan dolaşım sistemine ulaştığı henüz net değildir (Sutariya vd., 2018).

BAZI GIDA İŞLEME TEKNİKLERİNİN IGF-1 ÜZERİNE ETKİSİ

Süt işleme yöntemlerinin süt hormonları üzerine etkisi ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Süt işleme sırasında uygulanan homojenizasyon, sterilizasyon, püskürtmeli kurutma ve fermentasyon işlemlerinin inek sütündeki IGF-1 konsantrasyonu üzerine etkilerini araştıran bir çalışmanın sonuçlarına göre; çiğ sütte 36 ng/mL olan IGF-1 konsantrasyonunun homojenizasyon ve dondurarak kurutma ile çok az değiştiği, 75-85 °C de 15 dakika uygulanan pastörizasyon sırasında %45 düzeyinde azalma olduğu, ancak en fazla düzeyde kaybın fermentasyon sırasında gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Fermentasyon sırasında özellikle laktik asit bakterilerinin doğrudan IGF-1'i azot kaynağı olarak kullandığı saptanmıştır (Kang vd., 2006). Mann vd., (2020) 60 °C de 60 dakika süreyle uygulanan pastörizasyon işlemi sırasında inek kolostrumunun IGF-1 içeriğinde %10 bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. İnek sütüne mikrofiltrasyon ve ultrafiltrasyon işlemlerinin uygulandığında IGF-1 düzeyinde önemli azalmalar olduğu, buna IGF-1 doğal olarak sütte proteine bağlı olmasının neden olduğu ve filtrasyon sonrası katı kısmın IGF-1 ile zenginleştirilmiş bebek formüllerinde kullanılmak üzere uygun olduğu bildirilmiştir (Ollikainen ve Muuronen, 2013). Elfstrand vd., (2002) yağı alınmış kolostrumda IGF-1 miktarını 190 ng/mL olarak saptarken, uygulanan pastörizasyon, pastörizasyon sonrası filtrasyon ve dondurarak kurutma işlemleri sonrasında bu değer saptanmadığını, pastörizasyon ve mekanik işlemlerin IGF-1 üzerinde azaltıcı etkisi olduğunu bildirmişlerdir. İlk 6 saatte toplanan kolostrumun -20 °C de 2 ay süreyle depolanması da IGF-1 içeriğinde %32 lik bir azalmaya neden olmuştur. Kolostrumdan yağ, laktoz ve kazein gibi bileşenler uzaklaştırıldığında IGF-1'de daha fazla kayıp olmuştur, bu bileşenlerin işlemler sırasında IGF-1'i koruduğu belirtilmiştir. Yun vd., (2007) farklı sıcaklık (65-90 °C) uygulamalarında inek kolostrumundan ekstrakte edilmiş IGF-1 in termal stabilitesini whey proteinleri, alfa-laktalbumin, beta-laktoglobulin ve laktoferrinden daha yüksek saptamışlardır.

Ancak, benzer sonuçların elde edildiği çalışmalarda örneğin bebek maması üretiminde uygulanan yüksek sıcaklıktaki ısıtma işlemi (121 °C, 5 dakika) denatürasyona neden olduğu ve analiz (radioimmunoassay) sırasında kullanılan antikolar tarafından tanınmadığı bildirilmiştir, bu nedenle metodolojik hatalı veriler elde edilebileceği bildirilmiştir (Kang vd., 2006, Kılıç-Akyılmaz vd., 2022). Keçi sütüne uygulanan pastörizasyon, UHT, fermentasyon işlemlerinin IGF-1 üzerine etkisinin araştırılan bir başka çalışmada UHT uygulamanın (137 °C, 2 sn) pastörizasyondan (72 °C, 15 sn) daha fazla IGF-1 içeriğinde azalmaya, fermentasyonun önemli düzeyde azalmaya neden olurken, homojenizasyonun hiçbir etkisi olmadığını göstermiştir (Xu vd., 2017). Benzer olarak, Ollikainen ve Riihimäki (2012) çalışmalarında UHT sıcaklıklarının sütteki, IGF miktarında azalmaya (%0-18) neden olduğunu ancak bir taraftan da ısıtma işlemi sırasında denatüre olan beta-laktoglobulinin IGF tayininde uygulanan immuno analizi interfere ettiği için IGF-1'in düşük saptandığını açıklamışlardır. Isıtma işlemi görmemiş sütlerde IGF-1 latent formda proteine bağlıdır ve süte UHT uygulamaları ile immuno kimyasal analize dirençli IGF-1 formunun oluşması ve bu form kazein fraksiyonunda yer almasıyla, bu IGF-1 konsantrasyonu whey ve kazein fraksiyonlarındaki protein başına hesaplandığında teknik açıdan önem kazanır. İnek sütü tüketimi ile alınan IGF-1 in potansiyel biyoaktivitesinin alınan miktarın yanı sıra örneğin ısıtma, işlemlere bağlı olarak değişebilecek proteomik özellikleri ile de değerlendirilmesi gerekir (Mann vd., 2020). Bu tarih itibarıyla kısıtlı çalışma verileri ve henüz geniş kapsamlı proteomik verilerin olmayışı bu konuda yapılacak tartışmaları kısıtlamaktadır.

SONUÇ

Avrupa Gıda ve Güvenliği Otoritesi (EFSA, European Food and Safety Authority) bilimsel komitesinin gıdaların risk-fayda değerlendirmesi ilgili panel görüşü, belirli bir gıda veya gıda bileşenine maruz kalmanın (veya maruz kalmamanın) insan sağlığı üzerine yararlarını ve risklerini saptamayı ve bunları karşılaştırılabilir ölçümler ile birleştirmeyi amaçlayarak karar

vermeyi destekleyen bir yaklaşım olması gerektiği üzerinedir. Tek bir gıda maddesinin veya tek bir gıda bileşeninin alımı ile olumlu ve olumsuz sağlık etkileri, aynı popülasyon içinde eşzamanlı olarak ortaya çıkabilir. Bu, olumsuz etkilere yönelik herhangi bir eyleminin aynı zamanda faydalı etkilerin derecesini de etkilediği veya tersi anlamına da gelir. Bu nedenle sağlık üzerine kıyaslanabilir risk-fayda değerlendirmeleri için beslenme, toksikoloji, mikrobiyoloji, kimya ve epidemiyolojisi bilgilerinin bütünleştirilmesi gerekmektedir (Assunção vd., 2019). IGF-1, normal büyüme ve gelişme için gerekli olan büyümeyi teşvik etme sürecinde önemli bir rol oynar. Süt tüketiminin serum IGF-1 seviyesini yükselttiği ile ilgili çalışmalar olası potansiyel metabolik mekanizmaları kısmen açıklayabilmektedir. Süt tüketimi ile IGF-1 ve farklı kanserler arasındaki ilişkiyi destekleyen çeşitli çalışmalar olduğu gibi bu bulgularla çelişen çalışmalar da mevcuttur. Bununla birlikte, çeşitli araştırmacılar, güçlü bir kesin korelasyon kurmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğuna dikkat çekmektedirler. Bu çalışmalarda bireyin IGF üretme kapasitelerindeki doğal varyasyonun dikkate alınması gereken önemli bir faktördür. Çünkü süt tüketmeyen ancak çok yüksek derecede IGF-1 üretim kapasitesine sahip bireyler olduğu ve bu çalışmalara dahil edilmesinin yanıltıcı olacağı açıktır. Bu çalışmalarda önemli diğer yaklaşımlarda optimum beslenme çerçevesinde tüketilmesi önerilen gıda grupları, gıdalar ve porsiyon miktarlarının dikkate alınması ve diyetin diğer bileşenlerinin etkilerinin göz ardı edilmemesidir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

Assunção, R., Pires, S. M., Nauta, M. (2019). Risk-Benefit Assessment of Foods. *EFSA Journal*,

- 17(S2). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2019.E170917>
- Blum, J. W., Baumrucker, C. R. (2008). Insulin-like growth factors (IGFs), IGF binding proteins, and other endocrine factors in milk: Role in the Newborn. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606, 397–422. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4_16
- Clatici, V. G., Voicu, C., Voaides, C., Roseanu, A., Icriverzi, M., Jurcoane, S. (2018). Diseases of Civilization – Cancer, Diabetes, Obesity and Acne – the Implication of Milk, IGF-1 and mTORC1. *Madiva*, 13(4), 273. <https://doi.org/10.26574/MAEDICA.2018.13.4.273>
- Crowe, F. L., Key, T. J., Allen, N. E., Appleby, P. N., Roddam, A., Overvad, K., Grønbaek, H., Tjønneland, A., Halkjaer, J., Dossus, L., Boeing, H., Kröger, J., Trichopoulou, A., Dilis, V., Trichopoulos, D., Boutron-Ruault, M-C., De Lauzon, B., Clavel-Chapelon, F., Palli, D., ...
- Elfstrand, L., Lindmark-Månsson, H., Paulsson, M., Nyberg, L., Åkesson, B. (2002). Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. *International Dairy Journal*, 12(11), 879–887. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00089-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00089-4)
- gastrointestinal tract is limited by a specific antiserum or the dietary protein casein.
- Givens, D. I. (2020). MILK Symposium review: The importance of milk and dairy foods in the diets of infants, adolescents, pregnant women, adults, and the elderly. In *Journal of Dairy Science* (Vol. 103, Issue 11, pp. 9681–9699). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18296>
- Grenov, B., Larnkjær, A., Ritz, C., Michaelsen, K. F., Damsgaard, C. T., Mølgaard, C. (2021). The effect of milk and rapeseed protein on growth factors in 7–8 year-old healthy children – A randomized controlled trial. *Growth Hormone and IGF Research*, 60–61. <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2021.101418>
- Guijarro, L. G., Cano-Martínez, D., Toledo-Lobo, M. V., Salinas, P. S., Chaparro, M., Gómez-Lahoz, A. M., Zoullas, S., Rodríguez-Torres, R., Román, I. D., Monasor, L. S., Ruiz-Llorente, L., del Carmen Boyano-Adánez, M., Guerra, I., Iborra, M., Cabriada, J. L., Bujanda, L., Taxonera, C., García-Sánchez, V., Marín-Jiménez, I., ... on behalf of the PREDICROHN study group from GETECCU. (2021). Relationship between IGF-1 and body weight in inflammatory bowel diseases: Cellular and molecular mechanisms involved. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 144. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112239>
- Guo, J. Y., Zhang, Y. Q., Li, Y., Li, H. (2021). Comparison of the difference in serum insulin growth factor-1 levels between chronological age and bone age among children. *Clinical Biochemistry*, 96(March), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.07.008>
- Harrison, S., Lennon, R., Holly, J., Higgins, J. P. T., Gardner, M., Perks, C., Gaunt, T., Tan, V., Borwick, C., Emmet, P., Jeffreys, M., Northstone, K., Rinaldi, S., Thomas, S., Turner, S. D., Pease, A., Vilenchick, V., Martin, R. M., Lewis, S. J. (2017). Does milk intake promote prostate cancer initiation or progression via effects on insulin-like growth factors (IGFs)? A systematic review and meta-analysis. *Cancer Causes and Control*, 28(6), 497–528. <https://doi.org/10.1007/S10552-017-0883-1>
- Hoeflich, A., Meyer, Z. (2017). Functional analysis of the IGF-system in milk. In *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* (Vol. 31, Issue 4, pp. 409–418). Bailliere Tindall Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2017.10.002>
- Hoppe, C., Mølgaard, C., Vaag, A. vd., (2005). High intakes of milk, but not meat, increase insulin and insulin resistance in 8-year-old boys, *Eur. J. Clin. Nutr.* 59, 393–398, <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602086>
- in model systems. *Le Lait*, INRA Editions, 87, (2), 139-148. Hal-00895637.
- Journal of Endocrinology*, 146, 215–225.
- Kaaks, R. (2009). The association between diet and serum concentrations of IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, and IGFBP-3 in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiology, Biomarkers* ,

- Prevention*, 18(5), 1333-40. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0781>
- Kang, S. H., Kim, J. U., Imm, J. Y., Oh, S., Kim, S. H. (2006). The effects of dairy processes and storage on insulin-like growth factor-I (IGF-I) content in milk and in model IGF-I-fortified dairy products. *Journal of Dairy Science*, 89(2), 402–409. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72104-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72104-X)
- Kilic-Akyilmaz, M., Ozer, B., Bulat, T., Topcu, A. (2022). Effect of heat treatment on micronutrients, fatty acids and some bioactive components of milk. In *International Dairy Journal* (Vol. 126). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105231>
- Kim, S. Y., Yi, D. Y. (2020). Components of human breast milk: from macronutrient to microbiome and microRNA. *Clinical and Experimental Pediatrics*, 63(8), 301. <https://doi.org/10.3345/CEP.2020.00059>
- Kirovski, D., Knezevic, D., Golic, B. vd., (2021). Cow milk insulin like growth factor-1: risk
- Kord-Varkaneh, H., Rinaldi, G., Hekmatdoost, A., Fatahi, S., Tan, S. C., Shadnough, M., Khani, V., Mousavi, S. M., Zarezadeh, M., Salamat, S., Bawadi, H., Rahmani, J. (2020). The influence of vitamin D supplementation on IGF-1 levels in humans: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Research Reviews*, 57(July 2019), 100996. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100996>
- Larnkjaer, A., Hoppe, C., Mølgaard, C., Michaelsen, K. F. (2009). The effects of whole milk and infant formula on growth and IGF-I in late infancy. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, 956–963. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2008.80>
- Lee, D. H., Tabung, F. K., Giovannucci, E. L. (2022). Association of animal and plant protein intakes with biomarkers of insulin and insulin-like growth factor axis. *Clinical Nutrition*, 41(6), 1272–1280. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.04.003>
- Lewitt, M.S., Boyd, W.G. (2019) The Role of Insulin-Like Growth Factors and Insulin-Like Growth Factor–Binding Proteins in the Nervous System. *Biochemistry Insight*, 12, 1-18. DOI: 10.1177/1178626419842176.
- Mann, S., Curone, G., Chandler, T. L., Moroni, P., Cha, J., Bhawal, R., Zhang, S. (2020). Heat treatment of bovine colostrum: I. Effects on bacterial and somatic cell counts, immunoglobulin, insulin, and IGF-I concentrations, as well as the colostrum proteome. *Journal of Dairy Science*, 103(10), 9368–9383. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18618>
- Ollikainen, P., Muuronen, K. (2013). Determination of insulin-like growth factor-1 and bovine insulin in raw milk and its casein and whey fractions after microfiltration and ultrafiltration. *International Dairy Journal*, 28(2), 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.09.001>
- Ollikainen, P., Riihimäki, A. M. (2012). Effects of heat-treatment on insulin-like growth factor-1 in bovine milk. *International Dairy Journal*, 23(2), 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.11.002>
- Ong, K., Kratzsch, J., Kiess, W., Dunger, D. (2002). *Circulating IGF-I Levels in Childhood Are Related to Both Current Body Composition and Early Postnatal Growth Rate*. <https://academic.oup.com/jcem/article/87/3/1041/2846704>
- or benefit for human health? Proceedings of the XII International Scientific Agricultural Symposium. Agrosym, 1196-1203. <https://veterinar.vet.bg.ac.rs/handle/123456789/2274>
- Panuganti, P. L., Bazzano, L. A., Ley, S. H. (2021). Hormones in human milk: a summary of the quantity, determinants, and health outcomes of milk hormones. *Human Milk*, 235–274. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815350-5.00009-7>
- Pardede, B. K., Utari, A., Mexitalia, M. (2021). Insulin-like growth factor-1 and growth in infants 0-6 months of age. *Paediatrica Indonesiana(Paediatrica Indonesiana)*, 61(2), 89–93. <https://doi.org/10.14238/pi61.2.2021.89-93>
- Park, J., Yan, G., Kwon, K. C., Liu, M., Gonnella, P. A., Yang, S., Daniell, H. (2020). Oral delivery of novel human IGF-1 bioencapsulated in lettuce cells promotes musculoskeletal cell proliferation,

- differentiation and diabetic fracture healing. *Biomaterials*, 233(August 2019), 119591. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119591>
- Remaggi, G., Saleri, R., Andrani, M., Satolli, F., Rodighiero, E., Elviri, L. (2022). Development and single laboratory validation of a targeted liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry-based method for the determination of insulin like growth factor-1 in different types of milk samples. *Food Chemistry: X*, 13. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100271>
- Rzehak, P., Grote, V., Lattka, E., Weber, M., Gruszfeld, D., Socha, P., Closa-Monasterolo, R., Escribano, J., Giovannini, M., Verduci, E., Goyens, P., Martin, F., Langhendries, J. P., Demmelmair, H., Klopp, N., Illig, T., Koletzko, B. (2013). Associations of IGF-1 gene variants and milk protein intake with IGF-I concentrations in infants at age 6months - Results from a randomized clinical trial. *Growth Hormone and IGF Research*, 23(5), 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2013.05.002>
- Schüler, R., Markova, M., Osterhoff, M. A., Arafat, A., Pivovarov, O., Machann, J., Hierholzer, J., Hornemann, S., Rohn, S., Andreas, Pfeiffer, F. H. (2021). Similar dietary regulation of IGF-1- and IGF-binding proteins by animal and plant protein in subjects with type 2 diabetes. *European Journal of Nutrition*, 60, 3499–3504. <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02518-y>
- Shalaby, M. N. (2018). The Effect of Whey Protein (Natural Nanoparticle) on Muscle Strength, GH, IGF, T. Protein and body composition. *Available Online Wwww.Ijpras.Com International Journal of Pharmaceutical Research , Allied Sciences*, 7(1), 126–132. www.ijpras.com
- studies on the thermal denaturation of bovine milk insulin-like growth factor-I
- Sutariya, S., Sunkesula, V., Kumar, R., Shah, K. (2018). Milk and Milk Products, Insulin-like Growth Factor-1 and Cancer. *EC Nutrition*, 11(October), 696–705.
- Tai, V., Leung, W., Grey, A., Reid, I. R., Bolland, M. J. (2015). Stratification of risk for hospital admissions for injury related to fall: cohort study. *BMJ*, 351:h4183. <https://doi.org/10.1136/bmj.h4183>
- Tang, J. J., Podratz, J. L., Lange, M., Scrabble, H. J., Jang, M. H., Windebank, A. J. (2017). Mechano growth factor, a splice variant of IGF-1, promotes neurogenesis in the aging mouse brain. *Molecular Brain*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13041-017-0304-0>
- Tunç, B. S., Toprak, F., Toprak, S. F., Sozer, S. (2021). In vitro investigation of growth factors including MGF and IGF-1 in neural stem cell activation, proliferation, and migration. *Brain Research*, 1759(September 2020), 147366. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147366>
- TÜBER, Türkiye Beslenme Rehberi, (2015), T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1031, Ankara 2016.
- Upners, E. N., Ljubicic, M. L., Busch, A. S., Fischer, M. B., Almstrup, K., Petersen, J. H., Jensen, R. B., Hagen, C. P., Juul, A. (2022). Dynamic Changes in Serum IGF-I and Growth during Infancy: Associations to Body Fat, Target Height, and PAPA2 Genotype. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 107(1), 219–229. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab653>
- Ventura, R. E., Konigorski, S., Rohrmann, S., Schneider, H., Stalla, G.K., Pischon, T., Linseisen, J., Nimptsch, K. (2020) Association of dietary intake of milk and dairy products with blood concentrations of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in Bavarian adults. *European Journal of Nutrition*, 59, 1413-1420. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01994->
- Vizzari, G., Morniroli, D., Ceroni, F., Verduci, E., Consales, A., Colombo, L., Cerasani, J., Mosca, F., Gianni, M. L. (2021). Human Milk, More Than Simple Nourishment. *Children* 2021, Vol. 8, Page 863, 8(10), 863. <https://doi.org/10.3390/CHILDREN8100863>
- Watling, C. Z., Kelly, R. K., Tong, T. Y. N., Piernas, C., Watts, E. L., Tin Tin, S., Knuppel, A., Schmidt, J. A., Travis, R. C., Key, T. J., Perez-Cornago, A. (2021). Associations of circulating insulin-like growth factor-I with intake of dietary proteins and other macronutrients. *Clinical*

- Nutrition*, 40(7), 4685–4693. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.04.021>
- Wawrzyniak, N., Suliburska, J. (2021). Nutritional and health factors affecting the bioavailability of calcium: A narrative review. *Nutrition Reviews*, 79(12), 1307–1320. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa138>
- Wiley, A. S. (2018). The evolution of lactase persistence: Milk consumption, insulin-like growth factor i, and human life-history parameters. *Quarterly Review of Biology*, 93(4), 319–345. <https://doi.org/10.1086/700768>
- Wiley, A. S., Joshi, S. M., Lubree, H. G., Bhat, D. S., Memane, N. S., Raut, D. A., Yajnik, C. S. (2018). IGF-I and IGFBP-3 concentrations at 2 years: Associations with anthropometry and milk consumption in an Indian cohort. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72(4), 564–571. <https://doi.org/10.1038/s41430-018-0108-z>
- Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S., Garnett, T., Tilman, D., DeClerck, F., Wood, A., Jonell, M., Clark, M., Gordon, L. J., Fanzo, J., Hawkes, C., Zurayk, R., Rivera, J. A., De Vries, W., Majele Sibanda, L., ... Murray, C. J. L. (2019). Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. In *The Lancet* (Vol. 393, Issue 10170, pp. 447–492). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31788-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31788-4)
- Xian, C. J., Shoubridge, C. A., Read, L. C. (1995). Degradation of IGF-1 in the adult rat
- Xie, Z., Yang, F. (2021). The effects of lycopene supplementation on serum insulin-like growth factor 1 (IGF-1) levels and cardiovascular disease: A dose-response meta-analysis of clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 56, 102632. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102632>
- Xu, L., Hou, L., Wang, B., Zang, F. (2017). Effects of processing modes on the concentration of insulin-like growth factor 1 in goat milk. *Food and Fermentation Industry* 43,2, 62–66. Doi:10.13995/j.cnki11-1802/ts.201702011.
- Young, N. J., Metcalfe, C., Gunnell, D., Rowlands, M.-A., Lane, J. Athene, Gilbert, R., Avery, K. N. L., Davis, M., David, Neal, E., Hamdy, F. C., Donovan, J., Martin, R. M., Holly, J. M. P. (2012). A cross-sectional analysis of the association between diet and insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, IGF-binding protein (IGFBP)-2, and IGFBP-3 in men in the United Kingdom. *Cancer Causes Control* 23, 907–017. <https://doi.org/10.1007/s10552-012-9961-6>
- Yun, Z., Zhang, H. P., Cai, X. W., Zhang, L. B. (2007). Kinetic and thermodynamic
- Zhang, F., Xu, L., Chen, S., Wang, B., Shao, Y., Zhao, A., Han, X. (2018). Effects of goat milk fractions on the stability of IGF-I in simulated gastrointestinal conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 91(December 2017), 229–234.

AKSARAY GÜZELYURT GELVERİ EKMEĞİ VE YASSI EKMEK ÜRETİMİ

Deniz KOÇAN*

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

Geliş/Received: 24.10.2022; Kabul/ Accepted: 09.12.2022; Online baskı/ Published online: 12.12.2022

Koçan, D. (2022). Aksaray Güzelyurt Gelveri Ekmeği ve yassı ekmek üretimi. *GIDA* (2022) 47 (6) 1153-1167 doi: 10.15237/gida.GD22118

Koçan, D. (2022). *Aksaray Güzelyurt's Gelveri Bread and production of flat bread*. *GIDA* (2022) 47 (6) 1153-1167 doi: 10.15237/gida.GD22118

ÖZ

Gelveri Ekmeği hiçbir katkı kullanılmadan; tam buğday unu, maya, tuz ve sudan üretilmektedir. Gelveri Ekmeğinde mayalama ekşi hamurla sağlanmaktadır. Ekşi hamur kültüründe bulunan *Lactobacillus* spp. çok miktarda laktik asit ve asetik asit üretmektedir. Bu da ekşi hamur ekmeğine kendine özgü lezzet vermektedir. Gelveri Ekmeği coğrafi işaret ile tescillenmiştir. Güzelyurt Kapadokya Bölgesi'nin karakteristik çizgilerini taşır. Bunun en önemli belirtisi ise kaya oluşumları ile dolu olmasıdır. Kayalardan yapılmış fırınlarda asırlardır yapılan Gelveri Ekmeği yöre halkının hâlâ devam ettirdiği geleneklerden biridir. Güzelyurt ve çevre ilçelerde de tanınan Gelveri Ekmeği dayanıklılığı ile bilinmektedir.

Anahtar kelimeler: Gelveri Ekmeği, Aksaray Güzelyurt (Gelveri), yassı ekmek, tam buğday unu, ekşi hamur, tol

AKSARAY GÜZELYURT'S GELVERİ BREAD AND PRODUCTION OF FLAT BREAD

ABSTRACT

Gelveri bread is produced without the use of any additives; produced from whole wheat flour, yeast, salt, and water. The fermentation process in Gelveri bread is provided by sourdough. *Lactobacillus* spp. in the sourdough culture produces a large amount of lactic acid and acetic acid. This also gives a specific taste to sourdough bread. Gelveri bread has been registered with geographical indication. Güzelyurt has the characteristic lines of Kapadokya Region. The most important sign of this is the formation of rocks. Making Gelveri bread in ovens which are made of rocks is a tradition that local people are continuing for centuries. Gelveri bread known in Güzelyurt and near towns is also known for its stability.

Keywords: Gelveri bread, Aksaray Güzelyurt (Gelveri), flat bread, whole wheat flour, sourdough, tol

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ dkocan@aksaray.edu.tr

☎ (+90) 382 288 3548

Deniz Koçan; ORCID no: 0000-0003-0878-5714

GİRİŞ

Dünyadaki arkeolojik kazılardan elde edilen bulgular ışığında, başlangıcı binlerce yıl öncesine dayanan ekmek, insanın vazgeçilmez bir gıdasıdır. Göbeklitepe’de Alman arkeolog Klaus Schmidt’in yaptığı kazı çalışmaları buğday tarımının günümüzden 12 bin yıl öncesine dayandığını göstermektedir. Buğdayın biyolojik gelişimi ise çok daha önceki zamanlara dayanmaktadır. Son dönemde yapılan araştırmalar ilk defa tarıma alınan buğdayın ana vatanının Urfa ve Diyarbakır arasında, Göbeklitepe yakınlarındaki Karacadağ olduğunu ortaya koymaktadır. Türkiye buğdayın anavatanı yani gen merkezidir (Bengisu, 2020; Karagöz 2021). Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar tarihin yeniden yazılmasına neden olmaktadır. Nature dergisinde yayınlanan ve Alman paleoantropolog Jean-Jacques Hublin tarafından yürütülen çalışma, ilk insanın bundan 300 ile 350 bin yıl öncesinde yaşadığını, günümüz insan kafatası anatomisiyle nerdeyse aynı olduğunu ve ateşi kullanan, taştan aletler yapan modern insanlar olduğunu ortaya çıkarmıştır (Hublin, vd., 2017).

Anadolu’nun kadim kültürü içerisinde buğday ve ekmeğin yeri çok önemli olup aynı zamanda bereket simgesidir. Kültür, o toplumda yaşayan insanların maddi ve manevi değerlerini kapsar. Dünya üzerinde pek çok farklı çeşidi olan ekmek UNESCO tarafından insanlığın somut olmayan (manevi) kültürel mirası temsili listesine alınmıştır. “İnce Ekmek Yapımı ve Paylaşımı Geleneği” olarak 2016 yılında lavaş, katırma, jupka, yufka gibi ürünler çok uluslu (Azerbaycan, İran, Kazakistan, Kırgızistan ve Türkiye) olarak listeye kaydedilmiştir (UNESCO, 2022). Bugün dünya ülkelerinin %53’ünde alınan toplam kalorinin %50’si ekmekten sağlanmaktadır. Ekmeğin az tüketildiği Batı Avrupa ülkelerinde bile alınan proteinin %30’u, karbonhidratların ve B grubu vitaminlerin ise %50’si ekmekten sağlanmaktadır. (Karaoğlu 2007). Türklerde ekmek kültürü ve çeşitliliği dünyanın birçok ülkesine göre daha zengin olsa da geleneksel ekmekler ve unlu mamullere dair bilgiler yazılı bir kaynak olmadan asırlardır aileden çocuklara aktarılmaktadır. Ayrıca 1950’lerden sonra kırsal hayattan şehir hayatına geçiş ile geleneksel ekmek üretim ve tüketim

alışkanlıkları hızla değişmeye başlamıştır. Bu kültür zenginliğimizin, korunması ve gelecek nesillere aktarılması gerekmektedir. Bu amaçla kültürel ve coğrafi kimliğe sahip olan Gelveri Ekmeği gibi geleneksel ürünlerimiz kayıt altına alınmaktadır (Ayçin vd. 2010). Gelveri Ekmeği, "Güzelyurt Kaymakamlığı tarafından 6769 sayılı Sınai Mülkiyet Kanunu kapsamında 1 Aralık 2021 tarih ve 114 Sayılı Resmi Coğrafi İşaret ve Geleneksel Ürün Adı Bülteni’nde yayınlanarak Türk Patent ve Marka Kurumu’nca coğrafi işaret olarak tescillenmiştir. Coğrafi İşaret; belirgin bir niteliği, ünü veya diğer özellikleri itibarıyla coğrafi kaynağının bulunduğu bölge, coğrafi sınırları belirlenmiş özel yöre veya istisnai durumlarda ülke adı ile özdeşleşmiş bir ürünü gösteren menşe adını ve mahreç işaretini ifade eder (Patent ve Marka Kurumu, 2021).

Aksaray aynı zamanda asıl adı Hamid Hamideddin (1331-1412) olan, halkın Somuncu Baba ismini verdiği, manevi kişiliği ve bilge yönüyle gönülleri fethetmiş Şeyh Hamid-i Veli’nin de bir süre yaşadığı topraklardır. Somuncu Baba’nın Bursa’da yapıp halka dağıttığı ekmekler lezzeti ile büyük beğeni kazanmıştır. Zamanın ilmi derin ulemalarından olan Somuncu Baba Bursa’dan sonra Aksaray gibi çeşitli şehirlerde yaşamış ve öğrenci yetiştirmeye devam etmiştir. Öğrencilerinden Hacı Bayram Veli’yi (1352-1430) Aksaray’da yetiştirmiş ve vazifesi için Ankara’ya göndermiştir. Somuncu Baba aynı zamanda bu topraklarda tahıl tarımıyla uğraşmış ve halka hizmet dolu bir hayat yaşamıştır (Ateş, 2012).

Türkiye’nin ikinci büyük gölü olan Tuz Gölü’nün güneydoğu sınırında yer alan Aksaray; kuzeyde Ankara, güneydoğuda Niğde, doğuda Nevşehir, batıda Konya ve kuzeydoğuda Kırşehir illeri ile çevrilidir (Yükseltürk, 2017). Aksaray’ın bir ilçesi olan Güzelyurt, Hasan Dağı (3268m) eteklerine kurulmuş, tarihi dokusu korunmuş ve doğal güzelliği ile tanınmıştır. Deniz seviyesinden 1485m yükseklikte olan ilçede tam bir yayla havası hüküm sürmektedir. Eski adı Gelveri olan Güzelyurt, Kapadokya Bölgesi’nin karakteristik çizgilerini taşır. Bunun en önemli belirtisi ise kaya oluşumları ile dolu olmasıdır. Kapadokya Bölgesi’ne özgü kayalardan yapılmış taş fırınlarda

asırlardır yapılan Gelveri Ekmeği yöre halkının hâlâ devam ettirdiği geleneklerden biridir. Tarihi Rum evlerinin bahçelerinde bulunan bu taş fırınlar yöre halkı tarafından ortaklaşa kullanılmaktadır (Binan, 1994; Şahin, 2014; İl Kültür ve Turizm Müdürlüğü, 2022). Yöre halkı fırın yakıldığı zaman, bir kaç aylık ekmek ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde çok miktarda ekmek yapmakta ve sonra bu ekmekleri derin dondurucuda muhafaza etmektedir. İlçede komşular bir araya gelerek, birkaç evin ekmek ihtiyacının karşılandığı üretimler de yapılmaktadır. Son yıllarda Güzelyurt ilçesinde ekmek fırınlarında da Gelveri Ekmeği üretilmeye başlanmış ve üretime bir standardizasyon getirilmiştir. Ekmek yapımında unun kalitesi kadar fırın tipi ve kullanılan ekmek mayası da ekmek kalitesini etkilemektedir. Ekşi hamur fermentasyonu tahıl ürünlerinin beslenme değerini de artırmaktadır. Güzelyurt ve çevre ilçelerde de tanınan Gelveri Ekmeği, lezzeti ve uzun süre tazeliğini koruması ile bilinmektedir (Koçan ve Yapıcı, 2012).

GÜZELYURT (GELVERİ)

Güzelyurt (Gelveri) ilçesi konum itibari ile İç Anadolu Bölgesinde, Aksaray İline bağlı tarihi ve doğal dokusu korunmuş bir ilçedir. Aksaray, Osmanlı zamanında Konya Vilayetine bağlı Niğde Sancağı'nın bir kazası iken 1920 yılında il olmuş ve 1933 yılında yeniden Niğde'ye bağlı bir ilçe olmuştur. 1989 yılında Aksaray'ın il olmasıyla Güzelyurt da ilçe olmuştur. Aksaray iline 40 km, Niğde iline 80 km ve Nevşehir iline 70 km mesafededir. Kapadokya'nın güney girişinde yer alan Güzelyurt, tarih, doğa ve inanç turizminin bir arada bulunduğu, III. Derece Arkeolojik Sit Alanı olan turistik bir yerdir (Erbaş, 2022).

Güzelyurt tarihin başlangıcından beri çok değişik kültür ve dinlere sahne olmuştur. İlçe önemli bir Neolitik Dönem (M.Ö 6500-5000) yerleşim merkezi üzerine kurulmuştur. Bu bölge Hitit, Pers, Kapadokya Krallığı, Eski Yunan, Roma, Bizans, Selçuklu ve Osmanlı Medeniyetlerine beşliklik yapmıştır. Güzelyurtlu din bilgini Aziz Gregoris Teologos'un ortaya koyduğu fikirlerle zaman içinde Ortodoks Mezhebi kurulmuş ve manastır hayatı ilk olarak 4.yy'da Güzelyurt'ta

başlamıştır. Geçmişte adları Karballa (Roma, Bizans), Gelveri (Selçuklu ve Osmanlı) olup 1965 yılında Güzelyurt olarak değiştirilmiştir. Osmanlı ve Cumhuriyetin ilk yıllarında "Gelveri" ismiyle anılmıştır. Daha önceki dönemlerde ise "Karbala", "Karballa" veya "Karvala" olarak bilinmekte olan Güzelyurt Paleolitik Çağ'dan beri insanlara yurt olmuştur. Bölgenin yaşlı insanları Gelveri isminin Rumcada güzel su anlamına gelen Kale Nori'den dönüşerek geldiğini söylemektedir. (Erbaş, 2022). İlçe Aşağı Mahalle, Yukarı Mahalle ve Yeni Mahalle olmak üzere üç mahalleden oluşmaktadır. İhlara Vadisi, Selime Katedrali, Manastır Vadisi, Yüksek Kilise, Yeraltı şehri, Cami kilise, Belisırma gibi tarihi ve turistik pek çok yer Güzelyurt ilçesinde bulunmaktadır (Koçan ve Yapıcı 2012; Erbaş, 2022).

1923 tarihinde imzalanan Lozan Antlaşması kararlarından biri de Türkiye'deki Hristiyan halkın Yunanistan'a, Yunanistan'daki Müslüman halkın da Türkiye'ye göç etmesi şeklinde nüfus değişimi yapılmasıdır. Güzelyurt'tan giderek Kavala'ya yerleşen halk, yerleştikleri bölgeye Nea Karvali ismini vermişlerdir. Güzelyurt'taki Hristiyan nüfus, Lozan antlaşmasına kadar Müslüman nüfustan fazla olmuştur. Hristiyan Rum halkla Müslüman Türk halk mübadeleye kadar bölgede barış içinde beraber yaşamıştır. 1924 yılında gerçekleşen büyük mübadelede her iki taraftan yaklaşık 1.7 milyon insan yaşadıkları yerleri terk ederek hiç tanımadıkları ve bilmedikleri topraklara yerleştirilmiştir. Yunanistan'ın Kastorya, Kozan, Kavala, Selanik, Kesiye ve Manastır köylerinden gelen Türkler Güzelyurt ilçesine yerleştirilmiştir. Bölgeye yerleşen Türk halkı Rumlardan kalan evlerin bahçelerinde ya da sokak üzerinde bulunan taş fırınlarda 100 yılı aşkın süredir Gelveri Ekmeği yapmakta ve çocuklarına da öğretmektedir. İlçede yaşayan Rumlar ise Yunanistan'ın Kavala şehrine bağlı Nea Karvali yani Yeni Gelveri ismini verdikleri kasabaya yerleştirilmiştir. Yunanistan'da kurulan bu yerleşim alanı tamamen Türkçe konuşmakta ve her yıl düzenlenen Türk-Yunan Dostluk Festivaline katılarak ata topraklarını ziyaret etmektedir (İşlek, 2009; Erbaş, 2022).

Güzelyurt Kapadokya Bölgesi'nin karakteristik kaya oluşumlarını taşır. İlçede ve Manastır Vadisinde yarı kayaya oyma, ön cepheleri işlemeli, çatıları kemer sistemli, giriş kapılarında evin yapım tarihi yazan ve yaşları 100-200 arasında değişen Rum evleri Kapadokya mimarisinin en güzel örneklerini teşkil etmektedir. Güzelyurt'un ilk yerleşim yeri Aşağı Mahalledeki Aya Gregorius Theologos kilisesi çevresindeki kaya mekânlardır. Kaya konutların ön kısmına tonoz örtü sistemiyle yapılar eklenmiştir. 19 ve 20. yüzyıllarda ise Yukarı Mahallede kaya oymalarına konutlar inşa edilmiştir (Güzelyurt Kaymakamlığı, 2022). Güzelyurt'ta konut mimarisi olan kaya oyma, kaya oyma+yığma sistemi gibi taş fırınlar da bu kaya oyma tekniği ile yapılmış ve asırlardır yöre halkına hizmet etmektedir. Kayalardan yapılmış bu fırınlara, mimaride tol adı verilmektedir. Eğimli arazilerde yer alan tolların bir uçları toprağa gömülü, bir uçları ise doğaya açık tutulur. Tolların yüzeyleri içte ve dışta sıvasız olarak bırakılır. Kalın çeperleri nedeniyle yaz sıcakını geçirmezler (Binan 1994; Şahin, 2014; Erbaş, 2022). Gelveri Ekmeği de bu kayadan oyma taş fırınlarda bir asırdır yapılmakta ve günümüze kadar devam eden bir gelenek özelliği taşımaktadır. Bu fırınlarda yakacak olarak en çok meşe odunu ve saçma (parçalanmış tezek) kullanılmaktadır (Koçan ve Yapıcı 2012).

GELVERİ EKMEĞİ ÜRETİMİNDE KULLANILAN BİLEŞENLER

Türk Patent ve Marka Kurumu'nun Coğrafi İşaret ve Geleneksel Ürün Bülteni (2021) Gelveri Ekmeğini; "Şekli yuvarlak, içi yumuşak ve Aksaray ili Güzelyurt İlçesi coğrafi sınırına özgü bir ekmektir" şeklinde tanımlamaktadır. Gelveri Ekmeği hiçbir katkı maddesi kullanılmadan; Aksaray'da yetiştirilen buğdaydan elde edilen un, su, tuz ve mayadan üretilmekte olup mayalı, yassı (düz) ve serbest tip ekmekler sınıfında yer almaktadır (Patent ve Marka Kurumu, 2021). Yassı (düz) ekmekler tava ekmeklerinden farklı olarak daha düşük hacimli ve geleneksel yöntemlerle yöresel ve az miktarda üretilen ekmeklerdir. Serbest tip ekmekler ise düz bir yüzeyde fermente edilip serbest halde pişirilen ekmekleri tanımlamaktadır (Coşkun ve Karababa, 2021). Ayrıca yassı ekmekler

kendilerine özgü düşük hacim, yüksek kabuk /ekmek içi oranına sahip olup yüksek sıcaklıkta daha hızlı pişmektedir. Yassı ekmekler Türk, Balkan, Orta Doğu kültürlerinde yer aldığı gibi Orta Amerika ve Meksika kültüründe de yaygın olarak bulunmaktadır. Yassı ekmekler genellikle mayalı hamurdan üretilmekle birlikte tortilla (Meksika, Orta Amerika ve Kanada), arepa (Güney Afrika), yufka (Türkiye) gibi mayasız üretilenleri de bulunmaktadır. Dünyada geleneksel olarak üretilen, farklı isimlerle anılan çok çeşitli yassı ekmekler bulunmaktadır. Örneğin; pita, gobit, arap ekmeği (Mısır, Suriye, Lübnan, Türkiye, Kanada), çapati roti (Pakistan, Hindistan, Çin), focaccia (İtalya) bazlama (Türkiye), lavaş (İran ve Türkiye), sangak (İran), baladi (Mısır), tandır ekmeği (Türkiye, Suudi Arabistan), barbari (İran), pide (Türkiye), Ramazan pidesi (Türkiye) (Coşkun vd, 1999; Coşkun ve Karababa, 2021).

Türk Gıda Kodeksi Ekmek Tebliğine göre Ekmek; buğday (*Triticum*) ununa; su, tuz, maya (*Saccharomyces cerevisiae*) gerektiğinde şeker, enzimler, enzim kaynağı olarak malt unu, vital gluten ve izin verilen katkı maddeleri ilave edilip bu karışımın tekniğine uygun olarak yoğrulması, şekillendirilmesi, fermentasyona bırakılması ve pişirilmesi ile yapılan bir gıdadır. Diğer ekmek çeşitleri ise; bir veya birden fazla tahıl unu, tahıl ezmesi, tahıl tanesi, tahıl kırması, tahıl irmiği, soya unu, baklagil unları, kepek, bitkisel yağ, süt ve/veya süt ürünleri, bitkisel lif veya diğer çeşni maddelerinden bir veya birkaçının ilave edilmesinden sonra tekniğine uygun olarak üretilen ekmeği tanımlar (Anonymous, 2012).

Buğday Unu: Ekmekçilikte sert taneli, kırmızı ve beyaz renkli ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) çeşitlerinin unları tercih edilir. Unun protein miktarı da önemli bir kriter olup mayalı ekmek üretiminde protein oranı en az %11 olmalıdır. Hamurun gaz tutma kapasitesi unun protein kalitesine (gluten kalitesi) bağlıdır. Unun bileşiminde doğal olarak bulunan amilaz enzimi fermentasyon sırasında CO₂ oluşumunda ve ekmeğin kabarmasında etkilidir (Özkaya, 2021). Gelveri Ekmeğinin üretiminde Aksaray'da yetiştirilen buğdaydan elde edilen tam buğday unu

tercih edilmektedir. Yassı ekmek üretiminde kullanılan tam buğday unları yoğurma süresini uzatmaktadır. Bu nedenle son zamanlarda beyaz un olarak da bilinen rafine un kullanımı da söz konusudur (Koçan ve Yapıcı 2012; Coşkun ve Karababa, 2021). Öğütme aşamasında buğdayın, besin değeri yüksek rüşeym ve fonksiyonel özelliklere sahip kepek kısımları ayrıldığı için özellikle rafine undan üretilen ekmek ve benzeri fırın ürünlerinde besin değerinin önemli derecede düştüğü belirtilmiştir (Meral ve Karaoglu, 2019).

Türkiye kültürü yapılan buğday türleri ve bu türlerin atası durumunda olan yabani türlerin gen ve çeşitlilik merkezidir. Yabani ve kültürü yapılan buğday *Aegilops* ve *Triticum* olmak üzere iki cinsten ve diploid, tetraploid ve hekzaploid olmak üzere üç farklı genetik grupta değerlendirilir. Diploid buğdaylar Siyez (*Triticum monococcum*) Kavılca, Gernik (*T. dicoccon*) olup ($2n=14$), Tetraploid buğdaylar Durum (*Triticum durum*) ve Emmer (*Triticum dicoccon*) olup ($2n=28$) ve Hekzaploid buğdaylar (*Triticum aestivum*) ekmeklik buğdaylar olup ($2n=42$) şeklindedir. Türkiye'nin önemli ekmeklik ve makarnalık yerel buğday çeşitleri doğal seleksiyon ile günümüze kadar ulaşmış ve *T. durum* ve *T. aestivum* türlerine ait birçok çeşit kültüre alınmıştır. İslah çalışmaları ile buğday, kendi cinsi içinden yakın veya uzak akrabalardan normal yoldan melezlenip onlarda bulunan yararlı genler buğdaya transfer edilmeye çalışılmaktadır (Özberk, vd., 2016; Karagöz, 2019). Son zamanlarda buğdayın genetik yapısının değişmiş olduğuna dair endişeler nedeniyle ata buğdayına olan talep artmıştır. Ancak buğdayın kendine döllen bir bitki olması ve teknik zorluklar nedeniyle dünyanın hiçbir yerinde ticari anlamda genetiği ile oynanmış buğday yetiştirilmemektedir. Dolayısıyla dünyada modern biyoteknoloji kullanılarak elde edilmiş yeni bir genetik materyal kombinasyonuna sahip olan (GDO) buğday çeşidi yoktur. Buğday üreticileri ıslah metotları ile yüksek verimli, kaliteli ve ayrıca biyotik/abiyotik streslere dayanıklı buğday çeşitlerini yetiştirmektedir (Köksel, vd., 2016; Özberk, vd., 2016; Karagöz, 2021).

Hububat taneleri genel olarak endosperm, rüşeym yani embriyo ve bunları çevreleyen kepek tabakalarından oluşmaktadır. Tam buğday unu,

kepek tabakasında yoğunlaşan ve buğday rüşeyminde bulunan lifler (beta-glukan ve arabinoksilan), fitokimyasal maddeler (fenolik bileşenler, steroller, tokoller), vitaminler (A, C, D, E, folik asit) ve mineral maddeler (selenyum, fosfor, sodyum, çinko, kalsiyum ve demir) içerir (Elgün ve Ertugay 2002; Sakandar, vd., 2019; Elmacıoğlu ve Emiroğlu, 2021). Tam buğday unu ile beslenmenin kan glukoz seviyesinin kontrolünü sağladığı, kolesterol seviyesini olumlu yönde etkilediği ve kan basıncını düşürdüğü yönünde gözlemler bulunmaktadır. Tam tahıl ürünleri iyi bir besinsel lif kaynağıdır. Besinsel lif içeren gıdalarla beslenme ile kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, obezite, hipertansiyon, hiperlipidemi ve gastrointestinal hastalıkların oluşma riski düşmektedir. Günlük hayatımızda hareketsiz yaşam ile birlikte besinsel lif içeriği düşük gıdalar ile beslenme ve aşırı gıda tüketimi sonucu kalp-damar hastalıkları, sindirim sistemi hastalıkları, obezite ve diyabet gibi bazı rahatsızlıkların oranı artış göstermiştir. Amerikan Tıp Enstitüsü Gıda ve Beslenme Kurulu (IOM; Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine) koroner kalp hastalığına karşı en büyük korumayı sağlayan besinsel lif alım miktarını genç erkekler ve kadınlar (31-50 yaş) için sırasıyla 38g/gün ve 25 g/gün olarak belirlemiştir. Tam buğday ekmeği yaklaşık 7g/100g gıda lifi içermektedir (Acar vd., 2021; Elmacıoğlu ve Emiroğlu, 2021).

Buğday gluten proteinleri, gliadin ve glutenin proteinlerinden oluşmaktadır. Günümüzde glutensiz beslenme akımı da özellikle zayıflamak, sağlıklı beslenmek, bazı hastalıklara yakalanma riskini azaltmak isteyen kişiler tarafından tercih edilir olmuştur. Ancak gluten sadece çölyak, buğday alerjisi ve alerjik nedenli olmayan çölyak dışı gluten duyarlılığı olan hastalar tarafından kullanılması sakıncalı bir proteindir. Çölyak hastalarında gluten proteini, gastrik ve pankreatik sindirim enzimleri ile parçalanamadığı için immün tepkiler oluşturmakta ya da enflamatuvar yanıtın öncü moleküllerini oluşturarak ince bağırsaklarda emilimi sağlayan villus denilen yapıların bozulmasına ve emilim problemlerine neden olmaktadır. Hastalık gluten peptidlerine karşı oluşan bir otoimmün tepkidir (Alçay ve

Ahmetoğlu, 2020; Başman ve Özbaş 2021; Köksel ve Shewry, 2021). Glutene karşı herhangi bir entaropatisi bulunmayan bireylerin gereksiz olarak glutensiz gıdalar ile beslenmeleri sonucunda başta B grup vitaminler olmak üzere A, E ve D vitaminleri ile demir, çinko ve magnezyum gibi mineral madde eksiklikleri yaşanabilmektedir. Ayrıca glutensiz beslenme ile bağırsak mikrobiyotasında bozulmalar oluşmakta ve probiyotik bakteri çeşitliliği ile sayısı azalırken patojen bakterilerde artış olabilmektedir. Glutensiz beslenen insanlarda görülen diğer bir bulgu ise vücutlarında ağır metal oranlarında artış olmasıdır. Özellikle cıva, kurşun, kadmiyum ve arsenik gibi ağır metal seviyelerinde artışların olması önemli sağlık sorunlarına neden olabilir (Küçük ve Yıbar 2021).

Un, farklı irilikteki partikülleri içermesi nedeniyle partikül boyutu bakımından homojen değildir. Partikül boyutu <20 µm olan küçük nişasta ve zedelenmiş nişasta taneciklerinden; 20-35 µm olanlar çok az proteinin yapışık olduğu nişasta partiküllerinden ve >35 µm olanlar ise daha çok proteinin yapışık olduğu nişasta partiküllerinden oluşur. Bu partikül boyut farkı her unun su tutma kapasitesinin de farklı olmasına neden olur. Unun partikül boyutunun küçük olması ve iyi dağılımı yassı ekmek üretiminde önemli bir kalite kriteridir. Ayrıca unun su tutma kapasitesi olarak bilinen su absorpsiyonu da ekmek üretiminde önemlidir ve yüksek olması istenir. Absorpsiyonu artıran en önemli faktör gluten miktarıdır. Kuru gluten oranının yaklaşık 2.8 katı kadar su tutabilir. İnce partiküllü unun su tutma miktarı da artar. Un partiküllerinin boyutu küçüldükçe spesifik yüzey alanı artacağı için su tutma miktarı da artar. Ayrıca undaki zedelenmiş nişasta oranı da unun su absorpsiyonu ve enzim aktivitesi ile ilişkili olarak hamurun gaz oluşturma kabiliyeti ile unun ekmeklik performansında önemli rol oynar. Arap ekmeği olarak bilinen *pita* yassı ekmeği, durum buğday unundan yapılmaktadır. Öğütme ile zedelenmiş nişasta oranı ekmeklik buğdaya göre daha fazla artan unun su absorpsiyonu da artmakta ve sonuçta daha yumuşak tekstürde ekmek elde edilmektedir. Yassı ekmek üretiminde, su absorpsiyonu yüksek olan unlar pişirmedeki olumlu katkıları nedeniyle tercih edilmektedir

(Özkaya, 2021; Coşkun ve Karababa, 2021). Gelveri Ekmeği yapımında Aksaray'da yetiştirilen buğdaydan elde edilen un, eleklerden geçirilerek tekne içinde mümkün olduğunca ince partiküllü dağılması sağlanmaktadır.

Su: Hamuru oluşturan bileşenlerin homojen dağılımı ve gluten oluşumunu sağlayan su, mikrobiyolojik (fermantasyon), enzimatik ve kimyasal faaliyetler için uygun ortam sağlar. Ekmek üretiminde kullanılan suyun içme suyu kalitesinde ve orta sertlikte (50-100ppm) olması yanında içerisinde gluten özelliklerini iyileştirecek ve maya için gelişim faktörü olabilecek mineral maddelerin bulunması istenir. Sert sular gluteni sertleştirir ve fermentasyonu geciktirir. Bu nedenle maya kullanım oranı arttırılabilir. Yumuşak sular ise yapışkan ve yumuşak bir hamura neden olacağı için su oranı düşürülebilir. Ayrıca yumuşak suların fermentasyonu hızlandırması nedeniyle fermentasyon süresi kısalsabilir. Suyun pH derecesi de hamurun fermentasyonunda etkilidir. Alkali sular fermentasyonu yavaşlatıp mayalanma süresini uzatır (Özkaya, 2021). Gelveri Ekmeği yapımında Güzelyurt'un yeraltı kaynak suları kullanılmaktadır. Güzelyurt yeraltı kaynak suyu, analiz sonuçlarına göre orta sertlikte ve 6.7-7.0 pH derecesinde bir su olup ekmek üretimine uygun bir sudur (Yükseltürk, 2017). Ayrıca kullanılan suyun sıcaklığı da fermentasyon açısından önemlidir. Yazın soğuk su, kışın ılık su tercih edilmektedir (Köksel ve Şanlıer 2021).

Tuz: Ekmek üretiminde kullanılan tuz mümkün olduğunca saf olmalı ve yağ oksidasyonunu teşvik eden bakır ya da demir gibi mineralleri içermemelidir. Bu amaçla sofrata tuzu olarak bilinen NaCl kullanıldığı gibi deniz tuzu ya da kaya tuzu da kullanılabilir. Tuz ekmeğe tat vermesinin yanında hamurun fiziksel özellikleri üzerinde de çeşitli etkileri vardır. Tuz, gluteni güçlendirerek yumuşamayı önler, mayanın çalışması üzerinde etkili olup farklı mikroorganizmaların fermentasyonunu kontrol ederek istenmeyen asitlik ve tadın oluşmasını engeller. Tuz oranı %2'den fazla olması maya hücresi üzerinde ozmotik etki nedeniyle fermentasyonu yavaşlatır ve gaz üretim gücünü düşürür (Özkaya, 2021).

Maya: Fermantasyonu sağlayan ekmecek mayası, maya formunda olan bir mikroorganizmadır. Ekmecek Mayası; Ökaryot, Fungi aleminde yer alan *Saccharomyces* cinsine ait, oval, tek hücreli filamentsiz bir mikrofungus olan *Saccharomyces cerevisiae* mayasıdır (Halkman, 2019). Ekmecek üretiminde genellikle endüstriyel ekmecek mayası olan *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılmaktadır. Bu maya hamurda bulunan basit şekerleri fermantasyona uğratarak, fermantasyon sonucu oluşan CO₂ gazı ile hamurun kabarmasını, fermantasyon ürünü diğer maddelerle ve bileşiminde bulunan enzimlerle hamurun olgunlaşmasını ve aroma sentezini sağlar (Özer, vd., 2020).

Geleneksel ekmecek üretiminde starter kültür olarak ekşi hamur tercih edilmektedir. Ekşi hamur, un ve su karışımının laktik asit bakterileri ve maya tarafından fermente edilmesiyle elde edilen starter kültürdür. Un tipine bağlı olarak genellikle 5-7 gün içinde olgunluğa erişir (Bakırcı ve Köse 2017; Sağdıç, vd., 2021). Ekşi hamur *Saccharomyces* spp. mayalar ile laktik asit bakterilerinin (LAB) simbiyotik olarak etkileşim içinde oldukları bir kültürdür. Ekşi hamurda baskın flora olarak *Saccharomyces* ve *Lactobacillus* cinsleri bulunurken daha seyrek olarak ise *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* ve *Weissella* cinsi laktik asit bakterileri bulunmaktadır. Ekşi hamurdaki mikroorganizmalar sayesinde organik asitler, CO₂, diasetil ve alkol oluşmaktadır (Bartkiene, vd., 2022). Gelveri Ekmeğinde mayalama geleneksel olarak ekşi hamurla sağlanmaktadır (Koçan ve Yapıcı, 2012). TKG Ekmecek Tebliği'ne göre Ekşi hamur ekmecekleri tanımı; tahıl unlarına su, tuz, maya, geleneksel veya endüstriyel yöntemlerle elde edilen ekşi veya ekşi hamur ilavesiyle hazırlanan hamurun tekniğine uygun olarak yoğrulması, şekillendirilmesi, fermantasyona bırakılması ve pişirilmesi ile üretilen ekmecek ve ekmecek çeşitlerini tanımlar, şeklindedir (Anonymous, 2012). Gelveri Ekmeği üretiminde kullanılan ekşi maya üretimi için; yaklaşık beş litre suya, iki kg buğday unu ve on gram tuz eklenip yoğrularak on saat bekletilir. Daha sonra bu karışım ortalama on gün boyunca her gün karıştırılarak ekşi maya elde edilir (Türk Patent ve Marka Kurumu, 2021).

Ekşi hamur starter kültüründe bulunan probiyotik özellikteki *Lactobacillus* spp. çok miktarda laktik ve asetik asit üretmektedir. Bu da ekşi hamur ekmeğine kendine özgü lezzet vermektedir. Ekşi hamurda yer alan laktik asit bakterileri antimikrobiyel, antifungal, bağışıklık sistemini ve gastrointestinal mikrobiyotayı düzenleyici özelliktedir. (Bartkiene, vd., 2022). Ekşi hamurun içerdiği LAB ile diğer mikrobiyotanın metabolik aktiviteleri sonucu hamur reolojisi ve ekmeğin tekstürel özellikleri değişmektedir. Ekşi hamur ile ürünün spesifik hacmi artmakta, ekmecek içi gözenek yapısı küçük ve çok sayıda olmakta, ekmecek lezzeti artarak ekmecek kabuk rengi gibi özellikler gelişmekte ve ekmeğin raf ömrü uzamaktadır. Ekşi hamur fermantasyonunda mayalar ve laktik asit bakterilerinin sürdürdükleri simbiyotik yaşam sonucunda mayalar ve heterofermantatif laktik asit bakterileri hamurun kabarmasından sorumlu olurken, homofermantatif laktik asit bakterileri ekmeğin elastikiyetini, asitliğini ve lezzetini etkilemektedir. Bu starter kültür ile fermantasyon süresi kısaltmakta, hamur daha hızlı olgunlaşmakta, gaz oluşturma gücü ve asitlik artmaktadır. Buna ilaveten son yıllarda yapılan çalışmalara göre, ekşi hamur fermantasyonu tahıl ürünlerinin beslenme değerini de artırmaktadır (Ataman, 2014; Bakırcı ve Köse, 2017; Çakır vd., 2020; Sağdıç, vd. 2021 Bartkiene, vd., 2022).

Gelveri Ekmeği yapımında starter olarak geleneksel ekşi hamur tercih edilmekle birlikte son yıllarda instant ekmecek mayasının kolay ulaşılabilir olması nedeniyle kullanıldığı görülmektedir. Instant ekmecek mayası denilen starter kültür sadece *Saccharomyces cerevisiae* mayasını içermektedir. Instant maya yüksek derecede ama kısa sürede kurutulduğu için kurutma sırasında maya aktivitesini yitirmeden aktif kalmaktadır. Kullanım sırasında instant maya açıkta kalırsa, uzun süre oksijen ile temas ettiği için hızlı bir şekilde nem çekerek aktivitesini yitirebileceği için tek kullanımlık paketler tercih edilmektedir (Koçan ve Yapıcı, 2012; Özkaya, 2021).

Olgunlaşmış hamurda laktik asit bakterileri 6-9 log kob/g, mayalar ise 5-8 log kob/g düzeyindedir. Türkiye'de kullanılan ekşi hamurlarda bulunan baskın LAB'leri son taksonomi çalışmalarına göre

yeni isimleriyle; *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum*), *Lactobacillus pentosus* (*Lactiplantibacillus pentosus*), *Lactobacillus brevis* (*Levilactobacillus brevis*), *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus sanfranciscensis* (*Fructilactobacillus sanfranciscensis*), *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *Weissella cibaria* şeklindedir (Arsoy, vd., 2022). Türkiye’de farklı bölgelerden toplanan ekşi hamur flora incelemeleri sonucunda baskın tür olarak *Saccharomyces cerevisiae* bulunurken *Pichia kudriavzevii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kazachstania servazzii*, *K. humilis*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Torulaspora delbrueckii* de diğer maya türleri olarak belirlenmiştir. (Sevgili, vd., 2021; Aydın, vd., 2022).

Gelveri Ekmeği yapımında kullanılan ekşi hamurun mikrobiyel florasının incelendiği bir araştırma sonucunda 9.46 log kob/g *Lactobacillus* spp. ve 8.45 log kob/g mayadan oluştuğu ve bu mayalar içinde baskın grubun *Saccharomyces cerevisiae* ve *Pichia kudriavzevii* mayalarından oluştuğu belirlenmiştir (Aydın vd., 2022). *Pichia kudriavzevii* probiyotik özellikte bir mayadır (Dengiz, 2021). Yapılan çalışmalarda ekşi hamurdan izole edilip tanımlanmış olan bazı *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının da probiyotik özellikte oldukları belirlenmiştir (Solak, 2020).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tanımına göre probiyotikler, "yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalardır". Probiyotik bakteriler, vücudun mukoz membranlarında ve sindirim bölgelerinde kolonize olarak sağlık üzerinde olumlu etkiler oluşturur. Probiyotikler, düzenli olarak ve yeterli miktarda tüketildiklerinde, bağırsak florasına yerleşerek bağırsak mikrobiyal florasını düzenlerler. Bağırsakta bulunan mikroorganizma çeşitliliğine bağırsak mikrobiyotası denilmektedir. Bağırsak mikrobiyotası parmak izi gibi olup, her insanın kendine özgü içeriği ve dağılımı mevcuttur. Mikrobiyota; coğrafi köken, genetik, doğum şekli, yaş, yaşam tarzı, beslenme, antibiyotik kullanımı ve geçirilen hastalıklar gibi kişinin yaşamı boyunca değişen endojen ve ekzojen faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir (Hill, vd., 2014; Kara ve Coşkun 2014).

Ekmeğin üretiminde pişirme sıcaklığı nedeniyle probiyotik mikroorganizmalar canlılıklarını yitirmektedir ancak inaktif probiyotik hücreler olan para-probiyotiklerin de konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkileri mevcuttur. Bu etkiler mikrobiyel metabolitlere ve kompleks moleküllere bağlıdır. Bu maddeler doğuştan gelen bağışıklık sistemini uyarmakta, bazı patojenleri inhibe etmekte ve kolesterol düzenleyici etkide bulunmaktadır (Vallejo-Cordoba vd., 2020).

Ekşi hamur fermentasyonu sırasında oluşan ekzopolisakkaritler (EPS) hamurun viskoelastik özelliklerini ve tekstürünü olumlu yönde etkileyerek raf ömrünü uzatmaktadır. EPS mikroorganizmanın hücre içinde olabileceği gibi hücre dışına sentezlediği maddeler olup bazıları da hücre duvarı yapısında yer alan uzun zincirli homopolisakkarit veya heteropolisakkaritlerdir. EPS’ler probiyotikler tarafından üretilmekle birlikte probiyotik etkileri sayesinde probiyotiklerin kolonizasyonunu da teşvik etmektedir (Muninathan, 2021). Maya hücre duvarında yer alan β -glukan da bir EPS’dir. β -glukan’ın bağırsakta bulunan probiyotik mikroorganizmalar tarafından kullanılan bir probiyotik olması nedeniyle bağırsak ortamını iyileştirebileceği, doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklığı uyardığı, mikotoksinleri adsorbe edebileceği, yara iyileşmesini destekleyebileceği, kanseri önleyebileceği ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (Dengiz 2021).

Probiyotiklerin gelişmesini stimüle eden, gastrointestinal sistemin üst bölümlerinde sindirime uğramadan (ince bağırsakta sindirilmeden) kolona geçebilen, kalın bağırsakta fermente olabilen ve patojen bakterilerin sayısını sınırlayan oligosakkaritler (kısa zincirli karbonhidratlar) prebiyotiklerdir. Tam tahıllar fruktoooligosakkarit grubu doğal prebiyotiklerdir. Ayrıca ekşi hamurda bulunan LAB ve mayalar sayesinde oluşan EPS de prebiyotik özelliktedir. Prebiyotik özellikteki besinsel lifler kolon mikrobiyotası tarafından fermente edilerek kolonda sıvı hacmini artırır, bağırsaktan geçiş zamanını kısaltır ve dışkı hacim ile ağırlığının artışı sağlayarak kabızlık, divertikülit ve kanser

gibi kalın bağırsak rahatsızlıklarının önlenmesinde katkıda bulunur (Dengiz, 2021; Acar, vd., 2021). Ekmekte bulunan fermente edilebilir oligosakkaritler, disakkaritler, monosakkaritler ve polioller (FODMAP) bazı insanlarda sindirim sisteminde problemlere neden olmaktadır. Ancak ekşi hamur ekmeğinde bulunan mayalar ve LAB sayesinde FODMAP'ler parçalanabilir ve bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu etkiler oluşabilir (Sakandar, vd., 2019).

EPS'den üretilen kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) gibi postbiyotikler, sağlık için faydalı özellikler sergiler ve gıdanın fonksiyonel özelliklerini yükseltir. Postbiyotikler, fermentasyon sırasında bağırsak bakterileri tarafından üretilen, immünolojik ve nörolojik fonksiyonları iyileştiren biyojenik metabolitlerdir. EPS, bağırsak epitel hücrelerinin bariyer fonksiyonunu artıran bütirik asit, propiyonik asit gibi KZYA'nın üretimi için fermente edilebilir karbonhidrat kaynağı oluştururlar (Muninathan, 2021).

Yemek sonrası kan glukoz seviyesindeki artışı ifade eden glisemik indeks değeri ekşi hamur mayası ile üretilen ekmeklerde düşmektedir. Klinik araştırmalar ekşi hamur ile üretilen ekmeklerin glisemik indeks değerlerinin orta seviyeye (56-69) çekildiğini göstermektedir. Ekşi hamur fermentasyonu, gıda lif kaynağı tam tahıllı un ile birlikte kullanıldığında ekmeğin glisemik indeksi 55'in altına düşmektedir. Glisemik indeksi 55'den az olan gıdalar düşük glisemik indeksli olarak sınıflandırılmaktadır. Ayrıca ekşi hamur fermentasyonu ile gelişen asitlik, unda bulunan protezların asit ile aktivasyonu ve laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitesi ile gluten ağını sindirim enzimlerine daha duyarlı hale getirerek in vitro sindirimi artırabilir. Tahıllarda bulunan fitik asit, mineralleri bağlayarak emilimini önler. Ekşi hamur fitaz enzimi aktivitesi gösteren laktik asit bakterileri ve mayalar sayesinde tam tahıllı gıdaların mineral biyoyararlılığını da artırabilir (Sağdıç, vd., 2021).

GELVERİ EKMEĞİ ÜRETİM TEKNOLOJİSİ

Geleneksel bir ekmek olan Gelveri Ekmegi üretim aşamaları hammaddelerin (un, ekşi hamur, tuz ve su) karıştırılması, yoğurma, fermentasyon, hamur

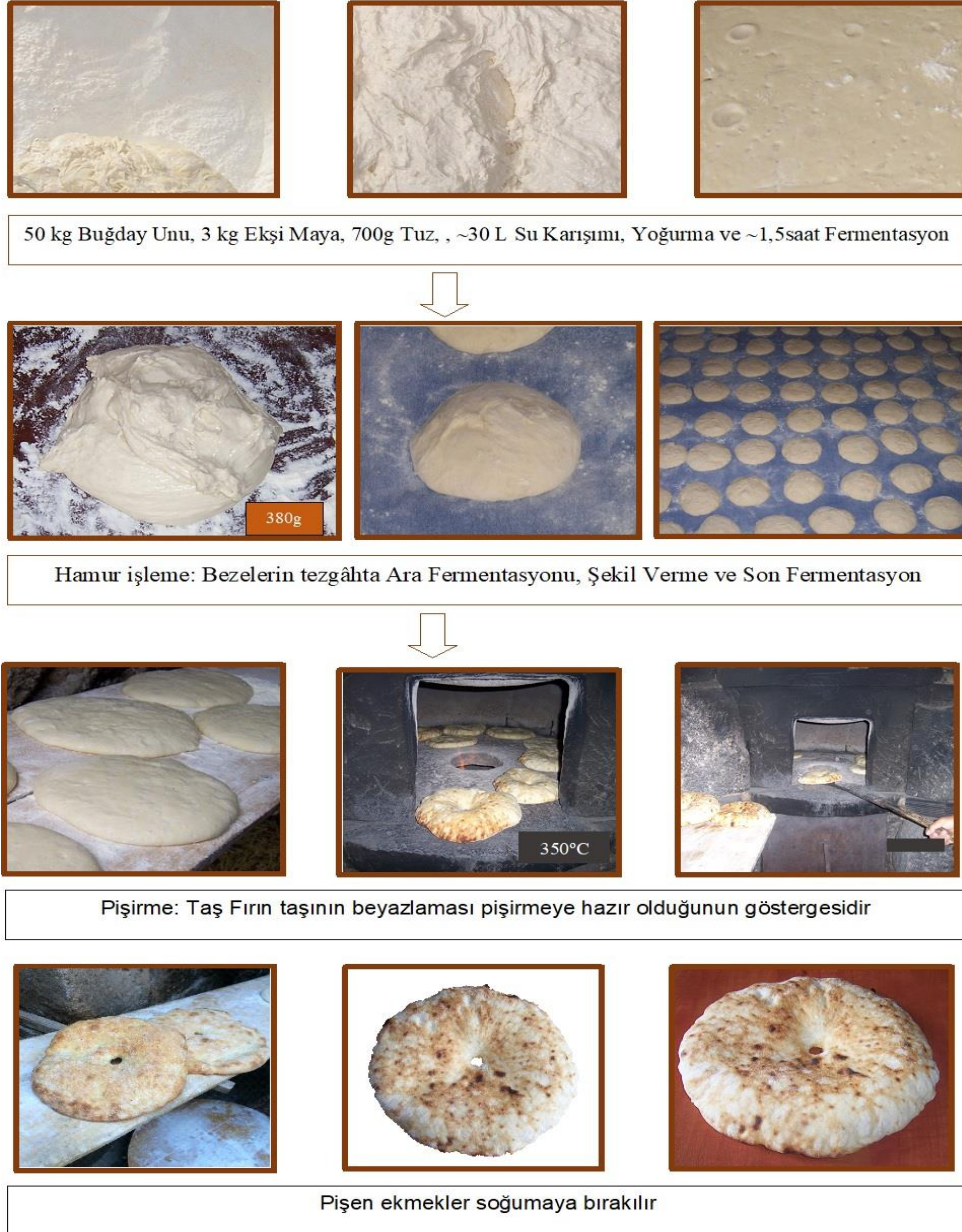
işleme (küçük parçalara ayırıp şekil verme ve ara fermentasyon), pişirme ve soğutmadan oluşmaktadır.

Gelveri Ekmeginin üretim akış şeması şekil 1'de verilmiştir.

Yoğurma: Ekmek üretiminde ilk aşama yoğurmadır. Yoğurma ile una kaldırılabileceği kadar su ilave edilip karıştırılarak homojen bir kitle elde edilir. Bu aşamada gluten oluşumu sağlanarak gluten proteinlerinin viskoelastik yapı ile su tutma özellikleri en üstün düzeye ulaşır. Yassı ekmeklerin üretiminde yüksek gluten miktarı ve kalitesine ihtiyaç duyulmamaktadır. Yoğurma hızı ve süresi de hamurun gelişmesinde önemli kriterlerdir. Yoğurma sırasında gluten üç boyutlu sürekli bir sisteme dönüşerek nişasta granüllerinin etrafına yayılır ve yüzeyi kaplar (Özkaya 2021). Tamamen geleneksel yöntemlerle yapılmakta olan Gelveri Ekmegi yapımında elekten geçirilen 50 kg ekmeklik buğday ununa bir gece önceden hazırlanan 3 kg ekşi maya, 700g tuz ve ~30 L su ilave edilerek bileşenlerin karışması sağlanır (Türk Patent ve Marka Kurumu, 2021). Geleneksel olarak üretilen yassı ekmeklerin çoğunda olduğu gibi Gelveri Ekmegi üretiminde de yoğurma el ile yapılmakta ve yaklaşık 30-35 dakika sürmektedir. Yoğurma başlangıcında, suyun tamamen absorbe olmaması nedeniyle homojen olmayan hamur kitlesi pürüzlü, ıslak ve yapışkandır. Yoğurma ilerledikçe gluten gelişmeye ve ortamdaki suyu tutmaya başlar. İlerleyen aşamalarda hamur kendisini daha çok toparlayarak gluten optimum su tutma özelliği kazanır. Yoğurmanın son aşamasında hamurun elastikiyet ve uzama kabiliyeti kazandığı görülür. Elle açılan hamurun yırtılmadığı, düzgün ve ipeksi bir yapıda olduğu ve yapışkanlığı ortadan kalktığı zaman yoğurma işlemine son verilir. Endüstriyel üretimlerde farinograf, miksograf gibi cihazlar sayesinde hamurun optimum yoğurma süresi ve katılacak su miktarı objektif olarak belirlenebilmektedir. Ayrıca endüstriyel üretimde yoğurma makinesi ile bu işlem gerçekleştirilmektedir. Protein oranı fazla ve gluteni kuvvetli olan unların yoğurma süresi daha uzundur. Yoğurma süresi hamurun fermentasyon süresini de etkiler. Yoğurma ihtiyacı fazla olan hamurların fermentasyon süreleri de uzundur. Yassı ekmek üretiminde genellikle gluten kalitesi

zayıf unlar tercih edilmekle birlikte eğer yüksek kalitede ise yoğurma süresi uzatılarak gluten yapısının mekanik olarak parçalanması gerekmektedir. Tuz yoğurmanın ilerleyen aşamalarında ilave edilirse yoğurma süresi biraz kısılır. Yoğurma sırasında havanın oksijeni hamura dhil edilmesiyle hamurun uzama kabiliyeti azalır ve uzamaya karşı direnci artar.

Hamurun gelişmesini sağlayan bu etkilerin yanında oksijen, SH gruplarını okside ederek serbest yağ asitleri ile reaksiyona girmesini sağlar ve hamur üzerinde düzeltici etki yapar. Hamur sıcaklığı da fermentasyon sırasında maya faaliyetini ve ekmek kalitesini etkilemektedir (zer vd., 2020; zkaya, 2021; Köksel, 2021).



Fotoęraf Denis KřAN

şekil 1. Gelveri Ekmegi retim akış şeması görseli

Fermantasyon: Yoğurmadan sonra hamur optimum sıcaklık ve nem oranında bir süre dinlendirilerek maya ve enzimlerin faaliyete geçmesi sağlanır. Gelveri Ekmeğinin hamuru yoğurma işlemi sonrası 1-1.5 saat kadar ortam sıcaklık ve neminde bekleterek fermantasyon sağlanmaktadır. Yassı ekmeklerin fermantasyon süreleri diğer ekmeklere göre daha kısadır. Kullanılan mayaya bağlı olarak bu aşamada hamurda bol miktarda CO₂ oluşur ve hamur bu gazı tutabilecek yapıya kavuşur. Buna hamurun olgunlaşması denir. Canlı bir organizma olan maya, fermantasyonu sağlayan esas unsurdur. Fermantasyon aşamasında hamurun fiziksel özelliklerinin değişmesi sonucu uzama kabiliyeti artan, yumuşak ve elastik bir yapıda hamur elde edilir. Böylece glutenin elastikiyeti artmakta ve hamur kütlesi içinde biriken karbondioksit gazı basıncına daha iyi dayanan ve onu tutan bir yapı kazanmaktadır. Ayrıca bu aşamada ekmeğin tat ve lezzetinden sorumlu bileşikler de oluşur. Fermantasyon sırasındaki bu değişimlerden, oluşan alkoller, aldehytler, ketonlar, organik asitler ile proteolitik ve amilolitik enzimler sorumludur. Hamur sıcaklığı hamurda oluşacak laktik asit ve asetik asit miktarını dolayısıyla tadı ve fiziksel özellikleri etkiler. Fermantasyon sıcaklığı ~27°C olması idealdir. Sıcaklık düşerse fermantasyon yavaşlar ve süre uzar. Sıcaklık yükselirse fermantasyon hızı da artar ancak yabancı maya, laktik asit ve asetik asit bakterileri ile sporlu bakteriler, rop sporu ile küf gelişme olasılığı artar. Maya gelişimi için optimum pH4.7 olup fermantasyon sürecinde pH 4-6 arasındadır (Özer vd., 2020; Özkaya, 2021; Köksel, 2021). Gelveri Ekmeği yapımında starter kültür olarak geleneksel ekşi maya kullanılmakla birlikte bazen yöre halkı instant ekmeği mayası da kullanılmaktadır. Ekşi mayada bol miktarda laktik asit ve asetik asit bakterileri bulunur. Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu laktik asit ile hamur pH'sı düşer. Asetik asit bakterileri ise ortamdaki alkolü asetik aside çevirir ama asetik asit miktarı az olup hamur pH'sını laktik asit kadar düşürmez. Asetik asit aromatik olarak çok etkilidir (Koçan ve Yapıcı 2012; Özkaya, 2021).

Hamur İşleme: Fermantasyon aşamasından pişirme aşamasına kadar uygulanan hamur işleme

aşaması kesme, havalandırma, ara fermantasyon, şekil verme ve son fermantasyon gibi işlemlerden oluşmaktadır. Hamur işleme aşamasında fermente olmuş hamur istenilen ekmeğin ağırlığına göre kesilerek yuvarlanması ve içindeki CO₂ tutabilecek düzgün bir yüzey oluşturmaya sağlanır (Özer vd., 2020; Özkaya, 2021; Köksel, 2021). Genel olarak yassı ekmeklerin dinlenme süresi tava ekmeklerine göre daha kısadır. Lavaş gibi ince ekmeklerin üretiminde hamurun yassılaştırılması ve açılması yapıdaki gazların uzaklaşması açısından da önemli bir aşamadır (Coşkun ve Karababa, 2021). Geleneksel üretimde, fermantasyon sonunda hamurdan küçük parçalar (beze) kopararak (yaklaşık 380 g) yuvarlanır ve un serpilmiş tezgâh ya da bezlerin üzerine dizilerek hamurun toparlanması için bekletilir. Yaklaşık 30-35 dakika süren bu ara fermantasyonda hamurun içinde bir miktar gaz birikmesi de gerçekleşir. Bu aşamada hamurun kurumaması için üzerleri bir bez ile örtülür. Gelveri Ekmeği elle açılarak şekil verilen bir ekmeğin türüdür. Bu nedenle ara fermantasyon sonunda bezeler parmak uçları ile açılarak şekil verilir. Hamurlar, daha önce yüzeyi unlanmış, ahşap taşıma düzeneklerinin üzerine dizilir. Pişinceye kadar devam eden ve son fermantasyon denilen bu aşamada hamurun ortasına elle bastırılarak 1-2 cm çapında küçük bir açıklık oluşturulur. Böylece pişirme sırasında oluşan gazın dışarı çıkması sağlanarak homojen olarak kabaran bir ekmeğin elde edilir.

Pişirme: Hamur işleme sonrası pişirme işlemi sıcaklık, süre ve fırın nemi itibarıyla ekmeğin kalitesini etkileyen önemli bir aşamadır. Pişirme işleminin başlangıcında, sıcaklıkla maya faaliyeti artış göstermekle birlikte bir süre sonra maya gelişimi durmakta, enzimler inaktif hale gelmektedir. Nişastanın çirşlendiği, proteinlerin koagüle olduğu ve hamurdaki kolloidal sistemin stabil hale geldiği pişirmenin ilerleyen aşamalarında karamelizasyon ve maillard reaksiyonu sonucu ekmekte kabuk oluşumu ve aroma bileşiklerinin meydana gelmektedir. Pişirme işleminin ilk dakikalarında sıcaklık etkisi ile hamur içindeki gazların genişmesi sonucu hamur hacminde üçte bir oranında artış oluşur. Hacim artışı olan hamurdaki gazların genişmesi sonucu

komşu hücreler arasındaki hücre duvarı inceler. Gluten kalitesi zayıf olan hamurdaki hücre duvarları bu basınca dayanamaz ve hücreler birleşerek ekmek içinde büyük gözenek oluştururlar. Kuvvetli glutene sahip, iyi olgunlaşmış hamurdan yapılan ekmeklerin gözenek boyutları küçüktür. Pişirme sırasında sıcaklık 50 °C'yi geçince nişasta suyu absorbe ederek şişer ve su glutenden nişasta fazına geçer. Sıcaklık artışına bağlı olarak geçen süre içinde β -amilaz ve α -amilaz jelatinize nişastayı parçalayarak inaktive olur. Ekmeğin rengi ve kendine has nötr karakterde, duyuları yormayan aroması pişirme sırasında oluşur (Özer vd., 2020; Köksel, 2021; Özkaya, 2021).

Pişirme sırasında fırın sıcaklığı da önemli bir kriterdir. Yassı ekmek üretiminde pişirme işlemi için yüksek sıcaklıklara ve özel fırınlara ihtiyaç duyulmaktadır. Fırındaki yüksek sıcaklık pişme süresini kısaltarak nem içeriği yüksek ve yumuşak tekstürde bir ekmek üretimini mümkün kılar. Fırın sıcaklığı yeterli değilse ekmeğin rengi açık, kalın kabuklu, gözenek duvarları kalın ve iç kısmı pürüzlü ekmekler elde edilir. Pişirme sıcaklık ve süresi ekmek büyüklüğüne göre değişmekle birlikte tava ekmeğinde genellikle 220-245 °C'de 18-25 dakikadır. Yassı ekmeklerde pişirme sıcaklık ve süresi, ekmek türüne göre değişmekler beraber 350-550 °C'de saniyeler veya 4-5 dakika gibi çok kısa süreler şeklindedir. Fırın sıcaklığı yüksek ve kısa süreli uygulamalarda düşük hacimli, koyu renkli, yassı gözenekli ekmekler elde edilir. Uzun pişirme süresi ve düşük sıcaklık yassı ekmeğin içinin sert ve kuru olmasına neden olmaktadır. Fırın nem oranı da ekmeğin hacmi ve kabuk özelliklerinde etkilidir. Eğer fırın buharı yetersiz ise, kalın kabuklu ve düzgün kabuk oluşturmeyen hatta kabuğu kalkan ekmekler elde edilir. Fırın buharı yüksek olduğu durumlarda da ekmek hacmi artar ama yüzeyde derimsi ve dayanıklı bir kabuk oluşur (Özer vd., 2020; Coşkun ve Karababa, 2021; Özkaya, 2021; Köksel, 2021).

Kapadokya Bölgesi'ne özgü kayalardan yapılmış taş fırınlar 300-400 °C'ye dayanıklı olması nedeniyle asırlardır yöre halkına hizmet etmektedir. Tarihi Rum evlerinin bahçelerinde bulunan bu taş fırınlar mübadele sonrası buraya

yerleşen Türk halkı tarafından ortaklaşa kullanılmaktadır. Gelveri Ekmeği gibi yassı ekmekler daha yüksek fırın sıcaklıklarında ve özel fırınlarda pişirilmektedir. Ekmek hamuru fermente olurken yakılan taş fırının içi ıslak bez ile silinir ve siyah fırın taşı beyaz renk alana kadar fırının ısınması sağlanır. Fırın taşı beyaz renk aldığıda fırın sıcaklığının yaklaşık 300 °C dereceye yaklaştığı ve pişirmeye hazır olduğu anlaşılmaktadır. Pişirme işlemi sırasında fırın sıcaklığı yaklaşık 350°C'ye ulaşmaktadır. Ekmek hamuru bu taş fırınlara ahşap küreklerle sürülmekte ve pişen ekmekler yine temiz bir bez üzerinde dinlendirilerek soğuması sağlanmaktadır (Koçan ve Yapıcı 2012).

Ekmeğe bayatlama mekanizması oldukça karmaşık olup hâlâ tam manasıyla çözülememiştir. Bayatlamada etkili olan faktörlerin başında nişasta retrogradasyonu, nişasta-gluten çapraz bağlarının oluşumu ve ekmek içinden kabuğuna nem göçünün geldiği belirtilmiştir. Bayatlama ile ekmek duyusal kalite kriterlerini kaybetmektedir. Ekşi hamur mayası ile yapılan ekmekler uzun süre bayatlamadan tazeliğini korumaktadır. Ekşi hamur nişasta retrogradasyon hızını azaltarak bayatlamayı geciktirir (Gerçekaslan ve Kotancılar, 2007; Coşkun ve Karababa, 2021). Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu antifungal dipeptitler ile asetik asit, propiyonik asit, formik asit ve bütirik asit nedeniyle ekşi hamur ile üretilen ekmeklerde küf gelişimi nispeten önlenmektedir (Sağdıç vd. 2021). Ayrıca ekşi hamurla gerçekleşen laktik asit fermentasyonu rope (sünme) yapan *Bacillus subtilis* bakterisini de kontrol altına alabilmekte ve gıdanın biyolojik yararlılığını geliştirebilmektedir (Karaoğlu, 2007).

Ekmeğin bayatlamasını geciktirmek ve raf ömrünü artırmak için dondurarak depolama uygun bir yöntemdir. Özellikle 4 haftadan uzun süre ekmeğin depolanmasında mikroorganizma gelişimini ve bozulmayı önlemek için dondurma işlemi tercih edilmektedir (Coşkun ve Karababa, 2021). Ekşi hamurda EPS üreten suşların varlığı depolama sırasında ekmeğin daha yüksek hacim ve nem içeriğinde olmasını sağlarken mekanik özelliklerinin de daha iyi olmasını sağlamaktadır (Muninathan, 2021). Güzel yurt halkı büyük

ölçekte ürettikleri ekmekleri daha uzun süre muhafaza edebilmek amacıyla derin dondurucuda saklamaktadır. Soğuyan ekmekler derin dondurucuda bayatlamadan 2-3 ay depolanabilmektedir. İhtiyaç duyulduğu zaman ekmekler derin dondurucudan çıkarılarak ısıtılmakta ve ilk günkü tazeliğinde ekmek elde edilmektedir (Koçan ve Yapıcı, 2012).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın bu makale ile ilgili olarak çıkar çatışması yoktur.

TEŞEKKÜR

Gelveri Ekmeği Üretimine gözlemci olarak katılmama izin veren bütün Güzelyurt halkına teşekkür ediyorum.

KAYNAKLAR

- Acar, O., Çetiner B., Akyıldız, E.A. (2021). “*Besinsel Lifler*”. (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel). Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 117-133s.
- Alçay, A.Ü., Ahmetoğlu, F. (2020). “*Glutenle İlişkili Rabatsızlıklar ve Glutensiz Ekmek Üretimi*” Aydın Gastronomy, 4(2), 135-148s.
- Anonymous (2012) Türk Gıda Kodeksi “*Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği*” (2012/2). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 4 Ocak 2012 tarih ve 28163 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Arsoy, E.S., Gül, L.B., Çon, A.H. (2022). “*Characterization and Selection of Potential Antifungal Lactic Acid Bacteria Isolated From Turkish Spontaneous Sourdough*”. Current Microbiology, 79:148s. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02839-z>
- Ataman, N. (2014). “*Ekşi Maya Florasına Ait Önemli Mikroorganizma Gruplarının Araştırılması ve Bu Flora Elemanları Arasında Biyokimyasal Davranış Farklılıklarının Saptanması*”. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana. 93s.
- Ateş, H. (2012) “*Gül ve Gönül Medeniyeti*”. Uluslararası Somuncu Baba & Hulûsi Efendi Sempozyumu. Bildiri Özetleri. İstanbul, Bursa, Malatya, Darende. 104s.
- Ayçin, F., Salman, Ş., Yeğen, A., Kurtaran, A., Karaköy, G. Ok, Ö. (2010). “*T.C. Aksaray Valiliği*

İl Kültür ve Turizm Müdürlüğü Kültür Envanteri”- Güzelyurt, 383s.

Aydın, F., Özer, G., Alkan, M., Çakır, İ. (2022). “*Start Codon Targeted (SCoT) markers for the assessment of genetic diversity in yeast isolated from Turkish sourdough*”. Food Microbiology, 107 (104081). 11p.

Bakırcı, F., Köse, E. (2017). “*Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Tanımlanması*”. Akademik Gıda 15(2), 149-154s.

Bartkiene, E., Özogul, F., Rocha, J.M. (2022). “*Bread sourdough lactic acid bacteria—Technological, antimicrobial, toxin-degrading, immune system- and faecal microbiota-modelling biological agents for the preparation of food, nutraceuticals and feed*”. Foods 2020, 11, 452s.

Başman, A., Özbaş, Ö.Ö. (2021) “*Glutensiz Ürünler*” (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel). Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 587-604s.

Bengisu, E. (2020). “*Geçmişten Günümüze İnanç Kavramının Dini Yapılar Üzerinden İrdelenmesi: Göbeklitepe Örneği*”. Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul. 186s.

Binan, D.U. (1994). “*Güzelyurt Örneğinde, Kapadokya Bölgesi Yığma Taş Konut Mimarisinin Korunması İçin Bir Yöntem Araştırması*”. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul. 360s.

Coşkun, Y., Karababa, E. (2021). “*Yassı Ekmekler*”. (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel). Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 355-370s.

Coşkun, Y., Karababa, E., Ercan, R. (1999). “*Düz Ekmeklerin Üretim Teknolojisi*”. Gıda, 24 (2) 89-97.

Çakır, E., Arıcı, M., Durak, M.Z., Karasu, S. (2020). “*The Molecular and Technological Characterization of Lactic acid Bacteria in Einkorn Sourdough: effect on bread quality*”. J Food Meas Charact, 14: 1646–1655. doi: 10.1007/s11694-020-00412-5

Dengiz, B. (2021). “*Pichia kudriavzevii Maya Suşlarından Beta-Glukanın Ekstrakte Edilerek Prebiyotik Etkilerinin ve Gastrointestinal Sistemde Dayanıklılığının Belirlenmesi*” Gazi Üniversitesi, Fen

- Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara. 119s.
- Elgün, A., Ertugay Z. (2002). “*Tabul İşleme Teknolojisi*” Atatürk Üniv Zir. Fak, Yayın No: 97, (4Baskı), Erzurum. 411s.
- Elmacıoğlu, F., Emiroğlu E. (2021). “*Tabulların Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi*”. (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel). Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 155-171s.
- Erbaş, G. (2022). “*Aksaray ili Güzeyurt (Gelveri) İlçesi Aşağı Mahalle’de Bulunan Kemal Batmaz Evi’nin Restorasyon Önerisi*” Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mimarlık ABD. Yüksek Lisans Tezi. Ankara. 255s.
- Gerçekaslan, K.E., Kotancılar, H.G., Karaoğlu, M.M. (2007). “*Ekmek Bayatlaması ve Bayatlama Derecesini Ölçmede Kullanılan Yöntemler*” Gıda, 32(6), 305-315s.
- Halkman, A.K. (2019). “*Gıda Mikrobiyolojisi*” Başak Matbacılık. Ankara. 648s.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M. E. (2014). “*The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic*”. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol., 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Hublin, J.J., Ben-Ncer, A., Bailey, S.E., Freidline, S.E., Neubauer, S., Skinner, M.M., Bergmann I., Le Cabec, A., Benazzi S., Harvati, K., Gunz, P. (2017). “*New fossils from Jebel Irhoud, Morocco and the pan-African origin of Homo sapiens*” Nature, 546, 289-292p.
- İşlek, M. (2009). “*Mücadele Sonrası Kapadokya Bölgesine Yerleşen Mübadillerin Göç Uyarlanmaları: Güzeyurt Örneği*”. Hacettepe Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Antropoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara. 79s.
- Kara, A., Coşkun, T. (2014). “*Teoriden Kliniğe Prebiyotikler ve Probiyotikler*” Akademi Uluslararası Yayıncılık. İstanbul. 432s.
- Karagöz, A. (2019). “*Yerel Buğdayların Dünyü Bugünü Geleceği*”. TÜRKTOB Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi, 8(31): 4-15s.
- Karagöz, A. (2021). “*Buğdayın Kökeni ve Yerel Buğdaylar*”. (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel). Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 51-70s.
- Karaoğlu, M.M., (2007). “*Organik Ekmek*”. GIDA, 32(4), 195-203s.
- Koçan, D., Yapıcı, Y. (2012). “*Güzeyurt’un Geleneksel Gelveri Ekmek*”. 3. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, Konya. 375s.
- Köksel, H., Çetiner, B., Şanal, T. (2016). “*Hububat Ürünleri Konusunda Yanıltıcı İddialar Ve Bilimsel Değerlendirmeler*” TUSAF Dergisi Sayı 1, 50-66s.
- Köksel, H., Shewry, P.R. (2021). “*Hububat Proteinleri*”. (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel). Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 71-92s.
- Köksel, H., Şanlıer, N. (2021). “*Geleneksel Ekmeklerimiz*”. T.C. Ankara Büyükşehir Belediyesi Ankara Halk Ekmek ve Un Fabrikası A.Ş. Ankara. 200s.
- Küçük, S.C., Yıbar A. (2021). “*Popüler Diyet Akımlarının Vücut Ağırlığı ve Sağlık Üzerine Etkileri*” Akademik Gıda, 19(1), 98-107s.
- Menteş, Ö., Sungur, B., Ercan, R. (2008). “*Eksi Hamurun Ekmek Özellikleri Üzerine Etkileri*”. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Meral, H., Karaoğlu, M.M. (2019). “*Ekmekğin Besinsel Özelliklerinin İyileştirilmesi*” Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. , 50(2), 217-225s.
- Muninathan, C.; Guruchandran, S.; Viswanath Kalyan, A.J.; Ganesan, N.D. (2021). “*Microbial exopolysaccharides: Role in functional food engineering and gut-health management*”. Int. J. Food Sci. Technol., 57, 27–34s.
- Özberk, F., Karagöz, A., Özberk, İ., Atlı, A. (2016). “*Buğday Genetik Kaynaklarından Yerel ve Kültür Çeşitlerine; Türkiye’de Buğday ve Ekmek*”. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 25 (2): 218-233.
- Özer, M.S., Yazıcı, G.N., Köksel, H. (2020). “*Ekmek Üretimi*” (Edit. Erkmen, O., Erten, H.,

- Sağlam, H. Nobel Akademik Yayıncılık. Ankara. 347-368s.
- Özkaya, B. (2021). “*Ekmek Üretim Teknolojisi*”. (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel)”. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 291-314s.
- Sağdıç, O., Arıcı M., Özülkü, G., Yıldırım, RM. (2021). “*Ekeşi Hamur ile Ekmek Üretim Teknolojisi*”. (Edit. Prof. Dr. Hamit Köksel)”. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. 335-353s.
- Sakandar, H.A., Hussain, R., Kubow, S., Sadiq, F.A., Huang, W. (2019). “*Sourdough bread: A contemporary cereal fermented product*” J Food Process Preserv. 43(3), 1-15s. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13883>
- Sevgili, A., Erkmén, O., Kocaslan, S. (2021). “*Identification of lactic acid bacteria and yeasts from traditional sourdoughs and sourdough production by enrichment*” Czech Journal of Food Sciences. 39, 312-318s.
- Solak, B. (2020). “*Yöresel Ekeşi Hamurlardan Saccharomyces cerevisiae Suşlarının İzolasyonu, Tanımlanması ve Multifonksiyonel Özelliklerinin Belirlenerek Endüstriyel Önem Sahip Suşların Saptanması*” Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD. Doktora Tezi, Ankara. 242s.
- Şahin, E. (2014). “*Sosyokültürel Yapı ve Değişim Bağlamında Mimari Mirasın Korunmasına Dair Bir Yöntem Araştırması: Kapadokya-Güzelyurt Örneği*”. Doktora tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 358s.
- T.C. Aksaray İl Kültür ve Turizm Müdürlüğü sitesi. <https://aksaray.ktb.gov.tr/TR-63622/cografya.html> (Erişim 19.11.2022)
- T.C. Aksaray ili Güzelyurt Kaymakamlığı resmi sitesi. <http://www.guzelyurt.gov.tr/ilcemiz> (Erişim 19.11.2022).
- T.C. Türk Patent ve Marka Kurumu. (2021) “*Resmi Coğrafi İşaret ve Geleneksel Ürün adı Bülteni*”. 114 (12), (01.12.2021) 34s.
- UNESCO, Türkiye Milli Komisyonu “*İnsanlığın Somut Olmayan Kültürel Mirası Temsili Listesi*” <https://www.unesco.org.tr/Home/Announcem entDetail/142> (21.11.2022)
- Vallejo-Cordoba, B., Castro-López, C., S.García, H., González-Córdova A.F., Hernández-Mendoza, A. (2020). “*Postbiotics and paraprobiotics: A review of current evidence and emerging trends*”. Chapter 1. Advances in Food and Nutrition Research. Vol.94, pp 1-34.
- Yükseltürk, H. (2017). “*Güzelyurt (Aksaray) ve Çevresinin Hidrojeolojik ve Hidrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi*”. Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Jeoloji Mühendisliği ABD. Yüksek Lisans Tezi, Aksaray. 104s.

BUCKWHEAT STARCH-MYRISTIC ACID COMPLEX FORMATION: EFFECT OF REACTION TEMPERATURE AND MYRISTIC ACID CONCENTRATION ON DIGESTIBILITY PROPERTIES

Betül Oskaybaş Emlek¹, Ayşe Özbey¹, Levent Yurdaer Aydemir², Kevser Kahraman^{3*}

¹Dept. of Food Eng., Niğde Ömer Halisdemir University, Niğde, Türkiye

²Dept. of Food Eng., Adana Alparslan Türkeş Science and Technology University, Adana, Türkiye

³Dept. of Nanotechnology Eng., Abdullah Gül University, Kayseri, Türkiye

Received / Geliş: 19.10.2022; Accepted / Kabul: 12.12.2022; Published online / Online baskı: 15.12.2022

Oskaybaş-Emlek, B., Özbey, A., Aydemir, L.Y., Kahraman, K. (2022). Buckwheat starch-myristic acid complex formation: Effect of reaction temperature and myristic acid concentration on digestibility properties. GIDA (2022) 47 (6) 1168-1179 doi: 10.15237/gida.GD22116

Oskaybaş-Emlek, B., Özbey, A., Aydemir, L.Y., Kahraman, K. (2022). Karabuğday nişastası-miristik asit kompleks oluşumu: Reaksiyon sıcaklığı ve miristik asit konsantrasyonunun sindirilebilirlik özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2022) 47 (6) 1168-1179 doi: 10.15237/gida.GD22116

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of different reaction conditions on the digestibility properties of buckwheat starch-myristic acid complex samples produced using different myristic acid concentrations and different reaction temperatures. Response Surface Methodology was used to investigate the effect of reaction temperature (60-90°C) and fatty acid concentrations (0.1-0.8 mmol/g) on digestibility properties. Resistant starch (RS) contents of samples increased with an increase in reaction temperature. The reaction temperature affected the rapidly digestible starch (RDS) and slowly digestible starch (SDS) content of samples. The highest RS content (32.57%) was obtained using 0.45 mmol/g myristic acid at 90°C. The F, p (<0.05), and R² values indicated that the selected models were significant for the digestibility properties of samples. The complex formation of buckwheat starch with myristic acid seems promising to increase the RS content. Buckwheat appears to have the potential as an RS source, although the studies are quite new yet.

Keywords: buckwheat starch, myristic acid, resistant starch, starch-lipid complex.

KARABUĞDAY NIŞASTASI-MİRİSTİK ASİT KOMPLEKS OLUŞUMU: REAKSİYON SICAKLIĞI VE MİRİSTİK ASİT KONSANTRASYONUNUN SİNDİRİLEBİLİRLİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışma, farklı miristik asit konsantrasyonları ve farklı reaksiyon sıcaklıkları kullanılarak üretilen karabuğday nişastası-miristik asit kompleksi örneklerinin sindirilebilirlik özellikleri üzerine farklı reaksiyon koşullarının etkisini araştırmayı amaçlamıştır. Reaksiyon sıcaklığının (60-90°C) ve yağ asidi konsantrasyonlarının (0.1-0.8 mmol/g) sindirilebilirlik özellikleri üzerindeki etkisini araştırmak için Yanıt Yüzey Metodolojisi kullanılmıştır. Örneklerin enzime dirençli nişasta (EDN) içerikleri reaksiyon sıcaklığındaki artışla artmıştır. Reaksiyon sıcaklığı, örneklerin hızlı ve yavaş sindirilebilir

* Corresponding Author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: kevser.kahraman@agu.edu.tr

☎: (+90) 352 224 8800

☎: (+90) 352 338 8828

Betül Oskaybaş Emlek; ORCID no: 0000-0002-0238-8948

Ayşe Özbey; ORCID no: 0000-0003-3210-4077

Levent Yurdaer Aydemir; ORCID no: 0000-0003-0372-1172

Kevser Kahraman; ORCID no: 0000-0002-2786-3944

nişasta içeriklerini etkilemiştir. En yüksek EDN içeriği (%32.57) 90°C'de 0.45 mmol/g miristik asit kullanılarak üretilen örnekte elde edilmiştir. F, p (<0.05) ve R² değerleri seçilen modellerin numunelerin sindirilebilirlik özellikleri için önemli olduğunu göstermiştir. Karabuğday nişastasının miristik asit ile kompleks oluşturması, EDN içeriğini artırma konusunda umut verici görünmektedir. Karabuğday, çalışmalar henüz oldukça yeni olmasına rağmen, EDN kaynağı olarak önemli bir potansiyele sahip görünmektedir.

Anahtar kelimeler: Karabuğday nişastası, miristik asit, dirençli nişasta, nişasta-lipit kompleksi

INTRODUCTION

Starch can be considered one of the significant components of cereal-based foods (Sun et al., 2019) and is used as one of the important energy-providing components. Starch provides more than 50% of the human energy intake needs in western countries. Additionally, in developing countries, this ratio has increased to approximately 90% (Sun et al., 2019). Therefore, the digestibility properties of starch have attracted attention to human nutrition.

Based on enzymatic digestibility, starch can be classified into three major groups; rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS), and resistant starch (RS). RDS is digested in the small intestine in 20 minutes and has a high glycemic blood glucose level. SDS is digested between 20 min and 120 min and has a lower glycemic response than that of RDS. On the other hand, RS is not digested in the small intestine; instead, it is fermented in the large intestine by microbes to generate short-chain fatty acids (Asare et al., 2021; Englyst et al., 1992; Liu et al., 2019; Okumus et al., 2018). Therefore, the digestibility properties of starch have a direct effect on human health. Many health advantages of RS have been recorded, including a decrease in plasma cholesterol and lipids and an increase in mineral absorption (Chung et al., 2009; Kahraman et al., 2019). In addition, it helps reduce the post-meal glycemic response and prevent colon cancer (Asare et al., 2021). Due to its limited digestion and comparable physiological features, RS is regarded as a component of dietary fiber (Nugent, 2005; Sharma et al., 2008).

The five types of RS in foods are categorized as; RS1-physically entrapped in the cellular matrix (such as whole ground grain, legumes); RS2-some type of native starch granules (such as green banana, potato); RS3-retrograded starch (e.g.

cooked potato, pasta); RS4-chemically modified starches (such as starch esters, cross-linked starches); RS5-amylose-lipid complexes (Hasjim et al., 2010; Kahraman et al., 2019; Kahraman et al., 2015; Okumus et al., 2018).

Due to the previously described health advantages of RS, the production of amylose-lipid complexes has recently attracted the attention of researchers worldwide. Amylose-lipid complex formation can be present naturally in native starch or can be formed by the interaction between amylose and lipid during food storage or processing (Wang et al., 2017). The hydrocarbon chain of lipids (small non-polar molecules, hydrophobic domains of amphiphilic molecules such as fatty acids, monoglycerides, and surfactants) interacts with the helical cavity of amylose with hydrophobic interactions to form an amylose-lipid complex (Hasjim et al., 2013; Okumus et al., 2018; Tang and Copeland, 2007). In addition to this, amylopectin can partially participate in amylose-lipid complex formation due to having branched structure (Hasjim et al., 2013). It is well known, that amylose can form V-amylose inclusion complexes with lipids, and thusly, these complexes can hinder starch swelling and enzymatic digestion (Chung et al., 2009; Sun et al., 2019). According to the literature, there are several reaction parameters (reaction pH; reaction time and temperature; chain length of amylose and fatty acid; type, saturation degree and content of fatty acid; starch source) affecting the amylose-lipid complex formation, hence, these reaction conditions affect the digestibility profile (Asare et al., 2021; Chao et al., 2020; Chen et al., 2017; Hasjim et al., 2013; Kawai et al., 2012; Li et al., 2019; Marinopoulou et al., 2016; Raza et al., 2021; Seo et al., 2015; Sun et al., 2021; Yassaroh et al., 2021).

Only the effects of high hydrostatic pressure, γ -irradiation, heat-moisture treatment and annealing on physicochemical, digestibility, and functional qualities of buckwheat starch have been studied in the literature (Dar et al., 2018; Goel et al., 2020; Liu et al., 2015; Liu et al., 2016; Xiao et al., 2017). However, to the best of our knowledge, there is no information in the literature on the effect of buckwheat starch-myristic acid complex formation on the digestibility properties of buckwheat starch.

In this study, starch-lipid complexes were produced from buckwheat starch and myristic acid at varying reaction temperatures and fatty acid concentrations using response surface methodology (RSM). The objective of this study was to understand how reaction temperature and myristic acid concentration influence the digestibility properties of buckwheat starch-myristic acid complexes.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Buckwheat flour was purchased from Ingro Food Informatics Marketing (Karaman, Türkiye). Prior to starch production, the flour sample was passed through a 212 μ m sieve. Myristic acid (C14:0), pancreatin (P7545) and pepsin (P7000) were supplied from Sigma Aldrich Chemical Co., Ltd. (St. Louis, Mo., USA). Amyloglucosidase (3300 U/mL) and glucose oxidase-peroxidase (GOPOD) reagent were obtained from Megazyme International (Ireland). Sodium acetate was purchased from Merck Millipore Corporation (Germany). All other chemicals used in this study were of analytical grade.

Buckwheat starch isolation and characterization

The buckwheat starch was isolated according to the method defined by Gao et al. (2016) with some modifications, as described in our previous study (Emlek et al., 2022). Moisture, ash, total lipid, protein (N: 6.25) and starch contents of buckwheat starch were determined according to the AACCI Methods 44-15A, 08-01, 30-25.01, 46-11A and 76-13.01, respectively (AACCI, 2000).

Starch-fatty acid complex formation

Response surface methodology (RSM) was used to investigate the effect of reaction conditions on the digestibility properties of buckwheat starch-myristic acid complexes. The reaction temperature and myristic acid concentration were chosen as two independent variables. The RDS, SDS, and RS content of the starch-myristic acid complexes were selected as the dependent variable. The reaction temperature values and myristic acid concentration values were determined using complex index results of our preliminary study, as described by our previous study. According to our previous study, it was decided that the reaction temperature should have been around the starch gelatinization temperature in order to complex the formation between buckwheat starch and fatty acid (Emlek et al., 2022). In the preliminary study, fatty acid concentration values were used as 0.5 and 2 mmol/L/g. However, the effect of the difference in these values on the complex index value was not significant. Therefore, it was decided that the fatty acid values should start from lower than 0.5 mmol/L/g (Emlek et al., 2022). The reaction temperature values were 60, 67.5, 75, 82.5, and 90°C and myristic acid concentrations were 0.1, 0.275, 0.45, 0.625, and 0.8 mmol/L/g. Fifteen reaction temperature and myristic acid concentration combinations were created with three points in the center (Table 1).

The starch-myristic acid complexes were prepared according to the method of Reddy et al. (2018) with some modifications (Emlek et al., 2022). For this purpose, buckwheat starch (10 g) and myristic acid were dispersed in 200 ml of the reaction solution. Chemlab buffer solution (pH 5, Zedelgem, Belgium) was used as the reaction solution. The reactions were carried out for 0.5 h by using a magnetic stirrer (400 rpm), which was equipped with a temperature controller (Heidolph Mei Tec Heater, Germany). After the reaction, the starch-myristic acid complexes were cooled to 25°C and centrifuged at 9000 $\times$ g for 10 min. The supernatant was discarded, while the precipitates were collected and washed with diethyl ether (450 mL) to remove free fatty acid in the precipitates. The samples were kept under a fume hood for 1 h to remove diethyl ether. Then, the complex

Digestibility properties of buckwheat starch-myristic acid complexes

samples were freeze-dried, ground with a laboratory mill to pass a 212 μm sieve and stored at +4°C until further analysis.

Table 1. Rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS) and Resistant starch (RS) contents of buckwheat starch-myristic acid complexes

Run	Myristic acid concentration (mmol/L/g)	Reaction Temperature (°C)	RDS (%)	SDS (%)	RS (%)
	Native buckwheat starch		54.03 ^a	26.97 ^{fg}	19.01 ^g
1	0.1	60	42.17 ^{cdef}	35.43 ^{bc}	22.40 ^f
2	0.45	60	39.41 ^{fg}	38.54 ^{ab}	22.05 ^f
3	0.8	60	42.49 ^{bcd}	31.94 ^{de}	25.57 ^{de}
4	0.275	67.5	38.67 ^{gh}	37.99 ^{ab}	23.34 ^{ef}
5	0.625	67.5	36.49 ^h	39.24 ^a	24.26 ^{ef}
6	0.1	75	40.39 ^{defg}	33.85 ^{cd}	25.76 ^{de}
7	0.45	75	43.04 ^{bcd}	32.73 ^{cde}	24.23 ^{ef}
8	0.45	75	43.30 ^{bcd}	33.21 ^{cd}	23.50 ^{ef}
9	0.45	75	42.87 ^{bcd}	33.05 ^{cde}	24.08 ^{ef}
10	0.8	75	44.31 ^{bc}	31.41 ^{de}	24.28 ^{ef}
11	0.275	82.5	45.19 ^b	26.11 ^g	28.70 ^{bc}
12	0.625	82.5	42.44 ^{bcd}	25.96 ^g	31.60 ^a
13	0.1	90	41.56 ^{cdefg}	31.27 ^{de}	27.17 ^{cd}
14	0.45	90	40.17 ^{efg}	27.25 ^{fg}	32.57 ^a
15	0.8	90	39.47 ^{fg}	29.71 ^{ef}	30.82 ^{ab}

* Means with different letters within each column are significantly different ($p < 0.05$)

RDS, rapidly digestible starch; SDS, slowly digestible starch; RS, resistant starch

Starch digestion

The rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS) content of starch-fatty acid complexes were determined based on the method of Englyst et al. (1992) and according to the procedure described by Kahraman et al. (2019) with slight modification. Briefly, starch samples (100 mg) were mixed with 2 mL of distilled water in 50 mL polypropylene centrifuge tubes. The suspensions were cooked in a boiling water bath for 20 min with vortexing every four minutes. Then, 2 mL of pepsin/0.05 M hydrochloric acid solution (5 mg/mL) was added and the tubes were incubated in a shaking water bath at 37°C for 30 min. Thereafter, sodium acetate buffer (4 mL, 0.5 M, pH 5.2) was added to tubes. Starch digestion was initiated by adding one milliliter of freshly prepared enzyme solution (0.104 g of pancreatin and 14.26 U amyloglucosidase) in a shaking water bath at 37°C. The aliquots (100 μL) of the

hydrolysate were taken at different times (20 and 120 min) and mixed with 1 mL of ethanol to stop further digestion. Afterward, these solutions were centrifuged (800 $\times$ g, 10 min), and hydrolyzed glucose content of the supernatant was measured with glucose oxidase-peroxidase (GOPD) reagent by spectrophotometer at 510 nm. The hydrolyzed glucose content at 20 and 120 min was labelled as G20 and G120, respectively. RDS, SDS, and RS content of the sample were calculated using formulas as follows:

$$RDS = G20 \times 0.9 \quad (1)$$

$$SDS = (G120 - G20) \times 0.9 \quad (2)$$

$$RS = TS - RDS - SDS \quad (3)$$

where the TS means the total starch content of samples.

Statistical analysis

All of the results are reported as means of at least duplicate analyses. Data were analyzed by the IBM SPSS Statistics Trial Version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) with a one-way analysis of variance (ANOVA). When significant ($P < 0.05$) differences were found, Duncan's test was used to determine the differences among means.

The response value was fitted by regression models using Design Expert Trial Version 11.0.4.0 (Stat-Ease, Minneapolis, MN, USA) to evaluate the relationship between RDS, SDS and RS (dependent variables) and reaction temperature and fatty acid concentration (independent variables). Based on two variables (reaction temperature and myristic acid concentration), the user-defined method ($\alpha = 1$) was applied to the matrix design of the experiments. Three-dimensional response surface plots and regression equations were also developed.

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of buckwheat starch

The total ash, protein, lipid and starch content of buckwheat starch were 0.09%, 0.34%, 0.47% and 92.80%, respectively. A similar result was observed by Liu et al. (2015).

In vitro digestibility of buckwheat starch-myristic acid complexes

The RDS, SDS and RS contents of native buckwheat starch and buckwheat starch-myristic acid complexes produced using various myristic acid concentrations and reaction temperatures are displayed in Table 1. The RDS, SDS and RS content of native buckwheat starch were 54.03, 26.97, and 19.01%, respectively. Our results were in agreement with those of Du et al. (2022), who determined differences in the digestibility of buckwheat starch from different cultivars. They reported that RDS, SDS and RS content of common buckwheat starches ranged from 43.64 to 62.62%; 26.22 to 37.09% and 9.54 to 22.75%, respectively. Furthermore, those values were observed between 49.3–75.02%, 20.18–37.38% and 4.80–20.15%, respectively, for starch isolated

from Tartary buckwheat cultivars (Du et al., 2022).

Table 1 shows that the RDS, SDS and RS content of buckwheat starch-myristic acid complexes varied from 36.49 to 45.19%, 25.96 to 39.24%, and 22.05 to 32.57%, respectively. The RDS content of all buckwheat starch-myristic acid complex samples was significantly lower compared to the native buckwheat starch, whereas the SDS+RS concentration was much higher. This indicated that buckwheat starch-myristic acid complexes might be more resistant to enzymatic digestion than native buckwheat starch. According to Sun et al. (2021), the RDS is partially converted to RS with complex formation, hence, complex samples become more resistant to digestion. Complex formation between starch and lipid resulted in a decrease in the swelling of granules during heating in excess water owing to the presence of an insoluble film on the granule surface. As a result, water transport into granules and enzyme accessibility to starch granules were inhibited (Ai et al., 2013; Hasjim et al., 2013; Okumus et al., 2018; Wang et al., 2016). Another reason for the increase in resistance to digestion may be the formation of organized structures which are resistant to starch hydrolysis during starch-lipid complex production (Wang et al., 2020). Our results were consistent with those previously reported by Ai et al. (2013), Sun et al. (2021) and Wang et al. (2016), who reported that the starch-lipid complex presented higher resistance to digestive enzymes than native starch.

In the case of buckwheat starch-myristic acid complexes produced at the same reaction temperature, the increase in myristic acid concentration generally caused an increase in RS content. The increase was significant for some samples ($P < 0.05$). For example, at 90°C reaction temperature, increasing the myristic acid concentration from 0.1 to 0.45 and 0.8 mmol/g significantly increased the RS content of the samples ($P < 0.05$). This was related to an increase in amylose-lipid complexation with an increase in fatty acid concentration, in line with complex index (CI) results, as stated by our previous study (Emlek et al., 2022). The CI% value of buckwheat

starch-myristic acid complexes produced using 0.1, 0.45, and 0.8 mmol/g at 90°C were 86.1%, 95.0%, and 94.6%, respectively. CI value is an indication of starch-lipid complex formation. Similar results were observed by Li et al. (2019). According to their findings, the CI and RS values of starch-palmitic acid complexes increased as the fatty acid concentration increased from 0 to 2%, and this was attributed to rising in amylose-lipid complex formation (Li et al., 2019). On the other hand, there is no correlation between CI and RS content for all samples. For instance, when the reaction temperature was 60°C, the difference between the RS content of the sample produced using 0.1 mmol/g myristic acid (22.40%) and 0.45 mmol/g myristic acid (22.05%) was not significant ($P > 0.05$). On the other hand, at 60°C, the increase in myristic acid concentration from 0.1 to 0.45 mmol/g slightly led to a decrease in the RDS content of the sample from 42.17% to 39.41% and an increase in SDS content from 35.43% to 38.54%. The results partially agree with the CI value of samples as reported in our previous study (Emlek et al., 2022). The complex index value of the samples produced at 60°C in the presence of 0.45 mmol/g myristic acid concentration was significantly higher than that of the one produced in the presence of 0.1 mmol/g (Emlek et al., 2022). It seems that starch-lipid complex formation was one of the factors affecting the starch digestibility properties among many others. Similarly, Sun et al. (2022) showed that the RS content of high amylose maize starch-fatty acid complexes was not directly dependent on the complex index value and relative crystallinity of the samples. According to the previous findings, many factors such as amylose-amylopectin ratio, starch crystallinity, molecular structure and chain length of amylopectin, amylose-lipid complex formation, particle size, protein content, fatty acid structure, and fatty acid binding degree can affect starch digestibility properties (Chen et al., 2017; Farooq et al., 2018; Kim et al., 2017; Okumus et al., 2018; Oyeyinka et al., 2017; Sun et al., 2021; Sun et al., 2022).

At the same fatty acid concentration, the increase in the reaction temperature generally resulted in a significant ($P < 0.05$) increase in the RS content

(Table 1). For example, at the same reaction temperature (67.5°C) the buckwheat starch-myristic acid complexes obtained using 0.275 and 0.625 mmol/g myristic acid had 23.34% and 24.26% of RS content, respectively. And the increase in reaction temperature to 82.5°C led to a significant ($P < 0.05$) increase in RS content to 28.70% and 31.60%, respectively. Similar results were also found by Wang et al. (2020) with starch-lauric acid complexes produced at different reaction temperatures. According to them, the increase in temperature increased the amount of leached amylose, and thus more amylose-lipid complexes occurred. As indicated in our previous research, increasing the complexation temperature may enhance the mobility of starch chains, which can increase the interaction between starch and fatty acid and lead to the formation of more amylose-lipid complexes (Emlek et al., 2022). In addition to these, Hasjim et al. (2010) and Wang et al. (2020) reported that amylose-lipid complexes were more resistant to enzymatic digestion than only amylose. In the case of the buckwheat starch-myristic acid complexes produced using 0.45 mmol/g myristic acid, increasing the reaction temperature from 60°C and 75°C to 90°C increased the RS content of the samples. On the other hand, the difference in CI value among these samples was not significant, as stated in the previous study (Emlek et al., 2022). Similarly, Sun et al. (2021) observed that the RS content of maize complexes with various fatty acids was not related to their CI value and crystallinity degree. Our findings indicate that there were many factors influencing starch digestibility properties.

The effect of myristic acid concentration and reaction temperature on the digestibility properties of buckwheat starch-myristic acid complexes

To describe the relationship between the independent variables (myristic acid concentration and temperature) and dependent variables (digestibility properties; RDS, SDS, and RS contents), the response values were fitted to third-order polynomial (cubic) regression models. ANOVA analyses results for the models are presented in Table 2.

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) for the RSM design

Source of variance	Degrees of freedom	RDS (%)		SDS (%)		RS (%)	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
A (myristic acid concentration)	1	4.59	0.0988	1.90	0.2399	1.25	0.3256
B (Temperature)	1	34.68	0.0042*	377.34	<0.0001*	18.61	0.0125*
AB	1	1.29	0.3191	1.51	0.2862	0.1287	0.7379
A ²	1	3.32	0.1424	0.8872	0.3996	1.13	0.3481
B ²	1	3.28	0.1445	0.0745	0.7984	2.64	0.1793
A ² B	1	1.87	0.2431	56.42	0.0017*	5.86	0.0728
AB ²	1	6.49	0.0635	0.0060	0.9421	4.59	0.0987
A ³	1	9.50	0.0369*	6.31	0.0659	1.85	0.2453
B ³	1	24.80	0.0076*	125.81	0.0004*	1.40	0.3018
Model	9	6.10	0.0486*	69.69	0.0005*	9.17	0.0237*
Lack of fit	3	17.27	0.1746	40.23	0.1153	13.25	0.1986
R ²		0.9321		0.9937		0.9538	

*indicates the significant factors ($P < 0.05$)

RDS, rapidly digestible starch; SDS, slowly digestible starch; RS, resistant starch

In the case of the RDS, SDS and RS content of buckwheat starch-myristic acid complexes, the P values of the models were 0.0486, 0.0005 and 0.0237, respectively, indicating that the models were reliable. The coefficients of determination (R^2) of the models indicated that only 6.79%, 0.63%, and 4.62% of the total variation could not be explained by the models, respectively. The temperature (coded as B) had significant effects on the RDS, SDS and RS contents of the samples ($P = 0.0042$, $P < 0.0001$, and $P = 0.0125$, respectively). In addition, the cubic effect of temperature (coded as B³) had a significant effect on the RDS and SDS content of the samples ($P = 0.0076$ and $P = 0.0004$, respectively). On the other hand, the fatty acid concentration (coded as A) did not significantly affect the RDS, SDS, and RS contents of buckwheat starch-myristic acid complex samples ($P > 0.05$). However, the cubic effect of myristic acid concentration (coded as A³) had a significant effect on the RDS content of the samples ($P = 0.0369$). In addition to this, the interaction between the quadratic effect of fatty acid concentration (coded as A²) and only the linear effect of temperature (coded as B) had a significant effect on the SDS content of the samples ($P = 0.0017$).

The analysis of variance for the final reduced models obtained by eliminating the nonsignificant terms identified were presented in Table 3. For RDS, SDS, and RS, the developed empirical models obtained from Table 3 are given in Eqs. (4)–(6). The A and B are the coded values of independent variables (myristic acid concentration and temperature, respectively).

$$RDS (\%) = 42.15 + 8.47B - 8.95B^3 \quad (4)$$

$$SDS (\%) = 32.77 - 16.24B + 4.05A^2B + 10.60B^3 \quad (5)$$

$$RS = 25.08 + 3.84B \quad (6)$$

Eqs. (4)–(6) are plotted as 3D response surface plots and shown in Figure 1a, 1b, and 1c, respectively. The figures represent the effects of different fatty acid concentrations and temperatures on RDS, SDS, and RS contents of buckwheat starch-myristic acid complexes respectively. The effect of the interaction between reaction temperature and myristic acid concentration on the digestibility properties of buckwheat starch-myristic acid complexes can be inferred from the Figures. The blue and red regions in Figures 1a, 1b and 1c indicate the lowest and the highest values, respectively. As can be seen in Figure 1a, the increase in reaction temperature from 66 to 84°C caused an increase

in the RDS content of the samples. According to Figure 1b, at the same myristic acid concentration, the increase in temperature generally led to a decrease in the SDS content of samples. In Figure 1c, it can be seen that RS formation was enhanced as the reaction temperature increased at the same

concentration of myristic acid. On the other hand, the increase in the myristic acid concentration at the same temperature value did not cause a change in the SDS and RS contents of the samples (Figure 1b and 1c.).

Table 3. Analysis of variance (ANOVA) for the final reduced models

Source of variance	Degrees of freedom	RDS (%)		SDS (%)		RS (%)	
		F	P	F	P	F	P
A (myristic acid concentration)	1	-	-	-	-	-	-
B (Temperature)	1	14.87	0.0027*	119.63	<0.0001*	26.62	0.0002*
AB	1	-	-	-	-	-	-
A ²	1	-	-	-	-	-	-
B ²	1	-	-	-	-	-	-
A ² B	1	-	-	17.89	0.0017*	-	-
AB ²	1	-	-	-	-	-	-
A ³	1	-	-	-	-	-	-
B ³	1	14.37	0.0030*	39.88	<0.0001*	-	-
Model	9	7.49	0.0089*	63.37	<0.0001*	26.62	0.0002*
Lack of fit	3	32.84	0.1351	106.53	0.0751	24.81	0.1555
R ²		0.5765		0.9500		0.6893	

*indicates the significant factors (P < 0.05)

RDS, rapidly digestible starch; SDS, slowly digestible starch; RS, resistant starch

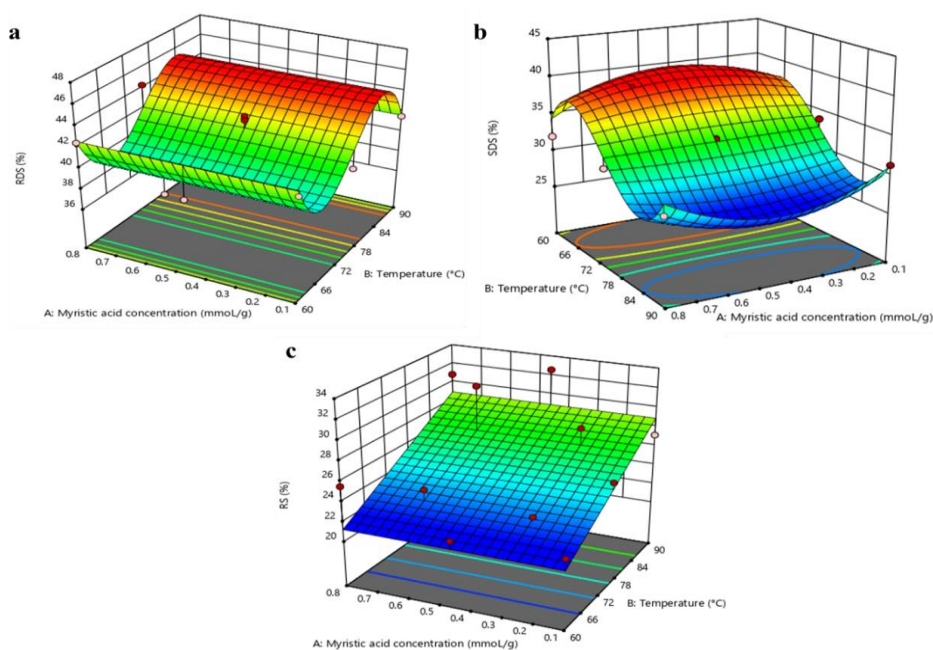


Figure 1. 3D response surface plots of a) RDS, b) SDS, and c) RS contents of buckwheat starch-myristic acid complexes. RDS, rapidly digestible starch; SDS, slowly digestible starch; RS, resistant starch.

CONCLUSIONS

This research revealed how the myristic acid concentration, as well as the reaction temperature, affect the buckwheat starch-myristic acid complex digestibility. Compared to native buckwheat starch, buckwheat starch-myristic acid complex formation resulted in an increase in RS content and a reduction in RDS content. Regarding the RS content of the buckwheat starch-myristic acid complexes, the reaction temperature was more effective than the myristic acid concentration. The RSM equations demonstrated that it may be possible to achieve high RS content using myristic acid concentration and temperature above 0.4 mmol/L/g and 82°C, respectively. RS results of buckwheat starch-myristic acid complexes indicated that buckwheat starch-myristic acid complexes can be a potential RS5 source and can be used as an RS alternative in food formulations to produce healthy foods. Further studies are needed to produce buckwheat starch-myristic acid complexes with high RS content.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Betül Oskaybaş Emlek: Conceptualization, Software, Validation, Formal analysis, Writing - Original Draft, Writing - Review & Editing, Visualization.

Ayşe Özbey, Conceptualization, Methodology, Validation, Writing - Review & Editing, Supervision, Visualization. Levent Yurdaer Aydemir, Conceptualization, Methodology, Validation, Writing - Review & Editing, Supervision, Visualization. Kevser Kahraman, Conceptualization, Methodology, Validation, Writing - Review & Editing, Supervision, Project administration, Visualization.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to acknowledge the financial support of the Turkish Scientific and Technological Research Council (TUBITAK) (Project Number: 119O031). This work was derived from the first author's doctoral dissertation. She also expresses gratitude to TUBITAK for their support under the 2211-A

PhD Scholarship Program for Domestic Priority Areas (2018-2020).

REFERENCES

- AACCI. (2000). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists International. AACCI International, St Paul.
- Ai, Y., Hasjim, J., Jane, J.-I. (2013). Effects of lipids on enzymatic hydrolysis and physical properties of starch. *Carbohydrate Polymers*, 92(1): 120-127, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.092>.
- Asare, I. K., Mapengo, C. R., Emmambux, M. N. (2021). In vitro starch digestion and physicochemical properties of maize starch and maize meal modified by heat-moisture treatment and stearic acid. *Starch-Stärke*, 73(3-4): 2000128, <https://doi.org/10.1002/star.202000128>.
- Chao, C., Huang, S., Yu, J., Copeland, L., Wang, S., Wang, S. (2020). Molecular mechanisms underlying the formation of starch-lipid complexes during simulated food processing: a dynamic structural analysis. *Carbohydrate Polymers*: 116464, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116464>.
- Chen, X., He, X., Fu, X., Zhang, B., Huang, Q. (2017). Complexation of rice starch/flour and maize oil through heat moisture treatment: Structural, in vitro digestion and physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98: 557-564, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.105>.
- Chung, H.-J., Liu, Q., Hoover, R. (2009). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, 75(3): 436-447, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.08.006>.
- Dar, M. Z., Deepika, K., Jan, K., Swer, T. L., Kumar, P., Verma, R., . . . Bashir, K. (2018). Modification of structure and physicochemical properties of buckwheat and oat starch by γ -irradiation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108: 1348-1356, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.067>.

- Du, J., Pan, R., Obadi, M., Li, H., Shao, F., Sun, J., . . . Xu, B. (2022). In vitro starch digestibility of buckwheat cultivars in comparison to wheat: The key role of starch molecular structure. *Food Chemistry*, 368: 130806, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130806>
- Emlek, B. O., Özbey, A., Aydemir, L. Y., Kahraman, K. (2022). Production of buckwheat starch-myristic acid complexes and effect of reaction conditions on the physicochemical properties, X-ray pattern and FT-IR spectra. *International Journal of Biological Macromolecules*, 207, 978-989. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.189>.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., Cummings, J. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46: S33-50.
- Farooq, A. M., Dhital, S., Li, C., Zhang, B., Huang, Q. (2018). Effects of palm oil on structural and in vitro digestion properties of cooked rice starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107: 1080-1085, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.089>.
- Gao, J., Kreft, I., Chao, G., Wang, Y., Liu, X., Wang, L., . . . Feng, B. (2016). Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) starch, a side product in functional food production, as a potential source of retrograded starch. *Food Chemistry*, 190: 552-558, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.122>.
- Goel, C., Semwal, A. D., Khan, A., Kumar, S., Sharma, G. K. (2020). Physical modification of starch: changes in glycemic index, starch fractions, physicochemical and functional properties of heat-moisture treated buckwheat starch. *Journal of Food Science and Technology*, 57(8): 2941-2948, <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04326-4>.
- Hasjim, J., Ai, Y., Jane, J. I. (2013). Novel applications of amylose-lipid complex as resistant starch type 5. *Resistant starch: Sources, applications and health benefits*: 79-94, <https://doi.org/10.1002/9781118528723.ch04>.
- Hasjim, J., Lee, S. O., Hendrich, S., Setiawan, S., Ai, Y., Jane, J. I. (2010). Characterization of a novel resistant-starch and its effects on postprandial plasma-glucose and insulin responses. *Cereal Chemistry*, 87(4): 257-262, <https://doi.org/10.1094/CCHEM-87-4-0257>.
- Kahraman, K., Aktas-Akyildiz, E., Ozturk, S., Koksel, H. (2019). Effect of different resistant starch sources and wheat bran on dietary fibre content and in vitro glycaemic index values of cookies. *Journal of Cereal Science*, 90: 102851, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102851>.
- Kahraman, K., Koksel, H., Ng, P. K. (2015). Optimisation of the reaction conditions for the production of cross-linked starch with high resistant starch content. *Food Chemistry*, 174: 173-179, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.032>.
- Kawai, K., Takato, S., Sasaki, T., Kajiwar, K. (2012). Complex formation, thermal properties, and in-vitro digestibility of gelatinized potato starch-fatty acid mixtures. *Food Hydrocolloids*, 27(1): 228-234, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.07.003>.
- Kim, H. I., Kim, H. R., Choi, S. J., Park, C.-S., Moon, T. W. (2017). Preparation and characterization of the inclusion complexes between amylosucrase-treated waxy starch and palmitic acid. *Food Science and Biotechnology*, 26(2): 323-329, <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0044-z>.
- Li, X., Gao, X., Lu, J., Mao, X., Wang, Y., Feng, D., . . . Gao, W. (2019). Complex formation, physicochemical properties of different concentration of palmitic acid yam (*Dioscorea pposita* Thunb.) starch preparation mixtures. *LWT-Food Science and Technology*, 101: 130-137, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.032>.
- Liu, H., Guo, X., Li, W., Wang, X., Peng, Q., Wang, M. (2015). Changes in physicochemical properties and in vitro digestibility of common buckwheat starch by heat-moisture treatment and annealing. *Carbohydrate Polymers*, 132: 237-244, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.071>.
- Liu, H., Wang, L., Cao, R., Fan, H., Wang, M. (2016). In vitro digestibility and changes in physicochemical and structural properties of common buckwheat starch affected by high

- hydrostatic pressure. *Carbohydrate Polymers*, 144: 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.028>.
- Liu, Y., Chen, L., Xu, H., Liang, Y., Zheng, B. (2019). Understanding the digestibility of rice starch-gallic acid complexes formed by high pressure homogenization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134: 856-863, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.083>.
- Marinopoulou, A., Papastergiadis, E., Raphaelides, S. N., Kontominas, M. G. (2016). Structural characterization and thermal properties of amylose-fatty acid complexes prepared at different temperatures. *Food Hydrocolloids*, 58: 224-234, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.034>.
- Nugent, A. P. (2005). Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 30(1): 27-54, <https://doi.org/10.1111/nbu.12244>.
- Okumus, B. N., Tacer-Caba, Z., Kahraman, K., Nilufer-Erdil, D. (2018). Resistant starch type V formation in brown lentil (*Lens culinaris* Medikus) starch with different lipids/fatty acids. *Food Chemistry*, 240: 550-558, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.157>.
- Oyeyinka, S. A., Singh, S., Venter, S. L., Amonsou, E. O. (2017). Effect of lipid types on complexation and some physicochemical properties of bambara groundnut starch. *Starch-Stärke*, 69(3-4): 1600158, <https://doi.org/10.1002/star.201600158>.
- Raza, H., Ameer, K., Ren, X., Liang, Q., Chen, X., Chen, H., Ma, H. (2021). Physicochemical properties and digestion mechanism of starch-linoleic acid complex induced by multi-frequency power ultrasound. *Food Chemistry*, 364: 130392, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130392>.
- Reddy, C. K., Choi, S. M., Lee, D.-J., Lim, S.-T. (2018). Complex formation between starch and stearic acid: Effect of enzymatic debranching for starch. *Food Chemistry*, 244: 136-142, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.040>.
- Seo, T.-R., Kim, J.-Y., Lim, S.-T. (2015). Preparation and characterization of crystalline complexes between amylose and C18 fatty acids. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2): 889-897, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.021>.
- Sharma, A., Yadav, B. S., Ritika. (2008). Resistant starch: physiological roles and food applications. *Food Reviews International*, 24(2): 193-234, <https://doi.org/10.1080/87559120801926237>.
- Sun, S., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., Li, C. (2019). Effects of acid hydrolysis on the structure, physicochemical properties and digestibility of starch-myristic acid complexes. *LWT-Food Science and Technology*, 113: 108274, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108274>.
- Sun, S., Hua, S., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Ban, X., . . . Zhou, J. (2022). Influence of different kinds of fatty acids on the behavior, structure and digestibility of high amylose maize starch-fatty acid complexes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102: 5837-5848, <https://doi.org/10.1002/jsfa.11933>.
- Sun, S., Jin, Y., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., Li, C. (2021). Effects of fatty acids with various chain lengths and degrees of unsaturation on the structure, physicochemical properties and digestibility of maize starch-fatty acid complexes. *Food Hydrocolloids*, 110: 106224, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106224>.
- Tang, M. C., Copeland, L. (2007). Analysis of complexes between lipids and wheat starch. *Carbohydrate Polymers*, 67(1): 80-85, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.04.016>.
- Wang, S., Wang, J., Yu, J., Wang, S. (2016). Effect of fatty acids on functional properties of normal wheat and waxy wheat starches: a structural basis. *Food Chemistry*, 190: 285-292, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.086>.
- Wang, S., Zheng, M., Yu, J., Wang, S., Copeland, L. (2017). Insights into the formation and structures of starch-protein-lipid complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(9): 1960-1966, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05772>.

- Wang, Y.-S., Liu, W.-H., Zhang, X., Chen, H.-H. (2020). Preparation of VII-type normal cornstarch-lauric acid complexes with high yield and stability using a combination treatment of debranching and different complexation temperatures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154: 456-465, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.142>.
- Xiao, Y., Liu, H., Wei, T., Shen, J., Wang, M. (2017). Differences in physicochemical properties and in vitro digestibility between tartary buckwheat flour and starch modified by heat-moisture treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 86: 285-292, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.001>.
- Yassaroh, Y., Woortman, A. J., Loos, K. (2021). Physicochemical properties of heat-moisture treated, stearic acid complexed starch: The effect of complexation time and temperature. *International Journal of Biological Macromolecules*, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.124>.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Kugu, N. I., Yılmaz, K., Deniz-Şirinyıldız, D., Yorulmaz, A. *Analysis of RASFF notifications: 2021 food and food contact material data review* / RASFF bildirimlerinin analizi: 2021 yılı gıda ve gıda ile temas eden madde verilerinin incelenmesi..... **962-970**
- Adal, E. *Complex coacervation of chickpea protein isolate and pectin: Effect of biopolymer ratio and pH* / Nohut proteini izolatu ve pektinin kompleks koaservasyonu: Biyopolimer oranı ve pH'nın etkisi **971-979**
- Turan, E., Şimşek, A. (2022). *Determination of physicochemical, antioxidant, textural and sensory features of pastırma cemen paste produced by using different concentrations of black garlic* / Farklı konsantrasyonlarda siyah sarımsak kullanılarak üretilen pastırma cemen macununun fizikokimyasal, antioksidan, tekstürel ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi **980-991**
- Haskaraca, G., Arslan, Y., Ayhan, Z. (2022). *Evaluation of factors affecting consumers' poultry meat consumption habits and perceptions and poultry breeding processes* / Tüketicilerin kanatlı eti tüketim alışkanlıklarını ve algısını etkileyen faktörlerin ve kanatlı hayvan yetiştirme süreçlerinin değerlendirilmesi **1014-1031**
- Kılmanoglu, H., Akbaş, M., Kumcuoglu, S., Tavman, Ş. (2022). *The effect of the use of fresh and hyophilized boza on bread quality properties* / Taze ve liyofilize boza kullanımının ekmek kalite özelliklerine etkisi..... **1083-1091**
- Urgu-Öztürk, M., Öztürk-Kerimoğlu, B. (2022). *Characterization of industrial bone broths formulated with various meat and non-meat ingredients* / Çeşitli et ve et olmayan bileşenlerle formüle edilen endüstriyel kemik sularının karakterizasyonu **1092-1103**
- Oskaybaş-Emlek, B., Özbeş, A., Aydemir, L.Y., Kahraman, K. (2022). *Buckwheat starch-myristic acid complex formation: Effect of reaction temperature and myristic acid concentration on digestibility properties* / Karabuğday nişastası-miristik asit kompleks oluşumu: Reaksiyon sıcaklığı ve miristik asit konsantrasyonunun sindirilebilirlik özellikleri üzerine etkisi **1168-1179**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Uysal, İ.G., Çolak-Güneş, N., Koca, N. Farklı peynir çeşitlerinin yaşam döngüsü analizi / *Life cycle analysis of various cheese types*..... **941-961**
- Keskin-Uslu, E., Yılmaz, E. Laurik asit oleojellerinin geliştirilmesi ve karakterize edilmesi / *Development and characterization of lauric acid oleogels* **992-1004**
- Gökdemir, Ö., Yücepete, A. (2022). Kırmızı turp (*Raphanus sativus* L.) iç ve kabuklarından polifenoliklerin ultrases su banyosu ve ultrases prob destekli ekstraksiyonu: In vitro sindirim sırasında antioksidan aktivitedeki değişimin araştırılması / *Ultrasound bath- and ultrasound probe-assisted extractions of polyphenolics from pulp and peel of red radish (Raphanus sativus L.): Investigation of changes in antioxidant activity during in vitro digestion* **1046-1058**
- Encu, Ş.B., Acar-Soykut, E., Çakır, İ. (2022). Geleneksel yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin MALDI TOF MS biotyper sistemi ile tanımlanması ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi / *Isolation of lactic acid bacteria from traditional yoghurts, identification by MALDI TOF MS biotyper system and determination of some starter culture properties* **1059-1082**
- Kit, İ., Kahyaoglu, L., N. (2022). Kurkumin tabanlı biyopolimer filmlerin görünür ışık altında geliştirilmesi / *Development of curcumin based biopolymer films under visible light irradiation* **1104-1117**
- Saygi, Y.B. (2022). Meyve-sebze kayıplarında nedensel döngü diyagramı / *Causal loop diagram in fruit-vegetable losses* **1118-1129**
- Özdemirli, N., Kamiloğlu, S. (2022). Kavun çekirdeği şerbetinde (şübye) fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi / *Evaluation of bioaccessibility of phenolic compounds in melon seed sherbet (subye)* **1130-1139**

Derlemeler (English) / Reviews (English)

- Özcan Araç, F.Ö., Aldemir, O. *Aluminium and fluorine in drinking water as risk factors for human health* / İnsan sağlığı için risk faktörleri olarak içme sularında alüminyum ve flor **1005-1013**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Karşlıoğlu, B. (2022). Et ve et ürünlerinde polisiklik aromatik hidrokarbonların oluşum mekanizmaları ve azaltıcı yaklaşımlar / *Formation mechanisms and reduction strategies for polycyclic aromatic hydrocarbons in meat and meat products* **1032-1045**
- El, S.N., Karakaya, S. (2022). Süt, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) ve sağlık / *Milk, insulin like growth factor (IGF-1) and health* **1140-1152**
- Koçan, D. (2022). Aksaray Güzel yurt Gelveri Ekmeği ve yassı ekmek üretimi / *Aksaray Güzel yurt's Gelveri Bread and production of flat bread* **1153-1167**