



T.C.
TARIM VE ORMAN BAKANLI ĞI
Tarımsal Ara tırmalar ve Politikalar Genel Müdürlü ğü
Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Ara tırma Enstitüsü Müdürlü ğü



Sayı : E-80769576-824.02-6516398

04.08.2022

Konu : Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi 28.
Sayı

DAĞITIM YERLERİNE

Enstitümüzün yayın organı olan 'Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi' dergimizin 2022/2 28. Sayısı (e-ISSN: 2822-2873) yayınlanmış olup, TR Dizin, DRJI, ASOS Indeks, Cosmos, Journal Factor, Academic Journal Index ve İdealonline veri tabanlarında taranmaktadır. Dergimizin 28. sayısı ekte yer almakta olup ayıca dergimizin tüm sayılarına <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida> linkinden ulaşılabilmektedir.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Dr. Yıldırım İSTANBULLU
Müdür

Ek:

- 1 - 28. Sayı (115 Sayfa)
- 2 - Dergi kapağı (1 Sayfa)

Dağıtım:

Bilgi:

Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğüne
Laboratuvar Müdürlüklerine
Gıda Mühendisliği Fakültelerine
Veteriner Fakültelerine

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Do rulama Kodu: 2CD01B72-61F6-4D98-86D1-4948360FA06D

Do rulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/tarim-ebys>

Adalet Mahallesi 1.Hürriyet Caddesi No:128 PK:16160 Osmangazi/BURSA

Tel: (224) 246 47 20 Faks: (224) 246 19 41

E-Posta: bursagida@tarimorman.gov.tr Kep: tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr

KEP Adresi : tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr

Bilgi için:Nazan ÇÖPLÜ
Mühendis



e-ISSN 2822-2873

ISSN 1303-3107

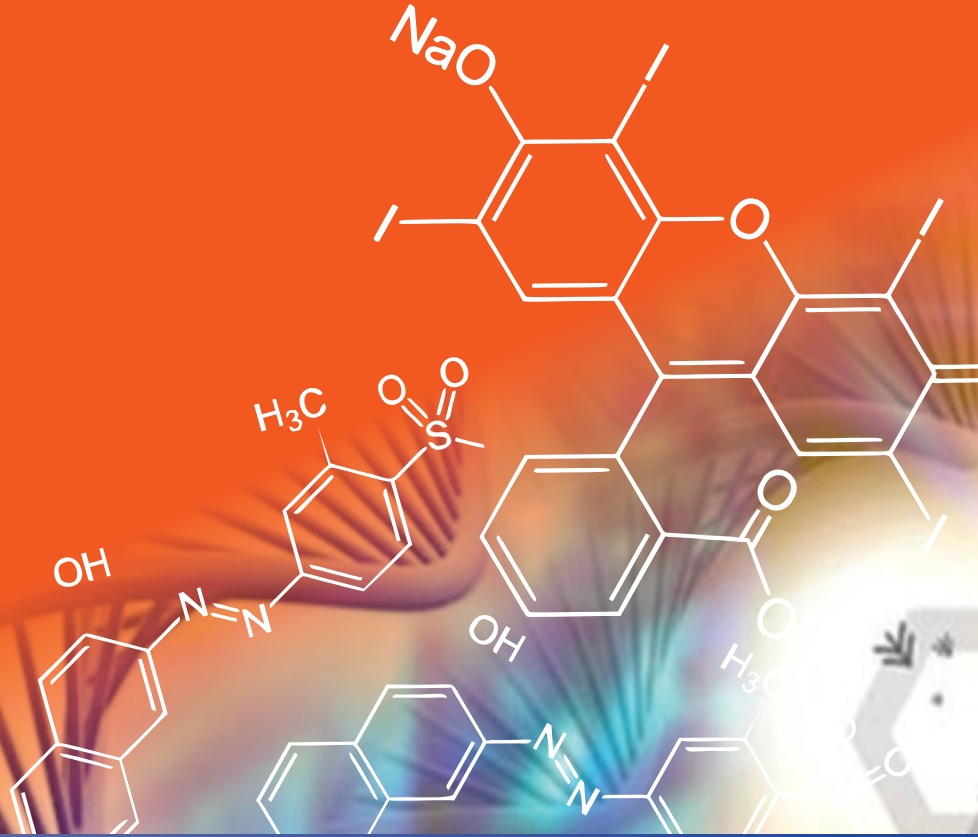
GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ

JOURNAL OF FOOD AND FEED SCIENCE - TECHNOLOGY

Yıl/Year: 19

Sayı/Number: 28

2022/2



Yayın Bilgileri (Editorial Information)

Gıda ve Yem Kontrol Merkez
Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü adına sahibi
Owner on behalf of Central Research
Institute of Food and Feed Control

Dr. Yıldray İSTANBULLU

Dergi Sahibi-Journal Owner
(Enstitü Müdürü-Institute Manager)

Dr. Nazan ÇÖPLÜ

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü (Editor in Chief)

Dr. Vesile ÇETİN

Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor)
ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

Dr. Hakan TOSUNOĞLU

Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor)

Ekrem KATMER

Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor)
Reklam ve Abone İşleri (Advertisement and Subscription)
Grafik Tasarım (Graphics Design)

Arzu YAVUZ

Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor)

Dr. Banu AKGÜN

Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor)

Filiz ÇAVUŞ

Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

Erdiç ALTINÇEKİÇ

Alan Editörü (Technical Editor), İstatistik Editörü (Statistical Editor)
ve Mizanpaj Editörü (Layout Editor)

Nagihan UĞUR

Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

Şifa ÇALIŞKAN

Alan Editörü (Technical Editor), Dil Editörü (Language Editor)
ve İstatistik Editörü (Statistical Editor)

Basım (Printing)

SANAT MATBAASI

Selamet Mah. Dr. Sadık Ahmet Cad.
Sütçüoğlu Sit. A Blok 27/A Osmangazi/BURSA
sanatmat@hotmail.com
Telefon (Telephone) : +90 224 224 2829
Belgegeçer (Fax) : +90 224 222 0054

Yönetim ve Yayın Adresi (Administration and Publishing Address)

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Adalet Mh. 1. Hürriyet Caddesi, No: 128
Hürriyet - 16160 Osmangazi / BURSA

Telefon (Telephone) : + 90 224 246 4720 (Pbx)
Belgegeçer (Fax) : + 90 224 246 1941

E-posta (e-mail): bursagida@tarimorman.gov.tr

Web adresleri (Web sites):

dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/
dergipark.org.tr/en/pub/bursagida/
arastirma.tarimorman.gov.tr/bursagida
foodandfeed.org

**Bu Sayının Bilimsel Yayın Danışmanları*
(Advisory Board)**

Prof. Dr. Fahrettin GÖĞÜŞ

Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Hasan VURAL

Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Mete YILMAZ

Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü,
Türkiye

Prof. Dr. Özlem TURGAY

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Remziye YILMAZ

Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Semih ÖTLEŞ

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

Öndokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Tanay BİLAL

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Ufuk Tansel ŞİRELİ

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Uğur TAMER

Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Türkiye

Prof. Dr. Yasemin ŞAHAN

Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Doç. Dr. Alya ARSLANER

Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Doç. Dr. Dilek DEMİRBÜKER KAVAK

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Doç. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü,
Türkiye

Doç. Dr. Gabriela IODACHESCU

Dunărea de Jos Üniversitesi, Gıda Bilimi ve Mühendislik Fakültesi, Gıda Bilimi, Gıda Mühendisliği,
Biyoteknoloji ve Su Ürünleri Bölümü, Romanya

Doç. Dr. Hasan Hüseyin KARA

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Nezahat Keleşoğlu Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik
Bölümü, Türkiye

Doç. Dr. Mustafa YAMAN

İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü,
Türkiye

Doç. Dr. Perihan YOLCI ÖMEROĞLU

Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Doç. Dr. Şebnem BUDAK

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Çağla ÖZBEK

Toros Üniversitesi, Güzel Sanatlar, Tasarım ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları
Bölümü, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Elif SAVAS

Bahkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Ertan ERMİŞ

İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Fatma CEBECİ

Bayburt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Halime UĞUR

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü,
Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Mevhibe TERKURAN

Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadırlı Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak
Sanatları Bölümü, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Pınar UZUN

İsparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü,
Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Sibel BÖLEK

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Teknolojisi Anabilim Dalı,
Türkiye

Öğr. Gör. Dr. Berrak DELİKANLI KIYAK

Bursa Uludağ Üniversitesi, İznik Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye

Dr. Çiğdem MECİTOĞLU GÜÇBİLMEZ

Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Müdürlüğü, Türkiye

Dr. İlkem DEMİRKESEN MERT

Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye

*İsimler unvanlarına göre alfabetik sıra ile yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.



arastirma.tarimorman.gov.tr/bursagida
foodandfeed.org

ISSN 1303-3107
e-ISSN 2822-2873

GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

*Journal of
Food and Feed
Science - Technology*

Yıl/Year: 19

Sayı/Number: 28

2022/2

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Central Research Institute of Food and Feed Control

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Dr.Nazan ÇÖPLÜ, Sorumlu Yazı İşleri Müdürü (Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Türkiye)

Dr.Vesile ÇETİN, Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Türkiye)

Dr.Hakan TOSUNOĞLU, Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Türkiye)

Ekrem KATMER, Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Arzu YAVUZ, Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Banu AKGÜN, Alan Editörü (Technical Editor) ve Dil Editörü (Language Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Filiz ÇAVUŞ, Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Erdinç ALTINÇEKİÇ, Alan Editörü (Technical Editor), İstatistik Editörü (Statistical Editor) ve Mizanpaj Editörü (Layout Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Nagihan UĞUR, Alan Editörü (Technical Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Şifa ÇALIŞKAN, Alan Editörü (Technical Editor), Dil Editörü (Language Editor) ve İstatistik Editörü (Statistical Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Prof.Dr.Abdulkadir ÇİLTAŞ (Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Abdullah ÖKSÜZ (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri

Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ahmet İNCE (Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Ali GÜNDOĞDU (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Alper ÇİFTÇİ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Aycan TOSUNOĞLU (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Behiç COŞKUN (Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Belgin İZGİ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Belgin SIRIKEN (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Betül GÜROY (Yalova Üniversitesi, Merkez Araştırma Laboratuvarı, Türkiye)

Prof.Dr.Bilgen OSMAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Canan Ece TAMER (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Cem KARAGÖZLÜ (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Cemalettin SARIÇOBAN (Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Derya YEŞİLBAĞ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Elif TÜMAY ÖZER (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen -Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Esra ÇAPANOĞLU (İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Emrah TORLAK (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi,

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Moleküler Biyoloji Ve Genetik Bölümü,
Türkiye)

Prof.Dr.Fahrettin GÖĞÜŞ (Gaziantep
Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Faruk BALCI (Bursa Uludağ
Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr. Fatih ŞEN (Ege Üniversitesi Ziraat
Fakültesi, Bahçe bitkileri bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU
(Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz
Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Çanakkale
Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda
Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Filiz ÖZÇELİK (Ankara
Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ (Burdur
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi,
Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Gürbüz GÜNEŞ (İstanbul Teknik
Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Güzin KABAN (Atatürk
Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hale ŞAMLI (Bursa Uludağ
Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Harun DIRAMAN (Afyon
Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik
Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,
Türkiye)

Prof.Dr.Hasan VURAL (Bursa Uludağ
Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım
Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hasan YALÇIN (Erciyes
Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hasan YETİM (İstanbul Sabahattin
Zaim Üniversitesi Mühendislik Ve doğa
Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hülya GÜL (Süleyman Demirel
Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Hüseyin ESECELİ (Bandırma On
yedi Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri

Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü,
Türkiye)

Prof.Dr.İbrahim AK (Bursa Uludağ
Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni
Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Kağan KÖKTEN (Bingöl
Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri
Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Lütfiye YILMAZ ERSAN (Bursa
Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.M. Haluk TÜRKDEMİR (Bursa
Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,
Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Mehmet YÜCEER (İnönü
Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Mete YILMAZ (Bursa Teknik
Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri
Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Mihriban KORUKLUOĞLU
(Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Muhammet ARICI (Yıldız Teknik
Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Murat TAŞAN (Namık Kemal
Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Nurgül ÖZBAY (Bilecik Şeyh
Edebali Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Kimya ve Süreç Mühendisliği Bölümü,
Türkiye)

Prof.Dr.Osman KOLA (Adana Bilim ve
Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik
Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,
Türkiye)

Prof.Dr.Osman TİRYAKİ (Çanakkale
Onsekiz Mart, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma
Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Oya IŞIK (Çukurova Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler
Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ozan GÜRBÜZ (Bursa Uludağ
Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Prof.Dr.Ömer Utku ÇOPUR (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Özkan ÖZDEN (İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Özlem TURGAY (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ramazan GÖKÇE (Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Remziye YILMAZ (Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Saliha ŞAHİN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Seran TEMELLİ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Serkan SELLİ (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ş. Şule CENGİZ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Şule TURHAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Tanay BİLAL (İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Tuba YILDIRIM (Amasya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Tülay ÖZCAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ufuk KARADAVUT (Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ufuk Tansel ŞİRELİ (Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Uğur GÜNŞEN (Bandırma Onyedil Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Uğur TAMER (Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Ümit GEÇGEL (Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Semih ÖTLEŞ (Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Şerife TÜTÜNCÜ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Yasemin ŞAHAN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr.Zeki GÜRLER (Aydın Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Prof.Dr. Zeynel DALKILIÇ (Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Ali İhsan ATALAY (Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Alya ASLANER (Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Ahmet Levent İNANÇ (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Arzu AKPINAR BAYİZİT (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Ayşegül KUMRAL (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Bayram ÇETİN (Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Cemalettin BALTACI (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Çağrı Özgür ÖZKAN (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi,

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(Editorial Board)

Göksun Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Türkiye

Doç.Dr.Derya KOÇAK YANIK (Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Dilek DEMİRBÜKER KAVAK (Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Emine BUDAKLI ÇARPICI (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Esmeray KÜLEY BOĞA (Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Fatih TÖRNÜK (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Assoc.Professor Gabriela IORDACHESCU (Dunarea de Jos University, Faculty of Food Science and Engineering, Food Science, Food Engineering Biotechnologies and Aquaculture Dept., Romania)

Doç.Dr.Hasan CANKURT (Kayseri Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Hasan Hüseyin KARA (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Köksal KARADAŞ (İğdır Üniversitesi İğdır Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

Assoc.Professor Liliana MIHALCEA (Universitatea Dunarea de Jos Galati, Department of Food Science, Food Engineering and Applied Biotechnology, Romania)

Associate Lecturer Dr.Mustafa Zafer ÖZEL (Green Chemistry, Department of Chemistry, University of York, UK)

Doç.Dr.Mustafa Kürşat DEMİR (Necmettin Erbakan Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Mustafa YAMAN (İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri

Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Oktay YERLİKAYA (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Osman ÜÇÜNCÜ (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Özlem ESMER (Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Rasim Alper ORAL (Bursa Teknik Üniversitesi; Doğa Bilimleri, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi; Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Salih KARASU (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Senem KAMILOĞLU BEŞTEPE (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Sine ÖZMEN TOĞAY (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Şebnem BUDAK (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr.Şebnem PAMUK (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Doç.Dr. Tuba ŞANLI (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

Doç.Dr. Yekta GEZGİNÇ (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Adnan Fatih DAĞDELEN (Bursa Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Aşkın BİRGÜL (Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Ayşe Neslihan DÜNDAR (Bursa Teknik Üniversitesi, Doğa Bilimleri,

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Çağla ÖZBEK (Toros Üniversitesi, Güzel Sanatlar, Tasarım Ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Çisem BULUT ALBAYRAK (Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Dilek Dülger ALTINER (Kocaeli Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Elif SAVAŞ (Balıkesir Üniversitesi (Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Ertan ERMİŞ İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Fatma CEBECİ (Bayburt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Fatma Kübra SAYIN (Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Gamze TOYDEMİR ŞEN (Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Rafet Kayış Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Gökhan İNAT (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Halime UĞUR (Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Harun HURMA (Namık kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ekonomi Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Hatice Ahu ERDEM KAHRAMAN (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi İnci ÇINAR (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve

Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi İncilay GÖKBULUT (İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi İlkay YILMAZ (Başkent Üniversitesi, Güzel Sanatlar, Tasarım ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Programı, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Mahmut GENÇ (Beykoz Üniversitesi, Sanat ve Tasarım Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Mevhibe TERKURAN (Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadirli Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Mukaddes KILIÇ BAYRAKTAR (Karabük Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Oya SİPAHIOĞLU (Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Perihan YOLCI ÖMEROĞLU (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Pınar UZUN (Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Rahmi UYAR (Aksaray Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Sema KONYALI (Trakya Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Sibel BÖLEK (Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Teknolojisi Anabilim Dalı, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Sümeyra Sultan TİSKE İNAN (Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Tuğba ÖZDAL (İstanbul Okan Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(*Editorial Board*)

Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Dr.Öğr.Üyesi Oya Irmak CEBECİ (Yalova Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Berrak DELİKANLI KIYAK (Bursa Uludağ Üniversitesi, İznik Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Cumhur BERBEROĞLU Bursa Uludağ Üniversitesi, Karacabey Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Engin YILMAZ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Hacer AKPOLAT (Bayburt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Hüseyin Can ALPSOY (Bursa Uludağ Üniversitesi, Yenişehir İbrahim Orhan Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Kader ÇETİN (Bursa Uludağ Üniversitesi, Karacabey Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Mesut Ertan GÜNEŞ (Bursa Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

Öğr.Gör.Dr. Yalçın GÜÇER (Ankara Üniversitesi, Kalecik Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

Dr.Angel Martinez SANMARTIN (Food and Canning Industry, National Technological Centre, CTC, Spain)

Dr.Burcu KADIOĞLU (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr. Çiğdem MECİTOĞLU GÜÇBİLMEZ (Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Deniz KİRAZ (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Emine ALKIN (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Ergün AYANOĞLU (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Fatma GÜNGÖR BOYNUEYRİ (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Gülnur F. BİRİCİK ŞAHİN (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.H. Özgül UÇURUM (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.İlkem DEMİRKESEN MERT (Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Mustafa Zafer ÖZEL (Analytical Chemistry Lecturer, University of Hertfordshire, School of Life and Medical Sciences, Department of Clinical Pharmaceutical and Biological Sciences Division of Pharmaceutical Chemistry, İngiltere)

Dr. Neslihan TURAN (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Nurcan AYŞAR GÜZELSOY (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr.Nurşen ÇİL (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr. Pervin UZUN (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Dr. Sema DEMİR (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Ayşe Binnur KARATAŞ (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Ayşegül ARIKAN ASAN (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Hakime Gül YAVUZ Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye

İsmail AZAR (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Mehmet Yılmaz KARACA (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

YAYIN KURULU*
(Editorial Board)

Müge NEBİOĞLU (Gıda ve Yem Kontrol
Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü,
Türkiye)

Nurdan AKBAŞ (Gıda ve Yem Kontrol
Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü,
Türkiye)

Orhan EREN (Gıda ve Yem Kontrol Merkez
Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Özlem ASLAN (Gıda ve Yem Kontrol
Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü,
Türkiye)

Özlem İŞİK (Gıda ve Yem Kontrol Merkez
Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

Pınar MANARGA BİRLİK (Gıda ve Yem
Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü
Müdürlüğü, Türkiye)

Serhat KOÇER (Gıda ve Yem Kontrol
Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü,
Türkiye)

*İsimler, unvanlara göre alfabetik sırada yazılmıştır.
Names are written in alphabetical order according to titles.

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Derleme Makaleler/Review Papers

- Zeytin yaprağı, pirina ve karasuyu gıda ve yem sektörlerinde değerlendirme çalışmaları** 1
Evaluation studies of olive leaves, olive pomace and olive mill wastewater in food and feed sectors
Esin Toparlak, Osman Kola
- Gıdalarda yenilebilir filmler ve kaplamalar** 18
Edible films and coatings for food
Yelda Eser, Yusuf Doğruer

Özgün Araştırmalar/Original Articles

- Peynir altı suyu kullanılarak üretilen yaş pasta kremasında hızlandırılmış mikrobiyolojik raf ömrü testleri** 30
Accelerated microbiological shelf life tests of cake cream produced with whey
Fatoş Kaplan, Özlem Turgay
- Evaluation of individuals' perspectives and preferences for entomophagy** 38
Bireylerin entomofajiye bakış açılarının ve tercihlerinin değerlendirilmesi
İlkay Yılmaz, Eren Yalçın
- Hazır soslardaki ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) öncüllerinin biyoerişilebilirliklerinin *in vitro* gastrointestinal sistem ile belirlenmesi** 47
Determination of bioaccessibility of advanced glycation end-products (AGEs) precursors in ready made sauces by *in vitro* gastrointestinal system
Jale Çatak, Elif Nur Uçgun
- Mekanik ayrılmış et içeren kanatlı et ürünlerinin histolojik ve kimyasal yöntemler ile incelenmesi** 57
Investigation of poultry meat products containing mechanically deboned meat by histological and chemical methods
Tuğba Gezgin, Sedat Karaca, Mevlüt Atalay, Bilgegül Sinan, Tuna Erdem
- Spirulina platensis* ekstraktlarının antifungal aktivitelerinin incelenmesi** 65
Determination of antifungal activities of *Spirulina platensis* extracts
Oya Irmak Şahin, Begüm Kurbe
- Determination of allergens in several food matrix with proteomics approach and investigation of heat stability of allergen proteins** 74
Bazı gıdalarda alerjenlerin proteomiks tekniği kullanılarak tespiti ve ısı işlem sonrası alerjenlerin stabilitesinin araştırılması
Nurcan Ayşar Güzelsoy, Filiz Çavuş, Yasemin Şahan
- Doğal yoğurtlardan izole edilmiş *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının antibiyotik direnç özelliklerinin moleküler olarak belirlenmesi** 86
Molecular determination of antibiotic resistance properties of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains isolated natural yogurts
Filiz Doğan, Yekta Gezginç, Şerife Nur Akyar Yavaş

Derleme Makale/Review Paper

Zeytin yaprağı, pirina ve karasuyu gıda ve yem sektörlerinde değerlendirme çalışmaları

Evaluation studies of olive leaves, olive pomace and olive mill wastewater in food and feed sectors

Esin Toparlak^{1*}, Osman Kola²

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, ANKARA, TÜRKİYE

²Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ADANA, TÜRKİYE
(Yazar sıralamasına göre)

¹ORCID ID: 0000-0001-7700-1309, Gıda Yük. Müh.

²ORCID ID: 0000-0003-0000-248X, Prof. Dr.

*Sorumlu yazar/Corresponding author: esin.toparlak@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi : 02.12.2021

Kabul Tarihi : 18.03.2022

Öz

Amaç: Bu makalede zeytinin çok değerli bir ürün olan zeytinyağına işlenmesi sırasında açığa çıkan üretim prosesi atık/yan ürünleri zeytin yaprağı, pirina ve karasuyun gıda endüstrisi başta olmak üzere farklı kullanım alanlarında değerlendirmesine yönelik yapılmış araştırmalar derlenmiştir.

Sonuç: Zeytinyağı üretimi atık/yan ürünleri, sahip oldukları içerik göz önüne alınıp kaynak olarak düşünüldüklerinde ve doğru kullanıldıklarında hem çevre kirliliğini önleme hem de ülkelerin ekonomisine katkı sağlama potansiyelindedir.

Anahtar kelimeler: atık; atık değerlendirme; zeytin karasuyu; pirina; zeytin yaprağı

Abstract

Objective: In this article, researches conducted on the use of the waste/by-products such as olive leaf, olive pomace and olive mill wastewater, which are produced during the processing of olive fruit into a very valuable product "olive oil", in different areas, especially in the food industry were reviewed.

Conclusion: Olive oil production waste/by-products have the potential to both prevent environmental pollution and contribute to the country's economy when their content is considered as a resource and when they are used correctly.

Keywords: waste; evaluation; olive mill wastewater; olive pomace; olive leaf

1. Giriş

Hızla artan dünya nüfusu, gıda üreten fabrikaların sayısında ve bununla birlikte ortaya çıkan gıda atık miktarlarında artışa; sınırlı olan su ve toprak kaynaklarının ise kirlenmesine neden olmaktadır. Ortaya çıkan bu atık sorunu karşısında bilim insanları, tarım endüstrisindeki girişimci ve işletmeciler atık miktarının azaltılmasına, gıda atıklarının değerlendirilmesine ve böylece kaynakların daha etkin kullanılmasına yönelik bir arayış içerisine girmişlerdir (Sümer vd., 2016).

Türkiye için önemli bir sektör olan zeytinyağı endüstrisinin atıkları; zeytin yaprakları, pirina

(zeytin küspesi) ve karasudur (Dalkılıç, 2018). Zeytin yaprağı hariç elde edilen atık içeriği üretim sistemine göre değişmektedir: 3-fazlı sistemde pirina ve karasu, 2-fazlı sistemde ise sulu pirina ve organik yükü düşük az miktarda atık su elde edilmektedir (Seçmeler ve Üstündağ Güçlü, 2016).

2. Zeytin ve zeytinyağı

2.1. Zeytin

Oleacea familyasının bir üyesi olan zeytin (*Olea europaea* L.) yüzyıllardır önemini yitirmeyen ve 20. yüzyılın bitkisi olarak gösterilen değerli bir bitkidir. Çeşide göre değişen büyüklükteki meyvenin yaklaşık %85'i etli kısım ve %15'i

çekirdektir. Etili kısmın en önemli bileşenleri yağ (%50-60'ı) ve su (%25'i), geri kalan kısmı protein, lif ve organik maddelerdir. Çekirdeğin ise yaklaşık %10'u yağdır (Akbaş, 2001).

Zeytinin, fizyolojik ve hücrel aktiviteyi etkileyerek canlılığın hayatta kalmasını ve zorlu yaşam koşullarına dayanma gücünü sağlayan biyoaktif bileşenlerce zengin olduğu bilinmektedir. Bu biyoaktif maddelerin başında fenolik maddeler gelmektedir. Ancak, zeytinden yağ üretimi sırasında bu fenoliklerin %90'ından fazlasının pirina ve karasuya geçtiği için değerlendirilemediği bildirilmektedir (Seçmeler ve Üstündağ Güçlü, 2016).

2.2. Türkiye'deki mevcut durum

Zeytin ve zeytinyağı, tarım sektörü için Türkiye'nin rekabet gücü olan önemli ürünlerdendir (Ticaret Bakanlığı, 2019). Türkiye'de, 2020 yılında 8,79 milyon dekar alanda 182.076.000 adet zeytin ağacı varlığı ile toplam 1,32 milyon ton zeytin üretimi gerçekleştirilmiştir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2021). Türkiye'de zeytin yoğun olarak Ege, Marmara ve Akdeniz Bölgelerinde yetiştirilmektedir. 81 ilin %45'inde (36 il) zeytin üretimine rastlanmaktadır (Akteş ve Özer, 2014; Akgün, 2012). 2017 yılı verilerine göre Türkiye'de zeytin üretiminin %78'inin yağlık, %22'sinin sofralık olarak yapıldığı belirlenmiştir (İlay vd., 2019). Türkiye'de zeytinyağı üretiminin yoğun olarak gerçekleştirildiği iller arasında Balıkesir, Manisa, Çanakkale, İzmir, Aydın, Hatay ve Gaziantep sayılabilmektedir (Sümer vd., 2016). Uluslararası Zeytin Konseyi verilerine göre 2019-2020 döneminde dünya toplam zeytin üretiminde 3. sırada yer alan Türkiye'de, küresel zeytin üretiminin yaklaşık %14,2'sini gerçekleştirmiştir. Aynı dönemde küresel zeytinyağı üretimindeki payımız ise yaklaşık %7,2 olmuştur (Türkiye İhracatçılar Meclisi, 2020).

Türkiye'de konu ile ilişkili yasal düzenlemelere baktığımızda Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği'nde çeşnili ve/veya aromalı zeytinyağları dahil, zeytinyağları ve pirina yağlarının kalite ve saflık kriterleri; natürel zeytinyağları ile ilgili duyu özellikleri yer almaktadır (Anonim, 2017). Karasuyun bertarafı, 2872 sayılı Çevre Kanunu ve 25687 sayılı Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği kapsamında gerçekleştirilmektedir. Bu yönetmelikte karasuyun alıcı ortama deşarj standartları parametreleri; Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ), yağ-gres, renk ve pH olarak verilmiştir (Anonim, 2004). Pirina ile ilgili olarak da "Isınmadan Kaynaklanan Hava Kirliliğinin Kontrolü Yönetmeliği"nde çeşitli

hükümler yer almakta ve uygulanmaktadır (Anonim, 2005).

3. Zeytinyağı üretimi

Zeytinyağı, zeytin ağacının belirli bir olgunluk düzeyine ulaşmış meyvelerinden elde edilen, oda sıcaklığında sıvı formda bulunan yemeklik bir yağdır. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği'nde (Anonim, 2017) ise sadece "zeytin ağacı, *Olea europaea* L. meyvelerinden elde edilen yağlardır" şeklinde tanımlanmaktadır.

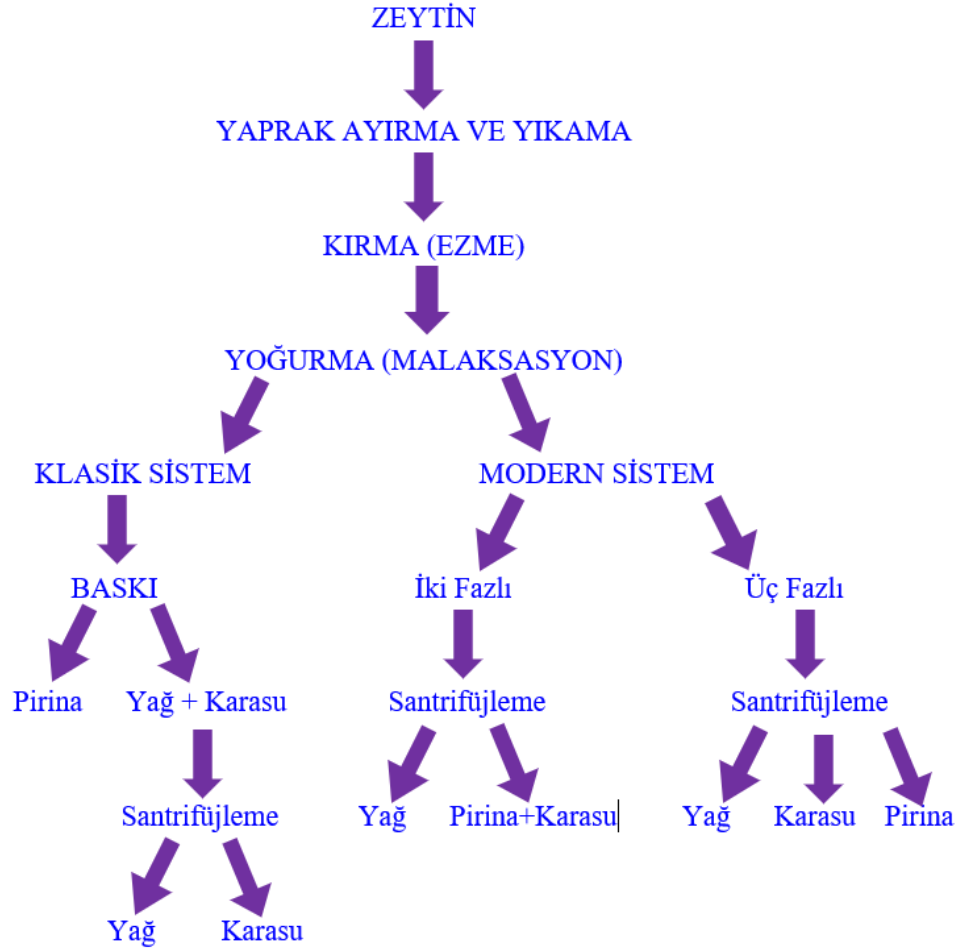
Zeytinyağı üretiminde kullanılmış ilk yöntem, zeytinlerin ayakla ezildikten sonra sıcak suyla yağının alınmasıdır. Daha sonraları zeytinin iki taş arasında ezilmesiyle yağ elde edilmesi yöntemini Romalılar bulmuşlardır. Zamanla "mengene" olarak tabir edilen ve ezilen zeytin hamurunun sıkıştırılması için Arşimet vidasının döndürülmesi ile oluşturulan basınçtan faydalanılan usule geçilmiştir ki bu günümüzde de halen kullanılmaktadır. Zeytinyağı üretiminde yeni dönem, 19. yüzyılda buharın kullanımıyla başlamıştır ve yüksek basınçla daha fazla zeytin işleme olanağı sağlanmıştır. Burada kullanılan hidrolik presler, teknolojideki ilerlemelerle dizel motoru ve elektrikle çalışabilecek şekilde geliştirilmiş ve günümüzde de kullanılan fiziksel ekstraksiyonun yapıldığı daha verimli ve en modern sistem olan kontinü (3-fazlı ve 2-fazlı) sistemlere gelinmiştir (Gemicioğlu, 2016). Klasik (geleneksel-presleme) yöntem ve modern (kontinü-sürekli) sistemde zeytinyağı elde edilmesinde ana işlem basamakları Şekil 1'de verilmiştir.

Klasik yöntem; uygun olgunlukta hasat edilerek uygun şartlarda fabrikaya getirilen zeytinlerin dal, yaprak, toprak vb. yabancı maddeleri uzaklaştırıldıktan sonra kırma, yoğurma gibi ön işlemlerden geçirilmesiyle elde edilen zeytin hamuruna pres yardımıyla baskı uygulanması şeklindedir. Böylece sıvı fazı oluşturan yağ ve karasu katı fazdan ayrılmaktadır. Elde edilen yağ ve karasuyun ayrılması ise; yoğunluk farkı esasına dayalı santrifüjleme ya da dekantasyon kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Yüksek iş gücü gerektiren bu yöntemde sistemin maliyeti ve enerji tüketimi düşük, fakat ekipman bakımı zor ve pahalıdır.

Modern sistemler zeytin hamurundaki sıvı fazın (yağ ve karasu) katı fazdan yüksek hızla dönen santrifüjler-dekantörler yardımıyla alınması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde sistemin maliyeti ve enerji tüketimi yüksek ancak iş gücü gereksinimi düşüktür ve sistem otomasyona uygun olduğundan sürekli veya yarı sürekli olarak çalışır.

Santrifüjleme yöntemi; 3-fazlı ve 2-fazlı olarak sürdürülebilmektedir. Sistemler arasındaki farkı, sistemlerden elde edilen yağ içerikleri ortaya koymaktadır (Gemicioğlu, 2016). Atık bileşimi de

üretimde kullanılan yöntemle bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Seçmeler ve Üstündağ Güçlü, 2016).



Şekil 1. Klasik (geleneksel) ve modern (kontinü) sistemde zeytinyağı elde edilmesinde ana işlem basamakları (Anonim, 2021)

3-fazlı üretim; dekantasyon atıksuyu, pirina ve yağ olmak üzere 3 ayrı faz oluşturur. Dekantöre su ilave edildiğinden daha fazla atık su oluşur ve fenolik bileşiklerin çoğu bu atık suya geçer. Oluşan atık suyun kirlilik yükü çok yüksektir (Hocaoğlu, 2015).

2-fazlı üretim; sulu pirina ve yağ olmak üzere 2 ayrı faz oluşturur. Dekantöre su ilavesi olmadığından hem su tasarrufu sağlar hem de daha az atık su oluşur ve zeytin özsuyu pirina içinde kalır. Doğal antioksidan özelliğe sahip olan polifenollerin çoğu yağda kaldığından oksidatif stabilitesi daha yüksek ve daha dayanıklı zeytinyağı elde edilir. 3 fazlı üretime göre atık suyun kirlilik yükü daha düşük, oluşan pirina miktarı daha fazladır ve pirina daha nemlidir bu nedenle de çekirdek kolay ayrılır (Hocaoğlu, 2015).

Türkiye’de yaklaşık 1.000 adet zeytinyağı üreticisinin %71’i üretimde 3-fazlı yöntemi, %27’si ise 2-fazlı yöntemi kullanmaktadır. Zeytinyağı üretiminde; zeytin yaprağı, pirina ve karasu da oluşmaktadır. Pirina; çekirdek, kabuk ile posadan oluşur ve zeytin yaprağı gibi çeşitli yollarla ekonomiye geri kazandırılabilirdiği için yan ürün olarak kabul edilmektedir. Ticari getirisi olmayan karasu ise bir atık niteliğindedir (Hocaoğlu, 2015).

3.1. Zeytinyağı üretimi yan ürünleri

3.1.1. Zeytin yaprağı

Zeytin yaprağı, zeytin ağacının fonksiyonel değere sahip birçok biyoaktif bileşenini doğal olarak içeren yan üründür. Çoğunlukla zeytin

ağacının budanması, hasat edilmesi ve üretim faaliyetleri sırasında açığa çıkar ve polifenolik bileşikler bakımından oldukça zengindir. 1 ton zeytinin işlenmesi sırasında 50-100 kg zeytin yaprağı atığı oluşmaktadır. Türkiye'nin ortalama üretim miktarı göz önüne alındığında yıllık tahmini zeytin yaprağı atığı 46-94 bin tonu bulmaktadır (Seçmeler ve Üstündağ Güçlü, 2016).

3.1.2. Pirina

Pirina, zeytin meyvesinin etli kısmı ile zeytin çekirdeğinin posasından oluşur. Üretimde kullanılan yöntemlere göre nem içerikleri %25 ile %75 aralığında değişen üç tip pirina elde edilmektedir. 1.000 kg zeytinin işlenmesinden 2-fazlı üretimde yaklaşık 800 kg, 3-fazlı üretimde ise 550 kg pirina üretilmektedir. Zeytinin cinsine, yetiştirildiği bölgeye, yetiştirilme yöntemine ve zeytinyağı üretim prosesine göre pirinanın içeriği de değişiklik göstermektedir. Pirina; yüksek organik madde, yağ içeriği ve yüksek kalorifik değeri sebebiyle çeşitli amaçlarla değerlendirilebilmektedir. Ham pirina, zeytinlerin yağları alındıktan sonra oluşan ilk üründür ve solvent (hekzan) ekstraksiyonu ya da 2. sıkım yapılmak suretiyle yapısındaki yağ alınabilmektedir (pirina yağı). 100 kg yağlı pirinadan yaklaşık olarak 60-70 kg kuru pirina elde edilmektedir. Pirina bekletilmeden işlenirse elde edilen yağın yemeklik olarak kullanımı söz konusu olabilmektedir. Yağı alınmış pirina, kükürt içermediği ve düşük kül içeriğine sahip olduğu için enerji kaynakları arasında yer almaktadır. Türkiye'de pirinanın %55-60 oranında pirina işleme tesisleri tarafından değerlendirildiği düşünülmektedir (Hocaoğlu, 2015).

3.1.3. Karasu

Zeytinlerin yağa işlenmesi prosesinde önemli miktarlarda zeytin atık suyu açığa çıkmaktadır. Organik ve mineral madde bakımından zengin, asidik nitelikte, kuvvetli zeytinyağı kokusuna sahip, koyu kahverengi-menekşe tonlarında ve hatta siyaha yakın renkte olan bu sıvı renginden dolayı halk arasında "karasu" diye anılmaktadır. İspanya'da "Alpechin" denilen bu atık su, literatürde "Olive Mill Wastewater" (OMW) veya "Vegetation Water" (VW) şeklinde ifade edilmektedir (Akbaş, 2001).

Karasuyun miktarı ve fizikokimyasal özellikleri; üretim yerine, ürün alınan ağacın yaşına, hasat sezonuna, ürünün o yıl var veya yok olmasına, zeytin çeşidine ve ekstraksiyon

metotlarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Zeytin karasuyu kütleye %83-96 su, %3,5-15 organik maddeler, %0,5-2 mineral tuzlardan oluşmaktadır. Organik kısım ise şeker, azot bileşikleri, uçucu asitler, polialkoller, pektin, yağ, polifenoller ve karasuya koyu rengi veren tanenleri içermektedir. Önemli miktarda potasyum, magnezyum ve fosfat tuzları, lipit içerir, karbonhidratça zengindir (Çelik vd., 2008).

Zeytin karasuyunun çok yüksek derişimlerde Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı (BOİ), Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ), Askıda Katı Madde (AKM), yağ ve gres ile fitotoksik özelliği olan çeşitli fenol ve polifenol bileşikleri içermesi, önemli bir kirlilik potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Çelik vd., 2008).

Zeytin karasuyu, yağ içeriği sebebiyle alıcı ortamlarda su yüzeyine yayılarak suyun oksijen alımını ve güneş ışını geçişini azaltarak ortamdaki bitkisel ve hayvansal yaşamın (flora ve fauna) normal gelişimini engellemektedir. Ayrıca, yüksek organik madde içeriği nedeniyle çözülmüş oksijenin tüketilmesine de neden olmaktadır. Bu tür olumsuzluklara sahip olan bir atığın bertarafı büyük önem arz etmektedir. Türkiye'de karasuyun bertarafında buharlaştırma lagünü kullanımı %89'dur. Geriye kalan %11'lik kısım ise vidanjörle taşınmakta veya kanalizasyona deşarj edilmektedir. Ancak buharlaştırma lagünü kullanımı, alan gereksiniminin yüksek olması, organik madde gideriminin düşük olması; karasu bileşimindeki uçucu toksik maddelerin buharlaşmayla havaya karışması ve üretim dönemi yağışların yoğun olduğu aylarda gerçekleştiğinden lagünlerde meydana gelen taşmalarla yeraltı sularının kirlenmesi gibi önemli dezavantajlara sahiptir (Hocaoğlu, 2015).

4. Değerlendirme çalışmaları

Dünyada zeytinyağı üretimi yan ürünlerini/artıklarını değerlendirmeye yönelik yapılan çalışmalara baktığımızda; biyodizel, biyogaz, biyoetanol, biyohidrojen, pelet gibi alternatif enerji üretimi; hayvan beslemede yem/yem katkı maddesi; tarım arazilerinde toprak düzenleyici, gübre, kompost; gıda alanında jelleştirici, fonksiyonel gıda

üretiminde zenginleştirici katkı maddesi; ilaç, nutrasötik, kozmetik alanında koruyucu madde ve doğal nemlendirici olarak kullanımı ile biyoteknolojik uygulamalar (biyoplastik / biyopolimer, biyolojik yüzey aktif madde ve lipaz üretimi gibi) dikkati çekmektedir. Bunlardan biyoaktif maddelerin geri kazanımı ile nutrasötik maddeler, gıda ve kozmetik ürünleri üretimine (kapsül, sıvı ekstrakt, toz, çay, krem) yönelik araştırmalar son yıllarda daha çok ilgi uyandırmakla birlikte çevresel, sosyal, ekonomik ve sağlık açısından da önemli görülmektedir (Seçmeler ve Üstündağ Güçlü, 2016).

4.1. Zeytin yaprağının değerlendirilmesi

Zeytin hasadında, zeytin ağacının budanması ve işlenmesi sırasında oluşan zeytin yaprağı atıklarının zeytin yetiştiriciliği yapan pek çok bölgede, çiftlik hayvanlarının beslenmesinde ve/veya yakacak olarak kullanıldığı bilinmektedir. Zeytin yaprağı ile ilgili çalışmalar, 1900'lü yılların başlarında zeytin yaprağının yapısındaki en etkin temel bileşen olan "oleuropein" (60-90 mg/g) maddesinin izole edilmesiyle birlikte hız kazanmıştır (Özçimen vd., 2010). Zeytin yaprağında bulunan fenolik bileşikler; fenolik asitler ve türevleri, fenolik alkoller ve flavanoitlerdir (Bayram vd., 2020). Zeytin yaprağının sahip olduğu pek çok farmakolojik özellikten (antimikrobiyal, antioksidan, hipoglisemik vb.) bu maddelerin sorumlu olduğu bilinmektedir.

4.1.1. Zeytin yaprağının gıda sektöründe kullanım olanakları

Tarım ve Orman Bakanlığı'nın "Bitki Listesi"nde (Anonim, 2022) yer alan zeytin yaprağının, gıdalarda kullanımında herhangi bir kısıtlama bulunmamaktadır. Günümüzde çay şeklinde tüketilmek üzere, ekstrakt ya da kapsül formunda direkt kullanılmak üzere veya öğütülmüş toz formda çeşitli zeytin yaprağı ürünlerine piyasada sıklıkla rastlanmaktadır.

Zeytin yaprağından yapılan çay, Eski Mısırlılardan beri tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Zeytin yaprağı çayı kafein içermez ve hipertansiyon vakalarında kan basıncını düşürmeye; koroner damarları genişletip, kan akışını artırarak kalp atışını düzenlemeye yardımcı olur. Kötü kolesterol

(LDL) düzeylerini düşürerek kalbin çok daha sağlıklı bir ritme ulaşmasına yardımcı olur. Zeytin yaprağı ekstresinin, yeşil çayın antioksidan kapasitesinin iki katına ve C vitamini içeriğinin dört katına sahip olduğu bildirilmektedir. Bu çay vücudunuzun kanserojen ve zararlı kimyasallardan arındırılmasına da yardımcı olmaktadır (Amany ve Shaker,2018).

Sodyum benzoat gibi kimyasal koruyucu katkı maddelerine alternatif olarak zeytin yaprağı ekstraktının (ZYE) salçalarda doğal koruyucu olarak kullanım olanağını değerlendirdiği çalışmada Eraslan (2017), ZYE'nin kullanıldığı biber salçası örneklerinde mikrobiyal gelişimin daha az olduğunu tespit etmiş olup salça örneklerinde Koliform ve *S. aureus*'a rastlanmadığını bildirmiştir. Bu sonuçlar; zeytin yaprağında bulunan fenolik bileşiklerin mikroorganizmaların gelişimi üzerine engelleyici ve geciktirici etkileri olduğunu (antifungal ve antimikrobiyal) kanıtlar niteliktedir.

Fırınlanmış atıştırmalıklarda yağ oksidasyonunu düşürmek için zeytin yaprağı ekstraktının kullanıldığı bir araştırmada ZYE ilavesinin oksidasyonla ilişkili uçucu bileşiklerde %27'lik bir azalma sağladığı; normal depolama koşullarında indüksiyon süresi, antioksidan aktivite ve duyuşal özellikleri geliştirdiği bildirilmiştir (Difonzo vd., 2018).

Kronakii çeşidi zeytin yaprağının preslenmesiyle elde edilen konsantre ham zeytin yaprağı suyu, ayçiçeği yağına dört farklı düzeyde olacak şekilde ilave edilerek art arda 5 gün boyunca 180±5°C'de aralıklı olarak ısıtılarak bazı fiziksel ve kimyasal özellikler açısından ısıtılmamış kontrol örnekleri ile karşılaştırılmıştır. Isıtılan ayçiçeği yağlarına zeytin yaprağı suyu ilavesinin, ayçiçeği yağı stabilitesini arttırmada dikkate değer bir antioksidan aktivite sağladığı belirlenmiştir (Farak vd., 2007). Ticari mısır yağının zeytin yaprağı ve limon balsamı özleri eklenerek polifenoller açısından zenginleştirildiği diğer bir araştırmada toplam fenolik içeriğin saf mısır yağına nazaran sırasıyla 9,5 ve 2,5 kat arttığı; Karotenoit (TCC) ve klorofil içeriği bakımından ise zeytin yaprağı ekstresinin

kaliteyi daha iyi arttırdığı belirlenmiştir (Şahin vd., 2017a).

Başka bir çalışmada zeytinyağı örneklerine iki farklı dönemde hasat edilen (yaz ve sonbahar) zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktlar 1.000-1.500 ppm düzeylerinde eklenerek toplam fenolik madde ve karotenoid içeriği, oleuropein, α -tokoferol, antioksidan aktivite, peroksit değeri gibi yağ kalite parametreleri açısından incelenmiştir. Hasat zamanına göre yaprak bileşiminde değişiklikler olabildiği, örneğin sıcak yaz günlerinde fenolik bileşik konsantrasyonunda azalma eğilimi olduğu belirtilmiştir. Doğal antioksidan zeytin yaprağı ekstraktının zeytinyağına ilavesinin hem yağ stabilitesini hem de incelenen kalite parametreleri açısından (tokoferol, karotenoit, klorofil içeriği ve peroksit değeri) yağ kalitesini arttırdığı bildirilmiştir (Şahin vd., 2017b).

Araştırmalardan elde edilen bulgular; zeytin yaprağının mısır, soya, ayçiçeği ve kanola yağı gibi rafine yemeklik yağlara eklenmesinin, daha yüksek antioksidan içerik ve oksidatif stabiliteye sahip ve daha fonksiyonel özellikte yağ eldesine izin verdiğini göstermektedir. Örneğin zeytin yaprağı ekstraktı ilaveli mısır yağlarında toplam fenolik maddede 9,5 kat, antioksidan aktivitede ise 14 kat artış belirlenmiştir (Bayram vd., 2020).

Zeytin yaprağını et ve et ürünleri sektöründe değerlendirmeye yönelik yapılan bir çalışmada ZYE 100-200 $\mu\text{g/g}$ et olacak şekilde dana kıyması örneklerine eklenerek yapılan köfteler modifiye atmosfer paketlenme (%80 O₂, %20 CO₂) ile pakatlandıktan sonra 4°C'de 12 gün depolandığında oksidasyon derecesi göstergesi olan TBA değerinde %41-80 aralığında düşüş, ürün renk değerlerinden a değerinde ise aerobik olarak paketlenmiş ve MAP örneklerde a değerinde sırasıyla %22 ve %56 artış olduğu bildirilmiştir (Hayes vd., 2010). ZYE'nin köftelere eklendiği bir diğer araştırmada; ZYE katkılı köftelerde duyuşal olarak herhangi bir olumsuzluk olmadığı, raf ömrünün olumlu yönde etkilendiği ve *S. typhimurium*, *E. coli* O157:H7 ile *S. aureus* düzeylerinde önemli azalmalarla mikrobiyolojik kaliteyi iyileştirdiği tespit edilmiştir (Gökmen vd., 2016). Zeytin yaprağı

ekstraktı ve zeytin yaprağı tozu zenginleştirme amacıyla kıyma örneklerine 100-150 μg fenolik bileşik/g et oranında eklendikten sonra çiğ ve pişmiş (100°C'de su banyosunda 15 dk) halde alüminyum folyo ile paketlenerek buzdolabında 12 gün boyunca depolanarak ürün kalitesi ve stabilitesine etkileri incelenmiştir. Sonuçta, TBA değerlerinde (%25-65 aralığında), metmyoglobin oluşumunda, depolama ve çözünme kayıplarında azalmalar olduğu saptanmıştır (Aouidi vd., 2017). Fermente sucuklara zeytin yaprağı ekstraktı (0; 125; 250 ve 500 ppm) ilave edilmesinin hem serbest yağ asitliği ve TBA değerlerinde hem de laktik asit bakteri ve toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarında azalma ile sonuçlandığı belirlenmiştir (Bayram vd., 2020).

Sıcak dumanlanmış gökkuşuğu alabalığı filetolarına ZYE uygulandıktan sonra 4°C'de depolama sırasında mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinde meydana gelen değişimler incelenmiş; ZYE ile ürünün raf ömrünün arttığı ve duyuşal özelliklerinde olumsuz bir değişiklik olmadığı bu nedenle de doğal koruyucu olarak su ürünlerinde kullanılmasının önerilebileceği bildirilmiştir (Mutlu ve Bilgin, 2016).

Zeytin yaprağı ve ekstraktlarının süt ürünlerinde de kullanılabilme potansiyeli bulunmaktadır. Belirli oranda zeytin yaprağının; fermente süt ürünlerinin fonksiyonel özelliklerini, çiğ sütün yapısındaki *S. thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* gibi doğal bakterilere etki etmeden arttırabildiği bildirilmektedir (De Leonardis vd., 2008). %12 kayısı püresi ve hacim/ağırlık oranlarında %0,1, %0,2 ve %0,4 Zeytin Yaprığı Ekstraktı (ZYE) kullanarak hazırladığı meyveli yoğurtlarla yaptığı çalışmasında Peker (2012), ZYE ilavesinin meyveli yoğurtların kimyasal ve fiziksel parametreleri üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığını, ancak duyuşal açıdan kontrol örneğine göre daha fazla puan aldığını belirlemiştir. Ayrıca ZYE ilaveli yoğurtların antioksidan kapasitesinin depolama süresince kontrol örneğine göre yüksek olduğunu ve ZYE'nin yoğurt bakterilerinden *S. thermophilus* için aktivatör özelliği gösterdiğini tespit etmiştir.

4.1.2. Zeytin yaprağının hayvan beslemede kullanımı

Zeytin yaprakları protein bağlayan kondanse tanin içeriği nedeni ile çeşitli şekilde kurutularak hayvan beslemede kullanılmıştır. Kurutma işlemleri ile tanin içeriği azaldığı gibi içerdiği besin madde sindirilebilirlikleri de olumlu etkilenmiştir (Dalkılıç, 2018)

Zeytin yaprağı ekstraktlarının erkek ve dişi tavşanlarda glikoz ve lipit profiline etkisinin incelendiği çalışmada, ZYE verilen gruplarda kan şekeri seviyesinde ve erkek tavşanlarda kötü kolesterol seviyesinde (LDL-C) önemli bir düşüşe; her iki cinsiyette de iyi kolesterolde (HDL-C) önemli bir artışa neden olmuştur. (Sultan ve Abdl-Alrhman, 2006).

Özdemir ve Azman (2013) yaptıkları araştırmada bildircin karma yemlerine 80 ve 120 ppm Oleuropein (OLE) olacak şekilde ZYE ilave etmişlerdir. Ve incelenen gruplar arasında canlı ağırlık, günlük canlı ağırlık artışı, ortalama günlük yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı (YYO) bakımından farklılık tespit edilmezken ($P>0,05$), OLE-120 grubunun yumurta ağırlığı ($P<0,01$) ve yumurta randımanının istatistiksel olarak daha düşük olduğunu saptamışlardır ($P<0,001$).

Süt hayvanlarında zeytin yaprakları kullanımı ile performans olumsuz etkisi olmadan süt kalitesini değiştirdiği tespit edilmiştir. Laktasyondaki koyun ve keçilerde kaba yem olarak zeytin yaprağı kullanımının sütte yağ asidi profilinde özellikle oleik ve linoleik asitte artış sağladığı dikkat çekmiştir (Dalkılıç, 2018)

4.2. Pirinanın değerlendirilmesi

Gıda sektöründeki kullanımları, pirina yağı ve yakıt elde edilmesi, çeşitli teknolojiler kullanılarak pirinadan enerji eldesi, yağı alınarak kozmetik gibi çeşitli sektörlerde kullanılması, hayvan beslemede değerlendirilmesi ve pirinadan kompost elde edilmesi pirina değerlendirme yöntemleri olarak sayılabilmektedir (Hocaoğlu, 2015).

4.2.1. Pirinanın gıda sektöründe kullanım olanakları

Suárez vd. (2010), sızma zeytinyağını zenginleştirmek amacıyla pirinadan ekstrakte

ettikleri fenolik bileşiklerini kullandıkları çalışmalarında ekstrakt eldesinde kullanılan etil asetat nedeniyle pirinalı örneklerin kötü tat ve kokuda olduğunu; ancak toplam fenolik madde miktarı, oksidatif stabilite, acılık indeksi, klorofil ve karotenoit miktarının önemli düzeyde arttığını bildirmişlerdir.

Fonksiyonel gıdalar sektöründe en çok tercih edilen ürünler arasında, tahıl ürünleri ikinci sırada yer almaktadır. Fonksiyonel ekmek elde etmek amacıyla genellikle diyet lif ve polifenollerce zenginleştirme uygulanmaktadır. Cecchi vd. (2019) kurutulmuş pirina ile zenginleştirilmiş ekmeği duysal açıdan ele almışlardır. Ekmek iç renginin zenginleştirmeden olumsuz etkilendiğini (daha gri ve koyu hale geldiği), pirinalı ekmeklerde iç sertlik, kırıntı ve çignenebilirliğin yüksek, mayalanma derecesinin ise kontrolden daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Ekmeğin duysal ve besinsel karakteristikleri üzerine zeytinyağı atıklarının etkisini incelemeye yönelik yapılan bir başka araştırmada pirinalı örneklerdeki polifenollerinin glisemik yanıtı ve biyo-erişilebilirliği de incelenmiştir. Pirinanın *in vitro* ortamda fenolik içeriği kararlı bulunduğundan zenginleştirmenin glisemik indeksi azalttığı, ekmek kabarcık oluşumunu etkilediği, tat ve renk açısından kontrol örneğiyle küçük farklılıklar olsa da %10 zenginleştirilmiş ekmeğin genel olarak kabul edilebilir olduğu bildirilmiştir (Cedola vd., 2019). Pirinayı bileşimi nedeniyle fonksiyonel madde olarak bisküvi ve ekmek formülasyonlarında kullandıkları çalışmalarında araştırmacılar; pirina ile yapılan zenginleştirmenin özellikle mayalanmış ürünler olmak üzere tüm ürünlerde fenolik içerik bakımından artış sağladığını, maya fermantasyonunun tokoferol konsantrasyonunu da artırdığını belirlemişlerdir (Di Nunzio vd., 2020). Glutensiz galeta formülasyonunda kaliteyi arttırmak için mısır unu yerine %1, %2 ve %3 oranında zeytin küspesi tozu ekleyerek dokusal, duysal ve besinsel özellikler üzerindeki etkisini değerlendiren De Gennaro vd. (2022) zenginleştirilmiş numunelerde zeytin küspesi oranı yükseldikçe yağ, kül, nem ve toplam diyet lif miktarında artış; sertlikte

azalış ile genel beğenide bir iyileşme olduğunu belirlemişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada pirina tozu, formülasyondaki buğday irmiğiyle yer değiştirilerek 5 g/100 g ve 10 g/100 g olacak şekilde makarna üretiminde kullanılmıştır. Pirina içeriğindeki diyet lif nedeniyle zenginleştirilmiş makarnaların pişirme süresi azalmış, pişme kaybı ve su emilimi artmıştır. Yapışkanlık, sertlik ve kızarıklıkta (a*) artış, b* renk değerinde (sarılık) bir azalış görülmüştür. Pirina varlığı örneklerin nişasta fraksiyonlarının sindirilebilirliğini de olumlu etkilemiştir (Simonato vd., 2019). Makarna üzerine yapılan bir başka çalışmada pirina kurutulup öğütülerek un haline getirildikten sonra ağırlıkça %10 ve %15 oranlarında hamura eklenerek makarnanın kimyasal bileşim, pişirilme ve duyu kalitesine etkileri irdelenmiştir. Pirina katkılı numunelerin lif, tokoferol ve karotenoidlerce daha zengin ve %10 katkılı makarnaların daha kabul edilebilir olduğu belirlenmiştir. Daha sonra kaliteyi arttırmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda transglutaminaz ilavesi denenmiştir. %0,6 transglutaminaz ilavesinin makarnaların elastikiyet, yapışkanlık ve hacimlilik açısından genel kalitesini artırdığı bulunmuştur (Padalino vd., 2018). Kurutulmuş pirinanın, yumurtalı makarnaya eklenerek duyu özellikleri açısından incelendiği başka bir çalışmada zenginleştirilmiş makarnanın renk, renk stabilitesi, zeytinyağı ve buğday unu lezzetindeki artışla kontrol makarnasından farklı olduğu saptanmıştır (Difonzo vd., 2020).

Lin vd. (2017) tarafından beyaz un(A) ve pirina tozu(B) sırasıyla 100(A):0(B), 90(A):10(B), 85(A):15(B) ve 80(A):20(B) oranlarında karıştırılarak bisküvi yapılmış, doku ve görünüş bakımında yüksek kabul edilebilirlikte, diyet lif bakımından zengin, daha düşük glisemik indeks ve enerji değerinde bisküviler elde edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar %5 kurutulmuş pirina ile hazırladıkları atıştırmalıklarla (granola bar) kontrol örnekleri arasında aroma bakımından anlamlı bir fark olmadığını, sadece acılık ve renk özelliklerinin örnekleri farklılaştırdığını bildirmişlerdir (Cecchi vd., 2019).

Muño vd. (2017)'nin pirinanın et ürünlerinde kullanımına yönelik olarak İspanya'da yaptıkları çalışmada, Omega 3 yağ asitleriyle zenginleştirilmiş yüksek oksijenli MAP ambalajlı kuzu eti köftelerinin buzdolabı koşullarında 9 gün depolanması sırasında oksidatif stabilite ve duyu özelliklerinde meydana gelen değişimi incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre pirina ekstraktının köftelerde doğal antioksidan olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu görülmüştür. Ekstrakt ilavesiyle köftelerin yağ ve protein oksidasyonu azalmış, kabul edilebilir renk stabiliteyi 3 gün daha uzamıştır.

Kuru pirina unu, zenginleştirme ve kalite özelliklerini artırma amacıyla balık burgerlere eklendiğinde fenolik içerik ve antioksidan aktiviteyi artırırken özellikle pişirilen burgerlerde renk, doku, koku ve tatta (polifenoller nedeniyle) bozulmalara neden olmuştur (Cedola vd., 2017).

Pirinadan gıdalarda jelleştirici ve kıvam verici olarak kullanılan kompleks bir polisakkarit olan pektinin geri kazanımına yönelik çalışmalar da mevcuttur. 2015 yılında yapılan bir çalışmada 160°C (30, 45 ve 60 dk) ısı işlem görmüş pirinadan etil asetat ekstraksiyonuyla pektin elde edilmiş ve ticari olanlarla kıyaslanmıştır. Pirina pektininin düşük su tutma ve yüksek yağ tutma kapasitesiyle emülsiyon stabilitesi olarak elma pektinine benzer olduğu, in-vitro denemelerde ise serum kolesterol seviyesini düşürmeye ve bağırsak kanseri riskini azaltmaya katkıda bulunabileceği belirlenmiştir (Rubio-Senent vd., 2015).

Pirinadan mikrobiyal fermantasyonla (30°C'de 120 saat) doğal aroma maddelerinin üretilmesi olanaklarının araştırılmasına yönelik bir çalışmada *Torulaspota delbrueckii*'nin pirinadan gül ve nane; *Trichoderma atroviride*'nin ise mantar ve 2-oktenol (yanık aroma) ürettiği belirlenmiştir (Güneşer vd., 2014).

Aktif ambalajlama, ürünü dış etkenlerden korumada bariyer olarak kullanılan ambalaj materyaline ekstra özellikler kazandırılması olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde bilim insanları gıda kayıplarını azaltabilen çevre

dostu ambalajlar geliştirmeye yönelmişlerdir. Pirinanın antioksidan özelliği yüksek olduğundan ambalaj sektöründe de kullanımına yönelik denemeler yapılmaktadır. Bunlardan birinde De Moraes Crizel vd. (2018) pirinayı -40°C 'de liyofilize edip, öğütüp eledikten (500 nm'den küçük parçacıkları ayırmak için) sonra kitosan filmlere farklı konsantrasyonlarda (%10, %20 ve %30) ilave ederek antioksidan, optik, bariyer ve mekanik özelliklerini araştırmışlardır. Pirina ilavesiyle antioksidan özelliğin geliştiğini, kitosan filmin daha pürüzlü bir hal aldığını ve gerilme mukavemetinin arttığını (%10 pirina konsantrasyonunda); %30 pirina unu içeren filmlerin, fındıkları oksidasyona karşı korumada 31 gün etkili olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada pirina ilaveli kitosan kaplama soğuk depolanmış çilekte kullanılıp ticari kaplamayla kıyaslanırken kaplanmamış meyveler kontrol örneğini oluşturmuştur. Kontrol meyvelerinde çürüme alanı ve lipit peroksidasyonu göstergesi olan malondialdehit miktarının pirina katkılı filmlerle kaplanmış örneklerle kıyasla önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir (Lammi vd., 2018).

Tek kullanımlık tabak, çatal, bardak gibi ürünlerde kullanılan biyoplastiklerin üretiminde pirinanın kullanımına dair Türkiye'de yapılan bir çalışmada; pirinadan önce %10 (ağırlık/hacim) KOH kullanılarak alkali ekstraksiyon yöntemiyle selüloz ve hemisellüloz fraksiyonları özütlenmiş sonra suda çözünür hemisellüloz fraksiyonundan doğrudan ve plastikleştirici olarak sorbitol eklenerek biyofilm üretimi denenmiştir. En iyi sonucun, %10 (ağırlık/hacim) sorbitol eklenerek elde edildiği bildirilmiştir (Demir ve Sutay Kocabaş, 2014).

4.2.2. Pirina yağı

Pirinadan ekstraksiyon işlemi ile yağ elde edilmektedir ancak bu işlem bekletilmeden yapılmalıdır. İki çeşit pirina yağı vardır; rafine pirina ve karma yağ. Rafine pirina yağı, yağın doğal yapısında değişiklik yapmadan rafine edilmesi sonucu oluşur. Karma pirina yağı ise, doğrudan gıda olarak tüketebilecek natürel

zeytinyağı ile yemeklik rafine yağın karışımıdır (Hocaoğlu, 2015).

Pirinanın yapısındaki yağ ikinci kalite tüketilebilir yağ olarak adlandırılmaktadır. Pirinanın nem içeriği kurutma ile %10'a düşürüldükten sonra çözgen ekstraksiyonu (genellikle n-hekzan) ile elde edilmektedir. Pirina döner tip kurutucularda $400-800^{\circ}\text{C}$ aralığında değişen sıcaklıklarda kurutulmaktadır. Bu esnada şekerlerin polimerleşmesi ve yanma dumanlarının etkisiyle poliaromatik hidrokarbonlar (PAH) ortaya çıkmaktadır. Gıdaların yüksek sıcaklıkta işlenmesi sırasında oluşabilen bu kanserojen maddeler kurutulan pirina için önemli kalite kriterleri arasında yer almaktadır (Baysan vd., 2017).

4.2.3. Pirinanın hayvan beslemede kullanımı

Türkiye'deki büyükbaş ve küçükbaş hayvan sayıları ile bunların beslenmesi için gerekli olan ortalama kaba yem miktarları dikkate alındığında ciddi bir kaba yem açığının bulunduğu ve bu açığı kapatmak amacıyla yem maliyetlerini de düşürebilecek pirina gibi bazı yan ürünlerin kullanımının önemli bir alternatif olacağı düşünülmektedir (Hocaoğlu, 2015). Ancak bilindiği üzere zeytin hasadı ve dolayısıyla pirina üretimi yılda bir kez ve belirli aylarda yapılmaktadır. Bu nedenle pirinanın yıl içerisinde hayvan beslemede kaba yem kaynağı olarak kullanılması için kısa süre içerisinde yağı alındıktan sonra silajlarının yapılması ya da uygun silolama tekniklerinin kullanılarak saklanması gerekmektedir (Boğa, 2017).

Zeytinyağı üretiminin diğer yan ürünlerine nazaran hayvan beslemede pirina kullanımı daha yaygındır ancak kimyasal bileşimi, hayvan beslemede kullanımını etkilemektedir (Boğa, 2017). Pirinanın lif içeriği yüksek, ham protein miktarı ise düşüktür. Pirinanın büyük çoğunluğu organik maddeden oluşmaktadır. 2-faz pirinanın kısa sürede oksitlenmemesi nedeniyle hayvan yem maddesi olarak değerlendirilme potansiyeli daha yüksektir (Baysan vd.,2017). Kurutulmuş pirina (%10) ile beslemenin süt sığırlarında süt ve peynirin özelliklerine etkilerini belirlemeye yönelik yapılmış çalışmada; yağ asidi bileşimi, toplam tokoferol ve hidroksitirozol içeriği bakımından

pirinalı beslemenin daha iyi olduğu, tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerinde artış, doymuş yağ asitlerinde ise bir azalış olduğu, duyuşal olarak kontrol örneği ile fark olmadığı ve hatta daha kaliteli süt elde edildiği bildirilmiştir (Castellani vd., 2017). Pirina yüksek selüloz, tanen ve fenolik bileşikler içerdiği için rumende selüloolitik mikroorganizmalara zarar verse de ruminant hayvanlarda alternatif yem olarak rasyonun %15'ine kadar performansa zarar vermeden kullanılabilir (Dalkılıç, 2018).

Zeytin küspesinin (pirina) düşük kaliteli yemleri daha iyi değerlendirebilen küçükbaş hayvanları beslemedeki kullanımı, gereksinimleri daha yüksek olan verimli süt ineklerindeki oranla daha uygundur. Chiofalo vd., (2004) pirinayı tek ve E-vitamiyle kombine şekilde süt rasyonlarının beslenmesinde kullanarak süt verimi, süt bileşimi, yağ asidi kompozisyonu ve pıhtılaşma özelliklerine etkisini belirlemeye çalışmışlardır. 15 günlük periyotlarla aldıkları örneklerin analiz sonuçlarına göre; en yüksek protein ve kazein yüzdelerine kontrol örneklerinde rastlanmıştır. Pirina ilavesi süt veriminin yanında sütte yağ oranı miktarı ve kalitesini arttırmış, E- vitaminli pirina grubunun pıhtılaşma süresi azalmıştır ve böylece bir yandan atık bir ürün geri kazanılmış bir yandan da rasyon maliyeti düşürülmüştür. Başka bir çalışmada, konsantre yeme %35 oranında çekirdeği alınmış pirina ilavesiyle 40 gün boyunca beslenen kuzuların etinde çoklu-doymamış yağ asitleri ve vitamin E düzeyleri ile etin oksidatif stabilitesi ve raf ömrünün arttığı bildirilmiştir (Luciano vd., 2013). İki farklı konsantrasyonda (%15 ve %30) pirina içeren yemlerle 50 gün boyunca beslenen kuzularda canlı ağırlık, karkas karakteristikleri ve etlerinin kimyasal yapısına pirinanın etkisi araştırıldığında, %15 pirinanın günlük canlı ağırlık artışı ve karkas ağırlığına olumsuz etkisi olmadığı görülmüştür (Boğa, 2017).

Tavuk beslemede pirina kullanımına dair bir araştırmada ise kontrol diyeti, düşük doz ve yüksek doz pirina olmak üzere üç farklı diyetle beslenen tavuk gruplarının artan pirina konsantrasyonuna paralel olarak büyüme oranları da artmıştır. En yüksek seviyede pirina

uygulanması, etin antioksidan durumu ve oksidatif stabilitesini pozitif etkilemiştir. Tavuk etlerinde tüketiciler tarafından duyuşal açıdan farklılık algılanmamıştır (Branciaro vd., 2017). Başka bir çalışmaya göre, yumurta tavukları pirina takviyeli yemle beslendiğinde yumurta sarısındaki kolesterol seviyesi kontrol yumurtalarından daha düşük bulunmuştur (Difonzo vd., 2020).

Pirinanın %3 oranında melas ile silajının yapılması ile iyi bir silaj kalitesi elde edilmiş ve ruminantlarda protein kullanımını ve mikrobiyel protein sentezini sınırlandıran polifenol içeriğinde %40 azalma oluşturduğundan ruminant beslemede daha rahat kullanılabilir (Dalkılıç, 2018).

4.3. Karasuyun değerlendirilmesi

Türkiye'de mevzuat gereği karasuyun alıcı ortama deşarj parametrelerini sağlaması ve bunun için de artırılması gerekmektedir. Karasuyun arıtımında ve bertaraf edilmesinde; doğal arıtma, fiziksel arıtma, kimyasal arıtma, biyolojik arıtma, elektroliz yöntemi, karasu çamurunun stabilizasyonu, fermantasyona tabi tutularak değerli son ürünlere dönüştürme, tek hücre proteini elde etme, buharlaştırma, membran prosesleri ile arıtma gibi yöntemler uygulanmaktadır.

Karasuya farklı yöntemler uygulanarak gıda endüstrisinde, lagünlerde buharlaştırmada, kompost üretiminde, sulamada, katı yakıt ve gübre olarak değerlendirilmeye çalışılmaktadır (Uzun ve Seferoğlu, 2017).

Karasuda yüksek oranda bulunan ve arıtımını zorlaştıran fenolik bileşikler, insan sağlığı için faydalı antioksidan özellik taşıyanlardır (İnan vd., 2013). Antioksidanlar, hücrelerin dış etkenlerden korunması ve sağlıklı yaşamlarına devam edebilmesi için son derece önemli maddelerdir. Gıda endüstrisinde doğal antioksidanlar olarak enzimlerin kullanımı çok yaygındır. (Değirmenbaşı, 2016).

Elibol vd., (2008) yılında yürüttükleri projede, karasuyun 1:1 oranında çeşme suyuyla karıştırıp içerisine %1 maya özütü (YE) ve %1 oranında mısır yağı ilave ederek dört farklı mikroorganizma (*Rhizopus oryzae*, *Circinella sp.*, *BIM*, *Streptomyces sp.*, *EUB* ve *Starmerella*

bombicola) ile fermantasyona tabi tutmak kaydıyla lipaz üretiminde substrat olarak kullanımını incelemişlerdir. Fermantasyon sıvısından saf lipaz elde etmişler ve lipaz üretimi için ortama azot ilavesinin yapılmasının gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Zeytin karasuyundan *Rhodotorula glutinis* mayası kullanılarak mikrobiyal lipit ve yüksek aktiviteli mikrobiyal kaynaklı süperoksit dimutaz (SOD) ve katalaz (KAT) enzimleri üretilmesi çalışmasında; gliserol eklenen zeytin karasuyu ortamında çoğalan hücrelerde kuru hücre başına üretilen toplam lipit miktarı %52 (a/a) olarak bildirilmiştir. Ayrıca *R. glutinis* tarafından zeytin karasuyu ortamında üretilen enzimlerin aktivitelerinin aynı mayanın sentetik ortamlarda ürettiği aynı enzimlerin aktivitelerine yakın olduğu belirlenmiştir (Takaç, 2015). *Aspergillus oryzae* ile nötral proteaz zeytin kekinden üretilen enzimler arasındadır (Değirmenbaşı, 2016).

Lakkaz, gıdaların renklerinin artırılması, kâğıt ve kâğıt hamurundan ligninin ayrıştırılması ve uzaklaştırılması, tekstil ürünlerinin ağartılması, tekstil atık suyunun biyolojik parçalanması ve renksizleştirilmesi vb. uygulamalarda biyokatalizör olarak kullanılan bir enzimdir. Zeytin karasuyunun *Trametes versicolor* küf varlığında lakkaz enzimi üretiminde substrat olarak kullanıldığı bir çalışmada zeytin karasuyunun lakkaz üretimi için %60 ve altındaki değerlerde seyreltilmesi gerektiği; ortama azot kaynağı eklemenin lakkaz aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir (Sukan vd., 2001).

İtalya'da yapılmış bir çalışmada pirina ve karasuyun ekmek ve spagetti formülasyonlarında hem ayrı ayrı hem de birlikte kullanımının ürünlerin toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktivite ile duysal özelliklerine etkileri incelenmiştir. Pirina ile zenginleştirme örneklerin hem fenolik madde içeriğini hem de antioksidan aktivitelerini önemli ölçüde iyileştirirken, çok acı ve baharatlı bir tat vermesi nedeniyle duysal özellikleri olumsuz etkilemiştir. Zenginleştirilmiş örnekler toplam kalitede elastikiyet, sertlik, yapışkanlık ve renk gibi görsellik kriterleri açısından kontrol

örneklerinden düşük bulunmuştur (Cedola vd., 2020).

Karasudan laboratuvar ölçeğinde fenolle zenginleştirilmiş sirke üretimi ve birkaç ticari sirke (Elma, şarap ve balsamik ticari sirke örnekleri) ile karşılaştırılması denenmiştir. Bu amaçla karasu 121°C'de 15 dakika sterilize edilerek ve doğrudan olmak üzere iki farklı şekilde, iki farklı yöntemle (maya ilavesi ve spontan fermantasyon) sirkeye işlenmiştir. 4 haftalık pH ölçümleri sonucunda sadece sterilize edilmeden maya ilaveli fermantasyona bırakılmış karasu örneklerinde asetik asit üretimi (yaklaşık %2,0) elde edilmiştir. Elde edilen bu zeytin sirkesi ürünü karanlık ve serin ortamda 15 ay depolandıktan sonra karakterize edilmiş olup pH'sı 2,92, asetik asit cinsinden toplam asitliği %5,6, kül içeriği yüksek (%2), mineral madde bakımından zengin, toplam fenol miktarı ise gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak 3600 mg/L olarak belirlenmiş; canlı bakteri ve maya hücrelerine rastlanmamıştır (De Leonardis vd., 2018).

Domates sosunun yağlı fazına karasudan elde edilen fenolik ekstraktan (40 ve 60 mg fenol /g) eklendiğinde α -tokoferol gibi besleyici madde içeriğinde %50 den fazla artış olduğu, karotenoidlerdeki artışın ise artan ekstrakt konsantrasyonuyla orantılı olarak gerçekleştiği belirlenmiştir (Galanakis, 2018).

Mikdame vd. (2020) yaptıkları çalışmada tereyağına 2, 4, 6, ve 8 mg/100 g olmak üzere dört farklı konsantrasyonda karasu, pirina ve sentetik antioksidan olarak 3×10^3 UI/100 g askorbik asit ilave ederek kontrol örnekleriyle antioksidan aktivite, iki farklı sıcaklıkta (25°C ve 60°C'de) depolama sonrası peroksit sayısı, asitlik ve mikrobiyolojik kriterler açısından kıyaslamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, zeytin yan ürünleri katkılı tereyağı örnekleri kontrol tereyağlarına göre daha az okside olmuşlardır. Oksidasyon stabilitesi karasu katkılı örneklerde pirina katkılı olanlardan daha yüksektir. Antioksidan etki açısından ise pirina polifenolleri en yüksek değere sahip bulunmuştur.

Karasudan kazanılmış ham fenolik ekstrakt pişmiş ve soğuk depolanan et toplarına 50-100mg/L oranında ilave edildiğinde yağ

oksidasyonunun 1/3'e kadar azaldığı, ancak duyusal açıdan 100mg/L ekstrakt içeren örneklerin lezzet bakımından en düşük olduğu bildirilmiştir (Tornberg ve Galanakis, 2014). Yine bir başka çalışma alkollü fermente salamlara eklenen karasu ekstraktının 45 gün sonunda listeriosis enfeksiyonunun sebebi gıda kaynaklı bir patojen olan *L. monocytogenes*'in gelişimini önemli düzeyde inhibe ettiğini göstermiştir (Veneziani vd., 2017).

Tavuk göğüs etine koruyucu ajan olarak karasu fenolik konsantresi uygulanmıştır. Örnekler ambalajlanıp depolanmadan önce (4°C'de) 60 sn konsantreye daldırılmıştır. Sonuçta fenolik konsantreye daldırılan tavuk etlerinin oksidasyon derecesinin göstergesi olan TBAR değerleri önemli ölçüde düşükken raf ömrünün 2 güne kadar uzadığı, ürün yüzey renginin sarıya doğru döndüğü ve kontrol örneklerine kıyasla daha kabul edilebilir kokuda oldukları saptanmıştır (Galanakis, 2018). Sahip olduğu antimikrobiyal etkiyle ürünü korumak ve duyusal özelliklerini geliştirmek amacıyla beyaz etten hazırlanan hamburgerlere 750 ve 1.500 mg/kg et oranında karasu ekstraktı eklenip paketlenerek 4°C'de 11 gün saklanmıştır. Böylece mikrobiyal gelişmede uzun bir gecikme sağlandığı, ekstrakt içeren örneklerin duyusal açıdan kontrol örneklerinden daha koyu renk ve hafif (ama hoş olmayan) zeytin tadıyla farklı olduğu belirlenmiştir (Veneziani vd., 2017).

Sordini vd. (2019) yaptıkları çalışmada kızartma esnasında istenmeyen bileşiklerin oluşumunu geciktirerek kızartma yağının oksidatif stabilitesini arttırmak ve kullanım ömrünü uzatmak amacıyla dondurulmuş patatesleri karasu fenolik ekstraktı eklenmiş rafine zeytinyağında 8 dakika boyunca 180°C'de kızartmışlardır. Butillenmiş hidrokstitoluen (BHT) ile zenginleştirilmiş yağın karşılaştırma amacıyla kullanıldığı araştırmada, ekstrakt ilavesiyle kızartma yağı ve kızartılmış patateslerde antioksidanlar korunurken akrolein-akrilamid-heksanal gibi istenmeyen maddelerin oluşumunun engellendiğini bildirmişlerdir.

Başka bir araştırmada karasudan fenol ekstraktı elde edilip su zenginleştirmede kullanılarak fonksiyonel bir içecek oluşturma

denenmiştir. Bu amaçla maden sularına 50 ve 100 mg Tyrosol/L olacak şekilde ekstrakt ilave edilerek karıştırılmış, yaklaşık 50 g fruktoz, 10 g siyah kiraz aroması ve kırmızı gıda renklendirici zenginleştirilmiş sulara eklenerek aseptik olarak steril cam şişelerde (60 ml kapasiteli) 4°C'de ve 25°C'de 60 güne kadar depolanmıştır. Depolamada örneklerin pH değerleri 2,5-4,0 arasında değişiklik gösterirken, ekstrakt ilavesinin örneklerde mezofilik aerobik mikroorganizma, maya ve laktik bakterilerin gelişimini engellediği, kimyasal ve antioksidan stabilite sağladığı belirlenmiştir (Romeo vd., 2019).

Karasu fenolik ekstraktlarının gıda endüstrisinde kullanımlarına genel olarak bakıldığında bitkisel yağlarda lipid oksidasyonunu geciktirme; gıda emülsiyonlarında, süt ürünlerinde ve diğer model gıdalarda duyusal açıdan yüksek kabul edilebilirlik gösterme; antimikrobiyal ajan olarak kullanım olasılığı gibi umut verici yaklaşımların gıdaların besinsel ve teknolojik kalitesini iyileştirmek için geliştirilerek genişletilebileceği düşünülmektedir (Caporaso vd., 2018).

5. Sonuç

Dünyada endüstriyel atık miktarı ve çeşitliliği gün geçtikçe artmaktadır. Gıda endüstrisi atıkları, yapılarında değerli maddeler içeren ve aynı zamanda değerli maddelere dönüşme potansiyeline sahip olan önemli bir gruptur. Ülkemiz için stratejik öneme sahip bir ürün olan zeytinin yağa işlenmesi sırasında ortaya çıkan zeytin yaprağı, pirina ve karasu sahip oldukları içerik göz önüne alınıp kaynak olarak düşünüldüğünde ekmekten, makarnaya, ambalajdan, kaba yem kaynağına gıda ve yem sektöründe çeşitli amaçlarla kullanım olanağına sahiptir. Bu zeytinyağı üretimi atık/yan ürünleri doğru kullandıklarında hem çevre kirliliğini önleme hem de ülkelerin ekonomisine katkı sağlama potansiyelindedirler.

6. Kaynaklar

Akbaş, T. (2001). Zeytinyağı işletmeleri için atık su değerlendirme sisteminin geliştirilmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 76. Aydın

- Akgün, M. (2012). Zeytin Karasuyundan Hidrojen ve Biyoyakıt Üretimi. *TÜBİTAK, proje no: 108M546*, Ankara.
- Aktaş, A., ve Özer, S. (2014). Ham Pirina Yağının Biyodizel Potansiyelinin Araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(1), 132–139.
- Amany, M. B. and Shaker, M. A.(2018). Olive Leaves Healthy Alternative for Green Tea. *Curr Trends Biomedical Eng & Biosci.*; 15(4): 555919. DOI: 10.19080/CTBEB.2018.15.555919.
- Anonim (2004). Çevre ve Orman Bakanlığı “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği”. (Mevzuat No: 2004/7221) *Resmi Gazete Sayısı: 25687*.
- Anonim (2005). Çevre ve Orman Bakanlığı “Isınmadan Kaynaklanan Hava Kirliliğinin Kontrolü Yönetmeliği” (Mevzuat No: 2005/7265). *Resmi Gazete Sayısı: 25699*.
- Anonim (2017). Türk Gıda Kodeksi “Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği” (Tebliğ No: 2017/26). *Resmi Gazete Sayısı: 30183*.
- Anonim (2021). <https://www.marmarabirlik.com.tr/sorular/zeytinyagi-hakkinda> Erişim tarihi: 13.12.2021
- Anonim (2022). Tarım ve Orman Bakanlığı Bitki Listesi <https://kms.kaysis.gov.tr/Home/Goster/190166?AspxAutoDetectCookieSupport=1> Erişim tarihi: 18.06.2022
- Aouidi, F., Okba, A., and Hamdi, M. (2017). Valorization of functional properties of extract and powder of olive leaves in raw and cooked minced beef meat: Effect of olive leaves on meat. *J Sci Food Agric 2017*; 97: 3195–3203. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8164>
- Bayram, M., Topuz, S., ve Kaya, C. (2020). Zeytin Yaprağı Ekstraktı ve Oleuropeinin Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivitesi, Gıdalarda Kullanım Olanakları. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(2), 337–347.
- Baysan, U., Koç, M., and Ertekin Kaymak, F. (2017). 2-Fazlı Zeytin Pirinasının Değerlendirilmesinde Kurutmanın Önemi. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(5), 451–458.
- Boğa, M. (2017). Zeytinyağı Yan Ürünlerinin Ruminant Beslemede Kullanım Olanakları. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(5), 451–458.
- Branciaro, R., Galarini, R., Giuseppe, D., Trabalza-Marín, M., Forte, C., Roila, R., Miraglia, D., Servili, M., Acuti, G., and Valiani, A. (2017). Oxidative status and presence of bioactive compounds in meat from chickens fed polyphenols extracted from olive oil industry waste. *Sustainability (Switzerland)*, 9(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/su9091566>
- Caporaso, N., Formisano, D., and Genovese, A. (2018). Use of phenolic compounds from olive mill wastewater as valuable ingredients for functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(16), 2829–2841. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1343797>
- Castellani, F., Vitali, A., Bernardi, N., Marone, E., Palazzo, F., Grotta, L., and Martino, G. (2017). Dietary supplementation with dried olive pomace in dairy cows modifies the composition of fatty acids and the aromatic profile in milk and related cheese. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8658–8669. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12899>
- Cecchi, L., Schuster, N., Flynn, D., Bechtel, R., Bellumori, M., Innocenti, M., Mulinacci, N., and Guinard, J. X. (2019). Sensory Profiling and Consumer Acceptance of Pasta, Bread, and Granola Bar Fortified with Dried Olive Pomace (Pâté): A Byproduct from Virgin Olive Oil Production. *Journal of Food Science*, 84(10), 2995–3008. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14800>
- Cedola, A., Cardinali, A., Del Nobile, M. A., and Conte, A. (2017). Fish burger enriched by olive oil industrial by-product. *Food Science and Nutrition*, 5(4), 837–844. <https://doi.org/10.1002/fsn3.461>
- Cedola, A., Cardinali, A., Del Nobile, M. A., and Conte, A. (2019). Enrichment of Bread with Olive Oil Industrial By-Product. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, 9(2), 119–127. <https://doi.org/10.17265/2161-6264/2019.02.005>

- Cedola, A., Cardinali, A., D'Antuono, I., Conte, A., and Del Nobile, M. A. (2020). Cereal foods fortified with by-products from the olive oil industry. *Food Bioscience*, 33(May 2018), 100490. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100490>
- Chiofalo, B., Liotta, L., Zumbo, A., and Chiofalo, V. (2004). Administration of olive cake for ewe feeding: Effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research*, 55(1–3), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.12.011>
- Çelik, G., Seven, Ü., ve Güçer, Ş. (2008). Zeytin karasuyunun değerlendirilmesi. *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*, 1, 162–167.
- Dalkılıç, B. (2018). Zeytinyağı Endüstrisi Yan Ürünlerinin Hayvan Besleme Alanında Değerlendirilme Olanakları. *El-Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5(3), 904–913. <https://doi.org/10.31202/ecjse.433078>
- De Gennaro, G.; Difonzo, G.; Summo, C.; Pasqualone, A.; Caponio, F. (2022). Olive Cake Powder as Functional Ingredient to Improve the Quality of Gluten-Free Breadsticks. *Foods* 2022, 11, 552. <https://doi.org/10.3390/foods11040552>
- De Leonardis, A., Aretini, A., Alfano, G., MacCiola, V., and Ranalli, G. (2008). Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea Europaea L.*) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology*, 226(4), 653–659. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0574-3>
- De Leonardis, A., Macciola, V., Iorizzo, M., Lombardi, S. J., Lopez, F., and Marconi, E. (2018). Effective assay for olive vinegar production from olive oil mill wastewaters. *Food Chemistry*, 240(May 2017), 437–440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.159>
- De Moraes Crizel, T., De Oliveira Rios, A., D. Alves, V., Bandarra, N., Moldão-Martins, M., and Hickmann Flôres, S. (2018). Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. *Food Hydrocolloids*, 74, 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.007>
- Değirmenbaşı, D. (2016). Zeytinyağı Fabrikası Sıvı Atığından Antioksidan Enzimler Üretimi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi-105 s.* Ankara.
- Demir, A. N., ve Sutay Kocabaş, D. (2014). Zeytinyağı Endüstrisi Atığı Pirinadan Biyobozunur Film Üretimi. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Gıda Mühendisliği 5. Öğrenci Kongresi 24-25 Nisan 2014.*
- Di Nunzio, M., Picone, G., Pasini, F., Chiarello, E., Caboni, M. F., Capozzi, F., Gianotti, A., and Bordoni, A. (2020). Olive oil by-product as functional ingredient in bakery products. Influence of processing and evaluation of biological effects. *Food Research International*, 131(December 2019), 108940. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108940>
- Difonzo, G., Pasqualone, A., Silletti, R., Cosmai, L., Summo, C., Paradiso, V. M., and Caponio, F. (2018). Use of olive leaf extract to reduce lipid oxidation of baked snacks. *Food Research International*, 108(March), 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.034>
- Difonzo, G., Troilo, M., Squeo, G., Pasqualone, A., and Caponio, F. (2020). Functional Compounds From Olive Pomace to Obtain High-Added Value Foods - A Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, May. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10478>
- Elibol, M., Yaşa, İ., Karaçancı, Ş., Çoban, I., ve Özsoy, G. (2008). Zeytinyağı İşletmeleri Katı (Pirina) ve Sıvı (Karasu) Atıklarından Mikrobiyal Lipaz Üretimi. *TÜBİTAK, proje no: 106M464*, İzmir.
- Eraslan, Z. (2017). Zeytin yaprağı ekstrakt kullanımının biber salçalarındaki kalite değişimi üzerine etkisi. *Korkutata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi-98*, Osmaniye.
- Farag, R. S., Mahmoud, E. A., and Basuny, A. M. (2007). Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(1), 107–115. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01374.x>
- Galanakis, C. M. (2018). Phenols recovered

from olive mill wastewater as additives in meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 79 (June), 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.010>

Gemicioğlu, Y. (2016). Türkiye’de Zeytinyağı Üretiminde Kullanılan Yöntemler ve Makine Sistemlerinin Varlığı (Vol. 6). *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi-51*, Tekirdağ.

Gökmen, M., Akkaya, L., Kara, R., Gök, V., Önen, A., ve Ektik, N. (2016). Zeytin Yaprağı Ekstraktı İlavesinin Köftelerde *S.typhimurium*, *E. coli O157* ve *S.aureus* Gelişimi Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda*, 14(1), 28–32.

Güneşer, O., Yüceer, Y. K., Toğay, S. Ö., Hoşoğlu, M. İ., ve Elibol, M. (2014). *Torulasporea delbrueckii* ve *Trichoderma atroviride* Kullanılarak Pirinadan (Zeytin Katı Atığı) Biyoaroma Üretimi. *Akademik Gıda*, 12 (3)(January), 16–25.

Hayes, J. E., Stepanyan, V., Allen, P., Grady, M. N. O., and Kerry, J. P. (2010). Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Science*, 84(4), 613–620. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.10.020>

Hocaoğlu, M.S. (2015). Zeytin Sektörü Atıklarının Yönetimi Projesi. *TÜBİTAK, Çevre ve Temiz Üretim Enstitüsü, Proje No: 5148602 (ÇTÜE.15.223), Gebze/KOCAELİ*

İlay, R., Erarslan, G., ve Kavdır, Y. (2019). Pirina ve balık atıklarının birlikte kompostlanması ve toprak ıslahında kullanılması. *Anadolu Journal of Agricultural Sciences*, 34, 201–209. <https://doi.org/10.7161/omuanajas.463272>

İnan, H., Türkay, Ö., ve Dinçer, T. (2013). Polifenollerin Elektrokoagülasyon ile Zeytinyağı Karasuyundan Geri Kazanımı. *TÜBİTAK, proje no: 111Y320*, Kocaeli.

Lammi, S., Le Moigne, N., Djenane, D., Gontard, N., and Angellier-Coussy, H. (2018). Dry fractionation of olive pomace for the development of food packaging biocomposites. *Industrial Crops and Products*, 120(March), 250–261. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.052>

Lin, S., Chi, W., Hu, J., Pan, Q., Zheng, B., and Zeng, S. (2017). Sensory and nutritional properties of chinese olive pomace based high fibre biscuit. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(7), 495–501. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-12-1908>

Luciano, G., Pauselli, M., Servili, M., Mourvaki, E., Serra, A., Monahan, F. J., Lanza, M., Priolo, A., Zinnai, A., and Mele, M. (2013). Dietary olive cake reduces the oxidation of lipids, including cholesterol, in lamb meat enriched in polyunsaturated fatty acids. *Meat Science*, 93(3), 703–714. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.033>

Mikdame, H., Kharmach, E., Mtarfi, N. E., Alaoui, K., Ben Abbou, M., Rokni, Y., Majbar, Z., Taleb, M., and Rais, Z. (2020). By-Products of Olive Oil in the Service of the Deficiency of Food Antioxidants: The Case of Butter. *Journal of Food Quality*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6382942>

Muñoz, I., Díaz, M. T., Apeleo, E., Pérez-Santaescolástica, C., Rivas-Cañedo, A., Pérez, C., Cañeque, V., Lauzurica, S., and Fuente, J. de la. (2017). Valorisation of an extract from olive oil waste as a natural antioxidant for reducing meat waste resulting from oxidative processes. *Journal of Cleaner Production*, 140, 924–932. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.175>

Mutlu, A., ve Bilgin, Ş. (2016). Zeytin (*Olea europaea L.*) Yaprağı ve Yağ Gülü (*Rosa damascena Mill.*) Ekstraktlarının Buzdolabı Koşullarında (4±1°C) Depolanan Sıcak Dumanlanmış Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Raf Ömrüne Etkisi. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2(1), 19–19. <https://doi.org/10.17216/limnofish-5000157469>

Özçimen, D., Yücel, S., ve Tatlı, A. (2010). Zeytin Yaprağının Kullanım Alanları. *Zeytin ve Zeytinyağı Sektörü Ortak Akıl ve Güçbirliği Toplantıları*.

Özdemir, A. ve Azman, M.A. (2013). Bildircın Karma Yemlerine Zeytin Yaprağı Özütü Katılmasının Verim Performansı Üzerine Etkileri. *Fırat Üniversitesi. Sağ. Bil. Vet. Derg.* 2013; 27 (3): 141 - 147 <http://www.fusabil.org>

- Padalino, L., D'Antuono, I., Durante, M., Conte, A., Cardinali, A., Linsalata, V., Mita, G., Logrieco, A. F., and Del Nobile, M. A. (2018). Use of olive oil industrial by-product for pasta enrichment. *Antioxidants*, 7(4), 1–15. <https://doi.org/10.3390/antiox7040059>
- Peker, H. (2012). Keçiyoynuzu Gami Kullanılarak Az Yağlı Yoğurt ve Zeytin Yaprağı Ekstraktı Kullanılarak Fonksiyonel Meyveli Yoğurt Üretimlerinin Araştırılması. *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi-95 s.*,
- Romeo, R., De Bruno, A., Imeneo, V., Piscopo, A., ve Poiana, M. (2019). Evaluation of enrichment with antioxidants from olive oil mill wastes in hydrophilic model system. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(11), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14211>
- Rubio-Senent, F., Rodríguez-Gutiérrez, G., Lama-Muñoz, A., and Fernández-Bolaños, J. (2015). Pectin extracted from thermally treated olive oil by-products: Characterization, physico-chemical properties, invitro bile acid and glucose binding. *Food Hydrocolloids*, 43, 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.001>
- Seçmeler, Ö., ve Üstündağ Güçlü, Ö. (2016). Zeytinyağı Sektörü Atık ve Yan Ürünlerindeki Biyoaktif Maddelerin Değerlendirilmesi. *Dünya Gıda Dergisi*, May 2015.
- Simonato, B., Trevisan, S., Tolve, R., Favati, F., and Pasini, G. (2019). Pasta fortification with olive pomace: Effects on the technological characteristics and nutritional properties. *Lwt-Food Science and Technology*, 114(May). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108368>
- Sordini, B., Veneziani, G., Servili, M., Esposto, S., Selvaggini, R., Loreface, A., and Taticchi, A. (2019). A quanti-qualitative study of a phenolic extract as a natural antioxidant in the frying processes. *Food Chemistry*, 279(June 2018), 426-434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.029>
- Suárez, M., Romero, M.P. and Motilva, M.J., (2010). Development of a phenol-enriched olive oil with phenolic compounds from olive cake. *Journal of Agric. Food Chem.*, Vol:58, No: 19, 10396–10403. DOI:10.1021/jf102203x
- Sukan, P. D. S., Sukan Vardar, P. D. F., Karapınar, P. D. M., Sargin, S., Demirel, N., ve Özatay, Ş. (2001). Zeytin karasuyundan mikrobiyal kaynaklı lakkaz enzimi üretimi. *TÜBİTAK Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi (TARP), Proje No: TOGTAG-2310, İzmir*
- Sultan, K.H. and Abdl-Alrhmmman, S.Y. (2006). Effect Of Olive Leaves Boiled Extracts On Some Physiological And Productive Parameters In Rabbits. *Mesopotamia Journal of Agriculture*, 2006, Volume 34, Issue 4, Pages 74-81 DOI: 10.33899/magrj.2006.26405
- Sümer, S. K., Çiçek, G., ve Say, S. M. (2016). Çanakkale İlinde Zeytin Üretimi Artık Potansiyelinin Belirlenmesi ve Değerlendirme Olanaklarının Araştırılması. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 12(August 2016), 103–111.
- Şahin, S., Bilgin, M., Sayım, E., ve Güvenilir, B. (2017a). Effects of natural antioxidants in the improvement of corn oil quality: olive leaf vs. lemon balm. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 374–380. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13291>
- Şahin, S., Sayım, E., ve Bilgin, M. (2017b). Effect of olive leaf extract rich in oleuropein on the quality of virgin olive oil. *Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 1721–1728. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2607-7>
- Takaç, Z. S., (2015). Zeytin Karasuyundan Katma Değer Yaratacak Biyomoleküller Üretimi. *TÜBİTAK, proje no: 113M589*, Ankara.
- Tarım ve Orman Bakanlığı, (2021). Tarım Ürünleri Piyasa Raporu, Zeytinyağı. *Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü*.
- Ticaret Bakanlığı, (2019). 2018 Yılı Zeytin ve Zeytinyağı Raporu.
- Tornberg, E. and Galanakis, C. M. (2014). The behaviour of natural antioxidants on oxidation in raw and cooked meat balls. 8th world congress on polyphenols applications, international society of antioxidants in nutrition and health (ISANH)Lisbon, Portugal: the French Society of Antioxidants (SFA), and the Japanese Society of Antioxidants (JSA) 6

June 2014.

Türkiye İhracatçılar Meclisi, (2020). Zeytin-Zeytinyağı Sektör Raporu.

Uzun, N., ve Seferoğlu, S. (2017). Zeytin Karasu Keki Uygulamasının Toprağın Bazı Özelliklerine Etkisi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(2), 33–38. <https://doi.org/10.25308/aduziraat.310555>

Veneziani, G., Novelli, E., Esposito, S., Taticchi, A., and Servili, M. (2017). Applications of recovered bioactive compounds in food products. In *Olive Mill Waste: Recent Advances for Sustainable Management*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00011-X>

Derleme Makale/Review Paper

Gıdalarda yenilebilir filmler ve kaplamalar

Edible films and coatings for food

Yelda Eser^{1*}, Yusuf Doğruer²

¹Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü, KONYA, TÜRKİYE

²Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, KONYA, TÜRKİYE

(Yazar sıralamasına göre)

¹ORCID ID: 0000-0002-9019-4085, Vet. Hek.

²ORCID ID: 0000-0002-3712-5021, Prof. Dr.

*Sorumlu yazar/Corresponding author: yeldarlan@gmail.com

Geliş Tarihi : 02.03.2022

Kabul Tarihi : 28.06.2022

Öz

Amaç: Yenilebilir film ve kaplamalar gıdanın korunması, raf ömrünün uzatılması, dağıtım ve pazarlanmasında önemli rol oynayan, gıda yüzeyinde oluşturulan ince tabakalı yenilebilen kaynaklardan oluşan maddelerdir. Gıdayı mekanik, kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik tehlikelerden korumak amacıyla kullanılmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamalar fonksiyonel, mekanik ve optik özellikleri, gaz bariyer etkisi, suya ve mikroorganizmalara karşı yapısal direnç oluşturma gibi özellikleri nedeniyle gıda uygulamalarında kullanım alanı bulmaktadır. Bu derlemede yenilebilir film ve kaplamaların genel özellikleri, gıdalara uygulama yöntemleri ve gıda endüstrisinde kullanım alanları ele alınmıştır.

Sonuç: Yenilebilir film ve kaplamalar ince bir tabaka halinde uygulandığında gıda ve çevre arasında bariyer görevi görerek ürün kalitesini etkilemeden raf ömrünü uzatmaktadır. Bu kaplamalar gıdanın besinsel ve duyu kalitesini iyileştirmektedir. Ayrıca antimikrobiyal bileşikler, antioksidanlar, uçucu yağlar, mineraller ve vitaminler gibi bileşenlerin eklenmesiyle özellikleri geliştirilebilmektedir. Geleneksel gıda ambalajlamada kullanılan plastiklerin kanserojen etkisi ve atık sorunu, biyolojik olarak parçalanabilen maddelerin geliştirilmesini teşvik etmiştir. Yenilebilir ambalajlar, plastik ambalajlara kıyasla gıdaların raf ömrünü uzatarak su, oksijen ve ışık için seçici bir bariyer oluşturmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamalar uygun şekilde hazırlandığında fonksiyonel bir ambalajın sahip olabileceği özellikleri yerine getirebilmektedir.

Anahtar kelimeler: bariyer; gıda; yenilebilir film; kaplama

Abstract

Objective: Edible films and coatings are substances consisting of thin-layered edible resources formed on the surface of the food, which play an important role in the preservation, extension of shelf life, distribution and marketing of food. It is used to protect food from mechanical, chemical, physical and microbiological hazards. Edible films and coatings have usages in food applications due to their functional, mechanical and optical properties, gas barrier effect, and structural resistance against water and microorganisms. In this review, the general properties of edible films and coatings, their application to foods and their use in the food industry are discussed.

Conclusion: Films and coatings, when applied as a thin layer, act as a barrier between food and the environment, extending shelf life without affecting product quality. These coatings improve the nutritional and sensory quality of food. In addition, its properties can be improved by adding components such as antimicrobial compounds, antioxidants, essential oils, minerals and vitamins. The carcinogenic effect and waste problem of plastics used in traditional food packaging have encouraged the development of biodegradable materials. Edible packaging extends the shelf life of foods compared to plastic packaging, creating a selective barrier for water, oxygen and light. When edible films and coatings are prepared properly, they can fulfill all the functions of a functional package.

Keywords: barrier; food; edible film; coating

1. Giriş

Ambalajlama; meyve, sebze ve işlenmiş gıdaların korunması ve raf ömrünün uzatılması için en kritik işlemlerden biridir. Gıda ambalajının başlıca işlevleri arasında korumak, bilgi vermek ve kolaylık sağlamak yer almaktadır. Tüketicinin daha uzun raf ömrüne sahip sağlıklı gıdalara yönelik artan talebi, plastiğin çevre üzerine etkileri hakkında tüketici bilincinin artması, çevre dostu alternatif gıda ambalajlarının üretimi üzerine yeni sistemler geliştirilmesi için ilgili endüstriyi yönlendirmektedir (Kumar vd., 2022). Bu sebeplerle, son on yılda gıda sektöründe, çok çeşitli gıda ürünlerinin bütünlüğünü korumak için, yenilebilir filmler ve kaplamaların kullanılmaya başladığı görülmektedir (Suhag vd., 2020).

Yenilebilir kaplama, gıda üzerinde oluşturulmuş ince bir yenilebilir tabakadır. Yenilebilir film ise, yenilebilir doğal malzemeden yapılmış, önceden şekillendirilmiş, ince bir tabakadır ve bir kez oluşturulduktan sonra gıda bileşenlerinin üzerine veya arasına yerleştirilebilmektedir (McHugh, 2000).

Yenilebilir kaplama doğrudan gıda üzerinde şekillenirken, yenilebilir film daha önceden yapılabilecek ürüne yerleştirilmektedir (Bourtoom, 2008; Guimaraes vd., 2018). Buna rağmen her iki durumda da benzer özelliklere sahip yapılar oluşmaktadır (Tavassoli-Kafrani vd., 2016). Yenilebilir film ve kaplamaların temel özellikleri Çizelge 1'de gösterilmektedir (Díaz-Montes ve Castro-Munoz, 2021).

Çizelge 1. Yenilebilir film ve kaplamaların temel özellikleri (Díaz-Montes ve Castro-Munoz, 2021)

<ul style="list-style-type: none"> ▪ UV ışığına karşı koruması ▪ Çözünen maddelerin (ör. tuzlar, katkı maddeleri ve pigmentler), su buharının, organik buharların (ör. aromalar ve çözücüler) ve gazların (ör. oksijen, karbondioksit, nitrojen ve etilen) gıda ile atmosfer arasında taşınması ▪ Mekanik hasara karşı bariyer (ör. ezikler veya kesikler) oluşturması ▪ Ürünün raf ömrünü uzatması ▪ Biyoaktif bileşenler (ör. antioksidanlar) içermesi ▪ Bakteri ve mantar kontaminasyonuna karşı antimikrobiyal etki (ör. gümüş nanopartiküller) göstermesi ▪ Tüketici için faydalı mikroorganizmalar (ör. probiyotikler) içermesi ▪ Biyolojik olarak parçalanabilen doğal malzemeler olması

2. Yenilebilir film ve kaplamaların sınıflandırılması

Yenilebilir film ve kaplamalar bileşenlerin yapısına göre polisakkaritler, proteinler, lipitler veya kompozitler şeklinde sınıflandırılmaktadır. Lipitler ve hidrokolloidlerin (proteinler ve polisakkaritler) birlikte kullanılmasıyla kompozit filmler oluşmaktadır (Debeaufort vd., 2000).

2.1. Yenilebilir polisakkarit film ve kaplamalar

Polisakkaritler nişasta veya selüloz gibi saf halde bitkilerden, hayvanlardan veya mikrobiyal kaynaklardan elde edilen veya kitosan gibi kimyasal olarak modifiye edilmiş suda çözünür polimerlerdir (Lin vd., 2017). Polisakkarit kaplamalar, gaz bariyer özellikleri gelişmiş olmasına rağmen nem transferine karşı zayıf bir bariyer kapasitesine sahiptirler (Polat, 2007).

Kitosan, gamlar, aljinat, pektin, selüloz ve nişasta yenilebilir kaplama olarak kullanılan bazı polisakkaritlerdir (Sharma vd., 2019). Karides, yengeç ve kerevit kabuklarının atıklarından elde edilen kitinin alkali koşullar altında deasetilasyonu ile üretilen kitosan, katyonik bir polisakkarittir (Zhang ve Quantick, 1998). Antimikrobiyal, antioksidan, film oluşturabilme, tekstüre etme ve

bağlama özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (Benjakul vd., 2003). Gamlar, tekstüre etme özelliklerinden dolayı geniş uygulama alanına sahiptir (Sharma vd., 2019). Aljinat, yenilebilir film olarak su ürünleri ve et ürünlerinin kaplanmasıyla sıklıkla kullanılan materyallerdendir (Datta, 2008; Gennadios, 2002). Ürünün nem kaybını önlemekte ve lipit oksidasyonu ile artan acılaşıma üzerine olumlu etki yapmaktadır (Işık vd., 2013).

Su geçirgen bir polisakkarit olan selüloz, D-glikoz birimlerinden oluşur. Karboksümetil selüloz (CMC), metil selüloz (MC), hidroksipropil selüloz (HPC) veya hidroksipropil metil selüloz (HPMC) gibi selüloz türevleri, yenilebilir kaplama filmlerinin hazırlanması için kullanılmaktadır (Murray, 2000). Nişasta biyolojik olarak parçalanabilen filmlerin üretiminde düşük maliyeti ve yenilenebilirliği nedeniyle kısmen veya tamamen plastik polimerin yerini alacak şekilde kullanılmaktadır (Xu vd., 2005). Nişasta filmleri, şeffaf veya yarı saydamdır ve su varlığında ortam koşulları altında kırılındır (Myllärinen vd., 2002). Zayıf fiziksel özellikleri nedeniyle uygulama alanları sınırlıdır. Nişasta bazlı yenilebilir filmler genellikle kırılmanın engellenmesi için sorbitol ve gliserol gibi plastikleştiricilerle birlikte kullanılmaktadır (Mali vd., 2005). Pektinler

bitkisel kökenli polisakkaritlerdendir. Pektinin şekerle birlikte jel oluşturma özelliğine sahip olması, gıda endüstrisinde kalınlaştırıcı ajan olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Çelikel ve Akın, 2017).

2.2. Yenilebilir protein film ve kaplamalar

Yenilebilir film oluşturuca proteinler hayvansal kaynaklı (kollajen, jelatin, peynir altı suyu proteinleri, kazein ve yumurta albümini) ve bitkisel kaynaklı (soya fasulyesi, mısır zeini, yer fıstığı, pamuk tohumu ve buğday) filmler olarak elde edilmektedir (Sharma vd., 2019).

Protein kaplamaların gaz bariyer özelliği gelişmiştir. Polisakkarit filmlerden daha iyi mekanik özelliklere sahiptir. Ancak polisakkarit kaplamaya benzer hidrofilik yapıları nedeniyle nem bariyeri özelliği zayıftır (Gennadios, 2002). Gıdaların yenilebilir protein filmleri ile kaplanması besin değerini de artırmaktadır (Dursun ve Erkan, 2009). Yine bu kaplamalara polietilen glikol ya da gliserol gibi plastikleştiriciler eklenerek esneklik artırılabilir (Sánchez-Ortega vd., 2014). Bu filmlerin aroma bariyerleri gelişmiştir ve oksijene karşı geçirgenliği düşüktür (Hong ve Krochta, 2006; Miller ve Krochta, 1997).

Jelatin, et endüstrisi yan ürünü olarak hayvan derisi ve kemikleri ile balık derilerinden elde edilen kollajenin termal denatürasyonu ile oluşmaktadır. Memeli jelatini yüksek amino asit içeriği nedeniyle, balık jelatinlerinden daha iyi termal stabiliteye ve fiziksel özelliklere sahiptir (Gómez-Guillén vd., 2007). Jelatinin film oluşturma yeteneği doğrudan moleküler ağırlığıyla ilgilidir ve daha yüksek moleküler ağırlıklı jelatin daha iyi film kalitesine sahiptir (Ledward vd., 2000).

Peynir altı suyu, peynir üretimi esnasında kazeinin çökmesi ve ayrılmasından sonra kalan kısımdır. Peynir altı suyu protein filmlerinin mekanik dirençleri iyi olup, düşük bağıl nemde iyi bir gaz bariyeri özelliğine de sahiptir. Ancak hidrofilik özelliklerinden dolayı bu filmler neme karşı sadece orta düzeyde bariyer görevi görmektedirler (Galus ve Kadzińska, 2016). Peynir altı suyu proteinleri tarafından oluşturulan yenilebilir filmler; şeffaf, esnek, renksiz, tatsızdır ve zayıf nem bariyerine sahiptir. Bu kaplamalar; kuru üzüm, kahvaltılık tahıllar, peynir parçaları ve dondurulmuş bezelyeler üzerinde denenmiş; yer fıstıklarında da oksijen bariyeri olarak uygulanmıştır (Gennadios vd., 1997).

Mısır endospermında bulunan ve öğütme endüstrisinin yan ürünü olan ticari zeinin, film oluşturma özelliği üzerinde yıllardır durulmakta ve

ticari olarak kullanılmaktadır (Ryu vd., 2002). Zein proteinden yapılan filmler taze ürünlerin renk değişikliğini, sıklığını ve ağırlık kaybını önlemede etkilidir (Raghav vd., 2016). Zein; fındık, şekerleme ürünlerinde yenilebilir film veya kaplama olarak kullanılmaktadır (Ryu vd., 2002).

Tahıl bitkilerinin yan ürünlerinden buğday gluten proteini, uygun maliyetli, bol miktarda bulunan ve yenilebilir ambalaj filmleri için iyi bir kaynaktır (Dong vd., 2022). Buğday proteini (gluten), yapışkanlığı ve esnekliği nedeniyle film oluşumu için kullanılmaktadır (Dhall, 2013). Bu proteinden elde edilen filmler, sahip oldukları su ve ışığı yalıtma özellikleri nedeniyle gıdaların tazeliğini korumak için kullanılmaya potansiyeline sahipken, mekanik gücünün, su direncinin zayıflığı ve kopmaya eğilimli olmaları gıda endüstrisindeki pratik kullanımlarını büyük ölçüde sınırlamıştır (Dong vd., 2022).

2.3. Yenilebilir lipit film ve kaplamalar

Yenilebilir lipit film ve kaplamalar gıdalarda nem kaybını önlemektedir. Ancak gaz bariyeri özelliği zayıftır (Banker, 1966). Lipit bileşikler; gliseritler, mumlar ve reçinelerden oluşmaktadır (Hernandez, 1994). Asetillenmiş monogliseritler, balmumu, karnauba mumu, mineral yağ, parafin mumu, bitkisel yağ ve yüzey aktif maddeler, kaplama malzemeleri olarak geniş bir uygulama alanına sahiptir (Dhall, 2013).

Lipit bazlı kaplama, polisakkarit ve protein bazlı kaplamalara kıyasla diğer kaplama ajanları ile daha iyi uyum sağlayarak bariyer özelliğini geliştirmektedir (Lin vd., 2017). Bu kaplamalar hidrofobik özellikleriyle kalın ve kırılma eğilimli film oluşturmaktadır. Bu nedenle protein yapılı bileşenlerle kompozit film yaparak kullanılmaktadırlar (Debeaufort vd., 1998).

2.4. Yenilebilir kompozit film ve kaplamalar

Kompozit filmler, lipit ve hidrokolloid bileşenlerden oluşmaktadır. Lipit bileşenler gelişmiş bir su buharı bariyeri, hidrokolloid bileşenler ise oksijen ve karbondioksit karşı seçici bir bariyer özelliği sağlamaktadır (Baldwin vd., 1995; Sharma vd., 2019). Filmlerin farklı özelliklerini bir araya getirmesi sebebiyle, elde edilen kompozit filmlerde daha iyi fiziksel ve bariyer özellikler bulunabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, peynir altı suyu izolatlarından oluşan filme asetillenmiş monogliserit eklendiği zaman su buharı geçirgenliğinin 70 kat azaldığı tespit edilmiştir (Anker vd., 2002).

Çizelge 2. Yenilebilir film ve kaplamaların üretiminde en çok kullanılan biyopolimerler ile katkı maddelerinin özellikleri ve ambalajlamadaki işlevleri (Díaz-Montes ve Castro-Munoz, 2021)

Materyal	Örnekler	Özellikleri	Yenilebilir film ve kaplamalardaki görevi
Biyopolimerler			
Polisakkaritler	Nişasta Selüloz Pektin Gamlar Kitosan Agar Aljinat Dekstran	Kalınlaştırıcılar, Jelleştiriciler, Emülgatörler, Stabilizatörler, Kaplama	Katı bir polimer matrisinin temel yapısını oluştururlar
Proteinler	Jelatin Kazein Peynir altı suyu proteini	Jelleştiriciler, Kalınlaştırıcılar, Stabilizatörler, Köpüklenme	Gazların (esas olarak oksijen) taşınmasını kontrol ederler Antimikrobiyallerin ve antioksidanların taşınmasına yardımcı olurlar
Lipitler	Mumlar Parafin Gliseritler	Koruyucular, Kaplama	Esneklik sağlayarak yenilebilir filmin kurumasını veya dehidrasyonunu önlemeye yardımcı olurlar
Katkı maddeleri			
Plastikleştiriciler	Gliserol Aloe Reçineler	Vizkozite, Esneklik, Rezistans	Karışımdaki moleküller arası kuvveti ve erime sıcaklığını düşürürler
Kaotropik ajanlar	Üre	Yıkıcı Ajan, Antioksidanlar, Stabilizatörler	Polimerlerin sudaki çözünürlüğünü artırırlar
Diğerleri	Polifenoller	Fungisitler, Herbisitler, Gübreler	Ürünler için koruma sağlamanın yanı sıra stabilizatör olarak da çalışırlar

3. Yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılan katkı maddeleri

Yenilebilir kaplamaların ana bileşenlerinin (hidrokolloidler, lipitler) özelliklerini geliştirmek için plastikleştiriciler, emülgatörler, antimikrobiyal maddeler ve antioksidanlar gibi belirli katkı maddeleri eklenmektedir (Sharma vd., 2019). Ayrıca katkı maddelerinin eklenmesi, biyoaktif ambalajlamanın elde edilmesini de sağlamaktadır (Ganiari vd., 2017; Ghani vd., 2018).

3.1. Plastikleştiriciler

Yenilebilir film ve kaplamaların sertliği, kırılabilirliğinin düşük olması, elastikiyeti ve esnekliği, taşıma ve depolanma sırasında çatlamayı

önlemek için ön koşuldur (Barreto vd., 2003). En yaygın kullanılan plastikleştiriciler arasında propilen glikol, gliserol, polietilen glikol, sukroz, sorbitol gibi oligosakkaritler ve su bulunmaktadır (Bourtoom, 2008; Cerqueira vd., 2009; Jagannath vd., 2006; Mylläinen vd., 2002; Veiga-Santos vd., 2007). Plastikleştiriciler gaz geçirgenliğini artırarak veya gerilme direncini azaltarak filmlerin bariyer özelliklerini değiştirmektedir (Mali vd., 2005).

3.2. Emülgatörler

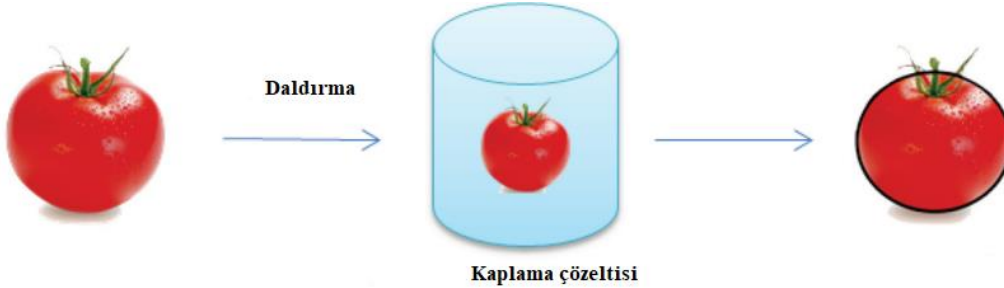
Emülgatörler ıslanabilirliği artırmak ve düzgün bir kaplama uygulamak için kaplama çözeltilerine eklenmektedir. Yüzey aktif madde veya emülgatörlerin eklenmesi, filmin olgunlaşmayı

engelleme yeteneğini arttırmaktadır (Sharma vd., 2019).

3.3. Antimikrobiyal ajanlar

Antimikrobiyal ajanlar, mikrobiyal faaliyetlerin oluşumunu yavaşlatarak ürünlerin raf ömrünü uzatmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamalarda en yaygın olarak kullanılan antimikrobiyaller; potasyum sorbat, sodyum benzoat, sorbik asit, trisodyum fosfat, laktik asit, laurik asit, pediosin, nisin, laktikin, etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), kitosan, yeşil çay tozu, üzüm çekirdeği ekstresi, baharatlar/uçucu yağlar veya bunların bileşenleri, tiyosülfonatlar, imazali, albumin, izotiyosiyanatlar, benomyl, gümüş ve enzimlerdir. Lizozim, laktoperoksidaz ve glukoz oksidaz enzimleri kaplama çözeltilerinde antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmaktadır. Ancak farklı pH ve sıcaklıklarda stabilite eksikliğinden dolayı çok dar bir uygulama alanına sahiptir (Mohammed Fayaz vd., 2009). Tüketici talebinin artırılması için bitkisel kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal ajanlar tavsiye edilmektedir (Sharma vd., 2019).

Çizelge 2’de yenilebilir film ve kaplamaların üretiminde en çok kullanılan biyopolimerler ile katkı maddelerinin özellikleri ve ambalajlamadaki işlevleri listelenmektedir (Díaz-Montes ve Castro-Munoz, 2021).



Şekil 1. Daldırma yöntemi (Hassan vd., 2018)

4.2. Püskürtme yöntemi

Bu yöntemde sıvı çözelti, gıdanın üzerine püskürtülmektedir. Sıvının püskürtülmesi, sıvı çözeltiyi küçük damlacıklara dönüştürür. Aynı miktarda sıvı çözelti için bu damlacıklar daha fazla yüzey alanına sahip olmaktadır. Bu nedenle,

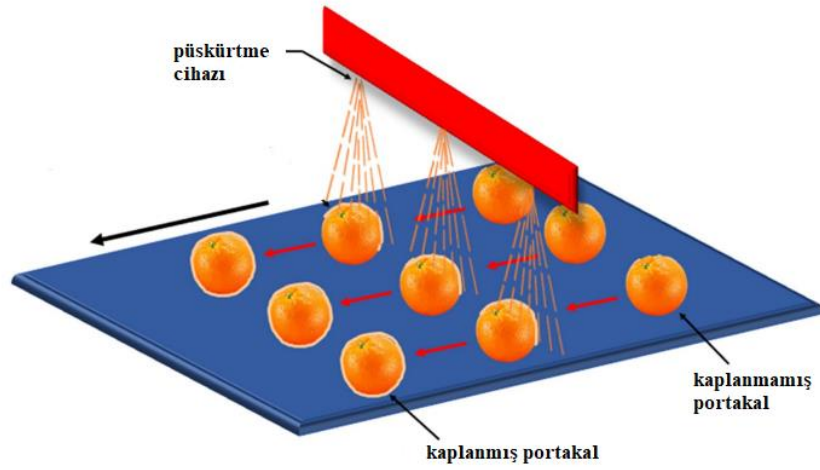
4. Yenilebilir film ve kaplamaların uygulama yöntemleri

Yenilebilir kaplamalar birincil yenilebilir ambalaj olarak gıdaların yüzeyine doğrudan uygulanmaktadır. Dört ana kaplama tekniği vardır. Bunlar daldırma, püskürtme, kaydırma ve akışkan yatak işleme yöntemleridir (Kumar vd., 2021). Kaplama yönteminin seçimi, gıdanın yüzey özellikleri ve kaplama tabakasının amacı olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır. Kaplama yönteminde önce malzemeler gıda yüzeyine dağılır ve ardından kaplama malzemesi ile gıda yüzeyi arasında yapışma gerçekleşmektedir (Cerqueira vd., 2017).

4.1. Daldırma yöntemi

Daldırma yöntemi en çok meyve ve sebzeler için kullanılmaktadır. Gıdanın kaplama oluşturacak olan çözeltiliye tamamen daldırılmasıyla, kaplama malzemesi gıdanın yüzeyinde birikir. Son adımda ise solvent kaplamadan buharlaşarak bir solüsyon oluşturarak ve ürünün yüzeyinde ince bir kaplama bırakmaktadır (Kumar vd., 2021). Şekil 1’de daldırma yöntemi uygulaması gösterilmiştir (Hassan vd., 2018).

damlacıklar gıdanın daha fazla alanını kaplamaktadır. Yüksek viskoziteli biyopolimerlerin püskürtülememesi bu yöntemin dezavantajıdır. Yüksek viskoziteli biyopolimer için daldırma yöntemi tercih edilmektedir (Suhag vd., 2020). Şekil 2’de püskürtme yöntemi gösterilmiştir (Kumar vd., 2021).

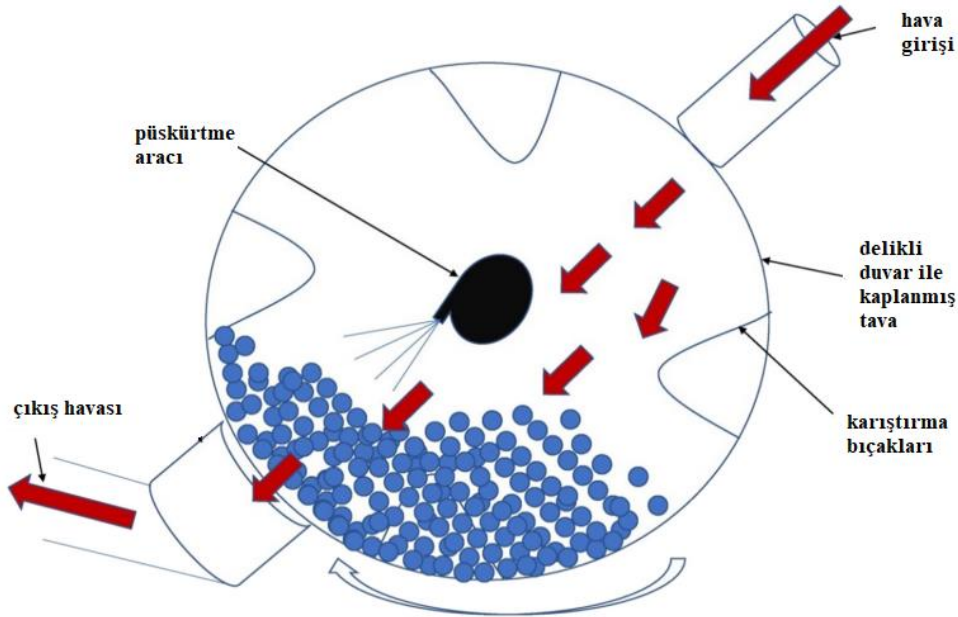


Şekil 2. Püskürtme yöntemi (Kumar vd., 2021)

4.3. Kaydırma yöntemi

Bu yöntem gıda ve şekerleme ürünleri için uygun bir kaplamadır. Bu yöntemde çok sayıda yuvarlak veya oval şekilli gıda tek seferde kaplanabilmektedir. Tava olarak bilinen büyük bir yuvarlak top döndürülürken içindeki gıdalar da dönmektedir. Kaplama oluşturan çözelti, tava

dönmeye devam ederken gıdanın yüzeyine püskürtülmektedir. Püskürtülen solüsyon miktarı, gıda üzerindeki son kaplamanın kalınlığını belirlemektedir. Hava sirkülasyonu sayesinde solvent buharlaşarak kaplamanın kuruması sağlanmaktadır (Campos vd., 2011). Şekil 3'te kaydırma yöntemi gösterilmiştir (Kumar vd., 2021).



Şekil 3. Kaydırma yöntemi (Kumar vd., 2021)

4.4. Akışkan yatak işleme yöntemi

Bu yöntem buğday veya fındık gibi çok küçük boyutlu bir kuru gıdanın yüzeyine ince bir kaplama tabakası uygulanmada kullanılmaktadır. Kaplama solüsyonunun nozullar yardımıyla püskürtülerek, daha küçük boyutlu gıdalardan akması sağlanmaktadır. Çözelti gıda üzerinde yavaş yavaş kaplamaya dönüşen bir kabuk oluşturmaya başlar. Daha sonra kurutma işlemi gerçekleştirilir. Bu

yöntem diğer kaplama yöntemlerinden daha maliyetlidir (Chawla vd., 2021).

5. Yenilebilir film ve kaplamaların gıda endüstrisinde kullanımı

5.1. Et ve et ürünleri

Et ve et ürünlerinde yenilebilir film ve kaplamalar fire kaybını önlemek, mikrobiyal kontaminasyonu kontrol etmek, oksidasyonu ve istenmeyen renk

oluşumunu engellemek için kullanılmaktadır. Et ürünlerinde birçok yenilebilir biyopolimer kullanılmaktadır (Gaikwad vd., 2020; Ustunol, 2009). Sodyum aljinatın oksijen bariyer özelliği gelişmiştir. Bu nedenle iyi bir film oluşturma özelliğiyle et ve et ürünleri için tercih edilmektedir. Önceleri aljinat filmler meyve ve sebzelerin solunum hızını kontrol etmek için kullanılırken, günümüzde et ürünleri için de kullanılmaktadır. Antimikrobiyal maddelerin de eklenmesiyle aljinat filmler, et ürününün raf ömrünün uzamasına yardımcı olmaktadır (Kontominas, 2020). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç İdaresi aljinatı genel olarak güvenli (Generally Recognized as Safe [GRAS]) malzeme olarak kabul etmiştir. Bunun yanı sıra Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority [EFSA]) tavuk göğüs eti, balık eti ve dana eti için aljinatı güvenli olarak bildirmiştir. Yenilebilir filmlere gliserol veya sorbitol gibi plastikleştiriciler eklenerek esnekliği artırılmaktadır. Kekik, tarçın ve biberiye gibi uçucu yağlar, antimikrobiyal ajanlar *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* ve *Salmonella typhimurium* gibi mikroorganizmaların gelişimini engellemek ve et ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için eklenmektedir (Kumar vd., 2021).

Tavuk göğüs etine antimikrobiyal ajan olarak siyah kimyon yağı eklenmiş aljinat bazlı yenilebilir film uygulanan bir çalışmada, ürün 40°C'de depolandığında *Escherichia coli*'nin gelişiminin engellendiği ve ette renk değişiminin yaklaşık 5 gün geciktiği gözlenmiştir (Takma ve Korel, 2019). Antimikrobiyal ajan olarak kekik esansiyel yağı içeren jelatin ve aljinat film, balık filetosuna uygulandığında mikrobiyal üremenin 15 gün kadar geciktirilebildiği gözlenmiştir (Kazemi ve Rezaei, 2015). Raeisi (2016), tavuk etine uygulamak için antimikrobiyal özellikte nisin, tarçın ve biberiye esansiyel yağı içeren yenilebilir sodyum aljinat kaplamalar üretmiştir. Kaplama materyaline bu maddeler hem tek tek hem de kombinasyon şeklinde uygulanmıştır. Antimikrobiyal ajanlar, kombinasyon halinde kullanıldıklarında tavuk etinin mikrobiyal kalitesini korumada daha güçlü etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Hem tarçın hem de biberiye esansiyel yağı içeren kaplamalarda en güçlü etki gözlenmiştir. Tavuk göğsü filetosuna uygulanan karanfil esansiyel yağı içeren peynir altı suyu proteini bazlı yenilebilir kaplamanın, kaliteyi artırdığı ve ürünün raf ömrünü uzattığı bildirilmiştir (Fernández-Pan vd., 2014).

Deniz ürünleri, çabuk bozulan gıdalar olduğu için raf ömrü kısadır. Ayrıca taşıma ve depolama sırasında kontaminasyon riski yüksektir. Bu durum gıda kaynaklı hastalıklar ile ürünün kalite ve besin

değerinde değişikliğe neden olmaktadır. Ayrıca deniz ürünlerinin tüketici talebini olumsuz yönde etkilemektedir (Dehghani vd., 2018). Jiang vd. (2011), balık derisinden üretilen jelatine potasyum sorbat ve sodyum tripolifosfat ekleyerek hazırladıkları filmlerle karidesleri kaplamışlar ve neticesinde kontrol grubuna kıyasla filmlerin, toplam bakteri ve psikrofil bakteri gelişimleri bakımından daha etkili olduğunu tespit etmiştir.

Antimikrobiyal madde olarak tarçınla zenginleştirilmiş jelatin bazlı kaplamaların, mikrobiyal büyümeyi geciktirdiği ve taze gökkuşağı alabalığı balıklarının raf ömrünü uzattığı gözlenmiştir (Andevari Rezaei, 2011).

Yenilebilir film ve kaplamalar, et ürünlerine genellikle püskürtme ve daldırma yöntemleriyle uygulanmaktadır. Aljinat filmler şeffaf olduğu için etin rengi ve kalitesi müşteri tarafından kolaylıkla görülebilir. Araştırmalar, ambalajlama faktörünün şeffaflığının tüketicinin satın alma kararını etkilediğini göstermiştir (Gutt ve Amarieci, 2020).

5.2. Süt ve süt ürünleri

Süt ürünlerine uygulanan yenilebilir film ve kaplamalar olgunlaşma sürecini kontrol etmek, kütle transferini önlemek ve ürünle ortam arasında bir bariyer oluşturarak raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır (Cruz-Diaz vd., 2019; Leandro vd., 2017). Peynir altı suyu proteininden yapılan yenilebilir filmler diğerlerine kıyasla daha iyi gaz bariyeri özellikleri göstermektedir ve iyi bir film oluşturma eğilimine sahiptir. Peynir altı suyu proteinlerine genelde gliserol gibi plastikleştiriciler ve pH ayarlayıcı maddeler eklenmektedir ve bu filmlerin şeffaf olması peynir kalitesinin tüketici tarafından görülmesini sağlamaktadır (Costa vd., 2018).

Peynir doğrudan uygulanan antimikrobiyal ajanlar, peynir altı suyu protein matrisine eklenen ajanlardan daha düşük aktivasyon eğilimine sahiptir. Her antimikrobiyal ajan, belirli bir mikroorganizma tipini hedeflemektedir. Biberiye esansiyel yağı Mukor'a kekik esansiyel yağı *Penicillium*'a, lizozim *Escherichia coli*'ye ve laktik asit maya ve küflere karşı etkilidir. Antioksidan maddelerin eklenmesiyle de tat ve renk değişimlerinin oluşumu azaltılmaktadır (Cruz-Diaz vd., 2019).

Ricotta peynirine kitosan ve peynir altı suyu proteini karışımı yenilebilir film uygulandığında 4°C'de depolamada mezofilik ve psikotropik mikroorganizmaların sayısının 21 gün sonra bile önemli ölçüde az olduğu belirtilmiştir (Di Pierro vd., 2011). İran Feta peynirine kekik yağı içeren zein filmler uygulanmış ve 14 gün süreyle 4°C'de

depolanmıştır. Bu süre sonunda *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* sayılarında önemli miktarda azalma gözlenmiştir (Ghasemi vd., 2015). Aktif bileşen olarak zencefil yağı içeren mısır nişastası bazlı yenilebilir kaplama uygulanan tereyağında 2-5°C'de depolandığında lipit oksidasyonunu azaldığı tespit edilmiştir (Arshad vd., 2020).

5.3. Meyve ve sebzeler

Minimum düzeyde işlenmiş veya kesilmiş meyve ve sebzelerin kalitesini korumak, gıda endüstrisi için önemli bir faktördür. Nem kaybı, mikrobiyal büyüme, solunum ve etilen üretimi, meyve ve sebzelerin kalitesini etkileyen önemli faktörlerdir (Kumar vd., 2021; Olivás ve Barbosa-Cánovas, 2009). Bu filmler nem ve gaza karşı bariyer görevi görerek ve solunum hızını kontrol ederek sebzelerin olgunlaşma hızını geciktirmektedir (Cha ve Chinnan, 2004).

Aloe vera jeli esas olarak polisakkaritlerden oluşan doğal bir biyopolimerdir. Yenilebilir film ve kaplama olarak kullanıldığında meyve ve sebzelerin solunum hızını azaltarak, gıdanın ağırlığını korumaktadır. Ayrıca raf ömrünü uzatan iyi bir antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Böylece meyvelerin bozulmasını geciktirerek raf ömrünü uzatmaktadır (Nicolau-Lapena vd., 2021). *Aloe vera* jelinin 28°C'de depolanan taze kesilmiş papayaya uygulandığında ağırlık kaybını azaltıp sertliğini koruduğu gözlenmiştir (Mendy vd., 2019). Taze kesilmiş 40°C'de depolanmış mango üzerine kaplanmış karnauba mumu ve %1 gliserol içeren *Aloe vera* jelinin sıklığı koruduğu ve ağırlık kaybını azalttığı tespit edilmiştir (Pérez vd., 2016).

Kitosan bazlı yenilebilir kaplamaların, çileklerin görünümünü iyileştirdiği ve raf ömrünü uzattığı gözlenmiştir (Abu Salha ve Gedanken, 2021). Salatalıklara uygulanan şellak ve karnauba mumu, salatalıktan nem kaybını azaltmıştır (Li vd., 2018). Domateslerin üzerine *Aloe vera* jeli uygulandığında 11°C'de 14 günlük depolama süresinden sonra bile domateslerin sertliğinin kontrol sınırında olduğu tespit edilmiştir (Chrysargyris vd., 2016).

6. Sonuç

Yenilebilir film ve kaplamalar; gıdanın raf ömrünün uzatılması, mikrobiyolojik, duyu ve besinsel kalitelerinin korunmasında etkilidir. Yenilebilir bir kaplamada değerlendirilmesi gereken en önemli özellikler; mikrobiyolojik stabilitesi, ıslanabilirliği, çözünürlüğü, şeffaflığı,

mekanik ve duyu özellikleriyle su buharı ve gaz geçirgenliğidir. Çevre dostu, sürdürülebilir ve kimyasal katkısız gıdalara yönelik artan tüketici talebi, yenilebilir film ve kaplamaların geliştirilmesine yol açmıştır. Yenilebilir ambalajlarda kullanılan tüm malzemeler ve katkı maddeleri gıda sınıfı içerisinde yer almaktadır. Ayrıca bu kaplamalar için geliştirilmiş özelliklere sahip yeni malzemeler araştırılmaktadır.

Nem, gaz ve aroma bariyerlerine sahip olması, gıdaların ağırlık kayıplarını azaltması ve eklenen antimikrobiyal ve antioksidan gibi maddelerle gıdanın raf ömrünü uzatması bu kaplamaların avantajları arasındadır. Ayrıca ambalaj sektöründe kullanımıyla geleneksel yöntemlere göre çevre kirliliği ve kanserojen etkinin azaltılacağı düşünülmektedir. Ancak mekanik özellikleri ve yüksek işleme maliyeti gıda endüstrisinde kullanımını kısıtlamaktadır. Ayrıca yeni bir teknoloji olması nedeniyle tüketici tarafından yeterince tanınmaması da dezavantajlarından. Yenilebilir ambalajların yaygın kullanılmasında kaliteyi artıracak ve üretim maliyetini azaltacak daha fazla araştırma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

7. Kaynaklar

- Abu Salha, B., Gedanken, A. (2021). Extending the shelf life of strawberries by the sonochemical coating of their surface with nanoparticles of an edible anti-bacterial compound. *Applied Nano*, 2(1), 14-24.
- Andevari, G. T., Rezaei, M. (2011). Effect of gelatin coating incorporated with cinnamon oil on the quality of fresh rainbow trout in cold storage. *International Journal of Food Science Technology*, 46(11), 2305-2311.
- Anker, M., Berntsen, J., Hermansson, A. M., & Stading, M. (2002). Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(1), 81-92.
- Arshad, R., Sameen, A., Huma, N., Zia, M. A. (2020). Exploring The Potential Of Active Edible Coating On The Shelf Stability Of Dairy Products. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 57(1), 237-244.
- Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M. O., Baker, R. A. (1995). Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 35(6), 509-524.

- Banker, G. S. (1966). Film coating theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(1), 81-89.
- Barreto, P., Pires, A., Soldi, V. (2003). Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. *Polymer Degradation and Stability*, 79(1), 147-152.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., Phatchrat, S., Tanaka, M. (2003). Chitosan affects transglutaminase-induced surimi gelation. *Journal of Food Biochemistry*, 27(1), 53-66.
- Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3), 237-248.
- Campos, C. A., Gerschenson, L. N., Flores, S. K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849-875.
- Cerqueira, M. A., Pinheiro, A. C., Souza, B. W., Lima, Á. M., Ribeiro, C., Miranda, C., . . . Gonçalves, M. P. (2009). Extraction, purification, and characterization of galactomannans from non-traditional sources. *Carbohydrate Polymers*, 75(3), 408-414.
- Cerqueira, M. A. P. R., Pereira, R. N. C., da Silva Ramos, O. L., Teixeira, J. A. C., Vicente, A. A. (2017). Materials and processing technologies. *Edible Food Packaging*, 469, 64.
- Cha, D. S., Chinnan, M. S. (2004). Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 223-237.
- Chawla, R., Sivakumar, S., Kaur, H. (2021). Antimicrobial edible films in food packaging: Current scenario and recent nanotechnological advancements-a review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100024.
- Chrysargyris, A., Nikou, A., Tzortzakis, N. (2016). Effectiveness of Aloe vera gel coating for maintaining tomato fruit quality. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 44(3), 203-217.
- Costa, M. J., Maciel, L. C., Teixeira, J. A., Vicente, A. A., Cerqueira, M. A. (2018). Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and challenges. *Food Research International*, 107, 84-92.
- Cruz-Diaz, K., Cobos, Á., Fernández-Valle, M. E., Díaz, O., Cambero, M. I. (2019). Characterization of edible films from whey proteins treated with heat, ultrasounds and/or transglutaminase. Application in cheese slices packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100397.
- Çelikel A, Akın MB. (2017). Yenilebilir filmler ve peynir teknolojisinde kullanımı. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 7, 2.
- Datta S, Janes ME, Xue QG, Losso J, La Peyre JF, (2008). Control of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella anatum* on the surface of smoked salmon coated with calcium alginate coating containing oyster lysozyme and nisin, *Journal of Food Science*, 73(2), M67-M71.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299-313.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., Delporte, B, Voilley, A. (2000). Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films, *J Membrane Sci*, 180: 47-55.
- Dehghani, S., Hosseini, S. V., Regenstein, J. M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, 240, 505-513.
- Dhall, R. K. (2013). Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 435-450. doi:10.1080/10408398.2010.541568
- Di Pierro, P., Sorrentino, A., Mariniello, L., Giosafatto, C. V. L., Porta, R. (2011). Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. *LWT-Food Science and Technology*, 44(10), 2324-2327.
- Díaz-Montes, E., Castro-Muñoz, R. (2021). Edible Films and Coatings as Food-Quality Preservers: An Overview. *Foods*, 10, 249. https://dx.doi.org/10.3390/foods10020249.
- Dong, M., Tian, L., Li, J., Jia, J., Dong, Y., Tu, Y., Liu, X., Tan, C. & Duan, X. (2022). Improving physicochemical properties of edible wheat gluten protein films with proteins, polysaccharides, and organic acid. *LWT*, 154, 112868.
- Dursun, S., Erkan, N. (2009). Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. *Journal of FisheriesSciences.com*, 3(4), 352.
- Fernández-Pan, I., Carrión-Granda, X., Maté, J. I. (2014). Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets. *Food Control*, 36(1), 69-75.
- Gaikwad, K. K., Singh, S., Negi, Y. S., Lee, Y. S. (2020). The effect of trans-polyisoprene/LDPE

- based active films on oxidative stability in roasted peanuts. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 1857-1864.
- Galus, S., & Kadzińska, J. (2016). Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. *Food Hydrocolloids*, 52, 78-86.
- Ganiari, S., Choulitoudi, E., Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in food science technology*, 68, 70-82.
- Gennadios, A., Hanna, M. A., & Kurth, L. B. (1997). Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. *LWT-Food science and Technology*, 30(4), 337-350.
- Gennadios, A. (2002). *Protein-based Films and Coatings*, 672.
- Ghani, S., Barzegar, H., Noshad, M., Hojjati, M. (2018). The preparation, characterization and in vitro application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 197-202.
- Ghasemi, S., Javadi, N. H. S., Moradi, M., Khosravi-Darani, K. (2015). Application of zein antimicrobial edible film incorporating Zataria multiflora boiss essential oil for preservation of Iranian ultrafiltered Feta cheese. *African Journal of Biotechnology*, 14(24), 2014-2021.
- Gómez-Guillén, M., Ihl, M., Bifani, V., Silva, A., Montrö, P. (2007). Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1133-1143.
- Guimaraes, A., Abrunhosa, L., Pastrana, L. M., Cerqueira, M. A. (2018). Edible films and coatings as carriers of living microorganisms: A new strategy towards biopreservation and healthier foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 594-614.
- Gutt, G., Amariei, S. (2020). The use of edible films based on sodium alginate in meat product packaging: An eco-friendly alternative to conventional plastic materials. *Coatings*, 10(2), 166.
- Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M., Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1095-1107.
- Hernandez, E. (1994). Edible coatings from lipids and resins. Edible coatings and films to improve food quality, *Technomic Publishing Co., Inc.*, 279-303.
- Hong, S.-I., Krochta, J. M. (2006). Oxygen barrier performance of whey-protein-coated plastic films as affected by temperature, relative humidity, base film and protein type. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 739-745.
- Işık H, Dağhan Ş, Gökmen S, (2013). Gıda endüstrisinde kullanılan yenilebilir kaplamalar üzerine bir araştırma. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8, 1, 26-35.
- Jagannath, J. H., Nanjappa, C., Gupta, D. D., Bawa, A. S. (2006). Studies on the stability of an edible film and its use for the preservation of carrot (*Daucus carota*). *International Journal of Food Science Technology*, 41(5), 498-506.
- Jiang, M., Liu, S., Wang, Y. (2011). Effects of antimicrobial coating from catfish skin gelatin on quality and shelf life of fresh white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Journal of Food Science*, 76(3), M204-M209.
- Kazemi, S. M., Rezaei, M. (2015). Antimicrobial effectiveness of gelatin–alginate film containing oregano essential oil for fish preservation. *Journal of Food Safety*, 35(4), 482-490.
- Kontominas, M. G. (2020). Use of alginates as food packaging materials. *Foods*, 9(1440).
- Kumar, A., Hasan, M., Mangaraj, S., Pravitha, M., Verma, D. K., & Srivastav, P. P. (2022). Trends in Edible Packaging Films and its Prospective Future in Food: A Review. *Applied Food Research*, 2,1,100118.
- Kumar, L., Ramakanth, D., Akhila, K., Gaikwad, K. K. (2021). Edible films and coatings for food packaging applications: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-26.
- Leandro, O., Nuno, R., Pereira, C., Martins, J. T., Malcata, F. X. (2017). Edible packaging for dairy products. *Edible Food Packaging*. *CRC Press*, 384-412.
- Ledward, D., Phillips, G., Williams, P. (2000). Handbook of hydrocolloids. *Woodhead*, 67-86.
- Li, J., Li, Q., Lei, X., Tian, W., Cao, J., Jiang, W., Wang, M. (2018). Effects of wax coating on the moisture loss of cucumbers at different storage temperatures. *Journal of Food Quality*, Vol.2018 pp.Article ID 9351821.
- Lin, M. G., Lasekan, O., Saari, N., Khairunniza-Bejo, S. (2017). The effect of the application of

- edible coatings on or before ultraviolet treatment on postharvested longan fruits. *Journal of Food Quality*, ID 5454263 <https://doi.org/10.1155/2017/5454263>
- Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. (2005). Mechanical and thermal properties of yam starch films. *Food Hydrocolloids*, 19(1), 157-164.
- McHugh, T. (2000). Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Food/Nahrung*, 44(3), 148-151.
- Mendy, T., Misran, A., Mahmud, T., Ismail, S. (2019). Application of Aloe vera coating delays ripening and extend the shelf life of papaya fruit. *Scientia Horticulturae*, 246, 769-776.
- Miller, K. S., Krochta, J. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science Technology*, 8(7), 228-237.
- Mohammed Fayaz, A., Balaji, K., Girilal, M., Kalaichelvan, P., Venkatesan, R. (2009). Mycobased synthesis of silver nanoparticles and their incorporation into sodium alginate films for vegetable and fruit preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6246-6252.
- Murray, M.A. (2000). Fruits, vegetables, pulses, and condiments. *Ancient Egyptian Materials and Technology*, p. 609–655.
- Myllärinen, P., Partanen, R., Seppälä, J., Forssell, P. (2002). Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate polymers*, 50(4), 355-361.
- Nicolau-Lapena, I., Colas-Meda, P., Alegre, I., Aguilo-Aguayo, I., Muranyi, P., Vinas, I. (2021). Aloe vera gel: An update on its use as a functional edible coating to preserve fruits and vegetables. *Progress in Organic Coatings*, 151, 106007.
- Olivas, G. I., Barbosa-Cánovas, G. (2009). Edible films and coatings for fruits and vegetables *Edible Films and Coatings for Food Applications*, 211-244.
- Pérez, A. F., Aristizábal, I. D., Restrepo, J. I. (2016). Conservación De Mango Tommy Atkins Mínimamente Procesado Mediante La Aplicación De Un Recubrimiento De Aloe Vera (Aloe Barbadensis Miller). *Vitae*, 23(1), 65-77.
- Polat, H. (2007). İşlenmiş et ürünlerinde yenilebilir filmlerin ve kaplamaların uygulamaları. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, *Yüksek Lisans Tezi*, 16 s, Afyon.
- Raeisi, M., Tabaraei, A., Hashemi, M., Behnampour, N. (2016). Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, Cinnamomum zeylanicum, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 139-145.
- Raghav, P., Agarwal, N., Saini, M. (2016). Edible coating of fruits and vegetables: A review. *Education*, 1, 2455-5630.
- Ryu, S. Y., Rhim, J. W., Roh, H. J., & Kim, S. S. (2002). Preparation and physical properties of zein-coated high-amylose corn starch film. *LWT-Food Science and Technology*, 35(8), 680-686.
- Sánchez-Ortega, I., García-Almendárez, B. E., Santos-López, E. M., Amaro-Reyes, A., Barboza-Corona, J. E., Regalado, C. (2014). Antimicrobial edible films and coatings for meat and meat products preservation. *The Scientific World Journal*, 2014;2014:248935. doi: 10.1155/2014/248935.
- Sharma, P., Shehin, V., Kaur, N., Vyas, P. (2019). Application of edible coatings on fresh and minimally processed vegetables: a review. *International Journal of Vegetable Science*, 25(3), 295-314.
- Suhag, R., Kumar, N., Petkoska, A. T., Upadhyay, A. (2020). Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. *Food Research International*, 136, 109582.
- Takma, D. K., Korel, F. (2019). Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 210-217.
- Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., Masoudpour-Behabadi, M. (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 137, 360-374.
- Ustunol, Z. (2009). Edible films and coatings for meat and poultry. *Edible films and coatings for food applications*, pp. 245-268.
- Veiga-Santos, P., Oliveira, L., Cereda, M., Scamparini, A. (2007). Sucrose and inverted sugar as plasticizer. Effect on cassava starch–gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity. *Food Chemistry*, 103(2), 255-262.
- Xu, Y., Kim, K. M., Hanna, M. A., Nag, D. (2005). Chitosan–starch composite film: preparation and

characterization. *Industrial Crops and Products*, 21(2), 185-192.

Zhang, D., Quantick, P. C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(6), 763-767.

Özgün Araştırma/Original Article

Peynir altı suyu kullanılarak üretilen yaş pasta kremasında hızlandırılmış mikrobiyolojik raf ömrü testleri[#]

Accelerated microbiological shelf life tests of cake cream produced with whey[#]

Fatoş Kaplan¹ Özlem Turgay^{2*}

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, KAHRAMANMARAŞ, TÜRKİYE

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, KAHRAMANMARAŞ, TÜRKİYE

(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0003-4218-826X, Doktora Öğrencisi

ORCID ID: 0000-0003-2286-833X, Prof. Dr.

*Sorumlu yazar/Corresponding author: ozlem@ksu.edu.tr

[#]Bu makale, Fatoş Kaplan'ın yüksek lisans tezinin bir kısmıdır./This article is a part of master thesis of Fatoş Kaplan.

Geliş Tarihi : 29.06.2021

Kabul Tarihi : 05.04.2022

Öz

Amaç: Bu çalışmada, süt fabrikalarının atık maddesi olan peynir altı suyunun (PAS) yaş pasta kremasındaki bazı gıda patojenlerine ve hızlandırılmış raf ömrüne etkisi incelenmiştir.

Materyal ve yöntem: Endüstriyel olarak üretimi yapılan yaş pasta kreması formülü esas alınarak (kontrol örnek), %10 ve 25 PAS ilave edilerek üç ayrı krema yapılmıştır. Deneysel örnekler muhafaza edilerek 1., 2., 4., 5., 7., 9. ve 16. günlerde *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, maya-küf, *Enterobacteriaceae*, toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB), toplam koliform, *Bacillus cereus* varlığı yönünden araştırılmıştır. Örnekler -18°C, +4°C ve +26°C'de muhafaza edilmiştir. Yapılan ön deneme çalışmalarında kremalı pastalarda en fazla bozulmaya sebep olan mikroorganizma grubunun maya ve küfler olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle hızlandırılmış raf ömrü testlerinde maya ve küf sayımı esas alınarak deneysel örnekler -18, +4 ve +26°C'ye ek olarak +15°C ve +30°C'de de muhafaza edilmiştir.

Bulgular ve sonuç: Yapılan çalışmalar sonucunda PAS ilave edilen kremaların mikrobiyel yük miktarındaki artışın kontrol krema örneğine göre daha az olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: peynir altı suyu; pasta kreması; mikrobiyel yük; hızlandırılmış raf ömrü

Abstract

Objective: This study was conducted to investigate the effect of whey (PAS), which is the waste material of dairy factories, on some food pathogens and accelerated shelf life in cake cream.

Materials and methods: Three different creams were made by adding 10 and 25% whey, based on the formula of pastry cream produced industrially (control sample). The presence of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, yeast-mold, *Enterobacteriaceae*, total mesophilic aerobic bacteria, total coliform, *Bacillus cereus* was investigated on days 1, 2, 5, 7, 9 and 16 days of the storage of the experimental samples. The samples were stored at -18, +4 and +26°C. In preliminary experiments, it was observed that yeast and molds were the group of microorganisms that caused the most deterioration in cream cakes. For this reason, samples were stored at +15°C and +30°C in addition to -18°C, +4°C and +26°C, based on yeast and mold counts in accelerated shelf life tests.

Results and conclusion: As a result of the study, it was determined that the increase in the amount of microbial load of whey added creams was less than the control cream sample.

Keywords: whey; cake cream; microbial load; accelerated shelf life

1. Giriş

Krema; sütün santrifüj edilmesi ile elde edilen, koyu kıvamlı, belirli miktarda süt yağı içeren, genellikle ısıtma işlemi uygulandıktan sonra tüketime sunulan bir üründür. Krema ısıtma işlemi uygulanmadan fırıncılık ürünlerinde kullanılmaktadır. Bazen kremalara çığ yumurta ilavesi yapılmakta bu durum kremalı fırıncılık ürünlerini mikrobiyolojik açıdan daha riskli hale getirebilmektedir (Can ve Yalçın, 2011).

Ülkemizde kremalı fırıncılık ürünlerine talep olduğunu gören girişimcilerin gıda güvenliğini düşünmeden ve gerekli alt yapıyı oluşturmadan üretime geçmeleri sektörün en büyük sıkıntılarından birini oluşturmaktadır (Kolat, 2008).

Kek ve şu/pataşu hamuru kısımları ısıtma işlemi tabii tutulduğundan mikrobiyel yükleri indirgenmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). Ancak kek veya şu/pataşu hamuruna ilave edilen kremler mikrobiyel açıdan sorun yaratabilmektedir (Öksüztepe vd., 2010). Bu mikroorganizmalardan özellikle bakteriyel kaynaklı olan patojenler vücuda alındığında gıda enfeksiyonlarına ve gıda intoksikasyonlarına neden olmaktadır (Turgay, 2017).

Endüstriyel olarak üretilen kremalı yaş pastaların raf ömrü çeşitli yöntemlerle belirlenir. Genel olarak öngörü metodu ve hızlandırılmış raf ömrü metodu kullanılmaktadır (Koçak, 2006). Düşük sıcaklıklarda muhafaza edilen, raf ömrünün uzun olduğu düşünülen gıdalar için hızlandırılmış metod oldukça yararlıdır. Sonuçların doğruluğunu arttırmak için en az 5-6 farklı depolama sıcaklığı üzerinde çalışılırsa hatalar minimuma indirgenecek olup hızlı sonuç vermesi bakımından oldukça yaygın kullanılan bir yöntemdir (Koçak, 2006).

Sütün peynir mayası etkisi ile pıhtılaştırılması sonucu oluşan pıhtının peynir üretimi için alınmasından sonra, geriye kalan yeşilimsi sarı renkteki sıvı peynir altı suyu olarak adlandırılmaktadır. Peynir altı suyu, peynir sanayinin önemli bir çevre kirletici atık ürünü olup 6 kg sütün 1 kg peynir ve 5 kg peynir altı suyu elde edilmektedir (Yerlikaya vd., 2010).

Türkiye’de peynir altı suyunun çok az bir bölümü; peynir altı suyu konsantresi, peynir altı suyu tozu, yoğurt, tereyağı ve lor peyniri gibi çeşitli ürünlerde değerlendirilmektedir. Bununla birlikte gerek değerlendirilme maliyetinin yüksekliği gerekse de kullanılan miktarların çok az olması gibi nedenlerle, peynir altı suyunun önemli bir çevre kirletici atık olarak ve doğaya salınması

önlenmemektedir (Türkmenoğlu, 2006; Bodnár vd., 2007).

Gümüş vd. (2005), Tekirdağ’da faaliyet gösteren 30 farklı pastaneden 120 adet meyveli ve çikolatalı pasta örneğini mikrobiyolojik olarak incelemiştir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre incelenen 60 adet çikolatalı pastanın Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı bakımından 59 adedi (%98,3) $>10^5$ kob/g, koliform bakteri sayısı bakımından 50 adedi (%83,3) $>10^5$ kob/g, *S. aureus* sayısı bakımından 16 adedi (%26,6) $>10^2$ kob/g ve maya-küf sayısı bakımından 53 adedi (%88,3) $>10^3$ kob/g kabul edilemez olarak tespit edilmiştir. İncelenen 60 adet meyveli pastanın TMAB sayısı bakımından tamamı $>10^5$ kob/g, koliform bakteri sayısı bakımından 56 adedi (%93,3) $>10^5$ kob/g, *S. aureus* sayısı bakımından 19 adedi (%31,6) $>10^2$ kob/g ve maya-küf sayısı bakımından 55 adedi (%91,6) $>10^3$ kob/g kabul edilemez olarak tespit edilmiştir. Örneklerin hiçbirinde *Salmonella*’ya rastlanmamıştır.

Var vd. (2003), yapmış oldukları çalışmada Adana’da 19 farklı pastane ve 5 farklı marketten 150 adet kremalı pasta örneği incelemiştir. Örneklerin 3 tanesinde *Salmonella*, %9,3’ünde *S. aureus*, %35,3’ünde Rop sporu, %80,7’inde *E. coli*, %88,7’inde ise diğer koliform grubu mikroorganizmalar tespit edilmiştir. Örneklerde TMAB sayısı 20 ile $>10^7$ kob/g arasında bulunurken, maya örneklerin %86,7’inde, küf grubu %16,7’inde, *Enterobacteriaceae* sayısı ise örneklerin %92’inde 10 ile $>10^6$ kob/g arasında bulunduğu belirtilmiştir.

Çalışmada incelenen örneklerin mikrobiyel stabilitesi ve hızlandırılmış raf ömrüne etkileri araştırılmak üzere *Enterobacteriaceae*, *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus*, maya ve küf, TMAB, Toplam koliform sayımları 16 gün boyunca yapılmıştır.

Bu çalışmada Arrhenius eşitliğinden yararlanılarak farklı depolama sıcaklıklarındaki krema örneklerinin sıcaklığın reaksiyon hızı ve hızlandırılmış mikrobiyolojik raf ömrü testleri çalışılmıştır. Ayrıca yaş pasta üretiminde kullanılmak üzere hazırlanan kremanın yapımında süt yerine belirli oranlarda peynir altı suyu ilave edilerek hem endüstriyel atık olan PAS değerlendirilmiş hem de yaş pasta kremasının mikrobiyel stabilitesi ve mikrobiyolojik raf ömrü üzerine etkisi incelenmiştir.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Materyal

Araştırma materyali için hammaddeler (süt, şeker, nişasta, yumurta, vanilya, PAS), Kahramanmaraş il

merkezinde bulunan özel bir dondurma fabrikasından temin edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Yaş pasta kremasının hazırlanışı

Çalışmada 2019 Ocak-Şubat ayları arasında 3 çeşit yaş pasta kreması hazırlanmış ve analize alınmıştır. Krema örnekleri (kontrol, %10 PAS ve %25 PAS), raf ömrü ve mikrobiyolojik kalitesi incelenmek üzere 3 paralel ve toplamda 9 adet olarak oda sıcaklığında ve soğuk hava deposunda ayrı ayrı muhafaza edilmiştir.

Endüstriyel olarak üretilen yaş pastaların formülasyonları (%67,5 süt, %8,78 mısır nişastası, %16,9 şeker ve %6,75 yumurta) esas alınarak hazırlanan yaş pasta kremasının malzemeleri tartılıp 90°C'de 30 dk pişirilmiştir. Pişirilen krema karıştırılarak 10°C'de 30 dk soğutulmuştur. Üretimde kullanılmak üzere +4°C'de depolanmıştır.

Yapılan çalışmada kontrol krema haricinde toplam süt miktarının %10 ve %25'ine PAS ilave edilerek ayrıca iki krema daha yapılmış ve %10 PAS ilave edilmiş kremanın içeriği, %60,8 süt, %8,78 mısır nişastası, %16,9 şeker, %6,75 yumurta ve %6,75 PAS şeklinde olup, %25 peynir altı suyu ilave edilmiş kremanın içeriği, %50,67 süt, %8,78 mısır nişastası, %16,9 şeker, %6,75 yumurta, %16,89 PAS'tır.

2.2.2. Örneklerin analize hazırlanması

Analizlerde krema örnekleri homojenize edilerek (Anonim, 2008), maya ve küf sayımı için PDA (Patote Dextrose Agar, Merck) (Anonim, 2012), *E. coli* sayımı için TBX (Tryptone Bile X-glucuronide, Merck) Agar (Anonim, 2001), *S. aureus* sayımı için BPA (Baird Parker Agar, Merck) (Hecer, 2010), *Enterobacteriaceae* sayımında VRBD (Violet Red Bile Dextroz, Merck) Agar (Anonim, 2018), toplam mezofilik

aerobik bakteri sayımı için PCA (Plate Count Agar, Merck) kullanılmıştır (Anonim, 2013).

2.2.3. Hızlandırılmış raf ömrü testi

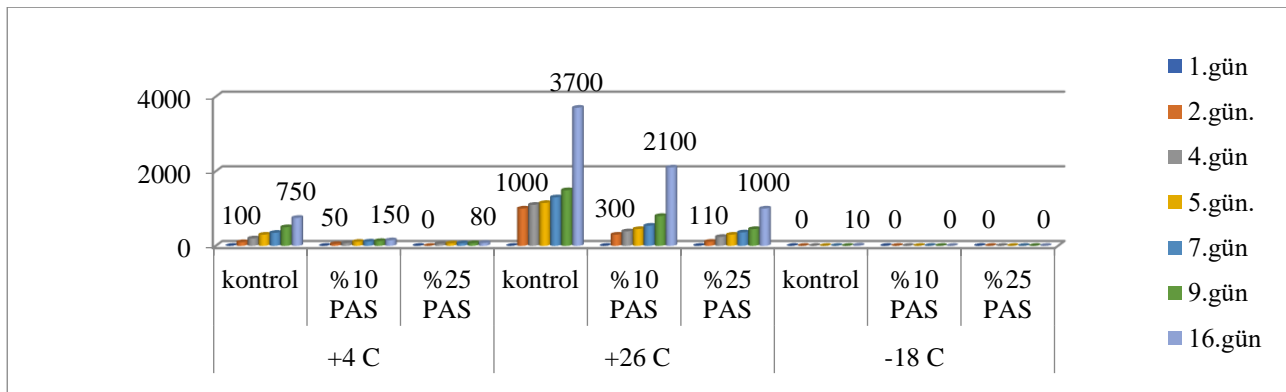
Krema örnekleri -18°C'de muhafaza edilmiştir. Hızlandırılmış raf ömrü testlerinde +4°C, +15°C, +26°C ve +30°C'de maya-küf sayımı yapılmıştır. Ön denemelerde krema örneklerinde bozulmanın en çok gözlemlendiği mikroorganizma maya-küf olarak tespit edildiğinden hızlandırılmış testlerde maya-küf tercih edilmiştir (Şekil 1). Teste tabi tutulan kremaların analiz sıklığı belirlenerek (Manav, 2011) maya-küf sayımları yapılmıştır. Depolama sürecince maya-küf miktar değişimlerinin grafiğine göre Arrhenius eşitliğinden yararlanılarak kremaların raf ömrü tayini yapılmıştır. Genellikle hızlandırılmış raf ömrü çalışmalarında oda sıcaklığı seçilmektedir (Acartürk, 2007). Bu çalışmada da aynı yöntem uygulanmıştır.

Hızlandırılmış raf ömründe Arrhenius eşitliğindeki aktivasyon enerjisi hesaplanarak reaksiyonun sıcaklık derecesine bağımlılığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada incelenen kriterlere ilişkin k değerlerinin doğal logaritmaları (lnk) aritmetik skalalı bir grafiğin y eksenine ve bu değerlere karşılık gelen sıcaklık değerlerinin resiprokali (1/T) x eksenine işlenerek lineer bir eğri elde edilmiştir. Arrhenius grafiği denilen bu eğriye regresyon analizi uygulanmış ve elde edilen denklemdeki eğim değeri ile gaz sabiti çarpılarak aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır.

3. Bulgular ve tartışma

Kontrol krema örneği ile %10 ve %25 PAS ilave edilen krema örnekleri -18°C'de muhafaza edildiğinde toplam maya-küf sayımı sonuçları depolamanın 16. günü kontrol krema örneğinde 10 kob/g olarak tespit edilmiş olup, %10 ve %25 PAS ilave edilen kremalarda mikrobiyolojik üreme tespit edilmemiştir (Şekil 1).

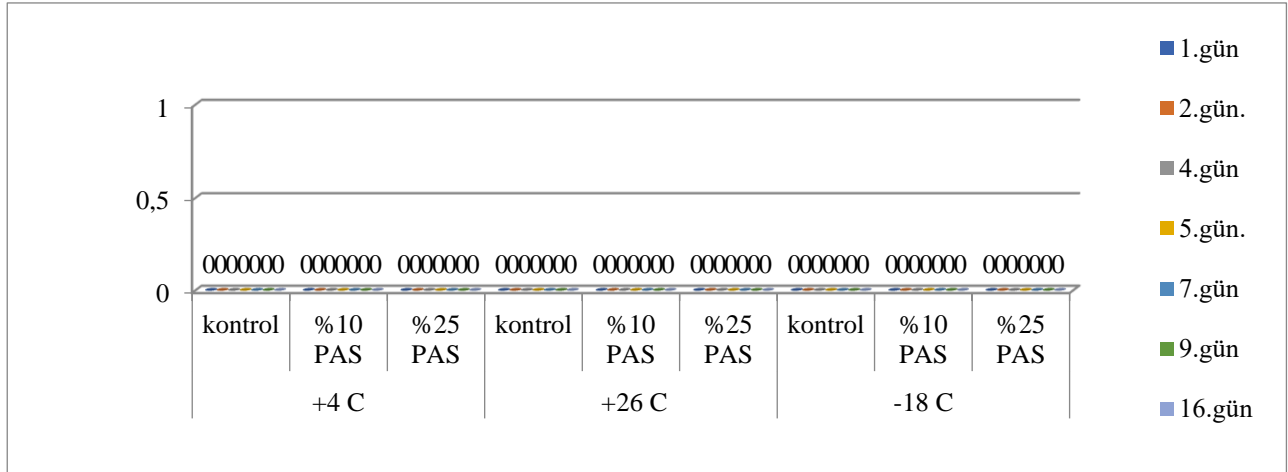


Şekil 1. Krema örneklerinin +4°C, +26°C ve -18°C'de muhafazasında maya-küf sayımları

Maya-küf sayıları +4°C’de kontrol krema örneğinde depolamanın 2. gününde 1×10^2 kob/g, 16. gününde $7,5 \times 10^3$ kob/g olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 2. günü %10 PAS ilave edilen krema örneğinin maya-küf sayısı 50 kob/g, 16. gününde ise $1,5 \times 10^3$ kob/g olarak tespit edilmiştir, %25 PAS ilave edilen kremalarda depolamanın 16. gününde bu değer 80 kob/g olarak bulunmuştur (Şekil 1). Krema örnekleri +26°C’de muhafaza edildiğinde maya-küf miktarı depolamanın 16. günü kontrol krema örneğinde $3,7 \times 10^4$ kob/g, %10 PAS ilave edilen kremada $2,1 \times 10^4$ ve %25 PAS ilave edilen

krema örneğinde 1×10^3 kob/g olarak tespit edilmiştir (Şekil 1).

Evren (2006), yaptığı çalışmada kakaolu kremalı pastalarda maya-küf sayısını $1,3 \times 10^5$ - $3,9 \times 10^7$ kob/g arasında bulmuştur. Yapılan bu çalışmada 16 günlük muhafaza süresi sonunda maya-küf miktarı daha önce yapılmış olan çalışmalara göre daha düşük olduğu ve PAS ilave edilen kremalarda ilave edilen PAS oranının artmasıyla maya-küf oranının azaldığı, mikrobiyel stabiliteyi sağladığı tespit edilmiştir (Şekil 1).

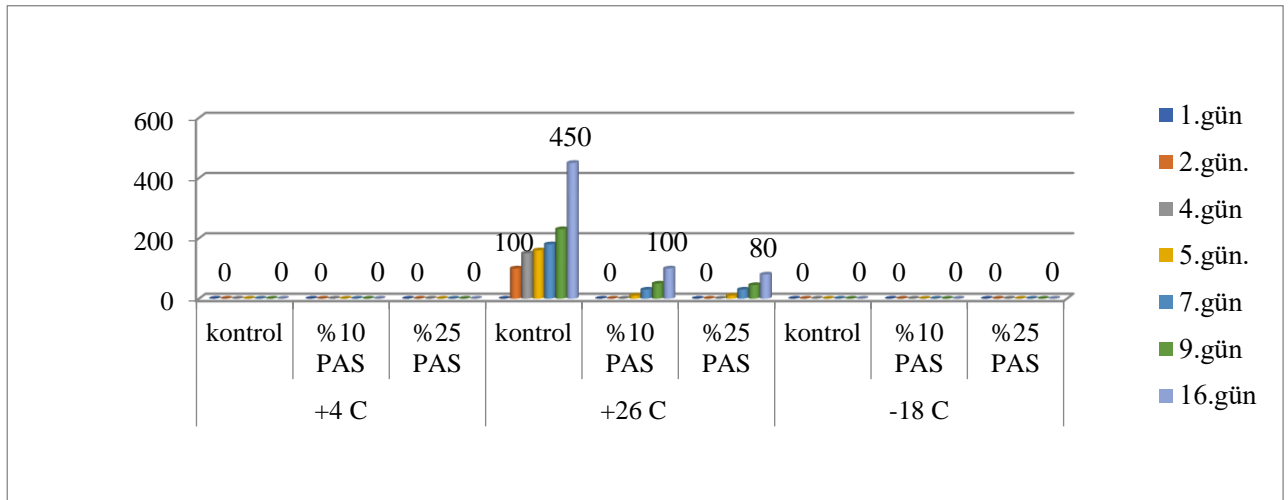


Şekil 2. Krema örneklerinin +4°C, +26°C ve -18°C’de muhafazasında *E. coli* sayımları

Bu çalışmada -18°C, +4°C ve +26°C sıcaklıklarda 3 farklı krema örneği muhafaza edilmiş ve krema örneklerinde *E. coli* üremesine PAS’ın ve sıcaklığın etki etmediği tespit edilmiştir (Şekil 2).

E. coli O157:H7’nin varlığını belirlemek amacıyla Elazığ’da tüketime sunulan 200 adet kremalı pasta

örneği incelenmiştir. Analize alınan pasta numunelerinin hiçbirinde *E. coli* O157:H7 tespit edilememiştir (Öksüztepe vd., 2010). Farklı muhafaza koşullarında farklı krema örnekleri daha önceki çalışmalara benzerlik göstermiş olup *E. coli* varlığı tespit edilmemiştir (Şekil 2).



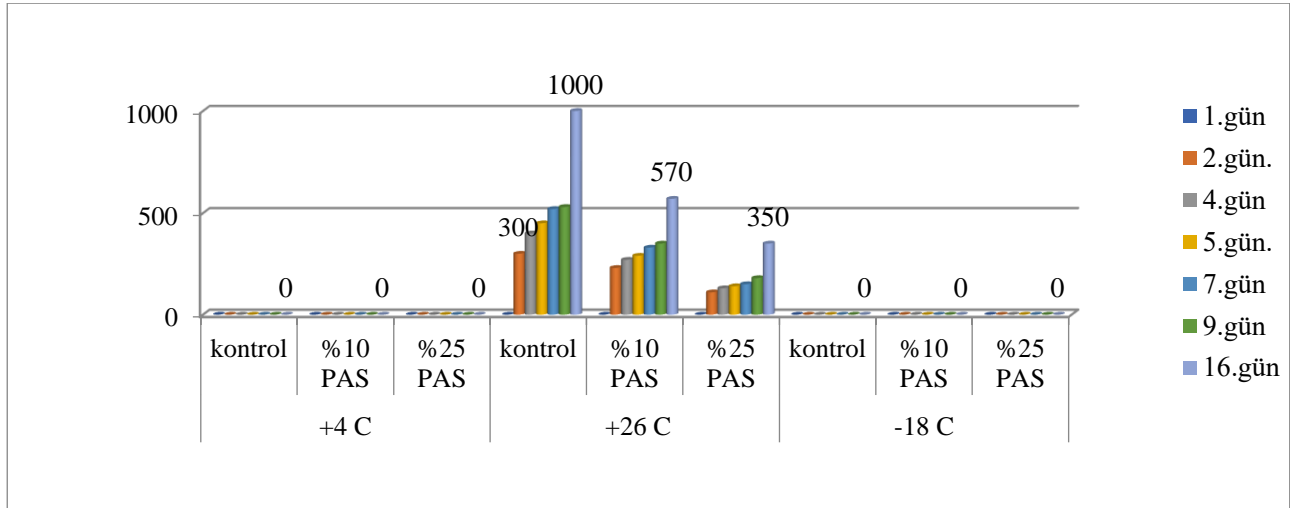
Şekil 3. Krema örneklerinin +4°C, +26°C ve -18°C’de muhafazasında *Enterobacteriaceae* sayımları

Kontrol krema örneği, %10 ve %25 PAS ilave edilmiş krema örneklerinde -18°C ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 16 günlük muhafaza süresinde *Enterobacteriaceae* (Çizelge 3) ve *S. aureus* (Şekil 4) varlığı tespit edilememiştir. *Enterobacteriaceae* varlığı sıcaklığın yükselmesiyle günlere bağlı olarak artış göstermiş ve PAS kullanılan örneklerde üremenin daha az olduğu, kullanılan PAS miktarı arttırıldıkça *Enterobacteriaceae* miktarının azaldığı tespit edilmiştir. *Enterobacteriaceae* miktarı $+26^{\circ}\text{C}$ muhafaza sıcaklığında, depolamanın 16. günü kontrol krema örneğinde $4,5 \times 10^3$ kob/g, %10 PAS ilave edilen kremada 1×10^2 kob/g, %25 PAS ilave edilen kremada 80 kob/g olarak tespit edilmiştir (Şekil 3).

Var vd., (2003) yapmış oldukları çalışmada Adana'da 150 adet kremalı pasta örneği incelemiştir. *Enterobacteriaceae* sayısını örneklerin %92'sinde 10 ile $>10^6$ kob/g arasında

tespit etmişlerdir. Bu çalışmada sıcaklığın artmasıyla *Enterobacteriaceae* üremesinin arttığı, düşük sıcaklıklarda muhafaza edildiğinde mikrobiyel üreme görülmediği (Şekil 3) tespit edilmiştir. Yapılan çalışma daha önce yapılan çalışmalarla uyum göstermiş olup yaş pasta kremasının ve kremlerin kullanıldığı yaş pastaların düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesi gerektiğini, bu sayede raf ömrünün arttırılacağı tespit edilmiştir.

S. aureus miktarı $+26^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta kontrol krema örneğinde, depolamanın 16. günü 1×10^3 kob/g, %10 PAS ilave edilen kremada $5,7 \times 10^3$ kob/g, %25 PAS ilave edilen kremada $3,5 \times 10^3$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Şekil 4). Yapılan çalışmada kremlerin sıcaklığın artmasına bağlı olarak *S. aureus* üremelerinin arttığı fakat PAS kullanılan krema örneklerinde mikrobiyel yükün azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4).



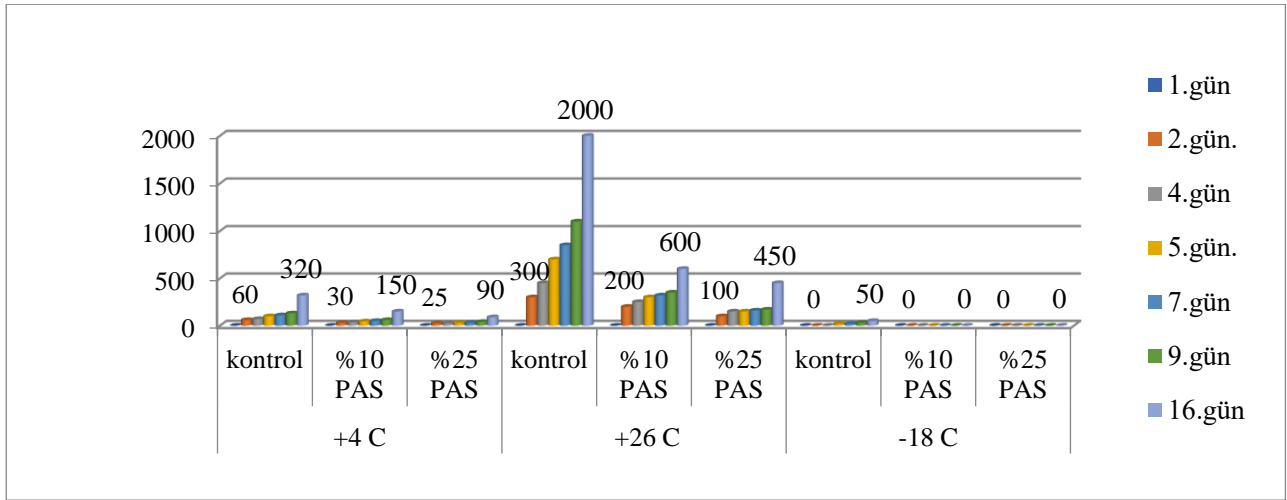
Şekil 4. Krema örneklerinin $+4^{\circ}\text{C}$, $+26^{\circ}\text{C}$ ve -18°C 'de muhafazasında *S. aureus* sayımları

Altunay (2013), yaptığı çalışmada *S. aureus* sayısını en düşük 0,48 log kob /g olarak bulurken, en yüksek 1,75 log kob/g olarak tespit etmiştir.

Örneklerin TMAB sayımı sonucunda; -18°C 'de kontrol krema örneğinin depolanmasının 16. gününde koloni sayısının 50 kob/g, olduğu tespit edilmiştir. PAS ilave edilen %10 ve %25'lik krema örneklerinde -18°C 'de 16 günlük muhafazada mikrobiyolojik üreme tespit edilmemiştir (Şekil 5). TMAB değeri $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen örnekler için kontrol krema örneğinde depolamanın 2. günü 60 kob/g olarak tespit edilmiş muhafaza sürecinin 16. günü ise $3,2 \times 10^3$ kob/g olarak bulunmuştur. Depolamanın 2. gününde %10 PAS ilave edilen kremlerin TMAB değeri 30 kob/g, 16. günü ise bu

değer $1,5 \times 10^3$ kob/g olarak tespit edilmiştir. Kontrol krema örneğine göre %10 PAS ilave edilen krema örneğinin $+4^{\circ}\text{C}$ muhafazasında depolamanın 16. gününde TMAB sayılarında yarı yarıya bir düşüş tespit edilmiştir. Depolamanın 16. gününde %25 PAS ilave edilen krema örneğindeki mikrobiyolojik yük miktarı 90 kob/g olarak tespit edilmiştir (Şekil 5).

Kontrol krema örneği $+26^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildiğinde, depolamanın 16. gününde TMAB değeri 2×10^3 kob/g, %10 PAS ilave edilen krema örneğinde bu değer 6×10^2 kob/g, %25 PAS ilave edilen krema örneğinde ise $4,5 \times 10^3$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Krema örneklerinin +4°C, +26°C ve -18°C’de muhafazasında toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları

Var vd. (2003), yaptıkları çalışmada TMAB sayısını 20 ile $>10^7$ kob/g arasında tespit etmişlerdir. Çalışmamızda 3 farklı krema örneği

+26°C muhafaza şartlarında 20 ila $>10^7$ kob/g (Şekil 5) arasında olup daha önceki yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir.

Çizelge 1. Krema örneklerinin +4°C, +26°C ve -18°C’de muhafazasında toplam koliform sayımları

	+4°C			+26°C			-18°C		
	kontrol	%10 PAS	%25 PAS	kontrol	%10 PAS	%25 PAS	kontrol	%10 PAS	%25 PAS
1.Gün	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.Gün	=2,84	<10	<10	<10	>4,69	>4,69	<10	<10	=45
5.Gün	<10	<10	=2,85	>5,43	>5,72	>5,72	<10	<10	=50
7.Gün	>3,32	>3,32	=3,32	>6,53	>7,85	>7,85	=20	<10	=50
14.Gün	>5,69	>5,69	>5,69	>8,98	>8,98	>8,92	<50	=45	<100

Yaş pasta kremalarında PAS kullanımının toplam koliform ve *B. cereus* üzerine etki etmediği tespit edilmiştir. Sıcaklığın artmasına bağlı olarak

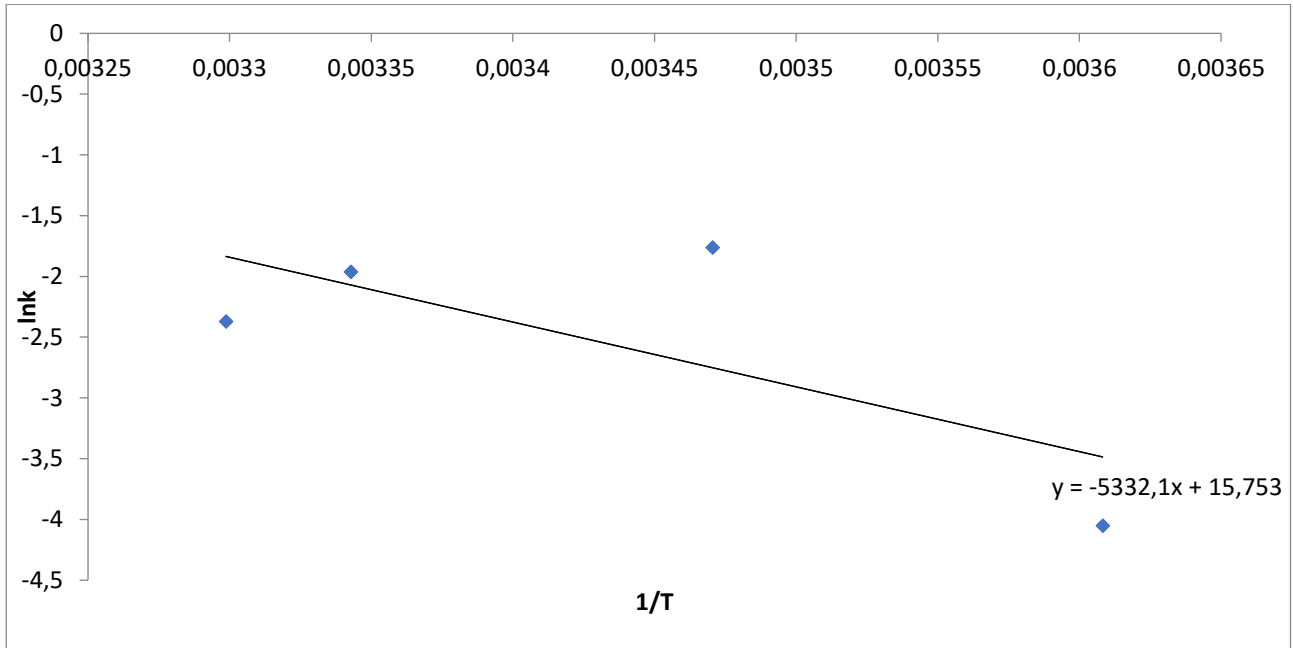
muhafaza süresiyle orantılı olarak toplam koliform (Çizelge 1) ve *B. cereus* (Çizelge 2) miktarının arttığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 2. Krema örneklerinin +4, +26 ve -18°C’de muhafazasında *B. cereus* sayımları

	+4°C			+26°C			-18°C		
	kontrol	%10 PAS	%25 PAS	kontrol	%10 PAS	%25 PAS	kontrol	%10 PAS	%25 PAS
1.Gün	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.Gün	<50	<50	=52	=2,84	<10	<10	<50	<50	<50
5.Gün	<50	<50	=52	>5,39	>4,9	>4,39	<50	<50	<50
7.Gün	<50	<50	=52	>7,74	=7,7	>7,75	<50	<50	<50
14.Gün	<50	<50	=52	>8,98	>7,88	>7,80	<50	<50	<50

Yapılan çalışmada 3 farklı krema örneğinin 4 farklı sıcaklık için maya-küf değişim grafiği çizilerek hız sabitleri (Çizelge 3) bulunmuştur. Ln k’ya 1/T grafikleri çizilerek lineer veri elde edilmiştir. PAS %25 olarak ilave edilen krema örneğine regresyon analizi uygulanmış ve elde edilen denklem (Şekil

6) sonucunda aktivasyon enerjisi (E_a) 10.594,88 kal/mol olarak bulunmuştur. Aktivasyon enerjisi hesaplanmış krema örneğinin 26°C’deki hızlandırılmış raf ömrü Arrhenius eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmış ve 1 gün olarak bulunmuştur.



Şekil 6: %25 PAS ilave edilmiş kremanın ln k'ya karşı 1/T grafiği

Yapılan literatür araştırması sonunda hızlandırılmış raf ömrü test sıcaklığı genellikle oda sıcaklığı olarak seçilmiştir (Acartürk, 2007).

Çalışmamızda hızlandırılmış raf ömrü testleri +26°C'de yapılmıştır.

Çizelge 3. Kontrol, % 10 ve %25 PAS ilave edilmiş krema örneklerinde maya-küf miktarlarının farklı sıcaklıklardaki hız sabitleri

Krema ör.	T (°C)	T (°K)	1/T	k	lnk
Kontrol		277,15	0,003608	0,1316	-2,02799
% 10 PAS	4	277,15	0,003661	0,677	-2,69267
% 25 PAS		277,15	0,003661	0,0174	-4,05129
Kontrol		288,15	0,00347	0,0688	-2,67655
% 10 PAS	15	288,15	0,00347	0,1175	-2,14132
% 25 PAS		288,15	0,00347	0,172	-1,76026
Kontrol		299,15	0,003343	0,0948	-2,35599
% 10 PAS	26	299,15	0,003343	0,14	-1,96611
% 25 PAS		299,15	0,003343	0,1407	-1,96113
Kontrol		303,15	0,03299	0,0446	-3,11002
% 10 PAS	30	303,15	0,03299	0,0683	-2,68385
% 25 PAS		303,15	0,03299	0,0683	-2,68385

4. Sonuç

Endüstriyel gıda firmaları, gıdaların raf ömrünü genellikle tahmin yöntemleriyle belirlemektedirler. Gıdalarda düşük sıcaklıklarda raf ömrü süresi uzatıldığı için bilimsel olarak raf ömrü bilinmemekte ve doğru sonuçlar elde edilememektedir. Hızlandırılmış raf ömrü tayin yöntemleriyle yüksek sıcaklıklarda hesaplanması yapılan gıdaların düşük sıcaklıklarda ortalama raf ömrü hesaplanarak bilimsel sonuçlar elde edilmiş olacaktır.

Çalışmanın sonucunda, hızlandırılmış raf ömrü tayin yöntemiyle düşük sıcaklıklarda uzun süre muhafaza edilen ürünlerin raf ömrünün daha kısa sürede belirlenebileceği gözlenmiştir. Ayrıca endüstriyel bir atık olan PAS'nun yaş pasta kremasına ilave edilmesiyle mikrobiyel stabilitenin sağlandığı tespit edilmiştir.

5. Kaynaklar

Acartürk, F. (2007). Modern Farmasötik Teknoloji. Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını. No: 6083475, 483s, Ankara.

Altunay, M. A. (2013). *Bazı Kremalı Fırıncılık Ürünlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi. 85s, Samsun.

Anonim (2001). Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi - Beta-Glucuronidase-Positive *Escherichia coli*'nin Sayımı İçin Yatay Yöntem. EN ISO 7932. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonim (2008). Süt ve Süt Ürünleri-Numune Alma Kılavuzu. TS EN ISO 707. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonim (2012). Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi- Maya ve Küflerin Sayımı İçin Yatay Yöntem. TS EN ISO 21527-1. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonim (2013). Gıda Zinciri Mikrobiyolojisi Mikroorganizmaların Sayımı İçin Yatay Yöntem. EN ISO 4833-1. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonim (2018). Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi - *Enterobacteriaceae*'nin Aranması ve Sayımı İçin Yatay Yöntem. TS EN ISO 21528-2. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Bodnár, I., Alting, A. C. and Verschuere, M. (2007). Structural effects on the permeability of whey protein films in an aqueous environment. *Food Hydrocolloids*, 21: 889- 895.

Can, Ö. P. ve Yalçın, H. (2011). Mersin'de tüketime sunulan kremalı pastaların mikrobiyolojik kalitelerinin değerlendirilmesi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 6 (3): 42-48.

Evren, M. (2006). Samsun piyasasında satışa sunulan kremalı pastaların mikrobiyolojik nitelikleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu.

Gümüş, T., Dağlıoğlu, O. ve Konyalı, A.M. (2005). Tekirdağ'da Tüketime Sunulan Yaş Pastaların Mikrobiyolojik Kalitesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2 (3): 215-220.

Hecer, C. (2010). Gıda Analizleri. Dora Yayıncılık. ISBN No: 978-605-6196-50-8, 317s, Bursa.

Koçak, S. (2006). *Mayonezde Mikrobiyolojik Raf Ömrü*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 72s, Ankara.

Kolat, B. (2008). *Ankara'da bulunan pastane imalathanelerinde HACCP'in uygulanabilirlik*

düzeyi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Aile Ekonomisi ve Beslenme Eğitimi Anabilim Dalı, 85s, Ankara.

Manav, H. M. 2011. *Fermente Kremaların Bazı Özelliklerinin Depolama Süresince Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, 95s, Ankara.

Öksüztepe, G., Patır B., Çalıcıoğlu, M., İlhak O. İ. ve Dikici, A. (2010). Elazığ'da satılan kremalı pastalarda *E. coli* O157:H7'nin varlığı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (2):307-311.

Turgay, Ö. (2017). *Gıda Mikrobiyolojisi*. Sıdaş Medya Yayınları ISBN No: 978- 605- 5267- 37-7, 261s., İzmir.

Türkmenoğlu, S. (2006). Organic acids production from cheese-whey. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü, 149 ss.

Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (2003). Gıda Mikrobiyolojisi. 3. Baskı. Ege Üniversitesi Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 437 s., İzmir.

Var I., Erginkaya Z. ve Kabak B. (2003). Adana piyasasında satılan çeşitli pastalarda bazı patojen mikroorganizma ve rop sporu varlığının araştırılması. *Unlu Mamuller Teknolojisi Dergisi*, 12 (59): 34-37.

Yerlikaya, O., Kınık, Ö. ve Akbulut, N.(2010). Peynir altı suyunun fonksiyonel özellikleri ve peynir altı suyu kullanılarak üretilen yeni nesil süt ürünleri. *Gıda Dergisi*, 35 (4): 289-296.

Original Article/Özgün Araştırma

Evaluation of individuals' perspectives and preferences for entomophagy

Bireylerin entomofajiye bakış açılarının ve tercihlerinin değerlendirilmesi

İlkay Yılmaz¹, Eren Yalçın^{2*}

¹Baskent University, Faculty of Fine Arts, Design and Architecture, Department of Gastronomy and Culinary Arts, ANKARA, TÜRKİYE

²Selçuk University, Faculty of Tourism, Department of Gastronomy and Culinary Arts, KONYA, TÜRKİYE

(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0001-5938-3112, Assist. Prof.

ORCID ID: 0000-0002-9927-1972, Res. Assist.

*Corresponding author/Yazışmalardan sorumlu yazar: yalcinerene@gmail.com

Geliş Tarihi : 27.12.2021

Kabul Tarihi : 20.02.2022

Abstract

Objective: Approximately 26.4% of the world population is experiencing food insecurity moderately or severely. By 2050, it is predicted that the world population will reach 9 billion and around 870 million people will experience problems related to food insecurity or insufficiency. As an alternative to nutritional problems that may arise, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) recommends entomophagy, a diet that includes insect consumption. 95% of the insects on earth have a higher caloric value than wheat, 87% of corn, 70% of fish, 63% of cow meat, and 50% of soybeans. Compared to protein values, insect proteins are claimed to be higher than meat and vegetable proteins and contain less fat. In addition, flour obtained from insects might be used to increase their nutritional content. This study aims to evaluate the perspectives and preferences of individuals towards entomophagy, considering the future of sustainable food consumption.

Materials and methods: Multiple data collection methods were used in this study. The sample size was determined as 384 at the 95% confidence interval. Variables for the identification of participants' demographic data were determined through descriptive analysis methods.

Results and conclusion: A total of 457 people participated in the research. The obtained results suggested that the disgust ($t=2.081$, $p<0.05$; $(F(3.453)=1.950$, $p>0.05)$; $(F(3.453)=2.365$, $p>0.05)$ and interest ($t=1.398$, $p>0.05$; $(F(3.453)=0.186$, $p>0.05)$; $(F(3.453)=0.250$, $p>0.05)$ dimensions of entomophagy showed significant differences by gender, but did not show significant differences by age and educational background of the participants. Similarly, the difference between the dimension of feeding animal ($t=0.989$, $p>0.05$) and age ($F(3.453)=1.645$, $p>0.05$) was not statistically significant. However, the dimension of feeding animals significantly differed by the participants' educational background ($F(3.453)=3.758$, $p<0.05$).

Keywords: entomophagy; insect consumption; edible insects; sustainable food

Öz

Amaç: Dünya nüfusunun yaklaşık %26,4'ü orta ya da şiddetli seviyede gıda güvensizliği yaşamaktadır. 2050 yılına kadar dünya nüfusunun 9 milyara ulaşacağı ve yaklaşık olarak 870 milyon insanın gıda güvensizliği ya da yetersizliği ile ilgili sorunlar yaşayabileceği öngörülmektedir. Ortaya çıkabilecek beslenme sorunlarına alternatif olarak ise Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü tarafından böceklerin tüketildiği bir beslenme biçimi olan entomofaji önerilmektedir. Dünya üzerinde yer alan böceklerin %95'i buğdaydan, %87'si mısırdan, %70'i balıktan, %63'ü büyükbaş hayvan etinden ve %50'si ise soya fasulyesinden daha yüksek kalori değerine sahiptir. Protein değerleri karşılaştırıldığında böcek proteinlerinin et ve bitki proteinlerine göre daha yüksek olduğu ve daha az yağ içerdiği ifade edilmektedir. Bu çalışmada, sürdürülebilir gıda tüketiminin geleceği dikkate alınarak bireylerin entomofajiye olan bakış açılarının ve tercihlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem: Çoklu veri toplama yönteminin kullanıldığı bu araştırmada, örneklem sayısı %95 güven aralığında 384 olarak belirlenmiştir. Katılımcıların kişisel bilgilerinin tanımlanması için değişkenler betimsel analiz yöntemleriyle tanımlanmıştır.

Bulgular ve sonuç: Araştırmaya toplamda 457 kişi katılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, entomofajinin tiksinti ($p < 0,05$; $F(3,453)=1,950$, $p > 0,05$); $F(3,453)=2,365$, $p > 0,05$) ve ilgi boyutunun ($t=1,398$, $p > 0,05$); $F(3,453)=0,186$, $p > 0,05$); $F(3,453)=0,250$, $p > 0,05$) katılımcıların cinsiyetlerine göre anlamlı bir farklılık gösterdiği fakat, yaşlarına ve eğitim durumlarına göre anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Benzer şekilde hayvanların beslenmesi boyutunun ise cinsiyete ($t=0,989$, $p > 0,05$) ve katılımcıların yaşlarına ($F(3,453)=1,645$, $p > 0,05$) göre anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Öte yandan hayvanların beslenmesi boyutunun ise katılımcıların eğitim durumlarına göre anlamlı bir farklılık gösterdiği ortaya çıkmıştır ($F(3,453)=3,758$, $p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: entomofaji; böcek tüketimi; yenilebilir böcekler; sürdürülebilir gıda

1. Introduction

As one of the main human needs, nutrition is expressed as the use of nutrients to maintain health and sustain life. Considering the physiological state of individuals, it is important to obtain the necessary energy by providing adequate and balanced nutrition in order for the body to continue its life and functioning (Baysal, 2012).

Entomophagy originated from the Greek word "entomo" meaning insect and "phagein" meaning food (Ramos-Elorduy, 1998). In 2050, it is forecast that the world's population will reach up to 9 billion people, and about 870 million people will experience food insecurity or inadequacy (Ramos-Elorduy, 1998; Sogari, 2015). The FAO recommends a diet defined as "entomophagy", "insect consumption" or "edible insect consumption" as an alternative food source to meet the nutritional needs of the growing population. (Ramos-Elorduy, 1998; Gahukar, 2011; Belluco et al., 2013).

A rapid increase in human population is also rapidly increasing the demand for food, and limited energy (fossil fuels) and resources are used to meet this demand. Insects that release less greenhouse gases into the atmosphere than many animals and can feed on organic waste might also be used as a feed component to reduce the negative effects on natural areas, forests and water quality that occur in livestock production (Ramos-Elorduy, 1998; Saruhan and Tuncer, 2010; Oonincx et al., 2010; Gahukar, 2011; Rumpold and Schlüter, 2013; Lensvelt and Steenbekkers, 2014; Sogari, 2015; Van Huis, 2010; Güneş, Sormaz and Nizamlioğlu, 2017; La Barbera et al., 2020).

The level of commercialization is increasing over time as entomophagy can be a solution for food safety and sustainability. Production methods and various quality criteria have been commercialized by national and international companies. In fact, it

is estimated that the global market of edible insects will exceed 522 million US dollars by 2023 (Pino Moreno and Reyes-Prado, 2020). 2037 different insect species are already eaten in various countries of the world and form an integral part of the diet of more than 2 billion people worldwide (Bessa et al., 2020). Due to the high acceptance of insect consumption, especially in Mexico, there are several companies that manufacture and commercialize various foodstuffs prepared from insects as feed for both humans and livestock (Pino Moreno and Reyes-Prado, 2020). The Netherlands made a start in this field by introducing its first insect-based products (mealworm burgers) to commercial stores in 2014. Countries such as Belgium in 2015 and Switzerland, which legalized the sale of insects for human food on the commercial market in 2017, followed the Netherlands (Bessa et al., 2020).

There are about 2000 insect species that can be used in human diet today (Yhoun-Aree, Puwastien and Attig, 1997; Ramos-Elorduy, 1998; Raubenheimer and Rothman, 2013; Mankan, 2017; Güneş, Sormaz and Nizamlioğlu, 2017; Kaymaz and Ulema, 2020). In addition to their ecological advantages, edible insects are also rich in nutritional values, especially carbohydrates, proteins, fats, vitamins and minerals (DeFoliart, 1992; Bukkens 1997; Ramos-Elorduy, 1998; Gahukar, 2011; Belluco et al., 2013; Rumpold and Schlüter 2013; Makkar et al., 2014; Sogari, 2015; Mitsuhashi, 2016; Özkan, 2019; Tuccillo, Marino and Torri, 2020). Furthermore, insect proteins require less resource use than animal proteins. It is therefore assumed that insects can be beneficial to the ecosystem and be a nutritious food for human (Katayama et al., 2008). 95% of the insects on earth have a higher caloric value than wheat, 87% of corn, 70% of fish, 63% of cow meat, and 50% of soybeans (Ramos, 1997; Özkan, 2019). It is stated that insect proteins, in comparison to meat and

vegetable proteins, have higher nutritional value and contain less fat (Ramos-Elorduy, 1998; Anankware et al., 2015; Muslu, 2020). Additionally, insects are viewed as healthy and nutritious alternatives to foods such as chicken, fish and red meat (Ramos-Elorduy, 1998). Furthermore, entomophagy is common in ethnic groups in South America, Mexico, Africa, and Asia, where insect flour is consumed in various forms (raw/processed) to enrich its nutritional content (Gahukar, 2011; La Barbera et al., 2020).

The examination of consumption perception towards edible insects indicates variations among communities (Beşirli, 2010; Özkan, 2019). The global food industry has contributed greatly to the expansion of the edible insect market. Between 2012 and 2015, about 20 food companies producing edible insect foods were established in America. 3,750,000 protein energy bars corresponding to about 60 tons of 150 million crickets were sold in 2014 (Hoffman, 2014, Ryu et al., 2017). The barriers to insect consumption are considered to be cultural and religious (Gahukar, 2011; Costa-Neto, 2014; Özkan, 2019) or neophobic (relating to the fear of consuming new foods) (Looy, Dunkel and Wood, 2014; La Barbera et al., 2020).

This study aims to evaluate individuals' perspectives and preferences towards entomophagy to maintain sustainable food consumption. The Entomophagy Attitude Questionnaire (EAQ) comprising of 23 questions which was developed by La Barbera et al. (2020), was applied to 457 individuals.

2. Material and methods

Within the scope of this study, an empirical research model was created using a survey model from quantitative research methods to evaluate individuals' perspectives and preferences for entomophagy. The measure evaluates individuals' disgust (Factor 1) or repulsion to entomophagy as negative and their interest (Factor 2) in new foods as positive. The third factor is the attitude towards the use of insects in feeding animals raised for human consumption. This study utilized multiple data collection methods. Multiple data collection models are models serving to reveal all the characteristics of the subject being investigated. Such models allow both in-depth descriptions and numerical data to be collected from relevant people (Chmiliar, 2010). The survey took place in Ankara and Istanbul and age between 18-75 individuals'. Convenience sampling method was used to select participants. The Ethics Committee approval required to collect the data to be used in this

research was obtained from Selcuk University, Board of Social and Humanities, Scientific Research and Publication Ethics with decision number 25338 dated 12/02/2021.

2.1. Data collection

In addition to three demographic questions, a questionnaire including 23 items developed by La Barbera et al. (2020) was used as the data collection instrument. A total of 26 questions were asked to be responded to volunteer participants in the study.

Due to Covid-19, data was collected using the electronic form created in Google Documents. Sample size determination table was used to determine the sample size of the study from a given population. For the population size of ten thousand and above, the sample size was determined to be 384 at a 95% confidence interval (Bal, 2001; Ural and Kılıç, 2006). The measure was applied to a total of 457 people. The items in the questionnaire were evaluated with a 5-point Likert scale, whereby 1: strongly disagree, 2: disagree, 3: undecided, 4: agree and 5: strongly agree. Data was collected between February and March 2021.

2.2. Data analysis

The data was analyzed through SPSS 20.0 statistical package program. Using frequency analysis method, variables for the identification of participants' demographic information were determined by descriptive analysis methods. At this stage, the minimum-maximum mean and standard deviation (SD) values were also calculated.

The reliability of the variables in the measure was tested via the Cronbach's alpha coefficient, and the skewness and kurtosis values were analyzed for normality analysis. The evaluation criteria of the reliability coefficient are considered to be reliable in the range of $0.00 < \alpha < 0.40$, low reliable in the range of $0.40 < \alpha < 0.60$, very reliable in the range of $0.60 < \alpha < 0.80$, and highly reliable in the range of $0.80 < \alpha < 1.00$ (Özdamar, 1999). The skewness and kurtosis values between +1.5 and -1.5 indicate the acceptance of normality assumption (Tabachnick and Fidell, 2013).

A one-way analysis of variance (ANOVA) as well as an independent samples t-test were performed to analyze the relationships between demographic data and research variables. Bonferroni Post-hoc test was conducted for between-group differences in case of a meaningful result in ANOVA.

3. Results

The gender, age and educational background of the participants are shown in Table 1. As can be seen,

the measure applied within the scope of the study was responded to a total of 457 participants, including 151 females and 306 males.

Table 1. Results of descriptive analysis concerning demographic data

		Frequency	Percentage
Gender	Female	306	67.0
	Male	151	33.0
Age	20 and below	132	28.9
	21-30	198	43.3
	31-40	63	13.8
	41-50	45	9.8
	51 and above	19	4.2
Educational Background	Primary	2	0.4
	Secondary	2	0.4
	High School	27	5.9
	Associate	125	27.4
	Undergraduate	237	51.9
	Master	58	12.7
	PhD	6	1.3
Total		457	100

In the study, 67% of the participants (n=306) were females, 33% (n=151) were males. 28.9% of the participants (n=132) were aged 20 or below, 43.3% (n=198) were between 21-30, 13.8% (n=63) were between 31-40, 9.8% (n=45) were between 41-50, and 4.2% (n=19) were aged 51 and above. In addition, 51.9% of the participants (n=237) held an undergraduate, 27.4% (n=125) had an associate

degree, and 12.7% (n=58) were graduates of a master's degree.

The examination of the mean scores obtained by the participants with regard to the dimensions of entomophagy (disgust, interest, and feeding animals) high rated in Table 2.

Table 2. Results of descriptive analysis concerning entomophagy dimensions

	n	Min.	Max.	M	SD
Disgust	457	1.00	5.00	3.69	1.31
Interest	457	1.00	5.00	2.70	1.44
Feeding Animals	457	1.00	5.00	3.09	1.14

n: Number of samples, *M*: Mean, *SD*: Standard deviation

It can be observed that the dimension with the highest participant score was the dimension of disgust, with a mean score of 3.69±1.31. In addition, the participant score was 2.70±1.44 for the dimension of interest and 3.09±1.14 for the dimension of feeding animal.

The levels of reliability and normality of the variables to be used in the study are provided in Table 3.

Table 3. Results of reliability and normality analyses concerning research variables

	Skewness	Kurtosis	α
Disgust	-0.703	-0.796	0.950
Interest	0.328	-1.270	0.905
Feeding Animals	-0.025	-0.674	0.651

As shown in Table 3, the reliability coefficient was 0.950 for the disgust variable; 0.905 for the interest

variable; and 0.651 for the feeding animal variable. These values suggested high reliability for the

variables disgust, interest and feeding animals. It is seen that the skewness and kurtosis values in Table 3 were between +1.5 and -1.5 (Tabachnick and Fidell, 2013), indicating normal distribution thus the use of parametric analysis methods.

In this part of the study, the differentiation of the dimensions of disgust, interest and feeding animals of entomophagy according to demographic data such as gender, age and educational background was examined.

Some groups were combined and used in the analyses to increase the homogeneity of group

variances and eliminate the possible negative effect of groups with low number of participants on the analysis results. In the age variable, a new group of "41 and over" was formed by combining the groups "41-50" and "51 and over". In the educational background variable, primary education, secondary education, and high school groups were combined under a new group called "High school and before". Also, Master and PhD groups were combined under "Postgraduate" group for the same variable.

Table 4. Independent samples t-test and one-way ANOVA results concerning the relationship between demographic data and entomophagy's disgust dimension

Disgust		n	M	SD	F&t	p
Gender	Female	151	3.50	1.43	2.081	0.038
	Male	306	3.79	1.25		
Age	20 and below	132	3.75	1.15	1.950	0.121
	21-30	198	3.59	1.35		
	31-40	63	4.02	1.23		
	41 and above	64	3.59	1.53		
Educational Background	High school and before	31	3.14	1.45	2.365	0.070
	Associate	125	3.78	1.37		
	Undergraduate	237	3.75	1.22		
	Postgraduate	64	3.58	1.42		

n: Number of samples, *M*: Mean, *SD*: Standard deviation, *F*: one-way ANOVA coefficient, *t*: independent samples t-test coefficient, *p*: statistical significance

Independent samples t-test (Table 4) showed that the disgust dimension of entomophagy differed significantly according to the gender of the participants $t=2.081$, $p<0.05$. Similarly, one-way ANOVA results indicated no statistical

significance between the disgust dimension of entomophagy and age ($F(3.453)=1.950$, $p>0.05$) and educational background ($F(3.453)=2.365$, $p>0.05$) of the participants.

Table 5. Independent samples t-test and one-way ANOVA results concerning the relationship between demographic data and entomophagy's interest dimension

Interest		n	M	SD	F&t	p
Gender	Female	151	2.84	1.50	1.398	0.163
	Male	306	2.64	1.41		
Age	20 and below	132	2.65	1.42	0.186	0.906
	21-30	198	2.73	1.43		
	31-40	63	2.64	1.43		
	41 and above	64	2.79	1.56		
Educational Background	High school and before	31	2.68	1.35	0.250	0.861
	Associate	125	2.66	1.47		
	Undergraduate	237	2.69	1.43		
	Postgraduate	64	2.84	1.51		

n: Number of samples, *M*: Mean, *SD*: Standard deviation, *F*: one-way ANOVA coefficient, *t*: independent samples t-test coefficient, *p*: statistical significance

As illustrated in Table 5, independent samples t-test results revealed no significant difference between entomophagy and gender $t=1.398$, $p>0.05$. Similarly, one-way ANOVA results showed that

the interest dimension of entomophagy did not differ significantly according to age ($F(3.453)=0.186$, $p>0.05$) and educational

background ($F(3.453)=0.250$, $p>0.05$) of the participants.

Table 6. Independent Samples t-test and one-way ANOVA results concerning the relationship between demographic data and entomophagy's feeding animals dimension

Feeding Animals		n	M	SD	F&t	p
Gender	Female	151	3.17	1.23	0.989	0.324
	Male	306	3.06	1.10		
Age	20 and below	132	3.01	1.04	1.645	0.178
	21-30	198	3.10	1.17		
	31-40	63	3.37	1.05		
	41 and above	64	2.98	1.32		
Educational Background	High school and before	31	2.73	1.27	3.758	0.011
	Associate	125	2.92	1.29		
	Undergraduate	237	3.15	1.06		
	Postgraduate	64	3.39	1.00		

n: Number of samples, *M*: Mean, *SD*: Standard deviation, *F*: one-way ANOVA coefficient, *t*: independent samples t-test coefficient, *p*: statistical significance

As indicated in Table 6, independent samples t-test results revealed no significant difference between feeding animals' dimension of entomophagy and gender $t=0.989$, $p>0.05$. In addition, one-way ANOVA test showed that feeding animals dimension of entomophagy did not differ significantly according to participants' age ($F(3.453)=1.645$, $p>0.05$).

However, it was found that there was a statistically significant difference between the feeding animals' dimension of entomophagy and educational background of the participants ($F(3.453)=3.758$, $p<0.05$). According to the Bonferroni Post-hoc test, the participants in the "Postgraduate" group scored significantly higher in the feeding animals' dimension of entomophagy than the participants in the "High school and before" and "Associate" groups.

4. Discussion and conclusions

In our study, the dimension with the highest participant score was the dimension of disgust, which was also confirmed in other studies that the most common reason for refusing to taste an insect-based product was the disgust factor (Van Huis, 2015; Sogari, 2015). According to Caparros et al. (2014), the dimension with the highest participant score was the dimension of disgust. A study to assess Belgian individuals' perceptions of entomophagy found that although neophobia was determined among the participants, the evaluation of insect preparations was accepted. In relation to this, various insect formulations (edible worms and crickets) were prepared, and it was determined that familiar flavors and crispy insects were preferred.

After the test of blind tasting, it seemed that people were willing to consume and cook insects in the near future. In the study, it was stated that entomophagy was positively associated with the eating habits of the Western European population. The integration of edible insects into human foods is a potential solution to replace other sources of animal protein. Insect consumption is a source for animal proteins in the future.

The acquired findings revealed that the measure had an acceptable level of reliability and was also applicable in Türkiye. It is therefore envisaged that the measure might be an important resource for researchers working in the field of gastronomy and nutrition. Given the current state of knowledge, this study might contribute to better acceptance of entomophagy in Türkiye and also help reduce the general public's bias, fear and negative attitude towards the consumption of edible insects.

According to our study, the participants in the "Postgraduate" group scored significantly higher than the participants in the "High school and before" and "Associate" groups. A study by Sogari et al. (2017) conducted on gastronomy science and food science students in Italy stated that students tasted almost all insect products and wanted to experience other edible insects. 109 students (53% females and 47% males) who participated in the study comprised young people between the ages of 18 and 25. Students were informed about entomophagy, and whether insects might be cooked with different culinary techniques or served as processed food. 65.0% of the participants stated

that the taste of edible insects was closely related to other substances.

According to the Bonferroni Post-hoc test, the participants in the “Postgraduate” group had higher scores for the use of entomophagy in feeding animals. A study conducted in Türkiye emphasized the need for further studies on issues such as feed value, digestibility, functional advantages, negative effects of insect flours, insect breeding systems, productivity in cultivation, and optimization in production, as well as the use of protein sources of insect origin as poultry feed within the framework of regulations to be established in the light of scientific data (Özek, 2016). That the participants in the “Postgraduate” group scored significantly higher than the participants in the “High School and Before” and “Associate” groups showing that as the level of education increased, the awareness of insects' inclusion in foods increased. There is a growing curiosity for entomophagy as well as a desire to consume products containing edible insects. Tasting sessions led by experts at food fairs, schools, museums and other special events might greatly facilitate the integration of entomophagy (Yen, 2009; Lensvelt and Steenbekkers, 2014; Balzan et al., 2016; Sogari et al., 2017).

As a result, research into entomophagy might be important in increasing the general acceptance of insects as food among different consumer groups and in commercial development. With this study, steps were taken to understand the main drives and barriers to accepting food with ingredients derived from insects (La Barbera et al., 2020). It is also assumed that people's consumption of edible insects and their use in gastronomy might occur depending on the training to be given.

The authors are aware that consumers have high levels of disgust in relation to eating insects. Insects might imperceptibly be processed as ingredients in gastronomy. It therefore seems plausible to assert that invisible insects inside insect-containing processed foods could receive more positive acceptance. Research and formulations should continue. The inclusion of insect products in gastronomy depends on culinary trends, marketing strategies and training. In particular, university courses on gastronomy and food science should be considered as opportunities for public participation to explain and taste edible insects because insects are one of food sources rich in proteins and other nutrients. Creating this positive perception of their healthy characteristics can be a powerful incentive for people who are more interested in their diet.

5. References

- Anankware, P. J., Fening, K. O., Osekere, E. and Obeng-Ofori, D. (2015). Insects as food and feed: A review. *International Journal of Agricultural Research and Review*, 3(1), 143-151.
- Bal, H. (2001). Bilimsel Araştırma Yöntem ve Teknikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Basımevi, Isparta.
- Balzan, S., Fasolato, L., Maniero, S. and Novelli, E. (2016). *British Food Journal*, 118 (2). DOI: 10.1108/eb011783
- Baysal, A. (2012). Beslenme. Hatiboğlu Yayınları, Ankara.
- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C. C., Paoletti, M. G. and Ricci, A. (2013). Edible Insects in a Food Safety and Nutritional Perspective: A Critical Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 296-313. DOI: 10.1111/1541-4337.12014
- Beşirli, H. (2010). Yemek, Kültür ve Kimlik. *Milli Folklor*, 22(87). 159-169.
- Bessa, L. W., Pieterse, E., Sigge, G. and Hoffman, L. C. (2020). Insects as human food; from farm to fork. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 100(14), 5017–5022. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8860>
- Bukkens, S. G. (1997). The nutritional value of edible insects. *Ecology of Food and Nutrition*, 36(2-4), 287-319. DOI: 10.1080/03670244.1997.9991521
- Caparros Megido, R., Sablon, L., Geuens, M., Brostaux, Y., Alabi, T., Blecker, C., Drugmand, D., Haubruge, E. and Francis, F. (2014). Edible Insects Acceptance by Belgian Consumers: Promising Attitude for Entomophagy Development. *Journal of Sensory Studies*, 29(1), 14-20. DOI: 10.1111/joss.12077
- Chmiliar, L. (2010). “Multiple-case designs”. Encyclopedia of case study research. A. J. Mills, G. Eurepas, & E. Wiebe. (Eds.) USA: SAGE Publications. 582-583
- Costa-Neto, E. M. (2014). Insects as Human Food: An Overview. *Amazônica-Revista de Antropologia*, 5(3), 562-582. DOI: 10.18542/amazonica.v5i3.1564
- DeFoliart, G. R. (1992). Insects as human food: Gene DeFoliart discusses some nutritional and economic aspects. *Crop Protection*, 11(5), 395-399. DOI: [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(92\)90020-6](https://doi.org/10.1016/0261-2194(92)90020-6)

- Gahukar, R. T. (2011). Entomophagy and Human Food Security. *International Journal of Tropical Insect Science*, 31(3), 129-144. DOI: 10.1017/S1742758411000257
- Güneş, E., Sormaz, Ü. and Nizamlıoğlu, H. F. (2017). Gıda ve Turizm Sektöründe Böceklere Yer Var mı?. *Uluslararası Türk Dünyası Turizm Araştırmaları Dergisi*, 2(1), 63-75.
- Hoffman, A. (2014). Inside the Edible Insect Industrial Complex. Available from <https://www.fastcompany.com/3037716/inside-the-edible-insect-industrial-complex>
- Katayama, N., Ishikawa, Y., Takaoki, M., Yamashita, M., Nakayama, S., Kiguchi, K., Kok, R., Wada, H. and Mitsuhashi, J. (2008). Entomophagy: A key to Space Agriculture. *Advances in Space Research*, 41 (2008), 701–705.
- Kaymaz, E. and Ulema, Ş. (2020). Yenilebilir Böceklerin Menülerde Kullanılması Üzerine Bir Araştırma-Kapadokya Örneği. *Journal of Travel and Tourism Research*, (14), 46-64.
- La Barbera, F., Verneau, F., Videbæk, P. N., Amato, M. and Grunert, K. G. (2020). A self-report measure of attitudes toward the eating of insects: Construction and validation of the Entomophagy Attitude Questionnaire. *Food Quality and Preference*, 79, 103757.
- Lensvelt, E. J. and Steenbekkers, L. P. A. (2014). Exploring consumer acceptance of entomophagy: a survey and experiment in Australia and the Netherlands. *Ecology of Food and Nutrition*, 53(5), 543-561.
- Looy, H., Dunkel, F. V. and Wood, J. R. (2014). How then shall we eat? Insect-eating attitudes and sustainable foodways. *Agriculture and Human Values*, 31(1), 131-141. DOI: 10.1007/s10460-013-9450-x
- Makkar, H. P., Tran, G., Heuzé, V. and Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1-33. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008
- Mankan, E. (2017). Gastronomide Yeni Trendler-Yenilebilir Böcekler. *Electronic Turkish Studies*, 12(3), 425-440.
- Mitsuhashi, J. (2016). Edible insects of the world. CRC press.
- Muslu, M. (2020). Sağlık Geliştirilmesi ve Sürdürülebilir Beslenme İçin Alternatif Bir Kaynak: Yenilebilir Böcekler. *Gıda*, 45(5), 1009-1018. DOI: 10.15237/gida.GD20071
- Oonincx, D. G., Van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J., Van Den Brand, H., Van Loon, J. J. and Van Huis, A. (2010). An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PloS one*, 5(12), e14445.
- Özdamar, K. (1999). Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi 1. Eskişehir: Kaan Kitapevi.
- Özek, K. (2016). Böcek Kökenli Protein Kaynaklarının Yem Değeri ve Kanatlıların Beslenmesinde Kullanılabilme Olanakları. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 19(3), 272-278.
- Özkan, M. (2019). Alternatif Gıda Kaynaklarının (Böcekler) Kullanımına Dair Bakış Açılarının Değerlendirilmesi: Konya Örneği. Necmettin Erbakan Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Pino Moreno, J. M. and Reyes-Prado, H. (2020). Commerce of Edible Insects in the State of Morelos, Mexico. *Journal of Insect Science (Online)*, 20(5), 19. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa106>
- Ramos, J. (1997). Insects: a sustainable source of food. *Ecology of Food and Nutrition*, 36, 247-276. Doi: 10.1080/03670244.1997.9991519
- Ramos-Elorduy, J. (1998) Creepy Crawly Cuisine: The Gourmet Guide to Edible Insects. Rochester, Paris. Park Street Press.
- Raubenheimer, D. and Rothman, J. M. (2013). Nutritional Ecology of Entomophagy in Humans and Other Primates. *Annual Review of Entomology*, 58, 141-160. DOI: 10.1146/annurev-ento-120710-100713.
- Rumpold, B. A. and Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(5), 802-823. DOI: 10.1002/mnfr.201200735
- Ryu, J. P., Shin, J. T., Kim, J. and Kim, Y. W. (2017). Consumer preference for edible insect-containing cookies determined by conjoint analysis: An exploratory study of Korean consumers. *Entomological Research*, 47(2), 74-83.
- Saruhan, İ. ve Tuncer, C. (2010). Kültürel entomoloji. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(1), 21-27.

Sogari, G. (2015). Entomophagy and Italian Consumers: An Exploratory Analysis. *Progress in Nutrition*, 17(4), 311-316.

Sogari, G., Menozzi, D. and Mora, C. (2017). Exploring young foodies 'knowledge and attitude regarding entomophagy: A qualitative study in Italy. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 16-19. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2016.12.002

Tabachnick, B. G. and Fidell, L. S. (2013). Using multivariate statistics: International edition. Pearson 2012.

Tuccillo, F., Marino, M. G. and Torri, L. (2020). Italian Consumers' Attitudes Towards Entomophagy: Influence of Human Factors and Properties of Insects and Insect-based Food. *Food Research International*, 137, 109619. Doi: 10.1016/j.foodres.2020.109619

Ural, A. and Kılıç, İ. (2006). Bilimsel Araştırma Süreci ve SPSS ile Veri Analizi, Detay Yayıncılık, 2. Basım, Ankara, 49.

Van Huis, A. (2010). An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PloS one*, 5(12), e14445. DOI: 10.1371/journal.pone.0014445

Van Huis, A. (2015). Edible insects contributing to food security. *Agriculture and Food Security*, 4(1), 1-9. DOI: 10.1186/s40066-015-0041-5

Yen, A. L. (2009). Edible insects: Traditional knowledge or western phobia. *Entomological Research*, 39(5), 289-298.

Yhoun-Aree, J., Puwastien, P. and Attig, G. A. (1997). Edible insects in Thailand: An unconventional protein source. *Ecology of Food and Nutrition*, 36(2-4), 133-149. DOI: 10.1080/03670244.1997.9991511

Özgün Araştırma/Original Article

Hazır soslardaki ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) öncüllerinin biyoerişilebilirliklerinin *in vitro* gastrointestinal sistem ile belirlenmesi

Determination of bioaccessibility of advanced glycation end-products (AGEs) precursors in ready-made sauces by *in vitro* gastrointestinal system

Jale Çatak^{1*} , Elif Nur Uçgun¹ 

¹*Istanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İSTANBUL, TÜRKİYE*

(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0002-2718-0967, Doç. Dr.

ORCID ID: 0000-0001-7231-4867, Uzman

*Sorumlu yazar/Corresponding author: jalecatak@gmail.com

Geliş Tarihi : 29.11.2021

Kabul Tarihi : 24.06.2022

Öz

Amaç: İleri glikasyon son ürünleri (AGE'ler), gıdaların işlenmesi sırasında Maillard reaksiyonu, proteinlerin ve yağların oksidasyonu ile meydana gelen ve vücutta birikimi toksik etki gösteren bileşiklerdir. Gliksal (GO) ve metilgliksal (MGO) en önemli AGE öncüllerindendir. Bu çalışmanın amacı, çeşitli sosların içeriğindeki şeker bileşenlerini tespit ederek, *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli ile soslardaki GO ve MGO'nun sindirim öncesi ve sonrası miktarlarını belirlemek, şeker bileşeni türü ve miktarının AGE oluşumuna etkisini değerlendirmek ve çeşitli sosların GO ve MGO biyoerişilebilirliklerini ortaya koymaktır.

Materyal ve yöntem: Çalışmada, 20 farklı sos örneği İstanbul'daki çeşitli marketlerden temin edilip, analizler HPLC ile gerçekleştirilmiştir.

Tartışma ve sonuç: Soslardaki şeker bileşenleri sonuçlarına göre; fruktoz 0,00–17,60 g/100 g; glikoz 0,00–19,35 g/100 g ve sakkaroz 0,00–25,56 g/100 g aralığında bulunmuştur. Sindirim öncesi GO değerleri 6,00–919,9 µg/100 g, MGO değerleri ise 0,00–512,3 µg/100 g aralığında tespit edilmiştir. GO değeri en yüksek barbekü sosta, MGO değeri ise en yüksek domates salçasında tespit edilmiştir. İncelenen ürünlerin GO biyoerişilebilirlikleri %0–529,5 aralığında belirlenmiş olup MGO biyoerişilebilirlikleri ise %0–144,2 aralığında değişmektedir. En yüksek GO biyoerişilebilirliği hardalda, en yüksek MGO biyoerişilebilirliği ise çikolatalı sosta belirlenmiştir. Toplam şeker miktarı yüksek olan ürünlerin toplam AGE öncülü miktarları da yüksek bulunmuştur. Glikotoksin olarak da bilinen AGE'ler, diyabet başta olmak üzere birçok kronik hastalıkta patolojik öneme sahiptir. İşlenmiş gıda ürünlerindeki GO ve MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliğinin bilinmesi, diyetle alınan AGE miktarlarının belirlenmesi açısından önemlidir. Sonuç olarak, işlenmiş gıdaların AGE miktarlarının tayini, oluşumunun azaltılması ve engellenmesi üzerine daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: biyoerişilebilirlik; *in vitro* sindirim; gliksal; metilgliksal; sos

Abstract

Objective: Advanced glycation end products (AGEs) are compounds formed by the Maillard reaction, oxidation of proteins and lipids during food processing, and have toxic effects on human body. The most critical AGE precursors are glyoxal (GO) and methylglyoxal (MGO). This study aims to detect sugar components in the content of various sauces, to determine the pre-and post-digestion amounts of GO and MGO in sauces with an *in vitro* gastrointestinal digestion model, to evaluate the effect of sugar component type and amount on AGE precursor formation, and to reveal the GO and MGO bioaccessibility of various sauces.

Materials and methods: In the study, 20 different sauce samples were obtained from various markets in Istanbul, and the analyses were carried out by HPLC.

Discussion and conclusion: According to the results of sugar components in sauces, fructose was found between 0.00–17.60 g/100 g; glucose 0–19.35 g/100 g; and sucrose 0–25.56 g/100 g. Pre-digestion GO values were determined in the range of 6.0 – 919.9 µg/100 g, and MGO values in the range of 0–512.3 µg/100 g. The highest GO value was found in barbecue sauce and the highest MGO value in tomato paste. The GO bioaccessibility was determined in the range of 0–529.5%, while MGO bioaccessibility ranges between 0–144.2%. The highest GO bioaccessibility was determined in mustard, while the highest MGO bioaccessibility was determined in chocolate sauce. The total amount of AGE precursors was found to be increased in the products with high total sugar content. AGEs, also known as glycotoxins, have pathological importance in many chronic diseases, especially diabetes. Therefore, knowing the *in vitro* bioaccessibility of GO and MGO in processed food products is essential for determining the amount of dietary AGEs. In conclusion, there is a need for more studies on determining the amount of AGEs in processed foods, reducing and inhibiting their formation.

Keywords: bioaccessibility; *in vitro* digestion; glyoxal; methylglyoxal; sauce

1. Giriş

İleri glikasyon son ürünleri (AGE'ler) protein ve lipitlerin oksidasyonu, Maillard reaksiyonları (MR) ve gıdaların işlenmesi sırasında oluşabilmektedir. MR, indirgen şekerlerin bir karbonil grubu ile proteinlerin, peptitlerin, amino asitlerin ve nükleik asitlerin bir amino grubu arasındaki enzimatik olmayan reaksiyonlar ile başlamaktadır ve daha sonra kararsız Schiff bazlarına dönüşmektedir. Bu kararsız ara ürünler, daha kararlı olan Amadori/Heyns ürünlerine dönüştükten sonra, glioksal (GO), metilglioksal (MGO) ve 3-deoksiglukozon (3-DG) gibi oldukça reaktif α -dikarbonil bileşiklerine dönüşmektedir (Poulsen vd., 2013). Bu bileşikler de lizin, arginin, histidin ve sistein gibi amino asitlerin amino grupları ile reaksiyona girerek, N- ϵ -karboksimetillizin (CML), N- ϵ -karboksietillizin (CEL) ve pentosidin gibi ileri glikasyon son ürünlerini oluşturmaktadır (Henle, 2005; Luevano-Contreras ve Chapman-Novakofski, 2010).

AGE öncülleri, hem gıdalarda (eksojen) hem de insan vücudunda (endojen) oluşabilmektedir (Sharma vd., 2015). Normal metabolizmanın bir parçası olan AGE'ler, beslenme ile eksojen olarak vücuda alınabilmektedir. Eksojen AGE'lerin dolaşımdaki AGE düzeylerine katkısının, vücutta biriken toplam AGE'lerin yaklaşık %30'u kadar olduğu tahmin edilmektedir (Rowan vd., 2018). Diyet kaynaklı AGE'ler (dAGE) hücre üzerinde, endojen AGE'ler ile benzer etkiler göstererek, inflamatuvar sinyalleri indükler ve oksidatif stresi teşvik eder. Ayrıca, dokularda dAGE'lerin birikmesi, reaktif oksijen türlerinin üretimi yoluyla hücre hasarı arttırır (Garg ve Merhi, 2015). Literatürde AGE birikiminin; kardiyovasküler hastalıklar (KVH), diyabet, kronik böbrek yetmezliği, nörodejeneratif hastalıklar ve psikiyatrik rahatsızlıklara neden olabileceği bildirilmiştir (Kouidrat vd., 2015). Diyabet,

Alzheimer, Parkinson, yaşlanma ve böbrek yetmezliği olan hastaların dokularında MGO kaynaklı AGE bileşiklerinin yüksek miktarda olduğu ortaya koyulmuştur (Rabbani ve Thornalley, 2014).

GO ve MGO'nun, işlenmiş gıda ürünlerinde ve canlılarda en çok rastlanılan α -dikarbonil bileşikler olduğu bilinmektedir. Gıda ürünlerindeki CML ve MGO miktarlarının, pişirme yöntemi ve pişirme sıcaklığı ile yakından ilgili olduğu, ayrıca gıdalardaki yağ miktarı ve MGO seviyesi arasında da önemli bir korelasyon varlığı bildirilmektedir (Uribarri vd., 2010). Son yıllardaki araştırmalar, işlenmiş gıdaların, yağ ve rafine şeker içeriği yüksek olan modern batı diyetlerinin, artan AGE düzeyleri ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (Foroumandi vd., 2020). Hazır soslar, ısı işlem görmüş işlenmiş gıdalardan olmakla birlikte, yoğun yağ ve şeker içerikleriyle de dikkat çekmektedir. Eksojen AGE'ler, gıdaların protein, yağ ve karbonhidrat içeriğinden ve bu içeriklerin miktarından da etkilenebilmektedir. AGE'lerin oluşumunda önemli olan bir diğer etmen ise gıdaların maruz kaldığı ısı işlemlerin derecesi ve süresi olarak bilinmektedir (Çatak vd., 2022; Sharma vd., 2015).

MR ürünlerinin, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda biyoerişilebilirliği konusunda oldukça az sayıda çalışma mevcuttur (Cengiz vd., 2020; Uğur vd., 2022). İşlenmiş gıdalar, yüksek oranda GO ve MGO içerebilmektedir. İşlenmiş gıda ürünlerinden olan soslardaki GO ve MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi, diyet yoluyla alınan dAGE miktarlarının bilinmesi için önemlidir. Gıda kompozisyon veri tabanlarında genellikle, günlük diyetle alınan besin öğelerinin miktarları, çiğ ya da pişmiş gıdaların verileriyle belirlenmektedir. Pek çok çalışma, besin öğelerinin *in vitro* ve *in vivo* biyoerişilebilirliklerine bağlı olarak, günlük diyetle alınan miktarların daha

farklı olduğunu bildirmektedir. Bu sebeple, günlük diyetlerde besin öğelerinin miktarı hesaplanırken, biyoerişilebilir miktarlar dikkate alınarak değerlendirme yapılmalıdır (Yaman vd., 2021).

2. Materyal ve yöntem

2.1. Kimyasallar

Gliksal, metilgliksal, 4-nitro-1,2-fenilendiamin, asetonitril, metanol, sodyum asetat, fruktoz, glukoz, sakkaroz, NaHCO₃, CaCl₂·2H₂O, alfa-amilaz (1,5 U/mg), pepsin (≥250 ünite/mg), pankreatin (8 x USP), lipaz (100-500 ünite/mg), KCl, NaCl, müsün, safra tuzları, serum albümin (sığır), üre ve ürik asit Sigma Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) satın alınmıştır.

2.2. Örneklem

Bu araştırmada, 20 çeşit ticari sos İstanbul'daki marketlerden temin edilmiştir. Çalışma için seçilen soslar; meyveli sos, çikolatalı sos, cheddar sos, köri sos, nar ekşili sos, domates salçası, mango köri sos, ballı hardal sos, karamelli sos, mayonez, acılı mayonez, sarımsaklı mayonez, soya sosu, barbekü sos, hardal, ketçap, acı biber sosu, acılı ketçap, biber salçası ve ranch sos'tur.

2.3. Gliksal ve metilgliksal ekstraksiyonu ve türevlendirmesi

Homojenize edilen 5 g sos örneği tartılarak 50 ml'lik plastik falkon tüpü içerisine konulmuştur. Devamında, üzerine 25 mL metanol ilave edildikten sonra 1 dk. vortekslenmiştir, 8.000 rpm'de 5 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Numuneler santrifüj edildikten sonra süpernatanttan 0,5 mL 10 mL'lik cam tüp içine alınmıştır ve bu numunenin üzerine hazır fosfat tamponu (pH: 3) ilave edilmiştir. Bu işlem sonrasında, türevlendirme işleminin gerçekleşmesi için üzerine 0,5 mL 4-nitro-1,2- fenilendiamin çözeltisinden eklenmiştir. Numuneler, 70°C'de 20 dk. boyunca inkübe edilmiştir. Son olarak, örnekler 0,45 µm'lik selüloz asetat (CA) filtreden geçirildikten sonra HPLC cihazına verilmiştir (Cengiz vd., 2020; Çatak, 2020; Yaman, 2021).

2.4. Gliksal ve metilgliksalın HPLC ile belirlenmesi

Gliksal ve metilgliksalın belirlenmesinde, Shimadzu SPD-20A UV/VIS dedektörü ve Shimadzu LC 20AT pompanın (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) oluşturduğu HPLC sistemi kullanılmıştır. Mobil faz için metanol:su:asetonitril (42:56:2 v/v/v) karışımı

kullanılmıştır. GL Science Inertsil ODS-3 kolon ile kromatografik ayırım gerçekleştirilmiştir. Dedektörün dalga boyu 255 nm olarak ayarlanırken, akış hızı 1 ml/dk' ya, kolon fırın sıcaklığı ise 30°C'ye ayarlanmıştır.

2.5. Şeker bileşenleri ekstraksiyonu

Homojenize edilen 5 g sos örneği 50 mL'lik falkon tüp içerisine tartılmıştır. Üzerine 50 mL saf su ilave edilmiştir ve vorteks kullanılarak 5 dk. ekstrakte edilmiştir. Daha sonra hacim deiyonize su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır ve 1300 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir (Richmond vd., 1981). Örnekler, 0,45 µm'lik CA filtreden geçirilerek HPLC cihazına verilmiştir.

2.6. Gliksal ve metilgliksalın *in vitro* biyoerişilebilirlik metodu

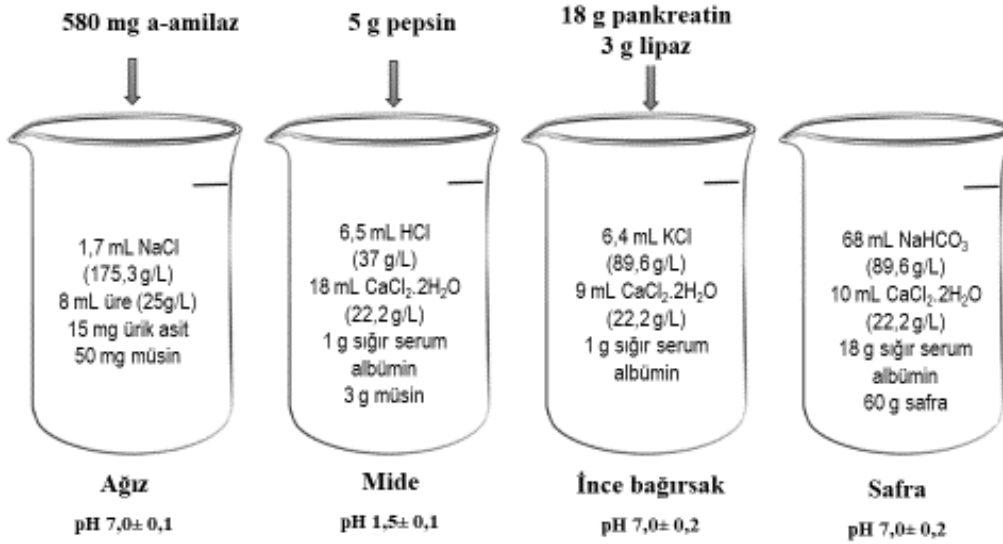
Soslardaki GO ve MGO'nun biyoerişilebilirliği *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak tespit edilmiştir (Yaman vd., 2019). *In vitro* insan gastrointestinal sistem modelinde kullanılan ağız, mide, ince bağırsak ve safra sıvılarının bileşimi ve hazırlanışı Şekil 1'de gösterilmiştir.

Örnekten 5 g tartılarak 50 mL'lik falkon tüp içerisine alınmıştır. Üzerine, hazırlanan tükürük sıvısından 5 mL ilave edildikten sonra, 37°C'de 5 dk. çalkalamalı su banyosunda inkubasyona bırakılmıştır. Devamında, mide sıvısından 12 mL eklenmiştir ve tekrar çalkalamalı su banyosunda 37°C'de 2 saat inkubasyona bırakılmıştır.

Hazırlanmış olduğumuz safra sıvısından 5 mL ilave edildikten sonra, pH 7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra, üzerine 10 mL ince bağırsak sıvısı eklenerek çalkalamalı su banyosunda 37°C'de 2 saat inkubasyona bırakılmıştır. Sindirim işlemi tamamlandıktan sonra, son hacim, 50 mL'ye deiyonize su ile tamamlanarak seyreltilmiştir. Daha sonra numuneler 8000 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj edilmiştir.

3. Tartışma ve sonuç

HPLC yöntemi ile çeşitli soslardaki şeker bileşenlerinin miktarları tespit edilmiştir ve AGE öncülleri olan GO ve MGO bileşiklerinin miktarları sindirim öncesi ve sindirim sonrası analiz edilerek *in vitro* biyoerişilebilirlikleri belirlenmiştir. Sosların içeriğindeki şeker miktarı tayini için, glikoz, fruktoz ve sakkaroz analiz edilmiştir. Soslarda tespit edilen şeker bileşenleri sonuçları Çizelge 1'de ve Şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 1. *In vitro* gastrointestinal sistemde kullanılan tükürük, mide, ince bağırsak ve safra sıvılarının bileşimi.

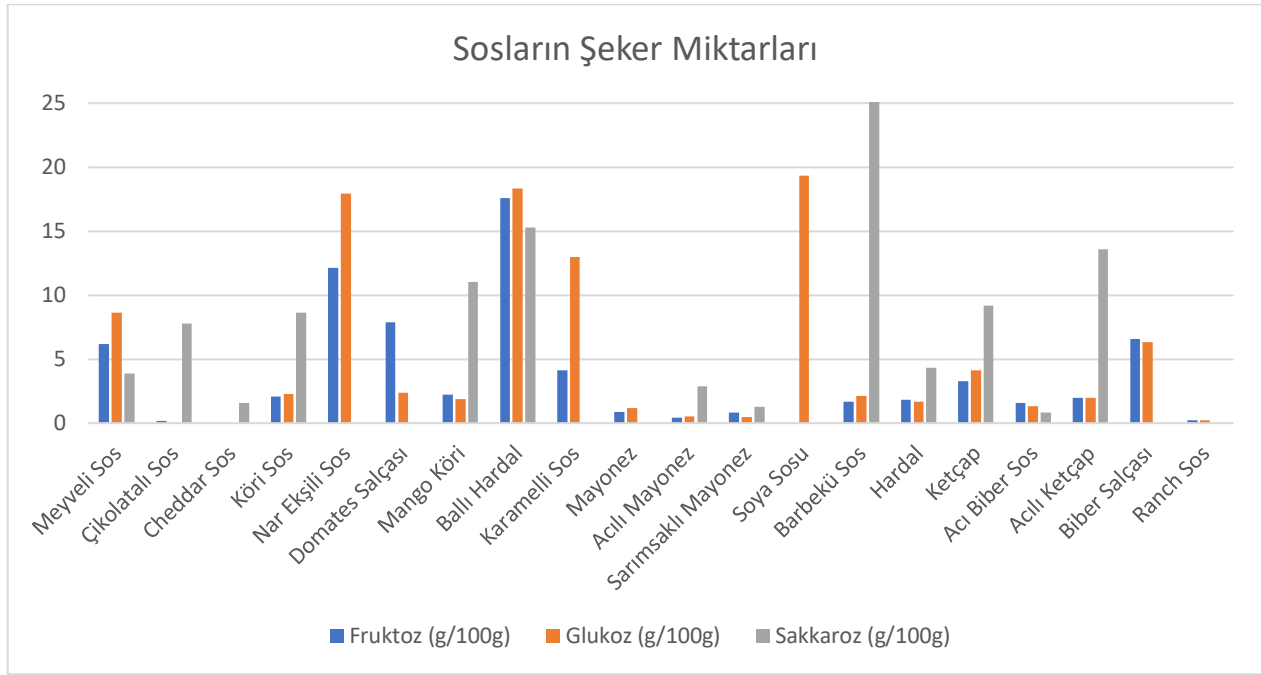
Elde edilen sonuçlara göre, fruktoz değerleri 0,00 – 17,60 g/100 g aralığında; glikoz değerleri 0,00 – 19,35 g/100 g aralığında ve sakkaroz değerleri ise 0,00 – 25,56 g/100 g aralığında bulunmuştur. Cheddar sos ve soya sosunda fruktoz tespit edilememiştir. Çikolatalı sos ve cheddar sosta

glikoz tespit edilememiştir. Nar ekşili sos, domates salçası, karamelli sos, mayonez, soya sosu ve biber salçasında ise sakkaroz tespit edilememiştir. En yüksek fruktoz değeri ballı hardal sosta, en yüksek glikoz değeri soya sosunda ve en yüksek sakkaroz değeri barbekü sosta tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Soslarda şeker bileşenlerinin miktarları

Sos çeşidi	Fruktoz (g/100 g)	Glikoz (g/100 g)	Sakkaroz (g/100 g)	Toplam şeker (g/100 g)
Meyveli sos	6,18±0,28	8,65±0,39	3,86±0,17	18,69
Çikolatalı sos	0,16±0,01	0,00±0,00	7,77±0,35	7,93
Cheddar sos	0,00±0,00	0,00±0,00	1,56±0,07	1,56
Köri sos	2,08±0,09	2,27±0,10	8,62±0,39	12,97
Nar ekşili sos	12,12±0,55	17,96±0,81	0,00±0,00	30,08
Domates salçası	7,86±0,36	2,36±0,11	0,00±0,00	10,22
Mango köri sos	2,21±0,10	1,86±0,08	11,03±0,50	15,10
Ballı hardal sos	17,60±0,80	18,36±0,83	15,28±0,69	51,24
Karamelli sos	4,12±0,19	12,99±0,59	0,00±0,00	17,11
Mayonez	0,90±0,04	1,16±0,05	0,00±0,00	2,06
Acılı mayonez	0,43±0,02	0,51±0,02	2,87±0,13	3,81
Sarımsaklı mayonez	0,81±0,04	0,46±0,02	1,27±0,06	2,54
Soya sosu	0,00±0,00	19,35±0,88	0,00±0,00	19,35
Barbekü sos	1,67±0,08	2,13±0,10	25,56±1,16	29,36
Hardal	1,81±0,08	1,69±0,08	4,31±0,19	7,81
Ketçap	3,30±0,15	4,13±0,19	9,19±0,42	16,62
Acı biber sosu	1,58±0,07	1,35±0,06	0,82±0,04	3,75
Acılı ketçap	1,97±0,09	1,96±0,09	13,60±0,62	17,53
Biber salçası	6,60±0,30	6,32±0,29	0,00±0,00	12,92
Ranch sos	0,20±0,01	0,20±0,01	1,48±0,07	1,88

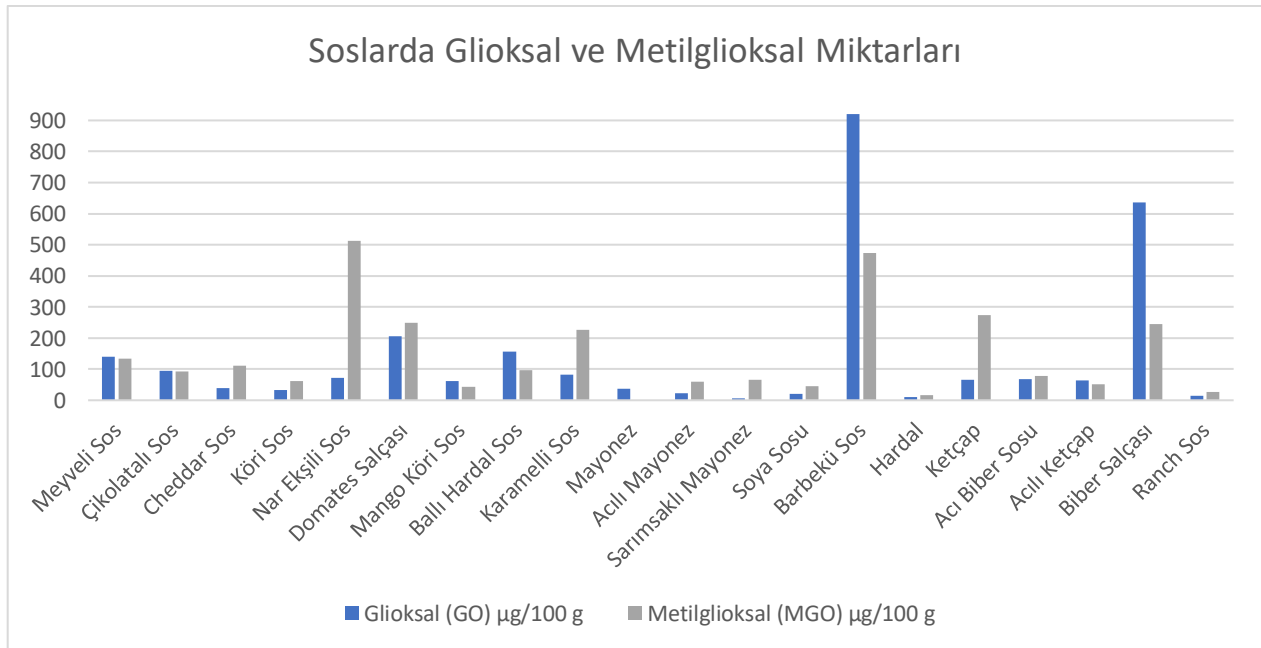
Ortalama değer (n = 3) standart sapma ile verilmiştir.



Şekil 2. Soslarda şeker bileşenleri miktarları grafiği.

Sindirim öncesi ve sonrasında GO ve MGO miktarları ile biyoerişilebilirlik (%) bulguları Çizelge 2'de ve Şekil 3'te görülmektedir. Yapılan analizlere göre, sindirim öncesi GO değerleri 6,0–919,9 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ arasında; MGO değerleri ise 0,00–512,3 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ arasındadır. GO değeri en düşük çıkan ürün sarımsaklı mayonez, MGO değeri en düşük çıkan ürün ise mayonez olmuştur. GO en yüksek barbekü sosta bulunurken, MGO en fazla domates salçasında bulunmuştur.

Analiz edilen örneklerdeki GO miktarı, 3 sosta (soya sosu, barbekü sos, biber salçası) sindirim sonrası azalma gösterirken, diğer 17 sosta artış göstermiştir. Sos örneklerinden 18'inde (meyveli, cheddar, köri, nar ekşili, mango köri, ballı hardal, karamelli, soya, barbekü, hardal, acı biber ve ranch sos; domates ve biber salçası, acılı ve sarımsaklı mayonez; ketçap, acılı ketçap) MGO değeri sindirim sonrası düşüş göstermiş, yalnızca 1 tanesi (çikolatalı sos) artış göstermiş, 1 örnek (mayonez) ise aynı kalmıştır.



Şekil 3. Sindirim öncesi soslarda ölçülen gliksal ve metilgliksal miktarları grafiği.

Çalışmada genel olarak, sosların GO biyoerişilebilirliği, MGO biyoerişilebilirliğinden yüksek bulunmuştur. İncelenen ürünlerin GO biyoerişilebilirlikleri %0–529,5 aralığında belirlenmiştir. MGO biyoerişilebilirlikleri ise %0–144,2 aralığında değişmektedir. En düşük GO biyoerişilebilirliğine sahip ürünler soya sosu ve barbekü sosu olurken, en düşük MGO biyoerişilebilirliği, cheddar sos, mayonez, acılı mayonez, sarımsaklı mayonez, soya sosu, barbekü sos, hardal, ketçap, acı biber sosu, acılı ketçap ve ranch sosa görülmüştür. En yüksek GO biyoerişilebilirliği hardalda, en yüksek MGO

biyoerişilebilirliği ise çikolatalı sosa belirlenmiştir.

Ölçülen toplam şeker miktarı yüksek olan ürünlerde GO ve MGO miktarlarının da yüksek olduğu görülmektedir. Amrein vd. (2006) tarafından sakkarozla kıyasla; dikarbonil bileşikler oluşumu ile glikoz/fruktoz miktarı arasında daha yüksek bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Ancak çalışmamızda, sakkaroz içeriği en yüksek olan barbekü sos (25,56 g/100 g) ve ballı hardal sosun (15,28 g/100 g) toplam GO ve MGO miktarları başlangıçta oldukça yüksek bulunmuştur.

Çizelge 2. Soslardaki AGE öncüllerinin sindirim öncesi ve sonrası ölçülen miktarları ve *in vitro* biyoerişilebilirliği

Sos çeşidi	Başlangıç GO (µg/100 g)	Sindirim sonrası GO (µg/100 g)	Başlangıç MGO (µg/100 g)	Sindirim sonrası MGO (µg/100 g)	Biyoerişilebilirlik (%)	
					GO	MGO
Meyveli sos	139,5±4,9	146,5±5,2	133,6±4,7	129,6±4,6	105,4±3,7	97,4±3,5
Çikolatalı sos	95,7±3,4	215,3±7,6	93,7±3,3	134,6±4,7	225,9±8,0	144,2±5,1
Cheddar sos	39,9±1,4	78,7±2,8	111,6±3,9	0,0±0,0	198,3±7,0	0,0±0,0
Köri sos	33,9±1,2	54,8±1,9	62,8±2,2	34,9±1,2	162,4±5,8	55,8±2,0
Nar ekşili sos	72,8±2,6	93,7±3,3	512,3±18,1	459,5±16,2	129,3±4,6	90,1±3,2
Domates salçası	205,3±7,2	484,4±17,1	250,2±8,8	21,9±0,8	236,9±8,4	8,8±0,3
Mango köri sos	60,8±2,1	93,7±3,3	43,9±1,5	1,0±0,0	154,7±5,5	2,3±0,1
Ballı hardal sos	157,5±5,5	327,9±11,6	97,7±3,4	17,9±0,6	209,1±7,4	18,4±0,7
Karamelli sos	81,7±2,9	92,7±3,3	226,2±8,0	22,9±0,8	113,9±4,0	10,2±0,4
Mayonez	37,9±1,3	88,7±3,1	0,0±0,0	0,0±0,0	235,2±8,3	0,0±0,0
Acılı mayonez	21,9±0,8	27,9±1,0	58,8±2,1	0,0±0,0	127,8±4,5	0,0±0,0
Sarımsaklı mayonez	6,0±0,2	28,9±1,0	66,8±2,4	0,0±0,0	485,4±17,2	0,0±0,0
Soya sosu	19,9±0,7	0,0±0,0	45,8±1,6	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Barbekü sos	919,9±32,4	0,0±0,0	473,4±16,7	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Hardal	11,0±0,4	57,8±2,0	15,9±0,6	0,0±0,0	529,5±18,8	0,0±0,0
Ketçap	65,8±2,3	88,7±3,1	274,1±9,7	0,0±0,0	135,4±4,8	0,0±0,0
Acı biber sosu	67,8±2,4	76,7±2,7	78,7±2,8	0,0±0,0	113,7±4,0	0,0±0,0
Acılı ketçap	64,8±2,3	72,8±2,6	50,8±1,8	0,0±0,0	112,8±4,0	0,0±0,0
Biber salçası	636,9±22,4	7,0±0,2	245,2±8,6	15,9±0,6	1,1±0,0	6,5±0,2
Ranch sos	15,0±0,5	72,8±2,6	26,9±0,9	0,0±0,0	488,7±17,3	0,0±0,0

GO: glioksal, MGO: metilglioksal

Besinlerin içeriği, hazırlık aşaması ve ısıl işlem (pişirme) aşamaları, pH ve nem gibi birden fazla etmen doğrudan ya da dolaylı bir şekilde AGE'lerin oluşumuna sebep olmaktadır. Yapılan son çalışmalar, işlenmiş gıdaların, yağ ve rafine şeker içeriği yüksek olan modern batı diyetlerinin, artan AGE düzeyleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Foroumandi vd., 2020).

Çalışmamızda araştırılan soslar, ısıl işlem görmüş, işlenmiş gıdalardan olmakla birlikte, yoğun yağ ve şeker içerikleriyle de dikkat çekmektedir. Eksojen AGE'ler, besinlerin içeriğinden (protein, yağ ve karbonhidrat) ve bu içeriklerin miktarından da etkilenebilmektedir. AGE'lerin oluşumunda önemli olan bir diğer etmen ise besinlerin maruz kaldığı ısıl işlemlerin derecesi ve süresi olarak

bilinmektedir (Sharma vd., 2015). Yapılan bir çalışmada, tüm et kategorileri arasında, daha düşük sıcaklıklarda hazırlanan örneklere kıyasla, daha yüksek sıcaklıklarda hazırlanan etin dış tabakasında daha yüksek CML seviyeleri tespit edilmiştir (Chen ve Smith, 2015). Yapılan bir başka çalışmada, tüm gıda kategorilerinde bulunan AGE miktarı, pişirme sıcaklığı, pişirme süresi ve nem varlığıyla ilişkili bulunmuştur. Sonuçlara göre, pişirme şekillerinden, kavurma (225°C) ve kızartma (177°C) en yüksek AGE seviyelerine yol açarken, bunları fırınlama (177°C) ve haşlamanın (100°C) takip ettiği gösterilmiştir (Goldberg vd., 2004). Dikarbonil bileşikler olan glioksal (GO) ve metilglioksal (MGO), gıdalarda AGE öncülleri olarak MR ve proteinlerin ve yağların oksidasyonu ile ısıl işlem sırasında oluşmaktadır (Çatak, 2020).

Gıdalarla insan vücuduna alınan dAGE'ler çoğunlukla MR sonucunda oluşmaktadır. MR oluşumunu ve hız düzeyini etkileyen faktörler aynı zamanda, AGE'lerin oluşumunu ve vücuda alım oranını da değiştirmektedir (Yaman, 2021). Yüksek ısı, MR'yi hızlandıracığından, sonuç olarak AGE birikimi de hızlanmış olur (Foroumandi vd., 2020). Modern diyetler büyük ölçüde ısıyla işlendiğinden, yüksek seviyelerde AGE içermeye yatkındırlar. Gıdada oluşan AGE'lerin oluşum hızı ve çeşitliliği, bileşim, öncü maddelerin mevcudiyeti, geçiş metallerinin varlığı ve antioksidanların varlığı gibi faktörlere bağlıdır. Reaksiyon süresi, işlem sıcaklığı, reaktanların konsantrasyonları, su mevcudiyeti ve pH değerinin, MR'nin hızı üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğu iyi bilinmektedir. Genel bir kural olarak, MR'nin hızı, sıcaklık 10°C arttırıldığında en az iki katına çıkmaktadır. MR oranının asidik pH değerinde düşük olduğu kabul edilirken, pH 10 civarında maksimuma ulaşılan kadar arttığı belirtilmiştir (Sharma vd., 2015). MR'ye maruz kalan besinlerin bu esmerleşme reaksiyonları depolama sürecinde de devam etmektedir (Yılmaz ve Karabudak, 2016). Bu durum, paketlenmiş şekilde satılmayı bekleyen, satıldıktan sonra tüketim sürecinde de uzun süreler bekleyen sosların içeriğinde gittikçe artan AGE oranlarını da düşündürmektedir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, yağ oranı yüksek olan mayonez, acılı mayonez, sarımsaklı mayonez ve ranch sos gibi ürünlerin, beklenen aksine düşük miktarlarda GO ve MGO miktarları içerdiği görülmüş, bu durumun diğer sos türlerine göre oldukça düşük miktarlarda şeker içermelerinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Ek olarak, bu yağlı sosların GO biyoreşilebilirlik değerlerinin yüksekliği ve MGO biyoreşilebilirlik değerlerinin ise düşüklüğü de dikkat çekmektedir.

Bu sonuçlar, MGO biyoreşilebilirliğinin yağ içeriğinden değil de, şeker içeriğinden etkilendiğini düşündürmektedir. Yüksek yağ içeren bu soslarda, şeker miktarı azaldıkça, MGO biyoreşilebilirliği de azalmıştır. İşlenmiş gıda ürünlerindeki yağ içeriği, α -dikarbonil bileşiklerinin oluşumunu etkilemektedir. *In vitro* koşullarda lipid peroksidasyonu sonucu α -dikarbonil bileşikleri, GO ve MGO oluşabilmektedir. Bu çalışmadaki soslarda, GO'nun *in vitro* biyoreşilebilirliğinin %100'ün üzerinde bulunmasının, yüksek yağ içeriğinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Patates kızartması ve cipslerde, gastrointestinal sindirim sonrası MR ürünlerinden biri olan akrilamid biyoreşilebilirliğinin arttığı bildirilmektedir (Sansano vd., 2017). Sirkelerde, GO ve MGO'nun *in vitro* biyoreşilebilirliğinin azaldığı bildirilmiştir (Papetti vd., 2013). Soya sosunda ise GO ve MGO'nun *in vitro* biyoreşilebilirliğinin arttığı ortaya konulmuştur (Papetti vd., 2014). Çeşitli gıda örneklerinde, MR ürünlerinin biyoreşilebilirliğinde artış veya azalış olduğu görülmektedir. Papetti vd. (2014) çalışmalarında, *in vitro* ortamda kahvede GO ve MGO'nun *in vitro* biyoreşilebilirliğinin sırasıyla %74 ve %29 oranlarında azaldığını, sindirim proteinleri ile α -dikarbonil bileşiklerinin *in vitro* ortamda reaksiyona girdiğini ve AGE son ürünlerinin oluştuğunu ve bu sebeple α -dikarbonil bileşiklerinin biyoreşilebilirliğinin azaldığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, soya sosunda GO ve MGO'nun *in vitro* biyoreşilebilirliği %290 ve %1000 olarak tespit edilmiştir. Bu artışın sebebi olarak gıdanın içeriğindeki farklı matrikslerin biyoreşilebilirliği arttırabileceği söylenmiştir.

Yaman (2021); bisküvi, cips, kahvaltılık gevrek ve süt ürünlerinin *in vitro* ortamda GO ve MGO biyoreşilebilirliklerini araştırmıştır ve sonuçlara göre, bisküvilerin ve kahvaltılık gevreklerin GO ve MGO biyoreşilebilirliğinin %100'ün üzerinde olduğunu bildirmiştir. Bisküvilerden, glikoz miktarı yüksek olan bisküvinin GO biyoreşilebilirliğinin daha yüksek bulunduğu ortaya konulmuştur. Cipslerde, GO'nun biyoreşilebilirliği %100'ün altında, MGO'nun biyoreşilebilirliği %100'ün üzerinde olarak bildirilmiştir. Süt ürünlerinde ise, biyoreşilebilirlik hem GO hem de MGO'da %100'ün altındadır (Yaman, 2021). Yüksek miktardaki yağ ve tuzun, *in vitro* ortamda lipidlerin peroksidasyonuna neden olabileceği ve bunun sonucunda α -dikarbonil bileşiklerinin oluşabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, sindirim sonrasında, üç ürün haricinde (soya sosu, barbekü sos ve biber salçası)

GO miktarı sindirimle birlikte artış göstermiş, MGO miktarları ise sadece bir ürün hariç (çikolatalı sos) sindirim sonrası ya yok olmuş ya da azalma göstermiştir.

Yağ grubu besinler ortalama olarak en yüksek dAGE değerine sahiptirler. Bu kategorinin öğeleri arasında tereyağı, krem peynir, margarin ve mayonez gibi sürülebilir ürünler en yüksek AGE miktarları gösterirken bunları yağlar ve kuruyemişler izlemektedir (Goldberg vd., 2004). Tereyağı ve farklı yağ türleri pişmemiş formlarında bile dAGE açısından zengindir. Bunun nedeni, düşük seviyede bir işleme prosesi uygulansa dahi hava ve kuru işlem koşullarıyla birlikte ısı içeren çeşitli ekstraksiyon ve saflaştırma prosedürleri olabilir (Uribarri vd., 2010).

Günümüzde, işlenmiş gıdaların tüketimi her geçen gün artmaktadır. Buna bağlı olarak, gıdalar ile vücuda alınan şeker ve yağ miktarlarında da artış görülmektedir. Beslenme alışkanlıklarındaki bu tür değişimler beraberinde insan vücudunun toksik bileşiklere ve AGE'lere olan maruziyetini de arttırmaktadır (Çatak vd., 2020; Poulsen vd., 2013). Bu araştırmaya dahil edilen soslar, çeşitli gıda üretim proseslerinden geçen, katkı ve koruyucu maddeleri içeren işlenmiş gıdalardır. Bununla birlikte, çalışmamızda yer alan sosların yaklaşık %70'i fast-food yiyeceklerle birlikte tüketilmektedir. Dolayısıyla hem soslar işlenmiş olduğundan hem de birlikte tüketildiği yiyecekler işlenmiş gıda olduğundan insan sağlığını daha fazla tehdit etmektedir. Birçok ülkede ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde artan fast-food tüketimi ve obezite oranları göz önüne alındığında, fast-food endüstrisini kontrol etmek ve tüketicilerin fast-food ile ilgili bilinçlenmelerini sağlamak önemlidir (Çatak vd., 2021; Wu vd., 2021).

AGE'lerin vücutta birikmesi ile, yaşlanma, diyabetik komplikasyon, insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar, Alzheimer, hipertansiyon, Parkinson hastalığı, böbrek hastalığı, artrit, nefropati, multipl skleroz ve böbrek yetmezliği gibi bazı kronik hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Dolaşımda aşırı miktarda bulunan AGE'ler, hücre yüzeyine tutunarak ve proteinlerle çapraz bağlanarak, enflamasyon ve oksidatif strese sebep olur. AGE'lerin diyetle alınmasının serum AGE düzeyleri ile bağlantılı olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır.

Bu çalışmada, ticari olarak satışa sunulan ve her geçen gün tüketimi daha da artan sos çeşitlerinden en sık tüketilen 20 adet sosta GO ve MGO araştırılmıştır ve *in vitro* ortamda biyoerişilebilirlikleri belirlenmiştir. Meyveli, çikolatalı, cheddar, köri, nar ekşili, mango köri,

ballı hardal, karamelli, soya, barbekü, hardal, ketçap, mayonez, acılı mayonez, sarımsaklı mayonez, acılı ketçap, acı biber, ranch soslarıyla birlikte domates ve biber salçası analiz edilmiştir. İçlerinde en yüksek AGE öncülü değerine sahip olan sos, barbekü sos olmuştur. İşlenmiş gıda ürünlerindeki yağ içeriği, α -dikarbonil bileşiklerinin oluşumunu etkilemektedir. *In vitro* koşullarda lipit peroksidasyonu sonucu α -dikarbonil bileşikleri, GO ve MGO, oluşabilmektedir. Bu çalışmadaki soslarda, GO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliğinin %100'ün üzerinde bulunmasının, yüksek yağ içeriğinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Gıdalarda ısı işlem sırasında oluşabilen AGE'lerin oluşum oranlarını çeşitli faktörler etkilemektedir. Bu faktörlerin arasında pişirme sıcaklığı, ısıya maruz kalma süresi, nem varlığı ve pH değeri gibi pişirme yöntemleri sayılabilir. Ayrıca gıdaların bileşimini oluşturan maddelerden karbonhidrat, yağ, şeker ve tuz ilavesi de AGE oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Ek olarak, paketli gıdaların uzun raf ömrü için kullanılan katkı ve koruyucu maddeleri, paketleme esnasında kullanılan maddeler ve depolama süreci de AGE oluşumuna etki eden faktörler arasındadır. Literatürde gıdalarda AGE tayini çalışmalarına dair veriler sınırlıdır. Özellikle AGE açısından sağlığı tehdit edebileceği düşünülen paketli ve işlenmiş gıdalar üzerindeki çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu bakımdan, işlenmiş gıdalar kategorisinde AGE seviyeleri tespiti ve veri sağlanması konusunda bu çalışmanın yararlı olacağı düşünülmektedir. Tüm besin kategorilerinde akıllı gıda seçimi ve pişirme şeklinde değişikliklere gidilerek diyetteki AGE seviyesini azaltmaya çalışmak doğru bir seçenek olacaktır. Genel olarak, AGE içeriği yüksek işlenmiş gıdaların tüketimini minimuma indirmek, onların yerine meyve-sebze, kepekli tahıl, yağsız etler ve balığa yönelmek sadece AGE alımını azaltmakla kalmayıp hem daha sağlıklı bir vücuda hem de önemli beslenme hedeflerine ulaşmayı sağlayacaktır.

4. Kaynaklar

Amrein, T. M., Andres, L., Manzardo, G. G. and Amadò, R. (2006). Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 54(26), 10253-10261.

Cengiz, S., Kışmıroğlu, C., Cebi, N., Catak, J. and Yaman, M. (2020). Determination of the most potent precursors of advanced glycation end products (AGEs) in chips, crackers, and breakfast cereals by high performance liquid chromatography (HPLC) using precolumn

- derivatization with 4-nitro-1, 2-phenylenediamine. *Microchemical Journal*, 158, 105170.
- Chen, G., Smith, J.S. (2015). Determination of advanced glycation endproducts in cooked meat products. *Food Chemistry*, 168, 190-195.
- Çatak, J., Yaman, M. and Ugur, H. (2020). Investigation of aflatoxin levels in chips by HPLC using post-column UV derivatization system. *Progress in Nutrition*, 22, 214-223.
- Çatak, J. (2020). Quantitative Analyses of Glyoxal and Methylglyoxal Compounds in French Fry Samples by HPLC Using 4-Nitro-1, 2-Phenylenediamine as A Derivatizing Reagent. *International Journal of Innovative Research and Reviews*, 4(1), 20-24.
- Çatak, J., Develi, E. and Bayram, S. (2021). How does obesity affect bioenergetics in human respiratory muscles? *Human Nutrition & Metabolism*, 26, 200136.
- Catak, J., Yaman, M., Ugur, H., Servi, E. Y., Mizrak, Ö. F. (2022). Investigation of the advanced glycation end products precursors in dried fruits and nuts by HPLC using pre-column derivatization. *Journal of Food & Nutrition Research*, 61(1).
- Foroumandi, E., Alizadeh, M. and Kheirouri, S. (2020). Dietary quality index is negatively associated with serum advanced glycation end products in healthy adults. *Clinical Nutrition ESPEN*, 36, 111-115.
- Garg and Merhi. (2015). Advanced Glycation End Products: Link between Diet and Ovulatory Dysfunction in PCOS? *Nutrients*, 7(12): 10129-10144.
- Goldberg, T., Cai, W., Peppas, M., Dardaine, V., Baliga, B. S., Uribarri, J. and Vlassara, H. (2004). Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 104(8), 1287-1291.
- Henle, T. (2005). Protein-bound advanced glycation end products (AGEs) as bioactive amino acid derivatives in foods. *Amino acids*, 29(4), 313-322.
- Kouidrat, Y., Amad, A., Arai, M., Miyashita, M., Lalau, J. D., Loas, G. and Itokawa, M. (2015). Advanced glycation end products and schizophrenia: A systematic review. *Journal of Psychiatric Research*, 66, 112-117.
- Luevano-Contreras, C., and Chapman-Novakofski, K. (2010). Dietary advanced glycation end products and aging. *Nutrients*, 2(12), 1247-1265.
- Papetti, A., Mascherpa, D., Marrubini, G. and Gazzani, G. (2013). Effect of In Vitro Digestion on Free α -Dicarbonyl Compounds in Balsamic Vinegars. *Journal of food science*, 78(4), 514-519.
- Papetti, A., Mascherpa, D. and Gazzani, G. (2014). Free α -dicarbonyl compounds in coffee, barley coffee and soy sauce and effects of in vitro digestion. *Food chemistry*, 164, 259-265.
- Poulsen, M. W., Hedegaard, R. V., Andersen, J. M., de Courten, B., Bügel, S., Nielsen, J., Skibsted, L. H. and Dragsted, L. O. (2013). Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. *Food & Chemical Toxicology*, 60, 10-37.
- Rabbani, N. and Thornalley, P. J. (2014). The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy. *Diabetes*, 63(1), 50-52.
- Richmond, M. L., Brandao, S. C., Gray, J. I., Markakis, P. and Stine, C. M. (1981). Analysis of simple sugars and sorbitol in fruit by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 29(1), 4-7.
- Rowan, S., Bejarano, E. and Taylor, A. (2018). Mechanistic targeting of advanced glycation end-products in age-related diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1864(12), 3631-3643.
- Sansano, M., Heredia, A., Peinado, I. and Andrés, A. (2017). Dietary acrylamide: What happens during digestion. *Food chemistry*, 237, 58-64.
- Sharma, C., Kaur, A., Thind, S. S., Singh, B. and Raina, S. (2015). Advanced glycation End-products (AGEs): an emerging concern for processed food industries. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7561-7576.
- Uğur, H., Görünmek, M., Çatak, J., Efe, E., Özgür, B., Duman, S. and Yaman, M. (2022). Determination and assessment of the most potent precursors of advanced glycation end products in baklava and Turkish delight by HPLC. *Food Science and Technology*, 42.
- Uribarri, J., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., ..., and Vlassara, H. (2010). Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911-916.
- Wu, Y., Wang, L., Zhu, J., Gao, L. and Wang, Y. (2021). Growing fast food consumption and obesity in Asia: Challenges and implications. *Social Science & Medicine*, 269, 113601.

Yaman, M. (2021). İleri Glikasyon Son Ürünlerinin (AGEs) Öncüllerinin in Vitro Biyoerişilebilirliklerinin Bazı Gıdalarda Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 598-60.

Yaman, M., Çatak, J., Uğur, H., Gürbüz, M., Belli, İ., Tanyıldız, S. N. and Yıldız, M. C. (2021). The bioaccessibility of watersoluble vitamins: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 552-563.

Yaman, M., Mızrak, Ö. F., Çatak, J. and Sargin, H. S. (2019). In vitro bioaccessibility of added folic acid in commercially available baby foods formulated with milk and milk products. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1837-1844.

Yılmaz, B., ve Karabudak, E. (2016). Besinlerdeki İleri Glikasyon Son Ürünleri ve Azaltma Yöntemleri. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 44(3), 280.

Özgün Araştırma/Original Article

Mekanik ayrılmış et içeren kanatlı et ürünlerinin histolojik ve kimyasal yöntemler ile incelenmesi

Investigation of poultry meat products containing mechanically deboned meat by histological and chemical methods

Tuğba Gezgin^{1*}, Sedat Karaca¹, Mevlüt Atalay¹, Bilgegül Sinan¹, Tuna Erdem¹,

¹Tarım ve Orman Bakanlığı Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü/ KONYA, TÜRKİYE

(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0002-9119-5063, Dr., Gıda Yük. Müh.

ORCID ID: 0000-0002-7747-2933, Vet. Hek.

ORCID ID: 0000-0002-5196-0760, Vet. Hek.

ORCID ID: 0000-0002-7312-2434, Yük. Biyolog

ORCID ID: 0000-0001-8336-4835, Dr., Vet. Hek.

*Sorumlu yazar/Corresponding author: tugbagezgin@gmail.com

Geliş Tarihi : 11.01.2022

Kabul Tarihi : 07.03.2022

Öz

Amaç: Bu çalışmada, mekanik ayrılmış et içeren kanatlı et ürünlerinin histolojik ve bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem: Bu amaçla, Türkiye’de faaliyet gösteren ulusal ölçekli zincir marketlerden temin edilen 6 farklı ticari marka piliç etinden üretilmiş ısı işlem görmüş sucuk, salam ve sosis numunelerinin histolojik muayeneleri gerçekleştirilerek bazı kimyasal özellikleri (nem (%), kül (%), toplam protein (%), hidroksiprolin (mg/100g), toplam kolajen (%) ve kalsiyum (Ca, mg/kg)) miktarları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, mekanik ayrılmış et içermeyen piliç etinden üretilmiş kontrol örneklerine ait sonuçlar ile istatistiki olarak karşılaştırılmıştır.

Tartışma ve sonuç: Araştırmamızın sonucunda, histolojik muayenesinde daha fazla kemik ve kıkırdak doku bulgusuna rastlanılan ısı işlem görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numunelerinde; Ca miktarı (mg/kg), hidroksiprolin miktarı (mg/100g) ve toplam kolajen miktarının (%) kontrol örneğine göre istatistiki olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Isıl işlem görmüş piliç sucuk numuneleri için 207-1.534 mg/kg Ca, 76,81-161,42 mg/100 g hidroksiprolin, piliç salam numuneleri için 334-655 mg/kg Ca, 43,12-92,60 mg/100 g hidroksiprolin, piliç sosis numuneleri için 121,47-703,22 mg/kg Ca, 52,64-83,78 mg/100 g hidroksiprolin değerleri elde edilmiştir. Sonuç olarak mekanik ayrılmış et içeren kanatlı et ürünlerinin histolojik muayene sonuçları ile kimyasal analiz sonuçlarının (protein, kül, kalsiyum, hidroksiprolin ve kolajen miktarı) birlikte değerlendirilmesinin taşıyıcı açısından daha belirleyici olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: mekanik ayrılmış et; piliç sucuk; kemik; kıkırdak; kolajen; bağ doku

Abstract

Objective: In this study, it is aimed to determine histological and some chemical properties of poultry meat products containing mechanically deboned poultry meat.

Materials and methods: For this purpose, histological examination and some chemical properties (moisture(%), ash(%), total protein(%), hydroxyproline (mg/100 g), total collagen (%) and calcium (Ca, mg/kg) quantities) were determined in heat treated chicken sujuk, chicken salami and chicken sausage samples at 6 distinct trademark obtained from Turkish global markets. The results of analyses were compared with the results of analyses obtained from control samples containing no mechanically deboned poultry meat.

Discussion and conclusion: At the end of the study, higher ash, calcium, hydroxyproline levels and higher total collagen quantities were determined in the samples of chicken sujuk, chicken salami and chicken sausage

seemed of containing more bone and more cartilage tissues in the histological examination. It was determined; 207.62-1,534.17 mg/kg Ca and 76.81-161.42 mg/100 g hydroxyproline in the heat treated chicken sujuk samples, 334-655 mg/kg Ca and 43.12-92.60 mg/100 g hydroxyproline in the chicken sausages, 121.47-703.22 mg/kg Ca and 52.64-83.78 mg/100 g hydroxyproline in the chicken salami samples. As a result, it is thought that evaluation of the results of histological examination together with the results of some chemical analyses (ash, protein, hydroxyproline, collagen and calcium) of the poultry meat products containing mechanically deboned meat would be more confidential to determine meat adulteration.

Keywords: mechanically deboned meat; chicken sujuk; bone; cartilage collagen; connective tissue

1. Giriş

Isıl işlem görmüş sucuk, salam ve sosis ürünleri, kahvaltılık olarak tüketilmesi, kolay hazırlanması ve özellikle çocuklar tarafından sevilen lezzetinden dolayı tercih edilen et ürünleridir. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın 29.01.2019 tarihinde revize ederek yayımlanmış olduğu yeni Et Ürünleri Tebliğine (Anonim, 2018) göre, emülsifiye et ürünlerinde mekanik ayrılmış et (MAE) kullanımına, ürün etiketinde belirtilmek kaydıyla izin verilmiştir. Mekanik ayrılmış kanatlı eti (MAKE); kanatlı hayvanların karkaslarındaki etlerin, bu etleri meydana getiren kas liflerinin yapısının kaybolmasına veya değişmesine sebep olan mekanik yöntemler kullanılarak alınması ile elde edilen ürünü ifade etmektedir (Anonim, 2018). Avrupa, Japonya ve Amerika'da olduğu gibi tüm dünyada mekanik ayrılmış etlerin çeşitli et ürünlerinde kullanımı hem ürünün besleyicilik değerini protein ve mineral içeriği açısından artırması hem de ekonomiye olan olumlu geri dönüşümü yönünden teşvik edilmekte ancak kullanıldıkları et ürünlerinde insan sağlığı açısından etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır (Benitez vd., 2002; Knight ve Winderfelt, 1977; Kolsarıcı ve Candoğan, 2002). Hayvansal gıda olarak tüketime hazır et, doğal olarak kalsiyum mineralini bünyesinde çok az miktarda bulundurur. Ancak, et ürünlerinin üretimi esnasında bileşimine katılan bazı katkıları, ürünün kalsiyum içeriğini etkiler. Et ürünlerinin üretiminde kullanılan süt proteinleri, baharatlar gibi bazı ingredientler ile kemik-kıkırdak partiküllerini yoğun miktarda içeren düşük kaliteli mekanik ayrılmış etler ve bazı yabancı dokular (meme dokusu, mukozal ve seröz salgı bezleri vb.) ürünün kalsiyum içeriğini yükseltir. Bir et ürününün kalsiyum açısından zengin olması, ürünün içerisindeki doğal olarak bulunan demir mineralinin emilimini olumsuz etkilediğinden, ürünün besleyicilik değerini de düşürür. Et ve et ürünlerinin protein kalitesi, bağ doku proteinlerinin miktarıyla ilişkilidir (Zarkadas vd., 1988). Bağ doku miktarı yüksek olan et ürünü, sindirilebilirliğinin düşük olması ve esansiyel aminoasitleri daha az içermesi nedeniyle düşük

protein kalitesini işaret eder (Laakkonen vd., 1970). Hidroksiprolin aminoasidi bağ dokunun yapısını oluşturan kolajen proteinine özgü ve kasın fibriller protein yapısında bulunmayan bir aminoasittir (Young ve Pellet 1984). Bu nedenle hidroksiprolin tayini, et ve et ürünlerinde bağ doku miktarının belirlenmesinde kullanılır. Bugüne kadar, mekanik ayrılmış et içeriğinin; et ürünlerinin fiziksel, kimyasal ve histolojik özelliklerine etkisi pek çok araştırmanın konusu olmuştur. Bu araştırmalarda elde edilen sonuçlara göre, mekanik ayrılmış et içeriğinin; et ürünlerinin fiziksel, kimyasal (Daros vd., 2005; Raphaeliedes vd., 1998; Sarıçoban ve Karakaya, 2005) ve histolojik özelliklerini önemli derecede etkilediği, et ürünlerinin yalnız kimyasal özellikleri veya yalnızca histolojik muayene sonuçlarına göre, mekanik ayrılmış et içeriğinin kesin olarak belirlenemeyeceği belirtilmiştir (EFSA, 2013). Botka-Petrak vd. (2011), mekanik ayrılmış tüm tavuk etinin histolojik analizinde tipik olarak kas dokusu ile birlikte yoğun bir biçimde kemik-kıkırdak doku, deri dokusu, bağ doku, lenf dokusu ve yağ dokunun görüldüğünü belirtmiştir. Ülkemizde tüketilen mekanik ayrılmış et içeren kanatlı eti ürünlerinin kimyasal özellikleri ile ilgili az sayıda çalışma bulunmakla beraber, mekanik ayrılmış et içeren kanatlı eti ürünlerinin histolojik yapısını irdeleyen bilimsel bir yayına ise rastlanmamıştır. Bu araştırma ile ülkemizde tüketilen piliç etinden üretilmiş ısıtılmış işlem görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis ürünlerinin histolojik ve kimyasal özellikleri birlikte irdelenmiştir.

2. Materyal ve yöntem

Araştırmamızda ulusal ölçekli zincir marketlerde satışa sunulan 6 farklı ticari markaya ait ısıtılmış işlem görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numuneleri 2 farklı zamanda piyasadan satın alınarak 3 paralel olmak üzere toplam 6 tekrarlı olarak analizler gerçekleştirilmiştir. Numuneler ticari marka isimlerinden bağımsız olarak N1, N2, N3, N4, N5 ve N6 olarak isimlendirilmiştir. Mekanik ayrılmış kanatlı eti içermeyen piliç etinden üretilmiş ısıtılmış işlem görmüş piliç sucuk,

piliç salam ve piliç sosis kontrol örnekleri ticari bir et işletmesinden alınarak, 6 tekrarlı olarak analizleri gerçekleştirilmiştir. Numuneler satın alındıkları zincir market şubesinden laboratuvara +4 °C'de soğuk zincirde taşınmıştır. Analize alınmadan önce orijinal ambalajlarından çıkarılarak rendeleme yoluyla homojenizasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra nem analizi ve histolojik muayene için hemen analize başlanmıştır. Diğer kimyasal analizleri için ise, numuneler analiz edilinceye kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.

2.1. Histolojik muayene

Numunelerin histolojik analizi, TS 13511 (TSE, 2012) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Homojenize edilmiş numunenin 10 farklı yerinden r= 0,5-1,0 cm boyutunda küresel şekilde alınan parçalar %10'luk formol çözeltisinde 12 saat tespit edildikten sonra, doku takip cihazında (Leica TP 1020, Almanya) dehidrasyon ve şeffaflaştırma işlemlerinden geçirilerek doku bloklama cihazında (Leica, Almanya), parafin ile bloklanmıştır. Mikrotom cihazı (Leica, RM 2125, Almanya) ile 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksil-eosin ve üçlü boyama tekniği ile (Crossman, 1937) boyanmıştır. Üzeri lamel ile kapatılan preparatlar, 1 gece oda sıcaklığında kurutulduktan sonra ışık mikroskobu (NIKON Eclipse, Japonya) altında incelenmiştir. 1 adet numune için 10 preparat, 2 paralel olmak üzere toplam 20 preparatta mikroskopik incelemeler yapılmıştır.

2.2. Nem, kül, toplam protein, Ca ve hidroksiprolin tayini

Nem tayini, örnekler, 105±2°C'de 12-18 saat süreyle suyu uzaklaştırıldıktan sonra tartımlar arasındaki farkın, örnek miktarına oranlanmasıyla yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. (NMKL, 1991). Kül tayini, örnekler 550±10°C kül fırınında tamamen beyazlaşmaya kadar yakılarak tartımlar arasındaki farkın örnek miktarına oranlanmasıyla hesaplanmıştır (NMKL, 1991). Toplam protein tayini, Et ve et mamulleri –Azot muhtevasının tayini –Referans metot (AOAC, 2012) yöntemine göre yapılmıştır. Kalsiyum tayini için, örneklerin, NMKL (2007) referans metoduna uygun olarak saf nitrik asit ile mikrodalga kapalı numune yakma sisteminde parçalama işlemi yapılarak, ICP-MS (Agilent 7500 cx, Japonya) cihazı ile okumaları gerçekleştirilmiştir. Hidroksiprolin tayini, NMKL-AOAC (AOAC, 1990) standart metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Renk dönüşümü sağlanan

standartların ve örneklerin spektrofotometrede 560±2 nm'de 4 noktalı kalibrasyon eğrisiyle okuma işlemi yapılmıştır. Elde edilen okuma değerine göre hidroksiprolin miktarı şu şekilde hesaplanmıştır (AOAC, 1990):

$$\text{Hidroksiprolin } g/100 \text{ g} = \frac{\text{Okunan değer} \times 0,25}{\text{Numune miktarı (g)} \times 5 \text{ (mL)}}$$

S: Seyreltmede hidrolizattan alınan hacim.

Elde edilen hidroksiprolin miktarının 8 faktörü ile çarpılmasıyla toplam kolajen miktarı (%) hesaplanmıştır.

2.3. İstatistiksel analiz

Araştırmamız kapsamında incelenen numunelere ait analiz sonuçlarının kontrol numunesine ait sonuçlar ile karşılaştırılmasında t-test, ANOVA ve Duncan testleri kullanılmıştır.

3. Tartışma ve sonuç

Araştırmamız içerisinde piyasadan temin edilen ısıtılmış işlem görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numunelerine ait histolojik muayene analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Araştırmamız içerisinde 6 farklı ticari markaya ait ısıtılmış işlem görmüş piliç sucuk numunelerinin histolojik muayenesinde 4 adet numunede kemik doku görülme oranı 16/20 (hazırlanan 20 adet preparattan 16 preparatta) ve üzeri, 1 adet numunede ise 4/20 olarak bulunurken, mekanik ayrılmış et içermeyen kontrol numunesi ile 1 adet ısıtılmış işlem görmüş piliç sucuk numunesinde ise kemik doku görülmemiştir. Kontrol numunesi de dâhil olmak üzere 7 adet ısıtılmış işlem görmüş piliç sucuk numunesinin hiçbirinde kıkırdak dokuya rastlanmamıştır. Daha önceki çalışmalarda ısıtılmış işlem görmüş (kırmızı et) veya fermente sucukların histolojik muayenesinde kemik doku, kıkırdak doku, epitel doku, serö-muköz yapılarda bez epiteli, sinir dokusu, farklı iç organlara ait kesitler ile lenfoid yapılar (Atasever vd., 1999; Erdoğan, 2002; Ayaz vd., 2011, Sezer vd., 2013; Altun vd., 2015; İnce ve Özfiliz, 2016) sıklıkla rastlandığı belirtilmiştir. MAKE içeren piliç sucukların histolojik incelenmesiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Araştırmamız neticesinde, daha önce kırmızı etten üretilen sucuk ve sucuk benzeri ürünler üzerinde yapılan çalışmaların sonuçlarının aksine, ısıtılmış işlem görmüş piliç sucukların histolojik muayenesinde kıkırdak doku, bez epiteli, lenfoid yapılar ile sinir hücrelerine daha az rastlanıldığı görülmektedir

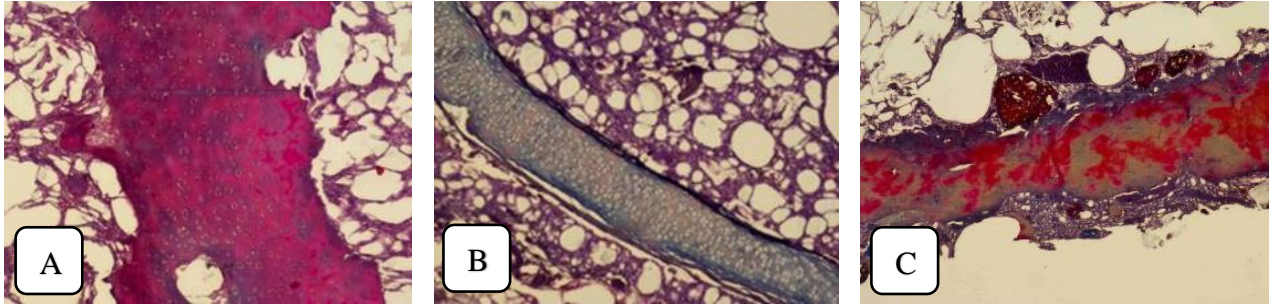
Çizelge 1. Isıl işlem görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numunelerine ait histolojik muayene sonuçları

Numuneler	n*	Kemik			Kıkırdak			Deri		
		Sucuk	Salam	Sosis	Sucuk	Salam	Sosis	Sucuk	Salam	Sosis
Kontrol	20	-	-	-	-	-	-	18	18	12
N1	20	16	2	-	-	6	-	-	10	16
N2	20	16	2	4	-	6	10	-	18	14
N3	20	18	2	-	-	6	10	-	18	6
N4	20	4	-	-	-	12	-	12	20	-
N5	20	16	2	8	-	-	2	-	6	14
N6	20	-	16	-	-	-	10	16	20	10

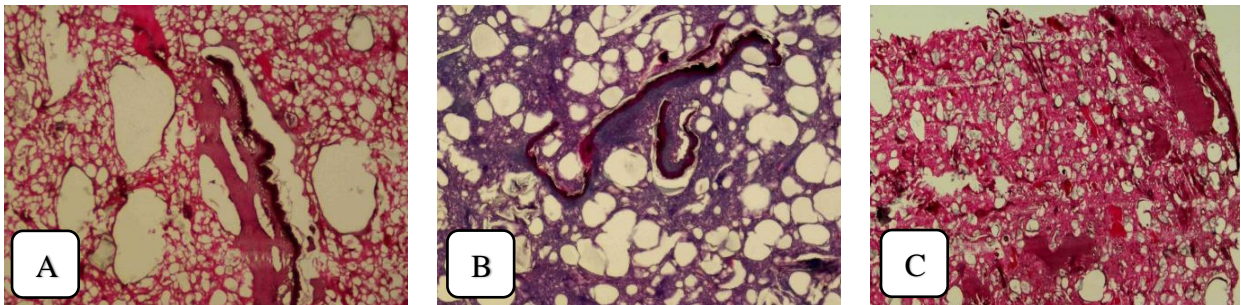
*n=Toplam preparat sayısı

Piyasadan satın alınan 6 farklı ticari marka piliç salam ve piliç sosis numunelerine ait histolojik muayene sonuçlarına göre, 5 adet piliç salam numunesinden ve 3 adet piliç sosis numunesinden hazırlanan 20'şer preparatta kemik ve kıkırdak doku görülme oranı, mekanik ayrılmış kanatlı eti içermeyen kontrol numunelerine göre daha yüksek bulunurken, kontrol numuneleri de dâhil olmak üzere piliç salam ve piliç sosis numunelerinin tamamında deri dokusu görülmüştür. Mekanik ayrılmış kanatlı eti içeren emülsifiye et ürünleri ile ilgili çalışmalarda kıkırdak dokunun mekanik ayrılmış et içeriğinin mikroskopik olarak belirlenmesinde önemli bir parametre olduğu,

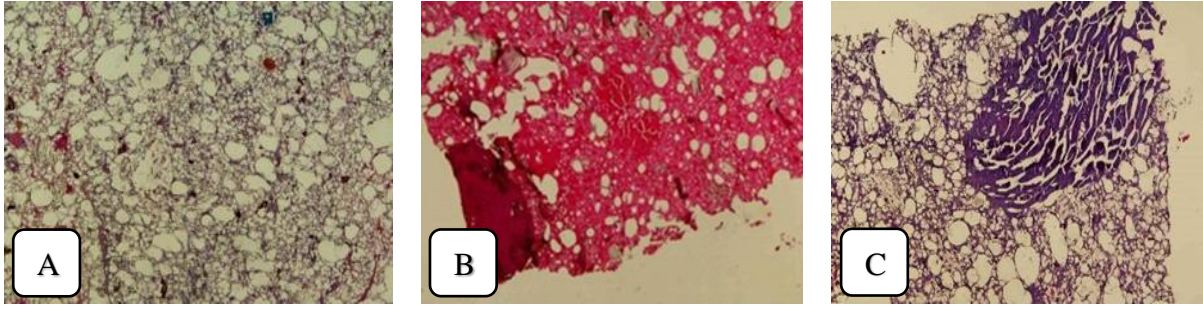
kıkırdak dokunun görülme sıklığının daha fazla olduğu, %30 ve üzeri mekanik ayrılmış et içeriğinin mikroskopik olarak kolaylıkla ayırt edilebildiği bildirilmiştir (Mohamed vd., 2016; Moghtaderi vd., 2019; Pickering vd., 1995). Araştırmamızda piliç salam ve piliç sosis numunelerinde elde edilen sonuçlar, daha önce yapılan çalışmalarla paralellik arz etmektedir. Araştırmamız içerisinde incelenen ısıl işlem görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numunelerine ait kesitlerin hematoksil-eosin (HE) veya üçlü boyama tekniği; trikrom (TC) ile boyanarak ışık mikroskopunda elde edilen bazı görüntüleri Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 1. Piliç sosis kıkırdak (A) TC boyama x10, Piliç salam kıkırdak (B) TC boyama x10, Piliç sucuk kemik (C) TC boyama x10.



Şekil 2. Piliç sosis deri (A) HE boyama x10, Piliç salam deri (B) TC boyama x10, Piliç sucuk deri (C) HE boyama x10.



Şekil 3. Kontrol piliç sosis (A) TC boyama x4, Kontrol piliç salam (B) HE boyama x4, Kontrol piliç sucuk (C) TC boyama x10.

Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliğine (Anonim, 2018) göre, ısıtma işlemi görmüş sucuklarda toplam et proteini kütlece en az %14, emülsifiye ürünlerde ise en az %10 olarak belirlenmiştir. Araştırmamız kapsamında incelenen ısıtma işlemi görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numuneleri toplam et proteini açısından Et Ürünleri Tebliği'ne uygun bulunmuştur (Çizelge 2). Aynı zamanda, TSE Salam Standardı (TSE, 2017) ve Sosis Standardı (TSE, 2016)'na göre, salam ve 1. sınıf sosis ürünlerinde nem miktarı %65'i geçmemesi gerekliliği bildirilmiştir. Araştırmamız kapsamında incelenen 6 farklı ticari marka ısıtma işlemi görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numunelerinde tespit edilen nem miktarı standartlara uygun bulunmakla beraber, nem ve kül miktarı açısından daha önceki çalışmalarda (Ertaş ve Kolsarıcı, 1983; İnce vd., 2018; Kolsarıcı vd., 1986; Kuyumcu, 1999) ısıtma işlemi görmüş sucuk (kırmızı et), salam (kırmızı et) ve sosis (kırmızı et) numunelerinde elde edilen değerlere benzerlik gösterirken, protein ve hidroksiprolin miktarı açısından ise daha düşük düzeylerde olduğu görülmüştür. Yapılan araştırmalarda sosis ürünlerine mekanik ayrılmış et ilave edildikçe

protein miktarının düştüğü belirtilmiştir (Sarıçoban ve Karakaya, 2005; Daros vd., 2005; Pereira vd., 2011). Gezgin ve Karakaya (2010), ulusal ölçekte üretim yapan 5 farklı ticari markaya ait mekanik ayrılmış kanatlı eti içeren kanatlı eti-kırmızı et karışımı sucuk numunelerinde nem miktarını %38,18-47,53; kül miktarını %3,36-4,43 aralığında belirlemiştir. Araştırmamızda ısıtma işlemi görmüş piliç sucuk numunelerinden elde edilen nem ve kül miktarı değerleri, bu çalışma ile çok yakınlık göstermektedir. Raphaelides vd. (1998), parizien salamların bileşimine, mekanik ayrılmış piliç eti ilavesi arttıkça, salamların nem ve kül miktarının arttığını belirtmiştir. Numunelerdeki nem ve kül miktarının mekanik ayrılmış et içeriğine bağlı olmaksızın değişkenlik göstermesi, et ürünlerinin üretiminde kullanılan etin bileşimi, elde edildiği karkas kısımları, üretim şekli, elde edildiği hayvanın yaşı, cinsi, beslenme şekli, gibi çok çeşitli faktörlere bağlı olabilir. Kemiklerin bileşimindeki kül içeriğinin; protein, yağ miktarı ile birlikte kemiğin elde edildiği hayvansal bölgeye bağlı olarak üzerinde kalan kıkırdak, ilik gibi faktörlerden de etkilendiği daha önce bildirilmiştir (Field, 2000).

Çizelge 2. Isıtma işlemi görmüş piliç sucuk, piliç salam ve piliç sosis numunelerine ait nem (%), kül (%), protein (%), hidroksiprolin (mg/100 g), kolajen proteini (%) ve Ca (mg/kg) miktarları

Kontrol* Örnekleri	n	Nem (%)	Kül (%)	Protein (%)	Hidroksiprolin (mg/100 g)	Toplam Kolajen (%)	Ca (mg/kg)
Piliç Sucuk	6	49,26±0,01	3,16±0,02	14,70±0,2	80,83±2,49	0,65±0,02	92,99±5,321
Piliç Salam	6	66,77±0,1	2,84±0,0	9,50±0,0	52,56±0,9	0,42±0,01	138,78±10
Piliç Sosis	6	64,99±0,1	3,05±0,0	10,07±0,0	48,09±0,8	0,38±0,01	145,16±0,3
Numuneler		Nem (%) (min-mak)	Kül (%) (min-mak)	Protein (%) (min-mak)	Hidroksiprolin (mg/100 g) (min-mak)	Toplam Kolajen (%) (min-mak)	Ca (mg/kg) (min-mak)
Piliç Sucuk	6	39,29-44,37	2,62-4,24	13,52-14,46	76,87-161,42	0,61-1,29	207,62- 1534,17
Piliç Salam	6	57,10-65,61	2,99-4,11	9,58-10,43	43,12-92,60	0,34-0,75	334,37-655,72
Piliç Sosis	6	63,83-66,99	1,85-3,34	9,53-11,00	52,84-83,78	0,42-0,64	121,47-555,41

Türk Gıda Kodeksi Et ürünleri Tebliği (2018)'ne göre, mekanik ayrılmış et içeren emülsifiye et ürünlerinde 750 mg/kg Ca miktarına, mekanik ayrılmış et içermeyen kanatlı eti emülsifiye ve diğer et ürünlerinde ise 350 mg/kg Ca miktarına müsaade edilmiştir. Araştırmamızda, 5 farklı markaya ait piliç salam ve 3 farklı markaya ait piliç sosis numunelerinde ise Ca (mg/kg) miktarının 350 mg/kg'ın üzerinde olduğu görülmüştür. Araştırmamızda, kalsiyum miktarı 350 mg/kg'ın üzerinde bulunduğundan dolayı içeriğinde mekanik ayrılmış et katkısı olduğu düşünülen 4 farklı marka piliç sucuk, 5 farklı marka piliç salam ve 3 farklı marka piliç sosis numunelerinde kalsiyum miktarı (mg/kg), hidroksiprolin miktarı (mg/100 g), kolajen miktarı (%) kontrol numunesine göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Abdelrahman ve ark. (2020), Mısır piyasasında tüketilen 48 farklı emülsiyon tip üründe Ca miktarını ortalama 2.000 mg/kg (min 451 mg/kg- mak 6234 mg/kg), Aybek ve Karakaya (2009a, 2009b), Türkiye'de satışa sunulan MAKE içeren salam ve sosis ürünlerinde Ca (mg/kg) miktarını sırasıyla 775-1.392 ve 1341-3.294 aralığında belirlemişlerdir. Araştırmamızda elde edilen Ca (mg/kg) değerlerinin neredeyse 10 kat daha düşük bulunduğu görülmektedir (Çizelge 2). 2010 yılından önce Türkiye'de geçerli yasal mevzuatta (Anonim, 2000), et ürünlerinde kanatlı et ve kırmızı et karışımları ile mekanik ayrılmış et ve sakatat kullanımının henüz sınırlandırılmamış olması ve ülkeler arasındaki mevzuat farklılığından dolayı yasal mevzuatta müsaade edilen mekanik ayrılmış et miktarı ile kanatlı et ürünlerinin bileşimine giren ingredientlerin farklılığı araştırmalar arasında Ca (mg/kg) miktarının farklılığını açıklayabilir. Al-Najdawi ve Abdullah (2002), mekanik ayrılmış piliç etinde Ca, Mn ve Zn miktarının elle ayrılmış piliç etine göre yüksek bulunduğunu belirtmiştir.

TSE Salam Standardı (TSE, 2017) ve Sosis Standardı (TSE, 2016)'na göre, hidroksiprolin miktarı en çok 312,5 mg/100 g olmalıdır. Araştırmamızda elde edilen hidroksiprolin değerleri piliç salam numuneleri için 43,12-92,60 mg/100 g, piliç sosis numuneleri için 52,84-83,78 mg/100 g aralığında bulunmuştur. Bu değerler, TSE'nin belirlediği limit değerinin çok altındadır. Piliç etinin kolajen bağ doku oranının düşük olması ile beraber (Petracci ve Cavani, 2012), et ürünlerine uygulanan ısıl işlemin derecesinin kolajen miktarını etkilemesi (Lepetit, 2008) bu durumun sebepleri olarak düşünülebilir. Türkiye'de kanatlı etinden üretilen et ürünleri için

düzenlenmiş farklı bir standart veya düzenleme bulunmamaktadır. Mohamed vd. (2016), sosis üretiminde uygulanan yüksek sıcaklıkların kolajeni, jelatine dönüştürerek miktarını önemli seviyede düşürdüğünü belirtmiştir. Araştırmamızda kanatlı etinden üretilmiş piliç salam ve piliç sosis ürünlerinde elde edilen kolajen miktarları (% 0,42-0,64), Mohamed vd. (2016)'nin mekanik ayrılmış et içeren piliç sosis örneklerinden ve piyasadan satın aldığı kanatlı eti emülsifiye ürünlerinden elde ettiği kolajen proteini (%0.20-0.76) miktarlarına yakınlık göstermektedir. Araştırmamızda, Ca miktarı 350 mg/kg'ın altında olan 2 farklı marka piliç sucuk, 1 farklı marka piliç salam ve 3 farklı marka piliç sosis numunelerinde ise kolajen miktarı (%) kontrol örneğine yakın bulunmuştur. Araştırmamızda incelenen piliç et ürünlerinin tamamında elde edilen histolojik muayene analiz sonuçları ile kalsiyum (mg/kg) miktarı, hidroksiprolin miktarı, kolajen (%) miktarı sonuçlarının birbiriyle ilişkili olduğu görülmektedir. Koolmees vd. (1986), Komrska vd. (2011) ve Guelmamene vd. (2018), benzer olarak mekanik ayrılmış etlerde kantitatif histolojik analiz sonuçları ile kolajen analizleri sonuçları arasında güçlü bir ilişki bulunduğunu ancak histolojik muayene analiz sonucunun veya kimyasal analiz sonuçlarının tek başına belirleyici olmadığı, birbiriyle kombinasyon halinde yorumlanması gerektiğini vurgulamışlardır.

Araştırmamızın sonucunda, et ürünlerinin bileşimine giren mekanik ayrılmış etin; et ürününün fiziksel, kimyasal ve histolojik özelliklerini etkilediği görülmektedir. Bu nedenle et ürünlerinin denetiminde bazı kimyasal analiz sonuçlarıyla (kül miktarı, protein miktarı, Ca miktarı, hidroksiprolin miktarı, toplam kolajen miktarı) histolojik muayene sonuçlarının birlikte değerlendirilmesinin, kanatlı et ürünlerinde mekanik ayrılmış et taşımasının belirlenmesinde daha belirleyici olabileceği sonucuna varılmıştır. Bununla beraber gıda ürünlerinin histolojik muayenesinde, analiz sonuçlarının toplam preparat sayısında görülen pozitiflik oranı ile değerlendirilmesinin, taşış ürün ile kontamine ürünün ayırt edilmesinde fayda sağlayabileceği düşünülmekte olup bu konuda daha fazla araştırma yapılmalıdır.

4. Teşekkür

Bu çalışma, TAGEM tarafından desteklenen TAGEM/HS/GY/ADÜ/18/A3/P1/729 numaralı projeye ait sonuçların bir kısmını içermektedir.

5. Kaynaklar

- Abdelrahman, H.A., El-Ghayati, S. and Shaheen, H. (2020). Quality assesment of emulssion type poultry meat products. *Suez Canal Veterinary Medical Journal*, Volume: 25 Issue: 1 Page: 129-141.
- Al-Najdawi, R. and Abdullah, B. (2002). Proximate composition, selected minerals, cholesterol content and lipid oxidation of mechanically and hand deboned chickens from the Jordian Market, *Meat Science*. 61(3) 243.
- Altun, S.K., Temur, A. ve Harem, İ.Ş. (2015). Erzurum ilinde satışa sunulan fermente sucuk ve sosislerin histolojik muayenesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4,2: 73-9.
- Anonim (2000). Tarım ve Orman Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Tebliğ No: 2000/4. Et Ürünleri Tebliği. 10.02.2000, 23960 sayılı Resmi Gazete (Yürürlükte değil).
- Anonim (2018). Tarım ve Orman Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Tebliğ No: 2018/52. Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği
- AOAC. (1990). Standard No: 990.26. Hydroxyproline in meat and meat products. Colorimetric Method First Action NMKL-AOAC Method.
- AOAC. (2012) Standard No: 928.08 Elemental Analyze/Nitrogen in Meat and Meat Products. Kjeldahl Method.
- Atasever, M., Keleş, A, Güner, A. ve Uçar, G. (1998). Konya'da tüketime sunulan fermente sucukların bazı kalite nitelikleri. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14(2), 27-32.
- Aybek, T. ve Karakaya, M. (2009a). Quantification of Chemical Composition and Some Minerals to Determine Mechanically Deboned Poultry Meat Content of Salami Marketed in Turkey. Poster Presentation. 3rd. Int. Congress of Food and Nutrition 22-25 April 2009 Antalya, Turkey.
- Aybek, T. ve Karakaya, M. (2009b). Ülkemizdeki Satışa Sunulan Sosislerde Mekanik Ayrılmış Kanatlı İçeriğinin Belirlenmesinde Bileşim ve Bazı Bazı Mineral Madde Miktarlarının Tespiti. 6. Gıda Mühendisliği Kongresi. Poster Bildiri. 06-08 Kasım 2009. Antalya. Türkiye.
- Benitez, B., Archile, A., Rangel, L., Bracho, M., Hernández, M. and Márquez, E. (2002). Nutritional quality and acceptability of a product formulated with mechanically deboned poultry meat, plasma and bovine red cell. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 52(3), 307-312.
- Botka-Petrak, K., Hraste, A., Lucić, H., Gottstein, Z., Gomerić, M.D., Jaksic, S. and Petrak, T. (2011). Histological and chemical characteristics of mechanically deboned meat of broiler chickens. *Veterinarski Arhiv*, 81, 273-283.
- Crossmon, G. (1937). A Modification of Mallory's Connective Tissue Stain with a Discussion of the Principles Involved. *The Anatomical Record*, 69, 33-38.
- Daros, F. G., Masson, M. L. and Amico, S. C. (2005). The influence of the addition of mechanically deboned poultry meat on the rheological properties of sausage. *Journal of Food Engineering*, 68(2), 185-189.
- EFSA. (2013). Scientific Opinion on the public health risks related to mechanically separated meat (MSM) derived from poultry and swine. *EFSA J.*, 11, 3: 3137. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3137.
- Erdoğrul, Ö.T. (2002). Kahramanmaraş'ta satılan sucuk ve sosislerin histolojik yapılarının incelenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5, 9-13.
- Ertaş, A. H. ve Kolsarıcı, N. (1983). Salam, sosis ve sucuklarda hidroksiprolin miktarı üzerinde araştırma. *Gıda*, 8:5.
- Field, R. A. (2000). Ash and Calcium as Measures of Bone in Meat and Bone Mixtures. *Meat Science* 55: 255- 264
- Gezgin, T. ve Karakaya, M. (2010). Quantification of Composition and Some Mineral Contents to Determine The Content of Mechanically Deboned Poultry Meat in The Sucuk Marketed in Turkey", Poster Presentation. 1th. Int. Congress on Food Technology 03-06 Nov. 2010 Antalya, Turkey.
- Guelmamene, R., Bennoune, O. and Elgroud, R. (2018). Histological techniques for quality control of meat and meat products. *Scholar Journal of Applied Sciences and Research*, 1, 26-32.
- İnce, E., Özfıliz, N. ve Efil, M. M. (2018). Ülkemizdeki süpermarketlerde satışa sunulan sucuklarda kimyasal incelemeler. *Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 37(2).
- Knight, S. and Winterfeldt, E. A. (1977). Nutrient quality and acceptability of mechanically deboned meat. *Journal of the American Dietetic Association*, 71(5), 501-504.
- Kolsarıcı, N., Ertaş, H. ve Şahin, M. E. (1986). Afyon, Ankara ve Aydın Yöresi Sucuklarının Bileşimi Üzerinde Araştırmalar. *Gıda*, 11(1).
- Komrska, P., Tremlová, B., Štarha, P., Simeonovová, J. and Randulová, Z. (2011). A

comparison of histological and chemical analysis in mechanically separated meat. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 59(1), 145-152.

Koolmees, P.A., Bijker, P. G., Van Logtestijn, J. G. and Tuinstra-Melgers, J. (1986). Histometrical and Chemical Analysis of Mechanically Deboned Pork, Poultry and Veal, *Journal of Animal Science*, 63: 6, Pages 1830–1837.

Kuyumcu, A. (1999). Ankara Piyasasında Satılan Salam, Sucuk Sosislerin Su, Yağ, Tuz, Kül ve Kalıntı Nitrat, Nitrit Miktarlarının Tayini Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Laakkonen, E., Wellington G. H. and Sherbon J. N., (1970). Low-Temperature, Long-Time Heating of Bovine Muscle 1. Changes in Tenderness, WaterBinding Capacity, pH and amount of Water-Soluble Components. *J. Food Sci.* 35:175–177. doi: 10.1111/j.1365-2621.1970.tb12131.x.

Lepetit, J. (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80(4), 960-967.

Moghtaderi, A., Raji, A.R., Khanzadi, S. and Nabipour A. (2019). Application of histological method for detection of unauthorized tissues in meat sausage. *Veterinary Research Forum*. 2019 Autumn; 10(4): 357–360.

Mohamed, M. A., Zahran, D. A., Kassem, G. M., Emara, M. M. T. and Mansour, N. M. (2016). Detection of mechanically recovered poultry meat (MRPM) in traditional Egyptian luncheon (emulsion type sausage). *Polish journal of food and nutrition sciences*, 66(1), 17-24.

NMKL. (1991) No: 23. Moisture and ash. Gravimetric determination in meat and meat products. Nordic Committee on Food Analyses. 3rd Education.

NMKL. (2007) No: 186. Trace elements - As, Cd, Hg, Pb and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion. Nordic Committee on Food Analyses. 3rd Education.

Pereira, A. G. T., Ramos, E. M., Teixeira, J. T., Cardoso, G. P., Ramos, A. D. L. S. and Fontes, P.R. (2011). Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. *Meat science*, 89(4), 519-525.

Petracci, M. and Cavani, C. (2012). Muscle growth and poultry meat quality issues. *Nutrients*, 4(1), 1-12.

Pickering, K., Evans, C. L., Hargin, K. D. and Stewart, C. A. (1995). Investigation of methods to detect mechanically recovered meat in meat products—III: Microscopy. *Meat science*, 40(3), 319-326.

Raphaelides, S.N., Grigoropoulou, S. and Petridis, D. (1998). Quality attributes of pariza salami as influenced by the addition of mechanically deboned chicken meat. *Food Quality and Preferences* 9 (4) 237– 242.

Sarıçoban, C. ve Karakaya M., (2005). İki farklı yöntemle kemiksizleştirilmiş piliç etlerinden üretilen sosislerin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 19(35) 115.

Sezer, Ç., Aksoy, A., Çelebi, Ö., Deprem, T., Öğün, M. and Oral, N. B., (2013): Evaluation of the quality characteristics of fermented sausages and sausage-like products sold in Kars. *Eurasian Journal of Veterinarian Science* 143-149.

Türk Standartları Enstitüsü. (2012). TS No: 13511. Et ve et mamulleri - Laboratuvar analiz yöntemleri - Histolojik muayene.

Türk Standartları Enstitüsü. (2016). TS No: 980. Sosis Standardı.

Türk Standartları Enstitüsü. (2017). TS No: 979. Salam Standardı.

Young, V.R. and Pellett P.L., 1984 Background Paper 5: Amino Acid Composition in Relation to Protein Nutritional Quality of Meat and Poultry Products¹2. *The American Journal of Clinical Nutrition*: 40 September: 737-742.

Zarkadas, C.G., Meighen, E.A., Zarkadas, G.C., Karatzas, C.N., Khalili, A.D. and Rochemont, J.A. (1988). Determination of the Myofibrillar and Connective Tissue Proteins in the Bovine Diaphragm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(6): 1095–1109.

Özgün Araştırma/Original Article

Spirulina platensis ekstraktlarının antifungal aktivitelerinin incelenmesi

Determination of antifungal activities of *Spirulina platensis* extracts

Oya Irmak Şahin^{1*}, Begüm Kurbe²

¹Yalova Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, YALOVA, TÜRKİYE

²Yalova Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Kimya ve Süreç Mühendisliği Ana Bilim Dalı, YALOVA, TÜRKİYE
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0003-2225-7993, Dr. Öğr. Üyesi

ORCID ID: 0000-0003-4845-8064, Yüksek Lisans Öğrencisi

*Sorumlu yazar/Corresponding author: isahin@yalova.edu.tr

Geliş Tarihi : 28.01.2022

Kabul Tarihi : 08.03.2022

Öz

Amaç: Algler ve algal biyoteknoloji her geçen gün endüstrinin ve bilimsel araştırmaların daha fazla dikkatini çekmektedir. Makro ve mikroalglerin, protein, karbonhidrat, yağ asitleri, vitamin, mineral, pigmentler gibi hücre içi ve dışı metabolitleri; besin desteği, gıda katkı maddesi ve farmasötik olarak pek çok amaçla kullanılmaktadırlar. Özellikle yağ asitleri, pigmentler ve fenolik bileşiklerinin antibakteriyel, antioksidan, antifungal ve antiviral özelliklere sahip olduğu ve gıda kaynaklı hastalıkların azaltılması ve önlenmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir. Gerçekleştirilen bu çalışmada, uygun kültür koşullarında üretilen *Spirulina platensis* mikroalginin, farklı solventler (su, metanol, hekzan) ile elde edilen ekstraktlarının gıdalarda bozulma ve ekonomik kayıplara sebep olan *Aspergillus flavus* ve *Penicillium verrucosum* küflerine karşı antifungal etkisi disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

Materyal ve yöntem: Ekstraktların eldesinde kullanılacak solvent:biyokütle oranları ile solvent türü ve antifungal aktiviteyi tespit için kullanılacak ekstrakt konsantrasyonları etkili değişken faktörler olarak belirlenmiştir. Proses değişkenlerinin etkisini optimize etmek için yüzey yanıt metoduna (YYY) (Response Surface Methodology, RSM) bağlı merkezi tümleşik tasarım (Central Composite Design, CCD) kullanılmıştır. Buna göre elde edilen değişken parametreleri solvent:biyokütle için 4-16 (- α , + α) ve ekstrakt konsantrasyonu için 6-54 mg/mL (- α , + α) olarak tespit edilmiş ve denemeler gerçekleştirilmiştir.

Bulgular ve sonuç: Yapılan denemelerde, su ile elde edilen ekstraktlar herhangi bir aktivite gösteremezken, metanol ekstraktları en yüksek antifungal aktiviteyi göstermiştir. Her iki küf türü için de en etkili parametre olarak belirlenen solvent:biyokütle oranının "4" olduğu metanol ekstraktlarında, inhibisyon zonu her iki küf türü için de "9 mm" olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Spirulina platensis*; antifungal aktivite; *Aspergillus flavus*; *Penicillium verrucosum*

Abstract

Objective: Algae and algal biotechnology have attracted increasing attention in industry and scientific research. Intracellular and extracellular metabolites of macroalgae and microalgae, proteins, carbohydrates, fatty acids, vitamins, minerals, pigments, etc., are used for many purposes as food supplements, food additives, and pharmaceuticals. It has been reported that especially fatty acids, pigments, and phenolic compounds have antimicrobial, antioxidant, antifungal, and antiviral properties and can be used to reduce and prevent foodborne diseases. In this study, the antifungal effect of the extracts of *Spirulina platensis* microalgae, which grown under suitable culture conditions, with different solvents (water, methanol, hexane) against *Aspergillus flavus* and *Penicillium verrucosum* molds, which cause food spoilage and economic losses, was investigated using disc diffusion method.

Materials and methods: Solvent:biomass ratios and extract concentrations with solvent-type were used as variable factors to determine antimicrobial activity. The process variables (3 factors with 4 levels) were applied within the response surface methodology (RSM) with central composite design (CCD). Experiments were

carried out due to the determined variable parameters as 4-16 (- α , + α) for solvent:biomass ratio and 6-54 mg/mL (- α , + α) for extract concentration.

Discussion and conclusion: According to the results obtained, the extracts obtained with water did not show any activity, while the methanol extracts showed the highest antifungal activity. In methanol extracts, where the solvent/biomass ratio, which was determined as the most effective parameter for both mold species, was “4”, the inhibition zone was determined as “9 mm” for both *Aspergillus flavus* and *Penicillium verrucosum*.

Keywords: *Spirulina platensis*; antifungal activity; *Aspergillus flavus*; *Penicillium verrucosum*

1. Giriş

Gıda maddeleri pek çok mikroorganizmanın gelişimi ve bunların toksinlerinin üretimi için oldukça uygun bir ortam olarak karşımıza çıkmaktadır. Bakteriler, küfler ve mayalar gıda güvenliği ve ürün kalitesi açısından büyük problemlere neden olmaktadır. *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri gıdalarda bozulmalara neden olan en önemli küf cinsleridir. Küflerin gıdalarda gelişimi alerjik etkili bileşikler ile birlikte mikotoksin adı verilen toksin bileşiklerin oluşumuna da sebep olmaktadır. Bu toksinler kanserojen etki gösteren ve sağlığa zararlı bileşiklerdir (Luz vd., 2017; Pawlowska vd., 2012). Gıdaların raf ömrünün uzatılması, duyuşal niteliklerin iyileştirilmesi, kalite karakteristiklerinin korunabilmesi adına pek çok katkı maddesi kullanılmaktadır. Ancak mikroorganizmaların bu katkı maddelerine direnç göstermeleri, kullanılan katkıların son üründe kalıntı bırakabilmeleri ve tüketici gruplarının son yıllarda doğal ürünlere ilgi göstermeleri sebebiyle, bu kimyasal maddelerin yerine doğal olarak koruyucu etki gösteren katkı maddelerine ilgi giderek artmaktadır (Yılmaz, 2019).

Bitkisel ve sucul bir kaynak olarak nitelendirilen mikro ve makroalgler pek çok endüstride tercih edilen bir proses bileşeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle mikroalgler hem biyokütleleri hem de farklı izolat ya da ekstraktları ile ilaç ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Sarkar vd., 2020). Bitkisel ve mikrobiyal matrislerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, yaygın olarak çeşitli solvent türleri kullanılmaktadır. Su, etil asetat, metanol, etanol, aseton ve hekzan sıklıkla kullanılan solventlerdir. Genel olarak hekzan, karotenoidleri ve klorofil uzaklaştırırken; metanol ise şekerleri, organik asitleri ve düşük moleküler ağırlıklı fenolleri ekstrakte edebilmektedir (Moure vd., 2001; Tantawy, 2011). Fenolik bileşikler gibi algal biyokütle bileşenlerinin de antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Pagnussatt vd., 2013; Souza vd., 2011). Alglerin antimikrobiyal aktivitesi klorofil türevleri, terpenler, fenolik maddeler, alifatik

bileşenler ve sülfür içeren heterosiklik bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşenlerin yanında antimikrobiyal aktivitenin bazı aminoasitler, florotanninler, steroidler, halojenli ketonlar ve alkanlar, siklik polisülfidler ve yağ asitlerinden de kaynaklandığı belirtilmiştir (Martelli vd., 2020).

Dünyada endüstriyel düzeyde üretimi yapılan alg türlerinden biri olan *Spirulina* spp., içerdiği yüksek miktardaki pigmentler, protein ve gamma linolenik asit (GLA) gibi metabolitler sebebiyle oldukça önem taşıyan bir mikroalg türüdür. *S. platensis* türünün üretiminin ve hasadının kolay olması, ayrıca yapısındaki bu yüksek katma değerli maddeleri yüksek miktarda biriktirmesinden dolayı organizmanın potansiyel üretimi bu ürünler üzerine yoğunlaşmıştır. *S. platensis* mikroalginin sentezlediği bu bileşiklerin potansiyel antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve antiviral madde olarak tanımlanabileceği ve gıda kaynaklı hastalıkların azaltılması ve önlenmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Al-Ghanayem, 2017; Hoseini vd., 2013). Mikroalgler ile gerçekleştirilen pek çok çalışmanın varlığının yanı sıra, bu alglerin ya da bileşiklerinin gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak değerlendirilmesi çalışmaları önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, *Spirulina platensis* mikroalginin farklı solvent:biyokütle oranı kullanılarak elde edilen fenolik ekstraktlarının gıdalarda bozulmalara ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olan *Aspergillus* ve *Penicillium* küflerine karşı antifungal aktivitelerini incelemektir.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Materyal

Schössler ortamındaki *Spirulina platensis*, Yalova Üniversitesi Gıda Biyokimyası ve Biyoteknolojisi Laboratuvarı'nda 25±2°C, 150 µmol foton m⁻²s⁻¹'de 24 saatlik kesintisiz aydınlatma koşulları ile 2 L'lik bir fotobiyoreaktörde geliştirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite tespiti için kullanılan suşlar (*Aspergillus flavus* CCT 1217 ve *Penicillium verrucosum*) Thermo Fisher (MA, ABD) firması tarafından temin edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Örneklerin hazırlanması

Kültürler optik yoğunluk takibinden elde edilen sonuca göre, logaritmik fazın bitimi ve duraklama fazının başlamasıyla birlikte 0,45 µm göz açıklığına sahip olan Whatman GF/C membran filtre -kâğıtlarından vakumlu süzme düzeneği kullanılarak hasat edilmiştir. Elde edilen yaş biyokütleler liyofilizatörde (Teknosem, TRS2/2V, Türkiye) -68°C'de 30-40 Pa basınç altında 18-24 saat kurutulmuştur. Kurutulan biyokütle, boyutlarının küçültülmesi için öğütücüde (IKA, M 20, Almanya) öğütülerek, ekstraksiyon işlemine kadar hava almayacak bir şekilde ambalajlanarak bekletilmiştir.

2.2.2. Ekstraksiyon İşlemi

Toz haline getirilmiş *Spirulina* biyokütlesi belirlenen oranlarda ve cinslerde solventler kullanılarak, Farasat vd. (2013) tarafından belirlenen metodun geliştirilmesi sonucu, 45°C'de 20 dk. ultrasonik su banyosunda bırakılmış ve ardından oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Bu işlemden sonra ekstrakt 4.500 rpm'de 10 dk. süreyle santrifüj edildikten sonra süpernatant alınarak dönerli buharlaştırıcıda (Buchi, R-3) solventlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Solvent uzaklaştırıldıktan sonra Çizelge 1'de belirtilen konsantrasyonlardaki ekstraktlar hazırlanmıştır. Konsantrasyonları ayarlanan ekstraktlar benzer çalışmalarda olduğu üzere antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılmak üzere +4°C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir.

2.2.3. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Spirulina platensis'e ait farklı ekstraktların küfler üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Usharani vd., 2015). 6 mm çapında olan boş steril diskler her konsantrasyondan 40 µl alg ekstraktı emdirilmiştir. 2,3 x 10³ kob/mL küf süspansiyonları, Sabouraud's dekstroz agar (SDA) yüzeyine yayılmış ve 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Ardından farklı dilüsyonlarda algal ekstraktı içeren diskler küf yayılmış besiyeri üzerine yerleştirildikten sonra 30°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Negatif kontrol olarak sadece metanol ve hekzan emdirilmiş diskler kullanılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında inhibisyon zonları oluşup oluşmadığı gözlenerek disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları milimetrik cetvel kullanılarak ölçülmüştür. (Gümüş ve Ünlüsayın, 2016).

2.2.4. Deneysel tasarım ve istatistiksel analiz

Algal ekstraktların antifungal aktivitelerini optimize etmek amacıyla Yüzey yanıt yöntemi (YYY) bağlı merkezi tümleşik tasarıma göre, 3 faktörlü ve 4 farklı seviyede deneme deseni kullanılmıştır (Çizelge 1). Solvent:biyokütle oranı ve ekstrakt konsantrasyonu numerik faktör, solvent cinsi ise kategorik faktör olarak seçilmiş ve 26 deney sayısından oluşan bir deneme deseni belirlenmiştir. Deneme deseni, optimizasyon verilerinin varyans analizi ve 3 boyutlu yüzey yanıt grafikleri Design Expert 11.0.5 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur.

Çizelge 1. Deneme deseni faktörleri ve faktör değerleri

Faktör	Bağımsız Değişken	- α	-1	1	α
A	Solvent:Biyo-kütle Oranı	4	5	15	16
B	Ekstrakt Konsantrasyonu	6	10	50	54
C	Solvent Cinsi	Hekzan – Metanol			

3. Bulgular ve tartışma

Bu çalışma, *Spirulina platensis* örneklerinin metanol, hekzan ve sudan elde edilmiş ekstraktlarının *Aspergillus* ve *Penicillium* türü küfler üzerine olan etkilerini saptamak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2. *Spirulina platensis* ekstraktlarının fungal inhibisyon zonu (mm)

Deney Sayısı	A	B	C	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
				Zon (mm)	
1	16	30	Metanol	0	0
2	10	54	Metanol	8	8,5
3	10	6	Hekzan	0	0
4	15	10	Hekzan	0	0
5	10	54	Hekzan	5	5
6	16	30	Hekzan	0	0
7	10	30	Metanol	6	5
8	10	30	Hekzan	7	7,5
9	15	50	Hekzan	0	0
10	10	6	Metanol	0	0
11	10	30	Hekzan	7,5	8
12	15	10	Metanol	0	0
13	10	30	Hekzan	7,5	7,5
14	10	30	Hekzan	7	6,5
15	10	30	Hekzan	7	6,5
16	4	30	Metanol	9	9
17	10	30	Metanol	6	6
18	4	30	Hekzan	9	8,5
19	10	30	Metanol	7,5	8
20	15	50	Metanol	0	0
21	5	10	Hekzan	5	6
22	5	50	Metanol	8	8,5
23	10	30	Metanol	6	7
24	5	10	Metanol	8	8
25	5	50	Hekzan	7,5	7,5
26	10	30	Metanol	7	7,5

A: Solvent:biyo-kütle oranı (h:h), B: Ekstrakt konsantrasyonu, C: Solvent cinsini ifade etmektedir.

Solvent olarak hekzan ve metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarda gözlenen antifungal etki inhibisyon zonu Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2'den açıkça görüldüğü gibi yapılan denemeler sonucunda metanol kullanılarak elde edilen en yüksek inhibisyon zonu 9 mm olarak belirlenmiştir.

Regresyon analizi bağımsız değişkenler ve cevap arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılmaktadır. Regresyon analizinde, lineer, kuadratik, kübik, logaritmik ve ters regresyon modelleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Her iki küf türü için modellerin uyumu, uyum eksikliği testi (lack of fit), düzeltilmiş R^2 ve tahmini R^2 değerleri gibi üç faktörün sayısal değeri ile belirlenmiştir. İnhibisyon zonu için model belirleme analizine göre, uyum eksikliği değerinin uyumsuz olmasından, düzeltilmiş R^2 ve tahmini R^2

değerlerinin yüksek olmasından ve aynı zamanda bu iki değer makul ölçüde birbirine yakın olmasından dolayı kuadratik modelin uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Varyans analizi (ANOVA) genellikle deneysel sonuçları daha iyi tanımlamak için kullanılan bir yöntem olup, yüksek F değerine ve düşük p değerine sahip bir modelin anlamlı olduğu kabul edilirken, en düşük p değeri regresyon denklemindeki en etkili parametreyi göstermektedir (Azma vd., 2011). Bu çalışmada, cevap ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla merkezi tümleşik tasarım yöntemi ile kuadratik model için ANOVA gerçekleştirilmiştir. *A. flavus* ve *P. verrucosum* inhibisyonu için ANOVA analizi Çizelge 3 ve Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 3. *Aspergillus flavus* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	241,48	8	32,55	61,89	< 0.0001	*
A-Solvent:Biyokütle Oranı	182,41	1	182,41	374,00	< 0.0001	*
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	1,20	1	42,25	2,45	0,1398	
C-Solvent	0,0008	1	0,9031	0,0016	0,9689	
AB	0,7813	1	0,7812	1,60	0,2263	
AC	0,8903	1	0,0879	1,83	0,1981	
BC	1,20	1	15,25	2,45	0,1398	
A ²	22,63	1	42,29	46,40	< 0.0001	*
B ²	12,63	1	19,22	25,90	0,0002	*
Uyum Eksikliği	4,23	6	0,9493	2,17	0,1537	
Hata	2,60	8	0,2875			
					R^2	0,9725
					Ayarlanmış R^2	0,9568
					Tahmin edilen R^2	0,8785

* $p < 0,05$ istatistiki açıdan önemli farklılıkları göstermektedir.

Çizelge 4. *Penicillium verrucosum* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	251,26	8	31,41	19,86	< 0.0001	*
A	189,03	1	189,03	119,51	< 0.0001	*
B	8,22	1	8,22	5,19	0,0377	*
C	0,2329	1	0,2329	0,1473	0,7065	
AB	0,5000	1	0,5000	0,3161	0,5823	
BC	0,9419	1	0,9419	0,5955	0,4523	
A ²	0,0784	1	0,0784	0,0496	0,8268	*
B ²	15,13	1	15,13	9,57	0,0074	*
Uyum Eksikliği	16,93	7	2,42	2,84	0,0831	
Hata	6,80	8	0,8500			
					R^2	0,9137
					Ayarlanmış R^2	0,8677
					Tahmin edilen R^2	0,7247

* $p < 0,05$ istatistiki açıdan önemli farklılıkları göstermektedir.

Modelin doğruluğu ve uyumu büyük F değerleriyle birlikte p değerleri <0,05 olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. *A. flavus* küfü için, Modele ait F değeri 61,89 olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Kuadratik model incelendiğinde A, A², B² faktörleri önemli olarak, C faktörü ise önemsiz olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda uyum eksikliği p değeri 0,1537 olarak belirlenmiş ve istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur, ancak F değerinin 2,17 olarak belirlenmesi yüzde 10'dan düşük bir oranda modelde sapmaya sebep olabilmektedir.

Çizelge 4'te *Spirulina* ekstraktlarının *P. verrucosum* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 19,86 olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Kuadratik model incelendiğinde A, B, A², B² faktörleri önemli olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda uyum eksikliği p değeri 0,0831 olarak belirlenmiş ve istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur, ancak F değerinin 2,84 olarak belirlenmesi yüzde 10'dan düşük bir oranda modelde sapmaya sebep olabilmektedir.

Her iki küf türü için de varyans analizleri incelendiğinde, ayarlanmış ve tahmin edilen (öngörülen) R² değerlerinin sırasıyla 0,9568 ile 0,8785 (Çizelge 3) ve 0,8677 ile 0,7247 (Çizelge 4) olduğu görülmektedir ki bu da modelin özellikle *A. flavus* inhibisyonu için tatmin edici olduğunu göstermektedir. Ayrıca uyum eksikliği değerleri, geliştirilen modelin uyumunu belirleyici özellik olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum *Spirulina platensis* ekstraktlarının antifungal aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan kuadratik modelin anlamlı olduğunu ve yanıt ile bağımsız değişkenler arasında iyi bir ilişki bulunduğunu göstermektedir.

İnhibisyon deneylerinin optimum koşulları, inhibisyon zonu değerlerinin maksimum düzeyde olduğu ve ekstraksiyon konsantrasyonu ile solvent:biyokütle oranının deney aralığında ve minimum olduğu, Design Expert yazılımı ile belirlenmiş ve optimizasyon standardı ve optimum bağımsız değişkenleri Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Optimize faktör değerleri ve model validasyonu

Faktör	Aralık	En Düşük	En Yüksek
A: Solvent:Biyo kütle Oranı	en az	4	16
B: Ekstrakt Konsantrasyonu	en az	5	50
C: Solvent	Değer aralığı	Hekzan	Metanol
<i>Aspergillus flavus</i>	en çok	7	-
<i>Penicillium verrucosum</i>	en çok	7	-
Solvent:Biyo kütle Oranı	Ekstrakt Konsantrasyonu	Solvent	
			<i>Aspergillus flavus</i>
			<i>Penicillium verrucosum</i>
			Beklenen
			Gerçekleşen
4,00	32,00	Metanol	9,10
			8,90
			9,51
			9,30

Optimum proses değişkenleri; solvent:biyokütle oranı, ekstrakt konsantrasyonu ve ekstrakt eldesinde kullanılacak solvent cinsi sırasıyla 4, 32, 10 mg/mL ve metanol olarak belirlenmiştir. Bu proses koşullarında inhibisyon zonu oluşumu *A. flavus* ve *P. verrucosum* için sırasıyla 9,10 ve 9,51 mm olarak model vasıtasıyla tahmin edilmiş ve gerçekleştirilen validasyonun ardından 8,90 mm ve 9,30 mm olarak tespit edilmiştir.

Algal biyokütlenin kendisinin ya da ekstraktlarının gıda katkı maddesi olarak değerlendirilme çalışmaları "gıdaların zenginleştirilmesi" üzerine kurgulanmış algal biyokütlenin ya da ekstraktlarının "antimikrobiyal etkileri" göz ardı edilmiştir. Oysa mikroalglerin gıda katkı maddesi olarak kullanıldığı bazı çalışmalarda yapılan mikrobiyolojik analizler, biyokütlenin kendisinin ve ekstraktlarının bakteri gelişimini inhibe etmesiyle birlikte küf ve mayaların da gelişimini inhibe edebildiğini göstermektedir (Ak vd., 2016;

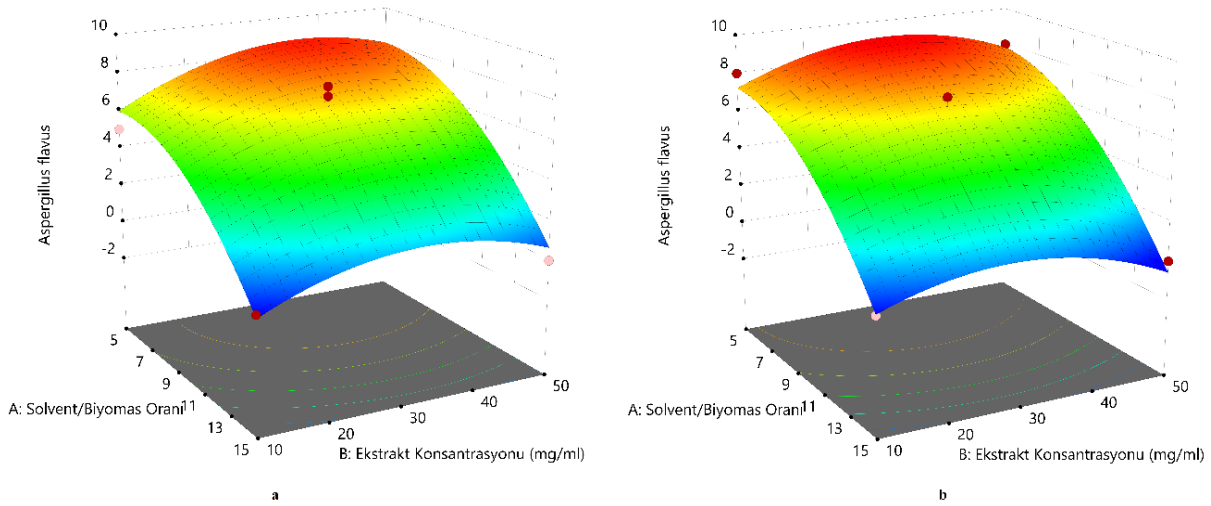
Almeida vd., 2021; Sahin ve Ozturk, 2021). Gıda katkı maddesi olarak değerlendirilmek istenen algal ekstraktların gıda matriksinde kullanım miktarı, ürünün tekstürel ve reolojik niteliklerinin yanı sıra duyu özelliklerini de etkileyebilmektedir. Alglerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri, gıdalarda algal bileşiklerin kullanım sıklığını ve çeşitliliğini de etkileyebilecek bir faktör olarak değerlendirilmelidir. Bu nedenle, gıda matriksine alglerin ilavesi çalışmalarının yalnızca fizikokimyasal ve tekno-fonksiyonel açıdan değil, aynı zamanda mikrobiyolojik açıdan ve raf ömrü açısından da değerlendirilmesi gerekmektedir.

Ekstraksiyon elde etme yöntemleri de kullanılan solvent cinsi kadar önem taşımaktadır. Gerçekleştirilen çalışmalarda farklılık gösteren ekstrakt konsantrasyonu faktörü için ekstraktın elde edilme yöntemi, sıcaklık ve diğer prosesler önem taşımaktadır. Algal ekstraktları üzerine

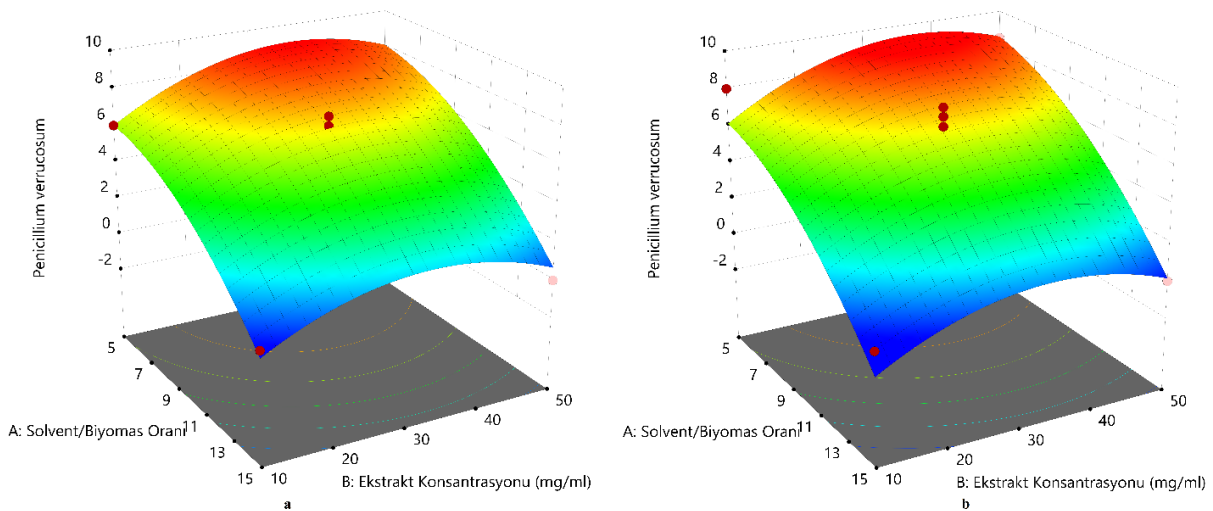
gerçekleştirilen çalışmalar solvent etkinliğinin, aynı zamanda kullanılan ekstraksiyon yöntemi ile de ilgili olduğunu ortaya koymaktadır (Keddar vd., 2020). Üç boyutlu yüzey yanıt grafiklerinde metanol ve hekzandan elde edilen sonuçların benzerliğinden de anlaşıldığı üzere (Şekil 1 ve Şekil 2), çalışmada kullanılan her iki küf türü için de solvent değişkeninin antifungal aktiviteye etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Ancak buradaki çalışma sonuçları ile uyumlu olacak şekilde Souza vd. (2011), metanol ekstraktlarının sayısal olarak daha yüksek inhibisyon zonu oluşturduğunu rapor etmiştir. Antifungal etkinliğin hem alg türlerine hem de ekstraksiyon için kullanılan solvent cinsine bağlı olduğu belirtilmektedir (Mohy El-Din ve Mohyeldin,

2018). Metanolün yüksek polaritesi sebebiyle antimikrobiyal bileşiklerin ekstraksiyonunda daha başarılı ve yüksek bir verimlilik sağladığı bildirilmiştir (Ponnanikajamdeen vd., 2014; Radhika vd., 2012).

Parametrenin etkileşim davranışını anlayabilmek için, çalışmada "solvent" faktörü sabit tutularak değişken faktörler için kuadratik polinom modele dayalı yanıt yüzey grafikleri incelenmiştir. *Spirulina* biyokütlesinden hekzan ve metanol kullanılarak elde edilen ekstraktların solvent:biyokütle oranı ve kullanılan ekstrakt konsantrasyonu faktörleri ile ilişkileri *Aspergillus flavus* için Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. *A. flavus* için hekzan (a) ve metanol (b) ekstraktlarının yüzey yanıt grafikleri



Şekil 2. *P. verrucosum* için hekzan (a) ve metanol (b) ekstraktlarının yüzey yanıt grafikleri

Solvent:biyokütle oranı arttıkça ve ekstrakt konsantrasyonu artış gösterdikçe elde edilen inhibisyon zonunda azalma gözlenmiştir. *Penicillium verrucosum* küfü için de değişken faktörler benzer etkiye sahip olmuştur (Şekil 2). Solvent:biyokütle oranının 10'un üzerine çıkmasıyla, her iki küf türü için de, elde edilen inhibisyon zonlarında ciddi bir azalma gözlenmiştir. Elde edilen verilerden farklı olarak, Al-ghanayem (2017) gerçekleştirdiği çalışmada *Aspergillus* ve *Penicillium* küflerine karşı inhibisyon etkisini incelediği *Spirulina platensis*'in ekstraksiyonunda su ve metanol kullanmış ve ekstrakt konsantrasyonunun 150 mg/mL'ye artırılması ile inhibisyon zonunun arttığını tespit etmiştir. Sonuçlardan, ekstraktların antifungal aktivitesinin patojenik ve filamentli küflere karşı etkili olduğu görülmektedir. *Spirulina platensis*'in hekzan ve metanolik ekstraktlarının *Aspergillus* spp. üzerindeki inhibitör etkileri önceki çalışmalarda da tespit edilmiştir (Kumar vd., 2011). Benzer antifungal aktivite Kaushik ve Chauhan (2008) ile Usharani vd. (2015) tarafından da belirlenmiştir. Çalışmalarda elde edilen inhibisyon değerleri birbirine yakın olmakla beraber, diğer araştırmaların aksine gerçekleştirilen denemelerde ekstrakt konsantrasyonu 30 mg/mL civarına düşürüldüğünde elde edilen inhibisyon zonu daha yüksek (9 mm) olmuştur. Aynı zamanda, ekstrakt konsantrasyonu solvent:biyokütle oranının azaldığı durumlarda artış göstermiş, ancak yine 10'un üzerindeki oranlarda ekstrakt konsantrasyonu değerlerinden bağımsız olarak inhibisyon zonları tespit edilememiştir.

Musbah vd., (2019) *Spirulina platensis* ile birlikte 5 farklı alg ekstraktında gerçekleştirdiği antifungal aktivite analizlerinde 100 mg/mL metanolik *Spirulina* ekstraktının *Candida* türlerine karşı ortalama 28,33 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmiştir. Çalışmada elde edilen zon oluşumundan çok daha yüksek değerleri bulunmasına rağmen, antimikrobiyal aktivite için gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde ideal solventin metanol olduğu sonucuna ulaşılabilmektedir. *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, *Sargassum vulgare* ve *Sargassum wightii* alglerinden elde edilen metanolik (%70) ekstraktların *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* ve *Microsporum canis* küflerine karşı inhibisyon niteliğinin değerlendirildiği başka bir çalışmada da inhibisyon zon değerleri 25 mm'den yüksek tespit edilmiştir (El-Sheekh vd., 2015). Abedin ve Taha (2008) antifungal etkiyi mikroalglerin geliştirilmesi evresinden etkilendiğini ifade ederek farklı besiyeri konsantrasyonları kullandığı çalışmasında

metanolik *Spirulina platensis* ekstraktlarında 2 cm'den küçük inhibisyon zonları elde edilmiştir. Gözlemlenen zon değerlerindeki farklılıklar kullanılan ekstrakt ve solvent konsantrasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar *Spirulina* türlerinde antifungal özellik gösteren bileşiklerin polifenoller, siklik peptitler, lipopolisakaritler ve alkaloidler olduğunu ve bu yapıların küf gelişimini durdurabildiği hatta küflerin varlığını yok edebildiğini bildirmiştir. Metanolik ekstraktlarının güçlü antifungal aktivitesi ise yüksek toplam fenolik içeriği ile açıklanabilmektedir (Abdel-Moneim vd., 2022; Elshouny vd., 2021; Gheda ve Ismail, 2020, Abedin ve Taha, 2008).

4. Sonuç

Çalışma sonucunda *Spirulina platensis* mikroalgine ait biyokütleden metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarının *Aspergillus* ve *Penicillium* küflerine karşı etanole göre daha etkin olduğu bulunmuştur. Solvent oranının arttığı durumlarda ve kullanılan ekstraktın konsantrasyonu azaldığında inhibisyon zon oluşumunda da azalma gözlenmiştir. Metanol kullanılarak gerçekleştirilen validasyon çalışmalarında, biyokütlenin 4 katı kadar solventin kullanıldığı ve ekstraksiyon konsantrasyonunun 32 mg/mL olduğu koşullarda disk difüzyon yöntemine göre inhibisyon zonu *Aspergillus flavus* için 8,90 mm ve *Penicillium verrucosum* için ise 9,30 mm olarak tespit edilmiştir. Buna göre *Spirulina* biyokütlesinin metanolik ekstraktları biyoaktif içerikleri sebebiyle patojenik küflere karşı etkin bir koruyucu katkı maddesi olarak kullanımı mümkün olmaktadır.

Biyolojik ajanlar için kaynak arayışında "algler" önemli bir başlangıç noktası olmakla birlikte algal ekstraktlardaki biyoaktif bileşiklerin "doğal koruyucu katkı maddesi" olarak kullanımı da ilgi çekici bir alandır. Sonuç olarak, gelecekteki araştırmaların yönü biyoaktif bileşenlerin izolasyonu, saflaştırılması ve tanımlanması çalışmaları ile biyolojik beklentilerin karşılanmasına yönelik olacaktır.

5. Teşekkür

Bu çalışma, Yalova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen 2020/YL/003 numaralı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

6. Kaynaklar

- Abdel-Moneim, A.-M. E., El-Saadony, M. T., Shehata, A. M., Saad, A. M., Aldhumri, S. A., Ouda, S. M., and Mesalam, N. M. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1197-1209. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.046>
- Abedin, R. M., and Taha, H. M. (2008). Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3(1), 22-31.
- Ak, B., Avsaroglu, E., Isik, O., Özyurt, G., Kafkas, E., and Etyemez, M. (2016). Nutritional and physicochemical characteristics of bread enriched with microalgae *Spirulina platensis*. *Int. J. Eng. Res. Appl*, 6(9).
- Al-Ghanayem, A. (2017). Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* extracts against certain pathogenic bacteria and fungi. *Advances in BioResearch*, 8, 96-101. <https://doi.org/10.15515/abr.0976-4585.8.6.96101>
- Almeida, L. M. R., da Silva Cruz, L. F., Machado, B. A. S., Nunes, I. L., Costa, J. A. V., de Souza Ferreira, E., Lemos, P. V. F., Druzian, J. I., and de Souza, C. O. (2021). Effect of the addition of *Spirulina* sp. biomass on the development and characterization of functional food. *Algal Research*, 58, 102387.
- Azma, M., Mohamed, M. S., Mohamad, R., Rahim, R. A., and Ariff, A. B. (2011). Improvement of medium composition for heterotrophic cultivation of green microalgae, *Tetraselmis suecica*, using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 53(2), 187-195.
- El-Sheekh, M. M., El-Shafay, S. M., and El-Ballat, E. M. (2015). Production and characterization of antifungal active substance from some marine and freshwater algae. *Int. J. Enviro. Sci. Engine*, 6, 85-92.
- Elshouny, W. A. E.-F., El-Sheekh, M. M., Sabae, S. Z., Khalil, M. A., and Badr, H. M. (2021). Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Against Aquatic Bacterial Isolates. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021(vol. 10), 1203-1208.
- Farasat, M., Khavari-Nejad, R.-A., Nabavi, S. M. B., and Namjooyan, F. (2013). Antioxidant properties of some filamentous green algae (Chaetomorpha Genus). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56, 921-927. doi.org/10.1590/S1516-89132013000600005
- Gheda, S. F., and Ismail, G. A. (2020). Natural products from some soil cyanobacterial extracts with potent antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 92. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190934>
- Gümüş, B., and Ünlüsayın, M. (2016). Determination of antimicrobial activity of two macro algae extracts. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 33(4), 389-395. <https://doi.org/10.12714/egejfas.2016.33.4.13>
- Hoseini, S. M., Khosravi-Darani, K., and Mozafari, M. R. (2013). Nutritional and medical applications of *Spirulina* microalgae. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 13(8), 1231-1237.
- Kaushik, P., and Chauhan, A. (2008). *In vitro* antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Microbiology*, 48(3), 348-352. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0043-0>
- Keddar, M. N., Ballesteros-Gómez, A., Amiali, M., Siles, J. A., Zerrouki, D., Martín, M. A., and Rubio, S. (2020). Efficient extraction of hydrophilic and lipophilic antioxidants from microalgae with supramolecular solvents. *Separation and Purification Technology*, 251, 117327. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117327>
- Kumar, V., Bhatnagar, A. K., and Srivastava, J. N. (2011). Antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina platensis* and its structural elucidation of bioactive compound. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(32), 7043-7048.
- Luz, C., Saladino, F., Luciano, F. B., Mañes, J., and Meca, G. (2017). *In vitro* antifungal activity of bioactive peptides produced by *Lactobacillus plantarum* against *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium expansum*. *LWT - Food Science and Technology*, 81, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.053>
- Martelli, F., Cirilini, M., Lazzi, C., Neviani, E., and Bernini, V. (2020). Edible seaweeds and *Spirulina* extracts for food application: *In vitro* and *in situ* evaluation of antimicrobial activity towards foodborne pathogenic bacteria. *Foods*, 9(10), 1442.
- Mohy El-Din, S. M., and Mohyeldin, M. M. (2018). Component Analysis and Antifungal Activity of the Compounds Extracted from Four Brown Seaweeds with Different Solvents at Different Seasons. *Journal of Ocean University of*

- China*, 17(5), 1178-1188. <https://doi.org/10.1007/s11802-018-3538-2>
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., José Núñez, M., and Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)
- Musbah, H. A., Abouelkhair, W. S., Yousef, S. A. E., Moustafa, E. E., and Hasan, A. M. H. (2019). Screening of Antifungal Activities of Five Algal Crude Extracts. *Journal of Scientific Research in Science*, 36(1), 318-338. <https://doi.org/10.21608/jrsr.2019.57633>
- Pagnussatt, F. A., Kupski, L., Darley, F. T., Filoda, P. F., Ponte, É. M. D., Garda-Buffon, J., and Badiale-Furlong, E. (2013). Fusarium graminearum growth inhibition mechanism using phenolic compounds from *Spirulina* sp. *Food Science and Technology*, 33, 75-80.
- Pawlowska, A. M., Zannini, E., Coffey, A., and Arendt, E. K. (2012). Chapter 5 - "Green Preservatives": Combating Fungi in the Food and Feed Industry by Applying Antifungal Lactic Acid Bacteria. İçinde J. Henry (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research* (C. 66, ss. 217-238). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394597-6.00005-7>
- Ponnanikajamdeen, M., Malini, M., Chelladurai, M., and Shanmugam, R. (2014). Bioactivity and Phytochemical Constituents of Marine Brown Seaweed (*Padina tetrastrum*) extract from Various Organic Solvents. *International Journal of Pharmacy & Therapeutics*, 5, 108-112.
- Radhika, D., Veerabahu, C., and Priya, R. (2012). Antibacterial activity of some selected seaweeds from the Gulf of Mannar Coast, South India. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 5(4), 89-90.
- Sahin, O. I., and Ozturk, B. (2021). Microalgal biomass-a bio-based additive: Evaluation of green smoothies during storage. *International Food Research Journal*, 28(2), 309-316.
- Sarkar, S., Manna, M. S., Bhowmick, T. K., and Gayen, K. (2020). Extraction of chlorophylls and carotenoids from dry and wet biomass of isolated *Chlorella thermophila*: Optimization of process parameters and modelling by artificial neural network. *Process Biochemistry*, 96, 58-72. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.05.025>
- Souza, M. M. de, Prietto, L., Ribeiro, A. C., Souza, T. D. de, and Badiale-Furlong, E. (2011). Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 1050-1058. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600003>
- Tantawy, S. T. (2011). Biological potential of cyanobacterial metabolites against some soil pathogenic fungi. *Journal of food, agriculture & environment*, 9(1), 663-666.
- Usharani, G., Srinivasan, G., Sivasakthi, S., and Saranraj, P. (2015). Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* solvent extracts against pathogenic bacteria and fungi. *Advances in Biological Research*, 9(5), 292-298.
- Yilmaz, A. (2019). *Chlorella protothecoides* Mikroalg Yağının Karakterizasyonu, Biyoaktif Özellikleri ve Antifungal Etkinliği. *Akademik Gıda*, 17(2), 217-225. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.613575>

Original Article/Özgün Araştırma

Determination of allergens in several food matrix with proteomics approach and investigation of heat stability of allergen proteins

Bazı gıdalarda alerjenlerin proteomiks tekniği kullanılarak tespiti ve ısıl işlem sonrası alerjenlerin stabilitesinin araştırılması

Nurcan Ayşar Güzelsoy^{1*}, Filiz Çavuş¹, Yasemin Şahan²

¹Central Research Institute of Food and Feed Control, BURSA, TÜRKİYE

²Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture Bursa Uludağ University, BURSA, TÜRKİYE
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0002-6843-6076, Ph.D.

ORCID ID: 0000-0002-8742-1857, Chemical Eng., M.Sc.

ORCID ID: 0000-0003-3457-251X, Prof.

*Corresponding author/Sorumlu yazar: nurcan.aysarguzelsoy@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi : 10.02.2022

Kabul Tarihi : 12.04.2022

Abstract

Objective: Allergic reactions to food are among the major food safety concerns in especially industrialized countries. The primary treatment for food allergy is avoidance of the allergen food. Investigation of allergens in food products is important in terms of ensuring food safety and protecting consumer health. In this study, it was aimed to determine the allergenic proteins in several food matrices using the proteomics technique and to investigate their stability after heat treatment.

Materials and methods: Hazelnut, almond, walnut, pistachio and sesame were used as material. After protein extraction and enzymatic digestion, unroasted samples were analyzed by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-Q-TOF/MS). Firstly, specific allergen peptides were determined in unroasted samples with the help of MS/MS data and databases. After roasting of samples at 130°C, 150°C and 170°C up to 30 minutes, stability of allergen peptides was investigated.

Discussion and conclusion: After roasting at different time intervals and temperatures, the mass spectrum of the samples were examined in the database and it was observed that some peptide sequences lost their stability, while others continued to exist. Two peptide sequences were determined as markers for hazelnut, almond, walnut, pistachio and sesame, which maintain their stability after roasting.

Keywords: food allergy; allergens; LC-Q-TOF/MS; proteomics

Öz

Amaç: Gıdaya karşı gelişen alerjik reaksiyonlar özellikle gelişmiş ülkelerde gıda güvenliği açısından önemli bir sorun teşkil etmektedir. Günümüzde alerjinin önlenmesinin tek yolu kişilerin alerjen içeren gıdaları tüketmekten kaçınmasıdır. Gıdaların alerjen maddeler yönünden incelenmesi ürün güvenilirliğinin sağlanması ve tüketici sağlığının korunması açısından önemlidir. Bu çalışmada bazı gıdalardaki alerjen proteinlere ait peptid dizilimlerinin proteomiks tekniği kullanılarak tanımlanması ve ısıl işlem sonrası stabilitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem: Materyal olarak badem, fındık, ceviz, Antep fıstığı ve susam kullanılmıştır. Kavrulmamış örnekler, protein ekstraksiyonu ve enzimatik parçalanma işlemleri sonrası sıvı kromatografisi kuadropol uçuş zamanlı kütle spektrometresi (LC-Q-TOF/MS) ile analiz edilmiştir. İlk olarak kavrulmamış örneklere ait kütle spektrum (MS/MS) verileri, veri tabanlarında incelenerek her örnek için spesifik olan alerjen peptid dizilimleri belirlenmiştir. Daha sonra örneklere 130°C, 150°C ve 170°C'de 30 dakikaya kadar kavurma işlemi uygulanarak peptid dizilimlerinin kararlılığı incelenmiştir.

Tartışma ve sonuç: Farklı süre ve sıcaklıklarda kavurma işlemi sonrası örneklere ait kütle spektrumları veri tabanında incelenmiş ve bazı peptit dizilimlerinin varlığını devam ettirirken bazılarının ise stabilitesini kaybettiği gözlenmiştir. Fındık, badem, ceviz, Antep fıstığı ve susam için kavurma işlemi sonrası stabilitesini devam ettiren ikişer adet peptit dizilimi marker olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: gıda alerjisi; alerjenler; LC-Q-TOF/MS; proteomiks

1. Introduction

Food allergy is an immunological reaction developed against a protein or a different component in some foods and poses a global risk to public health (Costa et al., 2016). Symptoms of an allergic reaction may involve the skin, the gastrointestinal tract, the cardiovascular system, and the respiratory tract (Johansson et al., 2001; Köksel et al., 2011). 5% of children and 3-4% of adults in Western countries are estimated to be affected by food allergy (Meyer et al., 2019; Sicherer and Sampson, 2010). Although it is known that about 200 foods cause allergic reactions; milk, eggs, peanuts, nuts, shellfish, fish, wheat, and soy account for 90% of allergic reactions (Liew et al., 2009). Most of the allergens found in these foods are water-soluble glycoproteins in sizes of 10 to 70 kDa and have stability against heat, acid, and proteases (Jiménez-Saiz et al., 2015). Plant food allergens can be classified based on their structural or functional properties. The most common plant proteins that cause allergic reactions are prolamins, globulins and protein groups involved in the plant defense mechanism (Breiteneder et al., 2004).

Currently there are no proactive treatments available for food allergy beyond the careful avoidance of allergenic foods, and even the consumption of very small amounts of these allergenic foods can be life-threatening for some people. The best way to manage to prevent an allergic reaction is to avoid consuming the food that cause allergy. Therefore, issuing legal regulations regarding the declaration of allergens in foods is important. EC/ 1169/2011 directive of the European Union involves provisions regarding the declaration of allergens on food labels (Anonymous, 2017). In Türkiye, on the other hand, the regulations for the declaration of allergens are included in the Turkish Food Codex Regulation on Labelling and Food Information to Consumers (Anonymous, 2017). Allergens that are mandatory to be declared on the labels of foods are gathered under 14 groups and allergen components or allergen processing aids are required to be specified in the ingredients list by using the allergen substance or product names clearly. Although there are legal regulations, undeclared

allergens may also be detected in some food products as a result of inadequate equipment sanitation, cross-contamination or mislabeling (Parker et al., 2015). It is important to identify the allergens present in foods in order to secure the health of individuals with food allergies and to ensure that safe foods are delivered to consumers.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tests and polymerase chain reaction (PCR) analyzes are among the most preferred methods for the detection of allergens in foods, but these methods have some constraints as well (Prado et al., 2016). Complexity of the food matrix, partial degradation of proteins by microorganisms during fermentation, alterations in the structure of proteins caused by reactions occurring during food processing, such as Maillard reactions, difficulties in isolating DNA from some foods can lead to obtaining false positive or false negative results in allergen analysis by ELISA and PCR (Jayasena et al., 2015; Sancho and Mills, 2010).

In recent years, as an alternative to those techniques, analysis methods based on mass spectrometry have been used extensively in the identification, characterization and quantitation of food allergens. Offering high sensitivity and accuracy, the capability to perform analyzes without being affected by many limitations arising from the structure of proteins, and to perform multiple analyzes of allergens in a single analysis mode are among the reasons for preferring MS technique despite requiring high costs and expertise (Carrera et al., 2018; Dhondalay et al., 2018).

Since MS-based allergen analysis methods rely on tracing selected peptides as markers of allergenic components found in foods, the selection of these markers constitutes one of the most important step in method development and affects the robustness and sensitivity of analytical data (Pilolli et al., 2021). In addition to being specific to the relevant allergen, these marker peptides should be stable during food processing and preferably free from amino acids prone to alterations. However, foods may be exposed to different processes such as heat treatment, fermentation, hydrolysis, ultrasonic applications and irradiation during the production process and some changes may occur in the

allergenicity of foods depending on these applied processing conditions (Onwude et al., 2017; Pushpa et al., 2018; Yao et al., 2015).

Heat treatment applications are widely used in food production and affect allergenicity by causing structural alterations in the protein structure. Although there are some studies on evaluating the stability of allergens after heat treatment for different food matrices; it still constitutes a field of study for researchers, as its effect on allergen proteins will vary depending on the complexity of the food matrix and heat treatment conditions (Chassaigne et al., 2007; Van Boxtel et al., 2008).

In this study, it was aimed to determine the peptide sequences of allergen proteins in hazelnut, almond, walnut, pistachio, and sesame using LC-QTOF/MS and to investigate their stability subsequent to heat treatment.

2. Material and method

2.1. Material

In the study almond (*Prunus dulcis* L.), hazelnut (*Corylus avellana* L.), walnut (*Juglans regia* L.), pistachio (*Pistacia vera* L.) and sesame (*Sesamum indicum* L.) were used as materials. Hazelnut samples were procured from Hazelnut Research Institute in Giresun, and almond samples were procured from Pistachio Research Institute in Gaziantep. Walnut, pistachio, and sesame samples were procured from the market. The studies on the detection of allergens in the samples were first performed on unroasted samples. In order to investigate the heat stability of the peptide sequences, the samples were roasted at different temperatures (130°C, 150°C, 170°C) and times (15-30 minutes).

2.2. Chemicals

Acetonitrile (99.9%), methanol (99.9%), ammonium bicarbonate (Bioultra, 99.5%), dibasic sodium phosphate (99%), Tris (hydroxymethyl) aminomethane (TRIS) (99.9%), phosphoric acid (Bioultra, 85%), bovine serum albumin (analytical purity), dithiothreitol (DTT) (98%), iodoacetamide (IAA) (Bioultra), trypsin enzyme (bovine pancreas), and Bradford marker (0.1-1.4 mg/ml protein) were purchased from Sigma Aldrich (St. Louis, USA). hydrochloric acid (HCl; 37%) and formic acid (98-100%) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Ultra-pure water was obtained using the Milli-Q System (USA).

2.3. Protein extraction

Protein analysis of the samples was performed in accordance with the method of AOAC 990.03 (Anonymous, 2002). In order to determine the ideal extraction solvent for protein extraction in the samples, preliminary experiments were carried out using 200 mM (pH 7.5) TRIS/HCl, 50 mM ammonium carbonate, 50 mM dibasic sodium phosphate and 0.01 M HCl buffers. After homogenization procedure, 3 mL of extraction solution was added to the samples weighing 90 mg and mixed in vortex for 60 min. After centrifugation at 1699 xg for 5 min, the extracts were prepared by filtering through 0.22 µm PVDF (Millipore Millex-HV, Merck). The amount of protein in the extracts was determined according to the Bradford method (Kruger, 2009).

2.4. Optimization of incubation time

In order to obtain peptide from proteins, trypsin enzyme was added to extracts and incubated at 37°C for 2-24 h. The tryptic digests were analyzed by LC-QTOF/MS and the peak areas of peptides at different times were compared to determine the ideal incubation for peptide analysis.

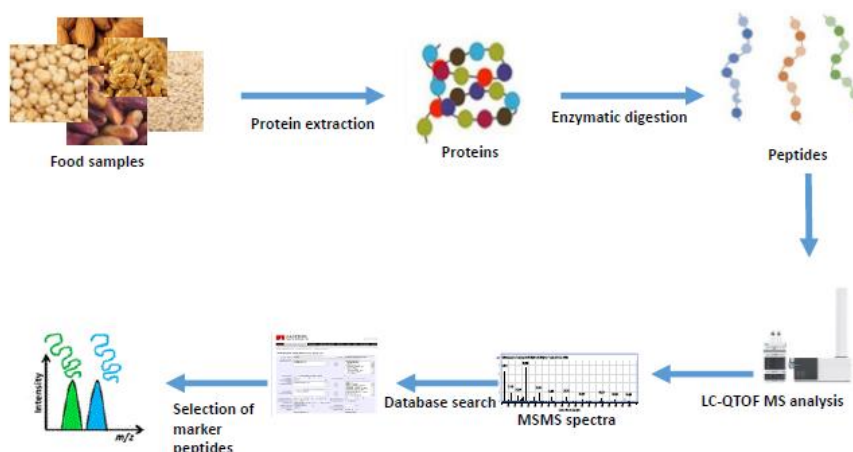


Figure 1. Workflow for selection of marker peptides

2.5. Sample preparation

Sample preparation was carried out using the procedure described by Sealey-Voyksner et al. (2016) with slight modifications. Briefly, an amount of 90 mg of matrix material was extracted with 3 mL extraction buffer (200 mM TRIS/HCl, pH 7.5), mixed in vortex at 20°C for 60 min. Subsequently, DTT solution was added and held at 37°C for 20 min to facilitate the breaking of disulfide bonds. After the sample cooled down to room temperature, alkylation was carried out with IAA. Then 25 µL of a 1 mg/mL trypsin solution prepared in 50 mM sodium phosphate was added for enzymatic digestion and the samples were incubated at 37°C for 18 h. The digested extracts were centrifuged at 1699xg for 5 min and analyzed in the LC-QTOF/MS equipment

2.6. LC-QTOF/MS analysis

LC-MS analysis of tryptic digests were performed using an Agilent HPLC-1260 (USA) system and an Agilent 6550 high-definition Q-TOF mass spectrometer. Schematic diagram of the workflow was given in Figure 1. Tryptic digests were injected on a Poroshell 120 EC reverse phase C18 analytical column (4.6 × 100 mm, particle size 2.7 µm) (Agilent Technologies, USA). The sample injection volume was 5 µL, at a final flow rate of 0.6 mL/min. Ultra-pure water (0.1% formic acid) and acetonitrile (0.1% formic acid) were used as mobile phase. The applied gradient was as follows: 2 min, 5% B; 2–20 min, 5–60% B; 20–22 min, 60–95% B; 22–23 min, 5% B. The analysis was performed in the positive ionization mode with the mass range setting at m/z 100–2500. The optimized instrument conditions were set as follows; drying gas 200°C at 14 L/min; nebulisation gas 30 psi; sheath gas 350°C at 11 L/min; capillary voltage of 3500 V; nozzle 1000 V; fragmentor 300 V. The reference masses 121.0509 (Purine) and 922.0098 (HP-0921) were used for internal mass calibration. Each sample was analysed in triplicate.

3. Discussion

3.1. Extraction of samples

Extraction solvents including 200 mM TRIS/HCl, 50 mM ammonium carbonate, 50 mM dibasic sodium phosphate and 0.01 M HCl buffer were evaluated for the extraction of proteins in hazelnut, almond, pistachio, sesame and walnut samples. The extraction yield of the different solvent was assessed. Protein recovery was calculated by comparing the experimental protein concentrations (mg/mL) assayed in sample extracts by Bradford assay with total protein content of samples assayed by AOAC 990.03. The extraction yields in percentage obtained for each solvent are given in Table 1. The highest extraction yield in the samples was obtained through 200 mM TRIS/HCl (pH 7.5), while the lowest extraction yield was obtained through 0.01 M HCl buffer.

There are studies conducted on the extraction yield of proteins in foods by applying various extraction solvents at different pH ranges. In a study conducted by Sze-Tao and Sathe (2000), the highest amount of protein in walnut extracts was determined by applying 0.1M NaOH solution, and it was declared that the solubility was minimum when the pH was around 4, on the other hand, the solubility increased when pH < 3 and pH > 6. De Angelis et al. (2018) performed extraction experiments with phosphate buffered saline (PBS), TRIS/HCl, urea-TBS (Tris buffered saline) and ammonium bicarbonate solvents for protein extraction in peanuts and hazelnuts. As a result of their study, the highest extraction yield (53%) in the samples was obtained with TRIS/HCl, while the lowest extraction yield (37%) was obtained by applying phosphate buffered saline. Furthermore, in the studies conducted on the extraction of proteins in nuts by Sealey-Voyksner et al. (2016) and Calinoiu et al. (2013); the highest extraction yield was obtained by applying TRIS/HCl (pH 7.5) solution in parallel with the results of our study.

Table 1. Comparison of extraction yields for samples provided by different buffer compositions

	50 mM Ammonium carbonate	0,01 M HCl (pH 2.5–3)	50 mM Dibasic sodium phosphate (pH 8)	200 mM TRIS/HCl (pH 7.5)
Hazelnut	59.19±1.54 ^b	15.68±0.95 ^d	49.49±1.57 ^c	71.77±1.67 ^a
Almond	61.84±1.57 ^b	14.78±1.35 ^d	47.77±1.39 ^c	72.19±0.84 ^a
Pistachio	72.32±2.11 ^b	13.14±1.55 ^d	63.54±1.93 ^c	79.28±0.86 ^a
Sesame	62.59±1.52 ^b	14.57±1.27 ^d	55.47±0.76 ^c	67.81±1.66 ^a
Walnut	53.22±2.71 ^b	12.46±1.22 ^d	45.53±1.04 ^c	62.08±1.52 ^a

Values are expressed as the mean ± standard deviation of three replicates. Different letters in the same row indicate a statistically significant difference at p<0.05.

3.2. Optimization of trypsin digestion

Digestion of allergenic proteins to tryptic peptides is required for reproducible LC-MS analysis. In order to determine the ideal incubation time for trypsin digestion, one peptide was selected for hazelnut and almond. Extracts obtained from hazelnut and almond were incubated with trypsin at intervals from 2 to 24 h. Progress of the tryptic digestion was determined via LC-QTOF/MS and

peptide peak area was used as a measure of digestion efficiency and compared for different incubation time. Examining the data on the peak areas of the peptides from prunin and Cor a 9 allergens, the optimum time for enzymatic digestion was determined as 18 h to achieve the best sensitivity and formation of target peptides (Figure 2). After 18 h, the peak areas of the peptides started to decrease.

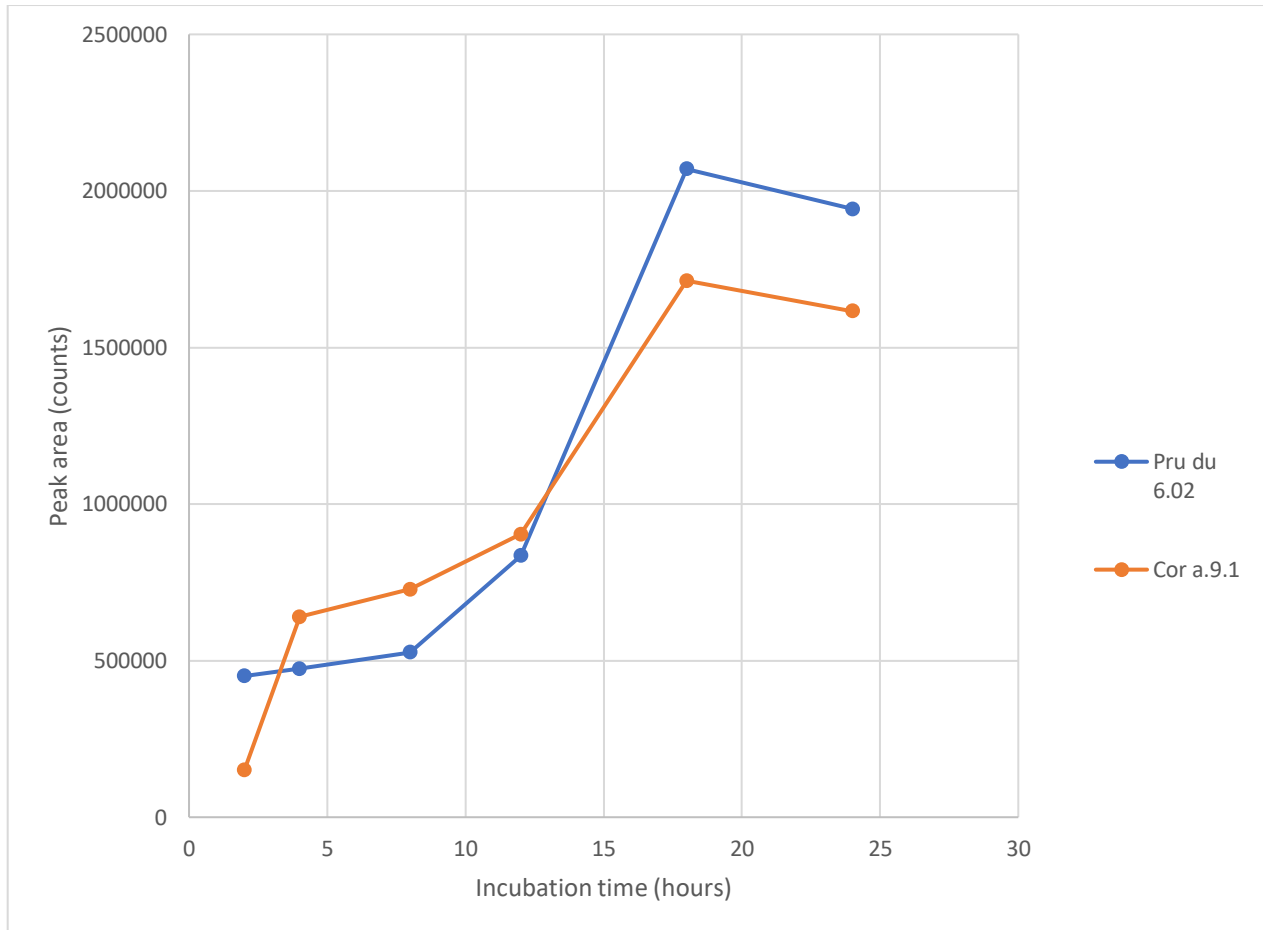


Figure 2. Peak area of peptides belong to almond allergen Pru du 6.02 and hazelnut allergen Cor a 9.1 during incubation.

In a study analyzing egg, milk and peanut allergens in biscuits by LC-MS/MS, protein/trypsin ratio and different incubation times in the range of 2-16 h were investigated. The optimum incubation time for all allergen peptides was determined as 4 h (Boo et al., 2018). Korte and Brockmeyer (2016) identified allergens in different food matrices such as bread and chocolate through the proteomics technique. In order to complete the enzymatic digestion process after protein extraction, they incubated the extracts for 14 h at 37°C, similar to the time applied in our study. In a study conducted by Nitride et al. (2019) investigating the effect of extraction and enzymatic digestion processes on the quantitative determination of egg and milk

allergens by mass spectrometry, it was revealed that the peptide density increased after 16 h in the enzymatic digestion of lysozyme and ovalbumin, and after 4 h in the enzymatic digestion of casein.

3.3. Determination of allergen peptide sequences in samples

Tryptic digests were analysed using LC-QTOF/MS to obtain peak lists from acquired MS/MS data and MASCOT database search tool was used to determine characteristic marker peptides for each sample. Firstly; MS and MS/MS spectra of tryptic digests were obtained. The total ion chromatogram and MS/MS spectra of hazelnut allergen are shown in Figure 3 and Figure 4, respectively.

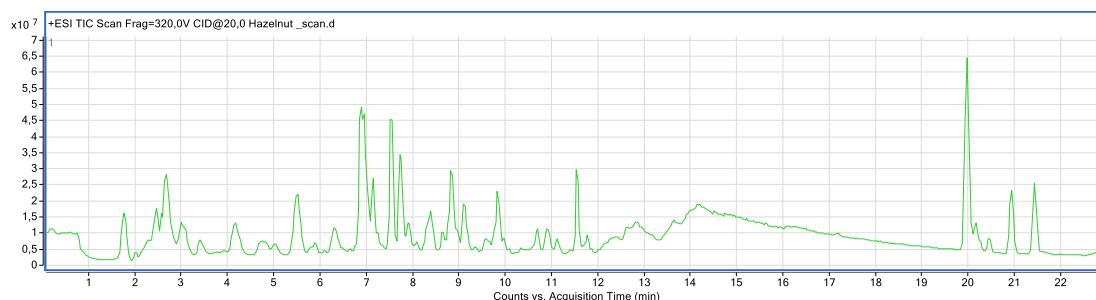


Figure 3. Total ion chromatogram of hazelnut sample

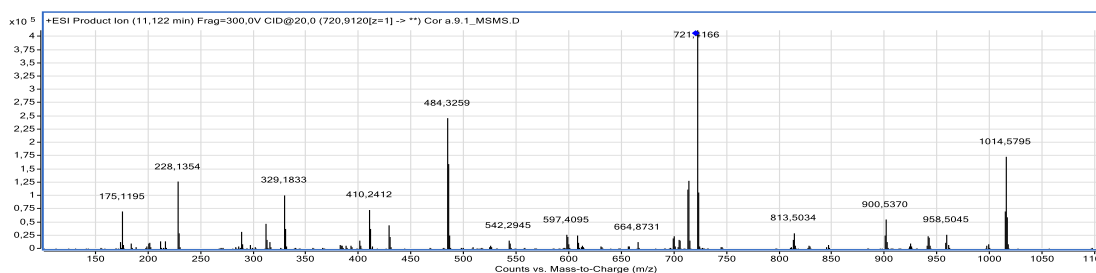


Figure 4. MS/MS spectra of hazelnut allergen Cor a 9

Raw mass spectra were converted to Mascot Generic Format (.mgf) and searched using MASCOT software (Matrix Science, Boston, MA, USA) against the NCBI-Prot/Swiss-Prot database. While making identification in MASCOT software, trypsin enzyme was chosen as the constant modification to ensure consistency among databases and to obtain ease of comparison. In the software, the section of taxonomy was selected as green plants. 1.2 Da peptide mass tolerance, 0.5 Da MS/MS tolerance, carboxymethyl as fixed modification, and 2+, 3+ and 4+ peptide charge states were also selected. For determining the

allergen peptide sequences that are markers, particular attention was paid to the selection of peptide sequences that best match the proteins in the SwissProt/NCBIprot libraries. In addition, peptide sequences with less than 6 amino acids were not selected as markers, as their specificity was accepted low. Similarly, peptide sequences with more than 25 amino acids were also eliminated due to their large mass and complications in identifying cleavage ions. The list of potential marker peptides for hazelnut, almond, pistachio, sesame, and walnut allergens is given in Table 2.

Table 2. List of the peptides discovered in the samples

Samples (Latin name)	Sequences	Accurate mass (m/z)	Charge state	Retention time	Allergen protein name
Hazelnut (<i>Corylus avellana</i> L.)	INTVNSNTLPVLR	720.9121	+ 2	11.283	Cor a 9
	ALPDDVLANAFQISR	815.4344	+ 2	9.567	Cor a 9
	VQVLENFTK	539.3021	+ 2	4.213	Cor a 11
	VQVDDNGNTVFDDELRL	967.9582	+ 2	12.127	Cor a 9
	AFSWEVLEAALK	682.7123	+ 2	13.716	Cor a 11
Almond (<i>Prunus dulcis</i> L.)	ALPDEVLQNAFR	686.8626	+ 2	13.524	Prunin
	TDENGFTNTLAGR	698.3254	+ 2	9.688	Prunin
	TEENAFINTLAGR	718.3596	+ 2	6.569	Prunin
	VQVVENGDPILNDEVR	955.4829	+ 2	10.579	Prunin
	QEGGQGGQQFQGEDQLDR	1024.4575	+ 2	8.517	Prunin
Pistachio (<i>Pistacia vera</i> L.)	LVLVALADVGNSENQLDQYLR	1165.6205	+ 2	14.107	Pis v 2.0201
	MQIVSENGESVFDEEIR	991.4637	+ 2	11.633	Pis v 2.0201
	IQIVSENGESVFDEEIR	982.4853	+ 2	13.524	Pis v 2.0201
	FVLGGSPQQEIQGSGQSR	937.9731	+ 2	9.215	Pis v 2.0201
Sesame (<i>Sesamum indicum</i> L.)	ISTINSQTLPILSQLR	892.5181	+ 2	13.325	Ses i 6
	SPLAGYTSVIR	582.3124	+ 2	9.408	Ses i 6
	IPYVFEDQHFITGFR	623.6494	+ 2	14.512	Ses i 3
	IQSEGGTTELWDER	810.8792	+ 2	13.842	Ses i 6
Walnut (<i>Juglans regia</i> L.)	DLPNECGISSQR	659.8064	+ 2	10.395	Jug r 1
	ATLTLVSQETR	609.8381	+ 2	8.842	Jug r 2
	LLGFGINGENNQR	716.3722	+ 2	12.962	Jug r 2
	GEEMEEMVQSAR	698.2989	+ 2	7.867	Jug r 1

In line with our study Ansari et al. (2012), identified marker peptides in hazelnut samples by LC-MS/MS after extraction and enzymatic digestion with trypsin. ALPDDVLANAFQISR and INTVNSNTLPVLR sequences are belong to the Cor a 9 allergen that are found in both studies. In our study, the VQVLENFTK sequence (Cor a 11.0101) from Cor a 11 allergen of hazelnut was determined as marker, and Ansari et al. (2012) identified the peptide sequences of AFSWEVLEAALK and LLSGIENFR of the Cor a 11 allergen as markers. It is believed that the difference in the marker sequences determined in the hazelnut samples may be due to the differences in the cultivars, extraction solvents and equipments used in the studies. Korte et al. (2016) determined marker peptides for almond and hazelnut allergens in chocolate, ice cream and bread matrices using proteomics technique.

In parallel with our results, INTVNSNTLPVLR and VQVDDNGNTVFDDELRL peptide sequences in hazelnut, and ALPDEVLQNAFR and TDENGFTNTLAGR peptide sequences in almonds are found as markers. The peptide IQSEGGTTELWDER was identified also by other

researchers as significant peptide markers for sesame (Ma et al., 2000).

3.4. Investigating the heat treatment stability of allergen peptide sequences

Following the determination of the potential marker peptides in the unroasted samples, the heat stability of selected peptides was investigated by applying roasting process at different temperatures and time intervals. Peptide sequences that maintain their stability after roasting process were identified as marker peptide in order to detect allergens in food samples.

The effects of different roasting temperatures on the signals of the peptide sequence of INTVNSNTLPVLR, a hazelnut allergen, and VQVVNENGDPIILNDEVR, an almond allergen, can be seen in Figure 5 and Figure 6, respectively. Analyzing the ion chromatograms, it is seen that although the peak areas decrease with temperature, they still exist at 170°C. It is thought that the decrease in the signals results from decline in the protein content of the extracts and the denaturation of the protein structure after roasting process

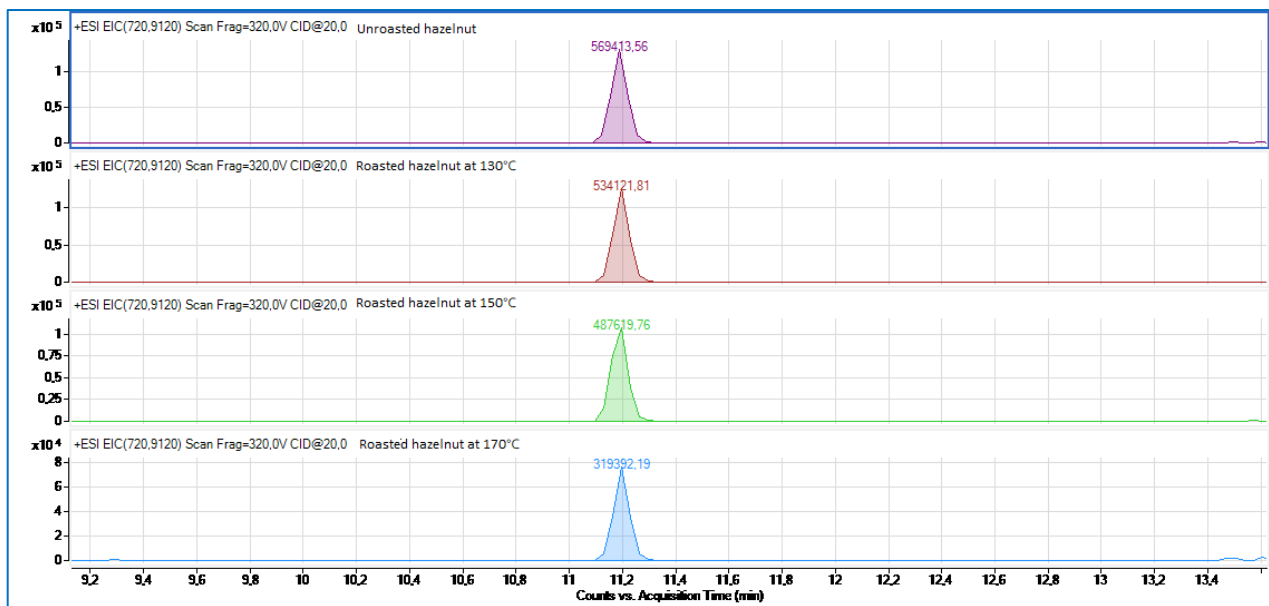


Figure 5. Extracted ion chromatogram of INTVNSNTLPVLR peptide at different roasting temperatures

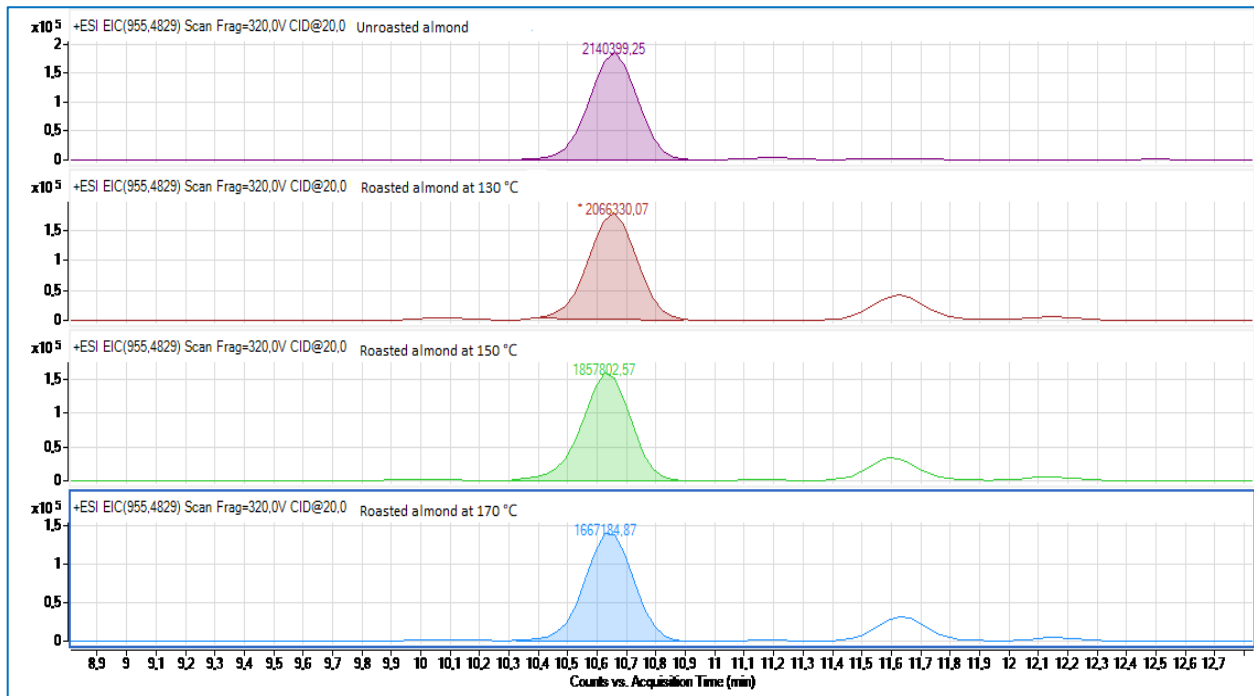


Figure 6. Extracted ion chromatogram of VQVVNENGDPILNDEVR peptide at different roasting temperatures

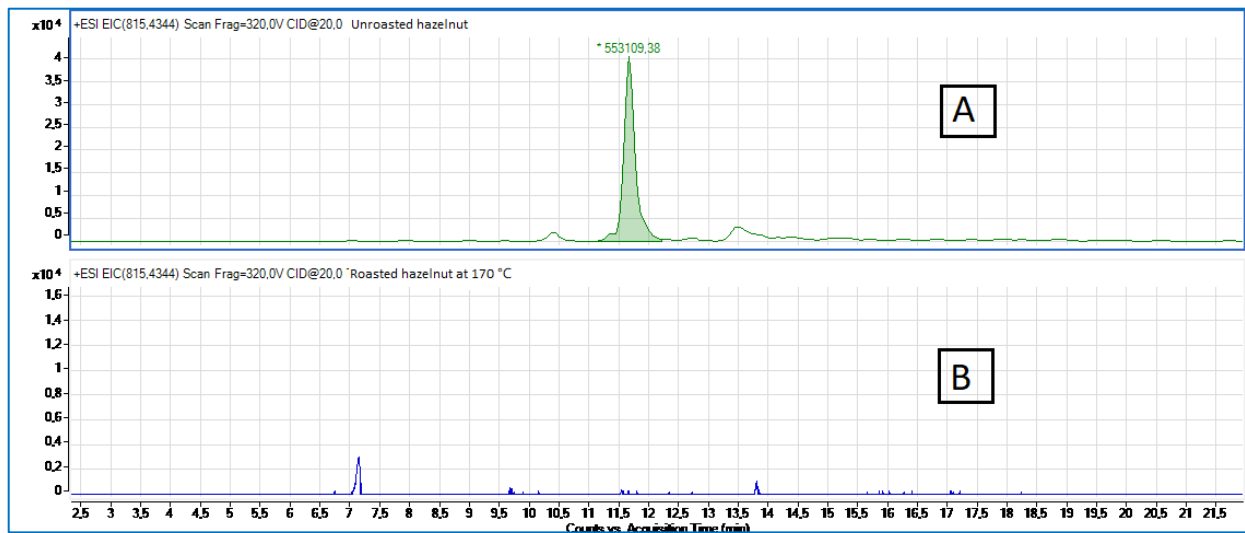


Figure 7. Extracted ion chromatogram of ALPDDVLANAFQISR peptide (A: Unroasted hazelnut, B: Roasted hazelnut at 170°C)

Food processing techniques including fermentation, hydrolysis, heat treatment, high pressure applications and extrusion can cause alterations in the allergic properties of proteins in foods (Cucu et al., 2011; Mills and Mackie 2008; Su et al., 2004; Verhoeckx et al., 2015). However, each protein is affected differently by these processes. Factors such as the type of heat treatment applied, temperature, heat treatment time, pH can lead to alterations in the physicochemical properties of allergen proteins. Ambiguities regarding the effects of heat treatment on the physical and chemical properties of proteins complicate establishing methods for the detection

of allergen proteins in particular (Parker et al., 2015). Within the scope of study, two marker peptides maintaining their stability and giving higher intensity after roasting process were selected as markers in order to determine the almond, hazelnut, pistachio, walnut and sesame allergens in food samples, and information on marker peptides are shown in Table 3. Other peptides which didn't give reproducible responses and had low intensities after roasting process were removed from the marker peptide list. The MS/MS spectrum of selected peptides is unique and shows no cross reactivity with other samples according to NCBI-Prot/Swiss-Prot database.

Table 3. List of the marker peptides selected for each sample, including the retention time, parent ion mass and product ions mass

Sample	Sequence	Accurate mass (m/z)	Charge state	Retention time	Product ions
Hazelnut (<i>Corylus avellana</i> L.)	INTVNSNTLPVLR	720.9121	+ 2	11.283	175.1193 228.1349 484.3248 228.1342
	VQVVDDNGNTVFDDELRL	967.9582	+ 2	12.127	327.2020 794.3662
Almond (<i>Prunus dulcis</i> L.)	ALPDEVLQNAFR	686.8626	+ 2	13.524	213.0872 342.1299 157.1337 228.1346
	VQVVNENGDPIILNDEVR	955.4829	+ 2	10.579	72.0806 327.2020
Pistachio (<i>Pistacia vera</i> L.)	LVLVALADVGNSENQLDQYLR	1165.6205	+ 2	14.107	86.0950 213.1578 397.2762 260.1084
	MQIVSENGESVFDEEIR	991.4637	+ 2	116.33	104.0535 373.1922
Sesame (<i>Sesamum indicum</i> L.)	ISTINSQTLPILSQLR	892.5181	+ 2	13.325	183.1481 284.1600 413.1473 104.0534
	SPLAGYTSVIR	582.3124	+ 2	9.408	258.0902 428.1689
Walnut (<i>Juglans regia</i> L.)	DLPNECGISSQR	659.8064	+ 2	10.395	461.2389 820.3981 270.1504 155.0791
	GEEMEEMVQSAR	698.2989	+ 2	7.867	291.1627 674.0930

There are several studies investigating the effects of heat treatment applications on allergen proteins conducted by different researchers. In the study conducted by Lopez et al. (2012), it was reported that autoclaving at 138°C for 15-30 min caused a decrease in allergen-specific *IgE* levels in hazelnuts and it was concluded that this decrease may be related to the decline in the solubility of the protein. Cabanillas et al. (2014) revealed that pressure and temperature (256 kPa, 138°C) applied to walnuts reduced the binding capacity of *IgE* for Jug r 4 walnut allergen. On the other hand, in a study carried out on walnuts, Sordet et al. (2009) demonstrated that the allergen Jug r 1 was resistant to heat treatment at 90°C. It was reported that dry roasting had no effect on the *IgE* binding capacity of pistachio allergenicity depending on temperature, while steam roasting led to a decrease in *IgE* binding capacity due to temperature-induced protein aggregation (Noorbakhsh et al., 2010). Sealey-Voyksner et al. (2016) stated that the decrease occurring in the signals of allergen peptide sequences in nuts after heat treatment may be due to the alteration in protein structure due to glycosylation. Allergens from lipid transfer proteins or seed storage proteins are more stable to

heat treatments. There are present studies indicating that the allergen peptides of Cor a 8, Cor a 9, Cor a 11 in hazelnut maintain their stability after heat treatment in the range of 140-185°C (Dooper et al., 2008; Wigotzki et al., 2000). In almonds, Pru du 1 loses its stability, while Pru du 6, which is an 11S globulin protein, maintains its stability (De leon et al., 2003).

4. Conclusion

The development of reliable methods for the detection of food allergens is very crucial in order to control compliance with the legislation on food labeling and to minimize the risks to allergic consumers. In the study, peptide sequences of allergen proteins in unroasted hazelnut, almond, walnut, pistachio, and sesame were primarily determined. Subsequently, the stability of the peptide sequences against heat treatment was investigated by applying the roasting process at different times and temperatures. Two peptide sequences that maintained stability after roasting process at 170°C for 30 minutes were determined as markers. During the development of allergen detection method, peptides giving higher intensity were preferred. Up to now, various methods have

been developed to detect some food allergens, however, it is still important to develop a rapid method for simultaneous detection of several food allergens in a single analysis. The presented method has a high potential for the further development of additional methods for detection of allergen proteins in complex food matrices.

5. Acknowledgement

This study is a part of a PhD thesis of the first author. The authors would like to thank TAGEM (General Directorate of Agricultural Research and Policies, Türkiye) for financially support this research project and to Dr. Tuğba Er and Ahmet Şahan for assistance with providing hazelnut and almond samples. (Project Number: TAGEM/HSGYAD/A/18/A3/P1/546).

6. References

- Anonymous (2002). AOAC Official Method 990.03. Protein (Crude) in Animal Feed, Combustion Method, Chapter 4, 30-31.
- Anonymous (2017). European Union Commission Notice C 428/1 of 13 July 2017. Commission Notice of 13 July 2017 relating to the provision of information on substances or products causing allergies or intolerances as listed in Annex II to Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council on the provision of [Internet]. Vol. (2017/C 42, Official Journal of the European Union. 2017. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.C_.2017.428.01.0001.01.ENG. (Erişim tarihi: 08.02.2020).
- Anonymous (2017). Türk Gıda Kodeksi Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/01/20170126M1-6.htm>. (Erişim tarihi: 15.03.2020).
- Ansari, P., Stoppacher, N. and Baumgartner, S. (2012). Marker peptide selection for the determination of hazelnut by LC-MS/MS and occurrence in other nuts. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402 (8), 2607–2615.
- Boo, C.C., Parker, C.H. and Jackson, L.S. (2018). A Targeted LC-MS/MS Method for the Simultaneous Detection and Quantitation of Egg, Milk, and Peanut Allergens in Sugar Cookies. *Journal of AOAC International*, 101(1), 108–117.
- Breiteneder, H. and Radauer, C. (2004). A classification of plant food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(5), 821–831.
- Cabanillas B., Maleki S.J., Rodríguez J., Cheng H., Teuber S.S., Wallowitz M.L. and Crespo J.F. (2014). Allergenic properties and differential response of walnut subjected to processing treatments. *Food Chemistry*, 157, 141–147.
- Calinoiu, L.F., Vodnar D.C. and Socaciu, C. (2013). The Reactivity and Allergenic Potential of Hazelnut Peptides. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine. Cluj-Napoca: Food Science and Technology*, 70(1), 25–32.
- Carrera, M., Cañas, B. and Gallardo, J.M. (2018). Advanced proteomics and systems biology applied to study food allergy. *Current Opinion in Food Science*, 22, 9–16.
- Chassaigne, H., Nørgaard, J.V. and Hengel, A.J. (2007). Proteomics-based approach to detect and identify major allergens in processed peanuts by capillary LC-Q-TOF (MS/MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4461–4473.
- Costa, J., Mafra, I., Carrapatoso, I. and Oliveira, M.B. (2016). Hazelnut Allergens: Molecular Characterization, Detection, and Clinical Relevance. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(15), 2579–2605. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.826173>
- Cucu, T., Platteau, C., Taverniers, I., Devreese, B., De Loose, M., and De Meulenaer, B. (2011). ELISA detection of hazelnut proteins: effect of protein glycation in the presence or absence of wheat proteins. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28(1), 1-10.
- De Angelis, E., Bavaro, S.L., Monaci, L. and Pilolli, R. (2018). Effects of the Varietal Diversity and the Thermal Treatment on the Protein Profile of Peanuts and Hazelnuts. *Journal of Food Quality*, 1–10.
- De leon, M.P., Glaspole, I.N., Drew, A.C., Rolland, J.M., O'hehir, RE. and Suphioglu, C. (2003). Immunological analysis of allergenic cross-reactivity between peanut and tree nuts. *Clinical & Experimental Allergy*, 33, 1273–1280.
- Dhondalay, G.K., Rael, E., Acharya, S., Zhang, W., Sampath, V., Galli, S.J., ... and Andorf, S. (2018). Food allergy and omics. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(1), 20–29.
- Dooper, M. B. W., Plassen, C., Holden, L., Moen, L., Namork, E. and Egaas, E. (2008). Antibody binding to hazelnut (*Corylus avellana*) proteins: the effects of extraction procedure and hazelnut

- source. *Food & Agricultural Immunology*, 19(3), 229–240.
- Jayasena, S., Smits, M., Fiechter, D., de Jong, A., Nordlee, J., Baumert, J., ... and Koppelman, S.J. (2015). Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(6), 1849–1855. <https://doi.org/10.1021/jf504741t>
- Jiménez-Saiz, R., Benedé, S., Molina, E. and López-Expósito, I. (2015). Effect of processing technologies on the allergenicity of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(13), 1902–1917. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.736435>
- Johansson, S.G., Hourihane, J.O., Bousquet, J., Brujnzeel-Koomen, C., Dreborg, S., Haahtela, T., and Wüthrich, B., EAACI (the European Academy of Allergology and Clinical Immunology) nomenclature task force. (2001). A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*, 56(9), 813–824.
- Korte, R. and Brockmeyer, J. (2016). MRM3-based LC-MS multi-method for the detection and quantification of nut allergens. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(27), 7845–7855.
- Korte, R., Lepski, S. and Brockmeyer, J. (2016). Comprehensive peptide marker identification for the detection of multiple nut allergens using a non-targeted LC–HRMS multi-method. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(12), 3059.
- Köksel, H., Koroğlu, D. and Popping B. (2011). Food Allergens and EU Regulations. 7th Food Engineering Congress, 24–26th November 2011, Ankara.
- Kruger, N. (2009). The Bradford method for protein quantitation, ed: Walker J.M., *Springer Protocols Handbooks*, Humana Press, Totowa, NJ, Pp, 17–24
- Liew, W.K., Williamson, E. and Tang, M.L.K. (2009). Anaphylaxis fatalities and admissions in Australia, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123, pp. 434–442.
- Lopez, E., Cuadrado, C., Burbano, C., Jiménez, M.A., Rodríguez, J. and Crespo, J.F. (2012). Effects of autoclaving and high pressure on allergenicity of hazelnut proteins. *Journal of Clinical Bioinformatics*, 2(1), 12.
- Ma, X., Ge, Y., Zhang, J., Huang, W., Han, J., Chen, Y., ... and Sun, J. (2020). Comprehensive quantification of sesame allergens in processed food using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Control*, 107, 106744.
- Meyer, R., Wright, K., Vieira, M.C., Chong, K.W., Chatchatee, P. and Vlieg-Boerstra, B. J. (2019). International survey on growth indices and impacting factors in children with food allergies. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 32(2), 175–184.
- Mills, E.N. and Mackie, A.R. (2008). The impact of processing on allergenicity of food. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 8(3), 249–253.
- Nitride, C., Nørgaard, J., Omar, J., Emons, H., Estes, M.M. and O'Connor, G. (2019). An assessment of the impact of extraction and digestion protocols on multiplexed targeted protein quantification by mass spectrometry for egg and milk allergens. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411(16), 3463–3475.
- Noorbakhsh, R., Mortazavi, S.A., Sankian, M., Shahidi, F., Maleki, S.J., Nasiraii, L.R., ... and Varasteh, A. (2010). Influence of processing on the allergenic properties of pistachio nut assessed in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(18), 10231–10235.
- Onwude, D.I., Hashim, N., Janius, R., Abdan, K., Chen, G. and Oladejo, A.O. (2017). Nonthermal hybrid drying of fruits and vegetables: A review of current technologies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, (43), 223–238.
- Parker, C.H., Khuda, S.E., Pereira, M., Ross, M.M., Fu, T.J., Fan, X., ... and Jackson, L.S. (2015). Multi-allergen Quantitation and the Impact of Thermal Treatment in Industry-Processed Baked Goods by ELISA and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(49), 10669–10680.
- Pilolli, R., Van Poucke, C., De Angelis, E., Nitride, C., de Loose, M., Gillard, N. and Monaci, L. (2021). Discovery based high resolution MS/MS analysis for selection of allergen markers in chocolate and broth powder matrices. *Food Chemistry*, 343.
- Prado, M., Ortea, I., Vial, S., Rivas, J., Calo-Mata, P. and Barros-Velázquez, J. (2016). Advanced DNA- and protein-based methods for the detection and investigation of food allergens. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(15), 2511–2542. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.873767>.

- Pushpa, B.P., Bhat, G.S. and Jayaprakasha, H.M. (2018). Effect of heat treatment and enzymatic hydrolysis on reduction in allergenicity of milk proteins. *Indian Journal of Nutrition*, 55(2), 156–165.
- Sancho, A. I. and Mills, E. N. (2010). Proteomic approaches for qualitative and quantitative characterisation of food allergens. *Regulatory Toxicology and Pharmacology RTP*, 58(3), 42-46. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.08.026>
- Sealey-Voyksner, J., Zweigenbaum, J. and Voyksner, R. (2016). Discovery of highly conserved unique peanut and tree nut peptides by LC-MS/MS for multi-allergen detection. *Food Chemistry*, 194, 201–211.
- Sicherer, S. H. and Sampson, H. A. (2010). Food allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), 116–125.
- Sordet, C., Culerrier, R., Granier, C., Rance, F., Didier, A., Barre, A. and Rouge, P. (2009). Expression of Jug r 1, the 2S albumin allergen from walnut (*Juglans regia*), as a correctly folded and functional recombinant protein. *Peptides*, 30, 1213–1221.
- Su, M., Venkatachalam, M., Teuber, S.S., Roux, K.H. and Sathe, S.K. (2004). Impact of γ -irradiation and thermal processing on the antigenicity of almond, cashew nut and walnut proteins, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1119–1125.
- Sze-Tao, K.W.C. and Sathe, S.K. (2000). Walnuts (*Juglans regia* L): proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein *in vitro* digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1393-1401.
- Van Boxtel, E.L., Gruppen, H., Koppelman, S.J. and van den Broek, L.A.M. (2008). Heat denaturation of Brazil nut allergen Ber e 1 in relation to food processing. *Food Chemistry*, 110(4), 904–908.
- Verhoeckx, K., Vissers, Y.M., Baumert, J.L., Faludi, R., Feys, M., Flanagan, S., ... and Kimber, I. (2015). Food processing and allergenicity. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 80, 223–240.
- Wigotzki, M., Steinhart, H. and Paschke, A. (2000). Influence of Varieties, Storage and Heat Treatment on IgE-Binding Proteins in Hazelnuts (*Corylus avellana*). *Food and Agricultural Immunology*, 12(3), 217.
- Yao, M., Xu, Q., Luo, Y., Shi, J. and Li, Z. (2015). Study on reducing antigenic response and IgE-binding inhibitions of four milk proteins of *Lactobacillus casei* 1134. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1303–1312.

Özgün Araştırma/Original Article

Doğal yoğurtlardan izole edilmiş *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının antibiyotik direnç özelliklerinin moleküler olarak belirlenmesi

Molecular determination of antibiotic resistance properties of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains isolated natural yogurts

Filiz Doğan¹, Yekta Gezginç^{1*}, Şerife Nur Akyar Yavaş¹,

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, KAHRAMANMARAŞ, TÜRKİYE
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0002-7902-2274, Yük. Müh.

ORCID ID: 0000-0002-3230-2850, Doç. Dr.

ORCID ID: 0000-0001-7869-491X, Doktora Öğrencisi

*Sorumlu yazar/Corresponding author: yekgan@ksu.edu.tr

Geliş Tarihi : 03.06.2022

Kabul Tarihi : 20.07.2022

Öz

Amaç: Bu çalışmada, doğal yoğurtlardan izole edilmiş *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının antibiyotik dirençliliklerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem: Çalışmada doğal yoğurtlardan izole edilen ve tanımlamaları yapılan Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı stoklarında muhafaza edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri fenotipik (disk difüzyon) ve genotipik (PCR ile) olarak belirlenmiştir.

Tartışma ve sonuç: *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarında en yüksek direnç kanamisin (%51) antibiyotiğine karşı bulunmuştur. Bunu streptomisin (%11), kloramfenikol (%10) ve vankomisin (%8) antibiyotikleri izlemektedir. Antibiyotik direnç genlerini incelemek için yapılan PCR uygulamaları sonucunda, *aph(3')-IIIa* (%95), *str(B)* (%36), *blaZ* (%100) ve *van(E)* (%67) genleri bulunmuştur. Disk difüzyon yöntemi ile kanamisine direnç gösterdiği tespit edilen suşların %60'unda *aph(3')-IIIa* bölgesi, streptomisine direnç gösterdiği tespit edilen suşların %36'sında *str(B)* bölgesi, vankomisine direnç gösterdiği tespit edilen suşların %44'ünde *van(E)* bölgesi, penisiline direnç gösterdiği tespit edilen suşların tamamında *BlaZ* bölgesi saptanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile dirençli bulunan izolatların %51'inde direnç genleri tespit edilmiştir. Bu çalışma ile gıda kaynaklı bazı bakterilerin antibiyotik direnç genleri için rezervuar olabileceği sonucuna varılabilir.

Anahtar kelimeler: antibiyotik dirençlilik; disk difüzyon; laktik asit bakterisi; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*; genotipik tanımlama

Abstract

Objective: In this study, the detection of phenotypic and genotypic antibiotic resistance for *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains isolated from natural yogurts was aimed.

Materials and method: *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains were isolated from natural yogurt and kept in the Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Engineering and Architecture, Food Engineering Department, Biotechnology laboratory stocks of which characterizations were determined phenotypically (with disc diffusion) and genotypically (with PCR).

Discussion and conclusion: *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* isolates were found to have the highest resistance against kanamycin (51%), followed by streptomycin (11%),

chloramphenicol (10%) and vancomycin (8%). As the result of PCR applications to examine antibiotic resistance genes, *aph(3')-IIIa* (95%), *str (B)* (36%), *blaZ* (100%) and *van (E)* (67%) genes were found. Utilizing the disc diffusion method, the *aph(3')-IIIa* region was found in 60% of kanamycin-resistant strains, the *str(B)* region was found in 36% of streptomycin-resistant strains, the *van(E)* region was found in 44% of vancomycin-resistant strains, and the *BlaZ* region was found in all penicillin-resistant strains. Resistance genes were detected in 51% of the isolates examined to be resistant by disc diffusion. With this study, it can be concluded that some foodborne bacteria may be reservoirs for antibiotic resistance genes.

Keywords: antibiotic resistance; disc diffusion; lactic acid bacteria; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*; genotypic identification

1. Giriş

Antibiyotik direnç, bir mikroorganizmanın antimikrobiyal bir ajanın yok edici veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneği olarak tanımlanabilir (Durupınar, 2001). Bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanması hayvansal ve tarımsal süreçlerde antibiyotik kullanımı açısından hem gıda hem de klinik mikrobiyolojide dikkate alınmaktadır (Terkuran vd., 2019). Bakteriler, yapısal veya işlevsel özelliklere sahip olması sonucu antibiyotiklere doğal olarak dirençli olabilmemesinin yanı sıra kromozomal genlerin mutasyonu veya ekzojen DNA edinimi yoluyla da antibiyotik direnç geliştirebilmektedir (Nawaz vd., 2011). Yapısal direnç ve kromozomal mutasyona bağlı direnç, yatay yayılma için düşük bir potansiyel gösterirken, hareketli genetik elemanların (örneğin plazmitler veya transpozonlar) edinilmesinden kaynaklanan direncin yayılması çok daha kolay olabilmektedir (Manaia, 2017). Antibiyotik direncine ilişkin önceki epidemiyolojik çalışmalar, temelde klinik olarak ilgili patojenik bakterilere odaklanmışken (Mathur ve Singh 2005), son çalışmalarda, iyi bir probiyotik olarak bilinen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi patojenik olmayan bakterilerin de antibiyotik dirence sahip olabileceği ve antibiyotik direnç genlerinin insan patojenleriyle birlikte diğer mikroorganizmalara yayılmasına neden olabileceğini göstermektedir (Sharma vd., 2014; Çelik vd., 2016; Fatahi-Bafghi vd., 2021). Bütün bunlar göz önünde bulundurulduğunda gıda ürünleri, patojenik olmayan bakterilerden tüketicilere antibiyotik direncinin bulaşmasına yol açan kritik bir yayılma etkeni olarak hizmet edebilmektedir. Özellikle, fermente gıdalar, çok sayıda patojenik olmayan antibiyotik dirençli bakteriyi yapılarında barındırarak, antibiyotik direncinin bir rezervuarı olarak hizmet edebilmektedir (Hereros vd., 2005; Ammor vd., 2007; Gazzola vd., 2012; Morandi vd., 2015; Wang vd., 2019; Zarzecka vd., 2022).

Bakteriyel antibiyotik direncinin küresel olarak yayılması, yüksek tıbbi maliyet, hastaneye yatış

vakalarının artması ve ölüm oranlarının artmasıyla tüm dünyada büyük bir sorun haline gelmiştir. Antibiyotiğe dirençli bakterilerle enfekte olan ve bunun sonucunda ölen kişilerin sayıları her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle, tarımsal gıda gibi çeşitli sektörlerde yayılmayı kontrol etmek ve antibiyotiğe dirençli bakterilerin riskini azaltmak için direnç profillerinin araştırılması acil ve zorunlu bir ihtiyaçtır (Chai vd., 2014; Tavşanlı vd., 2021).

Günümüzde gıda güvenliğinin uluslararası alanda önem kazanmasıyla birlikte, mikrobiyal bozulmalara karşı ekonomik kayıpların önlenmesi, gıda kaynaklı hastalıkların azaltılması ve hızla artan dünya nüfusunun gıda ihtiyaçlarının karşılanması için; en uygun doğal gıda koruyucularının belirlenmesi ve sektörde yer edinmesi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (Ross vd., 2002; Soomro vd., 2002; Galvez vd., 2008). Bu bağlamda laktik asit bakterileri (LAB), gıdaların muhafazasında önemli bir alternatif olmuş ve gıda katkıları konusunda tüketicilerin endişelerini azaltmış olup, ilgilerini kimyasal koruyucu eklenmeden üretilen doğal ve geleneksel gıdalara yönlendirmiştir (Settanni ve Corsetti, 2008; Yerlikaya vd., 2020).

Birçok LAB ve propiyonik asit bakterileri (PAB), genel olarak güvenilir kabul edilen (GRAS) statüde bulunmasına ve Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF) tarafından güvenli mikroorganizmalar arasında listelenmesine (Bourdichon vd., 2012) rağmen; mikrobiyal genom dizilim çalışmaları, birçok antibiyotik direnç geninin, çeşitli LAB'ların kromozomlarına entegre olduklarını ortaya koymuştur (Makarova vd., 2006; Ammor vd., 2008; Sharma vd., 2014; Campdelli vd., 2019; Fatahi-Bafghi vd., 2021).

Günümüzde bakterilerin antibiyotik duyarlılık ve dirençliliğini belirlemeye yönelik birçok analiz yöntemi uygulanmakta olup, her yöntem kendine özgü bir değerlendirme sistemi bulunmaktadır (Jorgensen vd., 2003; Richter ve Ferrano, 2007). Disk difüzyon yöntemi, temelde $1-2 \times 10^8$ kob/g düzeyinde standardizasyonu yapılmış bakteri

süspansiyonunun hazırlanan besiyerine inokülasyonunun yapılması ve belirli konsantrasyonlarda antibiyotik türevi içeren disklerin belirli prosedürler çerçevesinde inkübasyonun gerçekleştirilmesi ve sonuçların değerlendirilmesi temeline dayanmaktadır (Anonim 2009; Jorgensen ve Turnidge, 2015).

Genotipik ve moleküler yöntemler, antibiyotik dirençlilik konusunda bakterinin sahip olduğu DNA, RNA gibi genetik materyallerde var olan türe özgü direnç genlerinin veya gen bölgelerinin tespit edilmesi prensibine dayanmaktadır (Fluit ve Schmitz, 2001; Ledeböer ve Hodinka, 2011).

Bu çalışma ile doğal yoğurtlardan elde edilmiş olan *S. thermophilus* (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) ve *Lb. bulgaricus* (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) bakterilerinin antibiyotik dirençlilik profilinin disk difüzyon yöntemi ve moleküler olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, toplum sağlığı açısından tehdit oluşturabilen ve ekonomik açıdan kayıplara yol açabilen antibiyotik direnci bulunan başlangıç kültürlerinin tespit edilerek, dirençli kültürlerin başlangıç kültürü olarak kullanımının önlenmesi hedeflenmiştir.

2. Materyal ve metod

2.1. Bakteriye suşlar ve gelişme şartları

Bu çalışmada doğal yoğurtlardan izole edilerek genetik tanımlaması yapılan, starter kültür olma potansiyeli taşıyan 68 adet *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, 5 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olmak üzere toplamda 73 LAB izolatu Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarında mevcut stok kültürlerden temin edilmiştir. Örnekler -80 °C'de %30'luk gliserol çözeltilisinde saf kültür olarak saklanmıştır.

LAB' ları canlandırma ve antibiyotik dirençliliklerini belirleme amacıyla *Lb. bulgaricus* için MRS Broth, MRS agar ve *S. thermophilus* için SM17 Broth, SM17 Agar (Merck, Germany) besiyerleri kullanılmıştır.

Antibiyotik dirençlilik belirlemede kullanılan antibiyogram diskleri (Bioanalyse,); vankomisin (30 mcg), kloramfenikol (30 mcg), streptomisin (10 mcg), rifampisin (5 mcg), tetrasiklin (30 mcg), kanamisin (2 mcg), ampisilin (10 mcg), gentamisin (10 mcg) ve penisilin (10 U)'dir.

Çalışmada kullanılacak LAB izolatlarının genomik DNA izolasyonları için Vivantis GF-1 Bacterial DNA Extraction Kitleri (Sigma-Aldrich, ABD) kullanılmıştır.

2.2. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin fenotipik olarak belirlenmesi

Geleneksel süt ürünlerinden izole edilen LAB' ların antibiyotiklere karşı direncini belirlemek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Gülay, 2003; Mayrhofer vd., 2008). LAB suşlarının, 24 saatlik *Lb. bulgaricus* için 37°C ve *S. thermophilus* 42°C'lerde inkübasyonu sonrasında antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zon çapları elektronik kumpas yardımıyla ölçülmüştür. (Çetin ve Gürler, 1989). Çalışmalar iki paralel olarak yürütülmüş ve sonuçlar ortalama değerler alınarak hesaplanmıştır.

2.3. Laktik asit bakterilerinden DNA izolasyonu

Öncelikle LAB izolatları, *Lb. bulgaricus* için MRS agarda 37°C ve *S. thermophilus* için SM17 agar ortamında 42°C'de 48 saatlik inkübasyona tabi tutulmuş ve bu kültürlerden saflaştırma yapılmıştır. Saflaştırılmış bakteri izolatlarının genomik DNA izolasyonları, Vivantis GF-1 Bacterial DNA Extraction Kitleri kullanılarak yapılmış, izole edilen genomik DNA' lar -20 °C'de steril eppendorflarda saklanmıştır. İzole edilen DNA' lar daha sonra antibiyotik direnç genlerinin taranmasında kullanılmıştır.

2.4. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç genlerinin genotipik olarak belirlenmesi

Çalışmamızda, disk difüzyon yöntemiyle LAB izolatlarının direnç gösterdiği antibiyotik türleri saptanmış ve antibiyotik direnç genlerin PCR tekniğiyle araştırılmıştır. PCR'de kullanılan antibiyotik direnç primerleri, ampikon uzunlukları ve yapışma sıcaklıkları Çizelge 1'de verilmiştir.

PCR örnekleri 0,2 mL'lik tüplerde hazırlanarak her bir direnç genine özgü PCR koşullarında muamele edilmiştir. PCR işleminde, 94°C DNA'nın denatürasyonu, değişken yapışma, 72°C'de uzama sıcaklığı olarak ayarlanmıştır ve PCR 30 döngü olarak yapılmıştır.

İzole edilen genomik DNA ve PCR ürünleri %1'lik Agaroz jelde 120 volt, 60 miliamperde 45 – 60 dakika yürütülmüştür. DNA 100 baz çiftlik ya da 1000 baz çiftlik DNA markörleri (Vivantis) kullanılmıştır. Agaroz jel EtBr (0,5µg/mL) ile 30 dakika boyanarak UV ışığında görüntülenmiştir.

Çizelge 1. PCR işleminde kullanılan antibiyotik direnç primerleri, amplicon uzunlukları ve yapışma sıcaklıkları

Antibiyotik	Primer Dizisi (5'→3')	Yapışma Sıcaklığı (°C)	Gen Amplifikasyonu (bp)	Referans
Vankomisin <i>van (E)</i>	F:TGTGGTATCGGAGCTGCAG R:GTCGATTCTCGCTAATCC	52	513	Fines vd., 1999
Streptomisin <i>str(B)</i>	F:ATCGTCAAGGGATTGAAACC R:GGATCGTAGAACATATTGGC	56	509	Ouoba vd., 2008
Penisilin <i>blaZ</i>	F:CAGTTCACATGCCAAAGAG R:TACACTCTTGGCGGTTTC	53	772	Schnellmann vd., 2006
Kanamisin <i>aph(3')-IIIa</i>	F:GCCGATGTGGATTGCGAAAA R:GCTTGATCCCCAGTAAGTCA	60	292	Rojo-berares vd., 2006

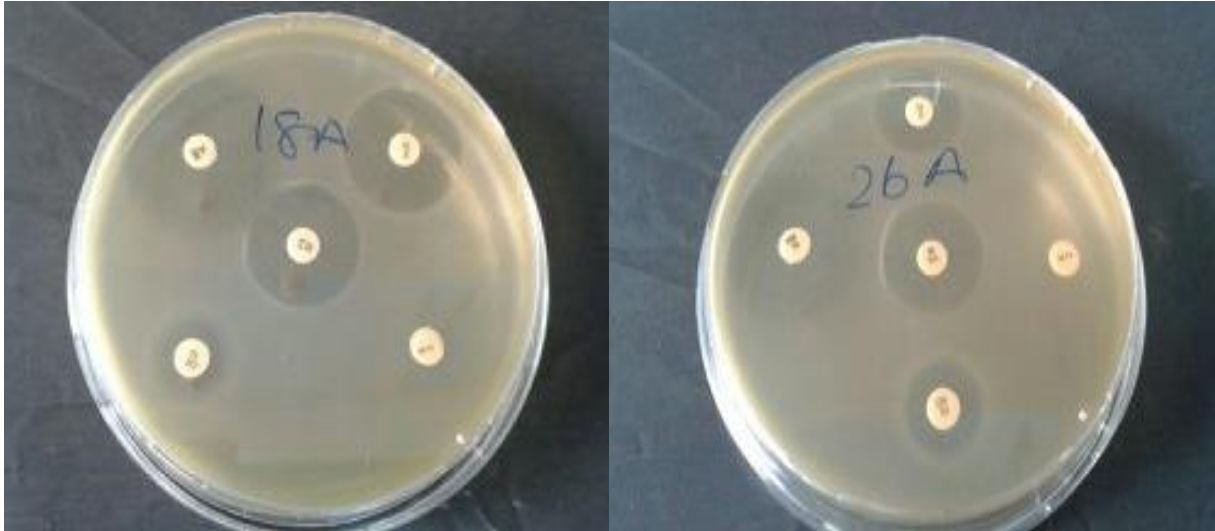
3. Bulgular ve tartışma

Gıda kaynaklı doğal başlangıç izolatlarından elde edilmiş olan *S. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* bakterilerinin antibiyotik direnç profillerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi, toplum sağlığı açısından tehdit oluşturan ve ekonomik açıdan kayıplara yol açan antibiyotik dirençliliği bulunan başlangıç kültürlerinin tespit edilmesi bu çalışma kapsamında incelenmiştir.

3.1. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıklarının disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi

Çizelge 2 ve 3'te incelenen 73 LAB'nin 9 farklı antibiyotiğe karşı % duyarlılık oranları verilmiştir. Araştırılan izolatlardan *S. thermophilus*'a ait olanların tamamının tüm antibiyotiklere %43 ile

%97 oranında yüksek duyarlılık gösterdikleri tespit edilmiştir (Şekil 1). Rifampisin (%97), tetrasiklin (%97) ve penisilin (%97) antibiyotikleri en yüksek duyarlılık gösteren antibiyotikler olarak belirlenmiştir. Suşların kullanılan antibiyotiklerden kanamisin antibiyotiklerine genel olarak dirençli (%57) olduğu görülmüştür. *S. thermophilus*'un nükleik asit sentezini inhibe eden rifampisin (%3), hücre duvarı sentezini inhibe eden penisilin (%3), vankomisin (%7) ve ampisilin (%6) ve protein sentezini inhibe eden tetrasiklin (%3), streptomisin (%10), gentamisin (%18), kloramfenikol (%6) antibiyotiklerine düşük seviyede dirençli oldukları bulunmuştur. En yüksek dirençlilik, protein sentezini inhibe eden kanamisin (%57) antibiyotiğine karşı tespit edilmiştir (Çizelge 2).



Şekil 1. Antibiyotik direnç özelliklerinin disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi sonucu elde edilen zon görüntüleri

Çizelge 2. *S. thermophilus* izolatlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları

Antibiyotikler	Dirençli (-)	Orta Derece Duyarlı (+)	Duyarlı (++)	Toplam (%)
Tetrasiklin	3	4	93	100
Gentamisin	18	-	82	100
Streptomisin	10	31	59	100
Ampisilin	6	-	94	100
Kloramfenikol	6	3	91	100
Vankomisin	7	-	93	100
Rifampisin	3	1	96	100
Kanamisin	57	6	37	100
Penisilin G	3	7	90	100

(-): Tespit edilemedi.

Temmerman vd. (2003) tarafından Avrupa’da elde edilen 55 probiyotik üründen izole edilen bazı bakterilerin antibiyotik direnci araştırılmış, disk difüzyon metodu kullanılarak 187 izolattan %79 kanamisine, %65 vankomisine, %26 tetrasikline %23 penisilin G’ye, %16 eritromisine ve %11 kloramfenikole direnci tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki toplam suşların (*Lb. bulgaricus* ve *S. thermophilus*) kanamisine %60 oranında direnç göstermesi Temmerman vd. (2003)’nin çalışması ile paralellik göstermektedir. Buna karşın, kloramfenikole %90, vankomisine %86, tetrasikline %93 penisiline %93 oranlarında duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Aslım ve Beyatlı (2004), yoğurtlardan izole edilen *S. thermophilus* türlerinde plazmit taşıyıcılığı ve bu türlerin antibiyotik dirençliliklerini araştırmışlardır. *S. thermophilus* suşlarının büyük bir çoğunluğunun gentamisine (%79) penisiline G (%64) dirençli, kloramfenikole (%94) ve tetrasikline (%88) ise hassas olduklarını bulunmuşlardır. Benzer şekilde, çalışmamızda da

tetrasiklin ve kloramfenikol’ün *S. thermophilus* suşlarına en etkili antibiyotiklerden olduğu söylenebilir ve araştırmacıların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Aslım ve Beyatlı (2004) çalışmasıyla bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar arasında, gentamisin ve penisilin direnci önemli düzeyde farklılıklar içermekte olup, kloramfenikol ve tetrasiklin duyarlılığı paralellik göstermektedir.

Bu araştırmadaki *Lb. bulgaricus* izolatlarının tümü vankomisine, streptomisine, penisiline ve kanamisine dirençli bulunmuştur. Suşların tamamının tüm antibiyotiklere %40 ile %100 oranında dirençli oldukları saptanmıştır. Suşların kullanılan antibiyotiklerden ampisiline genel olarak duyarlı (%60) olduğu, gentamisine (%20) ise düşük seviyede duyarlı olduğu görülmüştür. En yüksek dirençliliğin vankomisin (%100), streptomisin (%100), penisilin (%100) ve kanamisin (%100) antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiş, en düşük dirençlilik %40 oranında ampisilin antibiyotiğinde gözlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Lb. bulgaricus* izolatlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları

Antibiyotikler	Dirençli (-)	Orta Derece Duyarlı (+)	Duyarlı (++)	Toplam (%)
Tetrasiklin	60	20	20	100
Gentamisin	80	-	20	100
Streptomisin	100	-	-	100
Ampisilin	40	-	60	100
Kloramfenikol	60	-	40	100
Vankomisin	100	-	-	100
Rifampisin	60	-	40	100
Kanamisin	100	-	-	100
Penisilin G	100	-	-	100

(-): Tespit edilemedi

Hummel vd. (2007), endüstriyel starter kültürlerin antibiyotik dirençlerini belirlemek amacıyla yapmış oldukları araştırmada *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* spp., *Pediococcus* spp.

ve *Leuconastoc* spp. ait 45 adet LAB suşunun antibiyotik direncini incelemişlerdir. Çalışmada, eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin ya da β -laktam dirençleri %7 gibi çok düşük bulunmasına

karşın, aminglikosid (gentamisin ve streptomisin) ve siprofloksasin dirençleri %70'den daha fazla olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda elde edilen bulgular neticesinde *Lactobacillus*, *Streptococcus* suşlarının kloramfenikol, tetrasiklin duyarlılığı ile *Lactobacillus* suşlarının gentamisin ve streptomisin direnci bu çalışma ile paralellik göstermekte olup, *Streptococcus* suşlarının gentamisin ve streptomisin dirençleri değişkenlik göstermektedir.

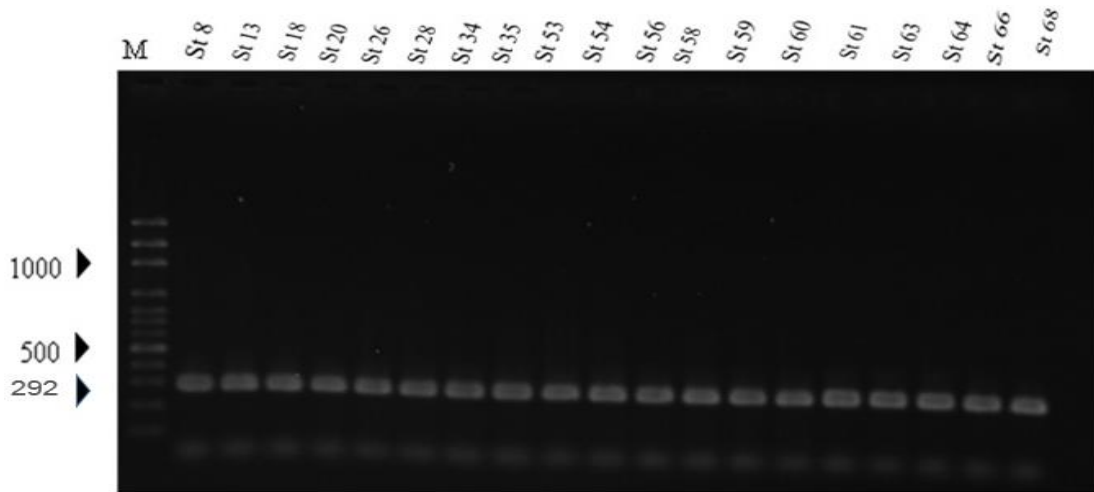
Tatlı (2009), tarafından yapılan çalışmada, izole edilen tüm geleneksel süt ürünlerinde bulunan *Lactobacillus spp.*'lerin %59'u vankomisine %27'si siprofloksasine, %27'si gentamisine, %11'i eritromisine ve %4'ü tetrasikline direnç gösterdiği saptanmıştır. İzole edilen *Lactobacillus spp.*'lerinin hiçbirinde kloramfenikol, ampisilin, nitrofurantoin ve rifampisin direncine rastlanmamıştır. İzole edilen *Streptococcus spp.* suşlarının %40'ının vankomisine, %30'unun siprofloksasine, %20'sinin gentamisine ve %10'unun eritromisin ve kloramfenikole karşı dirençli olduğu saptanmıştır. İzolatlarda tetrasiklin, ampisilin, rifampisin ve nitrofurantoin karşı direnç saptanmamıştır. Benzer şekilde çalışmamızda da *Lactobacillus spp.*'lerin vankomisin, gentamisin ve tetrasiklin dirençleri araştırmacıların sonuçları ile uyumlu bulunmakla beraber, kloramfenikol ve ampisilin direncinde farklılıklar gözlenmektedir. Çalışmamızda *Streptococcus spp.* suşlarının vankomisin, gentamisin dirençlilik oranı yapılan çalışma ile paralel olup, kloramfenikol direnci ise önemli düzeyde farklılık göstermektedir.

Kirtzalidou vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada izole edilen laktobasillerin büyük çoğunluğunun, ampisilin, amoksisilin / klavulanik asit, tetrasiklin, eritromisin, sefalotin, kloramfenikol ve rifampisin antibiyotiklerine karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Suşların %34'ünün ise vankomisine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise *Lactobacillus* türlerinde önemli oranda ampisilin, tetrasiklin, rifampisin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı duyarlılık gözlenmiştir. *Lb. bulgaricus* suşlarının vankomisin antibiyotiğine dirençliliği ise %100 olarak bulunmuştur.

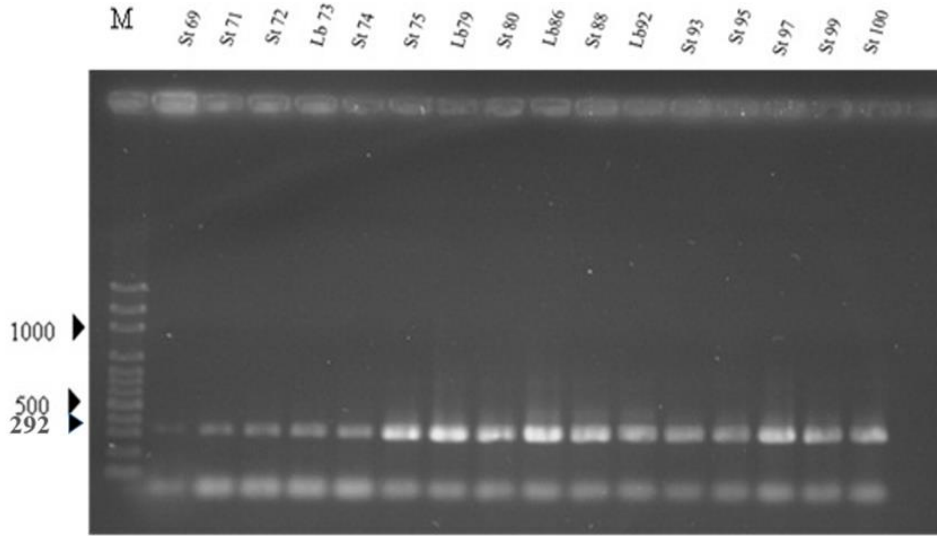
3.2. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin genotipik olarak belirlenmesi

Bakterilerin antibiyotik dirençlilik özelliklerinin genotipik olarak belirlenmesi, kromozomlar üzerinde direnç sağlayan özellikleri taşıyabilmesi bakımından önem taşımaktadır. Bu genleri diğer bakterilere transfer etmesi de gıdalarda ve insan sağlığı üzerinde risk oluşturabilmektedir.

aph(3')-IIIa primerleri kullanılarak yapılan taramada, disk difüzyon yönteminde kanamisine dirençli olduğu saptanan 44 adet izolatın DNA izolasyonu yapılmış olup, izole DNA'ların 35'inde (32 adet *S. thermophilus*, 3 adet *Lb. bulgaricus*) *aph(3')-IIIa* bölgesi saptanmıştır. Kanamisine fenotipik direnç gösteren *S. thermophilus* izolatlarından St70 ve *Lb. bulgaricus* izolatlarından Lb86'da istenen gen bölgesi bulunamamıştır. *aph(3')-IIIa* fragmanı yaklaşık 292 bp uzunluğundadır. Çizelge 1'de verilen primerler kullanılarak yapılan taramada PCR sonucu izolatlarda saptanabilen direnç genlerine ait jel görüntüleri Şekil 2 ve Şekil 3'de verilmiştir.



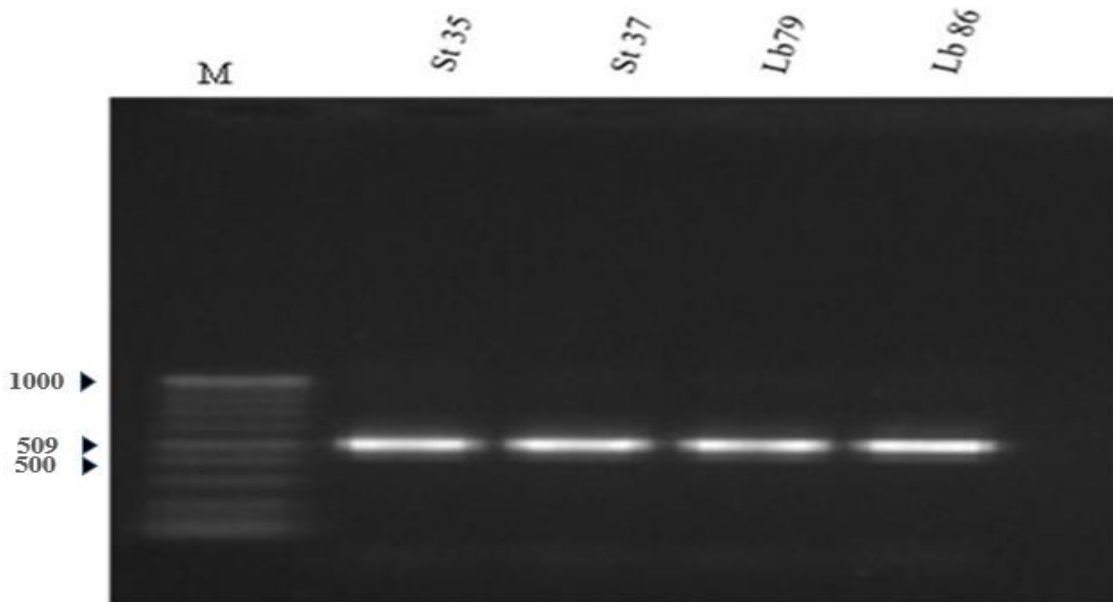
Şekil 2. İzolatlarda belirlenen *aph(3')-IIIa* geninin (292 bp'de) jel görüntüsü



Şekil 3. İzolatlarda belirlenen *aph* (3')-IIIa geninin (292 bç'de) jel görüntüsü

Zhou vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada Çin'de farklı bölgelerden alınan yoğurtlardan, antibiyotik dirençliliği test edilen bakterilerden 35 suşta ampicilin, kloramfenikol, tetrasiklin, klortetrasiklin, linkomisin, streptomisin, gentamisin ve neomisin direnci fenotipik ve genotipik yöntemlerle tespit edilmeye çalışılmış, PCR yöntemi ile tespit edilmeye çalışılan direnç genleri sonucunda, 5 *Lb. bulgaricus* ve 2 *S. thermophilus* izolatında *aph* (3')-IIIa genleri saptanmıştır.

Str(B) primerleri kullanılarak yapılan taramada, streptomisine dirençli 11 izolatın DNA izolasyonu yapılmış olup izole DNA'ların 4 adedinde *str(B)* bölgesi saptanmıştır. Streptomisine fenotipik direnç gösteren 5 *Lb. bulgaricus* izolatından Lb79 ve Lb86 hariç diğerlerinde *str(B)* gen bölgesine rastlanmamıştır. 3 *S. thermophilus* izolatından St22 hariç diğer iki izolatta istenen gen bölgesi tespit edilmiştir (Şekil 4). Özteber (2013) yaptığı çalışmada elde ettiği bulgulara paralel olarak, çalışmamızda PCR uygulamaları sonucunda *str(B)* (%36) genleri bulunmuştur.

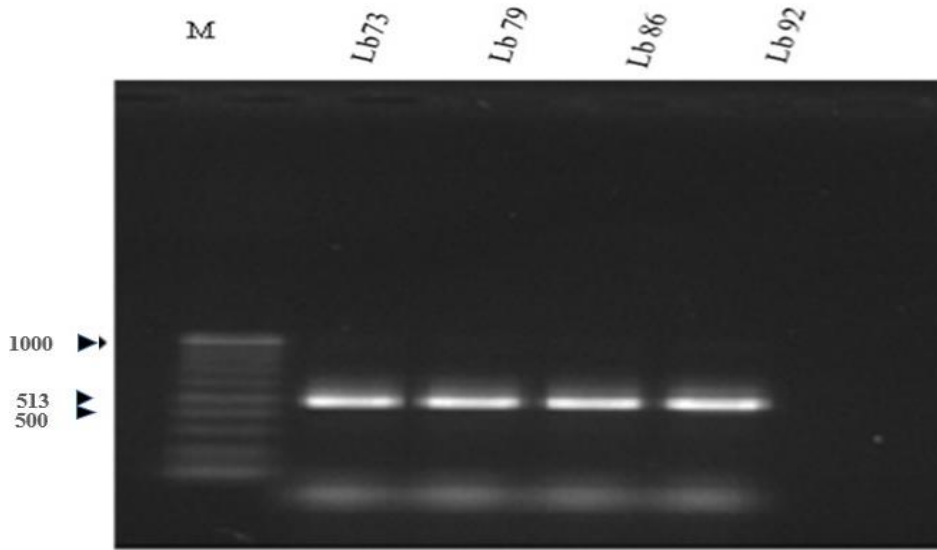


Şekil 4. İzolatlarda belirlenen *Str(B)* genlerinin (509 bç'de) jel görüntüleri

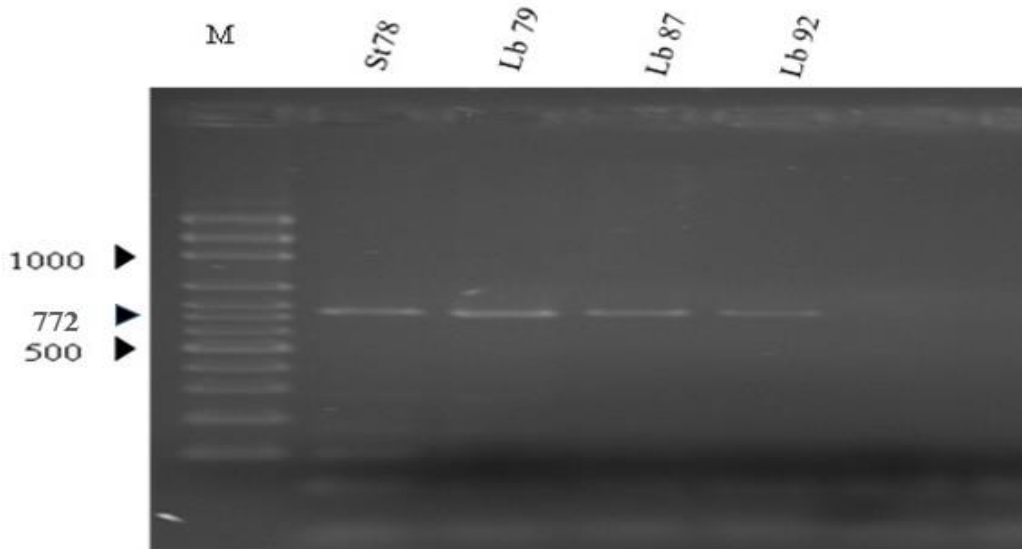
Özteber (2013)'in, farklı kaynaklardan aldığı fermente süt ürünlerinden izole edilmiş LAB'nin antibiyotik dirençliliklerini fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırmış, eritromisin (*erm*), tetrasiklin (*tet*) ve aminoglikozid direncini kodlayan *aac* (6')-*aph* (2'') primerleri ile yaptığı PCR uygulamaları sonucunda *tet* (M) (%7,14), *aac* (6')-*aph* (2'') (%5,95), *erm* (B) (%4,76), *tet* (L) (%2,38), *van* (C) (%1,19), *erm* (C) (%0,59) ve *tet* (K) (%0,59) genleri bulmuştur. Çalışmamızda ise PCR denemeleri sonucunda *aph*(3')-IIIa (%95) genleri bulunmuştur. Bizim bulduğumuz sonuçlar, Özteber (2013) tarafından yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir.

Van (*E*) primerleri kullanılarak yapılan taramada vankomisine dirençli 9 izolatın 6 tanesinin DNA izolasyonu yapılmış olup, izole DNA'ların 4 tanesinde *van* (*E*) bölgesi saptanmıştır. Vankomisine dirençli 1 *S. thermophilus* izolatı (St8) bulunmasına rağmen ilgili direnç geni gözlenememiştir. Fenotipik direnç gösteren 5 *L. bulgaricus* izolatlarından Lb87 hariç diğerlerinde ilgili gen bölgesi bulunmuştur. *Van* (*E*) fragmanı yaklaşık 513 bp uzunluğundadır (Şekil 5).

Çalışmamızdaki PCR denemeleri sonucunda izolatlarda *van* (*E*) (%67) genleri tespit edilmiştir. Bu durum Özteber (2013) tarafından yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir.



Şekil 5. İzolatlarda belirlenen *van* (*E*) genlerinin (513 bp'de) jel görüntüleri



Şekil 6. İzolatlarda belirlenen *BlaZ* genlerinin (772 bp'de) jel görüntüleri

BlaZ primerleri kullanılarak yapılan taramada ise penisiline dirençli 4 izolatın DNA izolasyonu yapılmış olup izole DNA'ların tümünde *BlaZ* bölgesine rastlanmıştır. *BlaZ* fragmanı yaklaşık 772 bp uzunluğundadır (Şekil 6).

Disk difüzyon yöntemi ile kanamisine direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan %60'ında *aph(3')-IIIa* bölgesi, streptomisine direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan %36'sında *str(B)* bölgesi, vankomisine direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan %44'ünde *van (E)* bölgesi, penisiline direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan tamamında *BlaZ* bölgesi saptanmıştır.

Elde edilen bulgular dikkate alınarak fenotipik direnç gösteren izolatların bir kısmı değişken olarak test antibiyotiklerinin bazılarının dirençlilik genlerini [*str(B)*, *van (E)*, *blaZ* ve *aph (3')-IIIa*] taşıdığı tespit edilmiştir (Çizelge 4). Bu durum mutasyon gibi evrimsel olaylarla açıklanabilir ve izolatlar dirençlilik geni kazanmış olabilir ya da uygulanan metotlarla dirençli gen tespit edilememiş olabilir (Liu vd., 2009).

4. Sonuç ve öneriler

Yapılan bu çalışmada doğal yoğurt örneklerinden izole edilmiş ve genetik tanımlaması yapılmış bakteri stoklarından *Lb. bulgaricus* ve *S. thermophilus* bakterilerine ait izolatlar canlandırılarak antibiyotik direnç özellikleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik dirençliliği saptanan izolatların en fazla direnç gösterdikleri

antibiyotiklere ait primerler kullanılarak genotipik tarama yapılmış; disk difüzyon yöntemi ile kanamisine direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan %60'ında *aph(3')-IIIa* bölgesi, streptomisine direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan %36'sında *str(B)* bölgesi, vankomisine direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan %44'ünde *van (E)* bölgesi, penisiline direnç gösterdiği tespit edilen suşlardan tamamında *BlaZ* bölgesi saptanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile dirençli bulunan izolatlardan %51'inde direnç genleri tespit edilmiştir.

Sonuç olarak hem insanları hem de hayvanları kapsayan sağlık problemlerinin çözüme ulaşmasında pratik olarak antibiyotiklere başvurulması, antibiyotiklerin LAB'nin aracılığıyla direnç kazanması sonucu önemli sorunlar meydana getirebilme riski taşımaktadır. Fermente gıda üretiminde tercih edilen LAB'nin genellikle güvenli mikroorganizmalar oldukları düşünülmekte, bağırsak sistemindeki patojenleri baskılayarak florada hâkim olmaları istenmektedir. Ancak, sahip oldukları antibiyotik direnç genini patojenlere aktarma ihtimalinin önemli bir tehdit olduğu düşünülmektedir. Hem yapılan mevcut çalışmadan elde edilen hem de farklı çalışmalardan elde edilen bulgular, gıda zincirinde önemli bir yeri olan fermente süt ürünlerinin, insan ve hayvan popülasyonu arasındaki antibiyotik dirençlilik gösteren bakterilerin taşınmasının bir aracı ve gıda kaynaklı bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin kaynaklarından biri olduğu konusunda yapılan tahminleri desteklemektedir.

Çizelge 4. Çalışmada tespit edilen gıda kaynaklı *Lb. bulgaricus* ve *S. thermophilus* izolatlarının fenotipik ve genotipik antibiyotik direnç profilleri

LAB izolatı	Fenotipik antibiyotik direnç profili / resistant (sayı; yüzde)	Genotipik direnç profili (<i>str(B)</i> , <i>van (E)</i> , <i>blaZ</i> ve <i>aph (3')-IIIa</i>)/(+)
<i>Lb. bulgaricus</i>	bVankomisin / (5; %100)	<i>van (E)</i> /(4; %80)
	Kloramfenikol / (3; %60)	-
	Ampisilin / (2; %40)	-
	Gentamisin / (4; %80)	-
	Kanamisin / (5; %100)	<i>aph (3')-IIIa</i> /(4; %80)
	Penisilin / (3; %60)	<i>blaZ</i> /(3; %100)
	Rifampisin / (3; %60)	-
	Streptomisin / (5; %100)	<i>str (B)</i> /(2; %40)
Tetrasiklin / (3; %60)	-	
<i>S. thermophilus</i>	Vankomisin / (5; %7)	-
	Kloramfenikol / (4; %6)	-
	Ampisilin / (4; %6)	-
	Gentamisin / (12; %18)	-
	Kanamisin / (39; %57)	<i>aph (3')-IIIa</i> /(31; %79)
	Penisilin / (2; %3)	<i>blaZ</i> /(1; %50)
	Rifampisin / (2; %3)	-
	Streptomisin / (7; %10)	<i>str (B)</i> /(2; %29)
Tetrasiklin / (2; %3)	-	

Bu çalışmada elde edilen bulgular sonucunda, fermente gıdalarda tercih edilen LAB'nin kullanımına izin verilmeden önce antibiyotik direnç profillerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

5. Teşekkür

Bu çalışma; Türkiye Bilimsel Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 2014/3 dönemi 1649B021412580 no'lu ve Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2014/3-3 YLS no'lu projeleri ile desteklenmiştir.

6. Kaynaklar

Ammor, M. S., Şorez, A.B. and Mayo, B., 2007. Antibiotic Resistance in Nonenterococcal Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24: 559-570.

Ammor, M. S., Flórez, A. B., Van Hoek, A. H., Clara, G., Aarts, H. J., Margolles, A. and Mayo, B. (2008). Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Microbial Physiology*, 14(1-3), 6-15.

Anonim, (2009). Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M2–A10. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Aslim, B., and Beyatli, Y. (2004). Antibiotic resistance and plasmid DNA contents of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish yoghurts. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28, 257-263.

Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P. ... and Hansen, E. B. (2012). Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *International journal of food microbiology*, 154(3), 87-97.

Cai, L., Ju, F. and Zhang, T. (2014). Tracking human sewage microbiome in a municipal wastewater treatment plant. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(7), 3317-3326.

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), e01738-18.

Çelik, H., Durak, Y. ve Uysal, A. (2016). Bazı ticari ve ev yapımı yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıkları. *Selçuk*

Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi, 42(2), 149-160.

Çetin, T. E. ve Gürler, N. (1989). Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık deneyinin yapılması. *Kükem dergisi*, 12(2).

Durupınar, B. (2001). Antibiyotiklere Dirençlerde Yeni Eğilimler. *Klinik Dergisi*, 14(2): 47-55.

Fatahi-Bafghi, M., Naseri, S. and Alizehi, A. (2021). Genome Assessment of Antibiotic Resistance Genes in Probiotic Bacteria and a Literature Review. *Research Square*, 1-13.

Fluit, A. C. and Schmitz, F. J. (2001). The use of molecular techniques to detect antimicrobial resistance in clinical bacterial isolates. *Microbiology Today*, 28, 14-15.

Galvez, A., Lopez, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E. and Omar, N. B. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical reviews in biotechnology*, 28(2), 125-152.

Gazzola, S., Fontana, C., Bassi, D. and Cocconcelli, P. S. (2012). Assessment of tetracycline and erythromycin resistance transfer during sausage fermentation by culture-dependent and-independent methods. *Food Microbiology*, 30(2), 348-354.

Gülay Z (2003). Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu, *Toraks Dergisi* 1, 75–85.

Herreros, M. A., Sandoval, H., González, L., Castro, J. M., Fresno, J. M. and Tornadijo, M. E. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food microbiology*, 22(5), 455-459.

Hummel, A. S., Hertel, C., Holzappel, W. H. and Franz, C. M. (2007). Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 73(3), 730-739.

Jorgensen, J. H., Ferrano, M. J. and Turnidge, J. D. (2003). Susceptibility tests methods: Dilution and disk diffusion methods. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (Eds). *Manual of Clinical Microbiology* 8th ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press: 1108-1127.

Jorgensen, J. H. and Turnidge, J. D. (2015). Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *Manual of clinical microbiology*, 1253-1273.

- Kirtzalidou, E., Pramateftaki, P., Kotsou, M. and Kyriacou, A. (2011). Screening for lactobacilli with probiotic properties in the infant gut microbiota. *Anaerobe*, 17(6), 440-443.
- Ledeboer, N. A. and Hodinka, R. L. (2011). Molecular detection of resistance determinants. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(9_Supplement), S20-S24.
- Liu, C., Zhang, Z., Dong, K., Yuan, J. and Guop, X. 2009. Antibiotic resistance of probiotic strains of lactic acid bacteria isolated from marketed foods and drugs. *Biomedical and Environmental Sciences*, 22: 401-412.
- Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E. ... and Mills, D. (2006). Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(42), 15611-15616.
- Manai, C. M. (2017). Assessing the risk of antibiotic resistance transmission from the environment to humans: non-direct proportionality between abundance and risk. *Trends in microbiology*, 25(3), 173-181.
- Mathur, S. and Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria-a review. *International journal of food microbiology*, 105(3), 281-295.
- Mayrhofer, S., Domig, K. J., Mair, C., Zitz, U., Huys, G. and Kneifel, W. (2008). Comparison of broth microdilution, Etest, and agar disk diffusion methods for antimicrobial susceptibility testing of *Lactobacillus acidophilus* group members. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3745-3748.
- Morandi, S., Silveti, T., Miranda Lopez, J. M. and Brasca, M. (2015). Antimicrobial Activity, Antibiotic Resistance and the Safety of Lactic Acid Bacteria in Raw Milk Valtellina Casera Cheese. *Journal of Food Safety*, 35(2), 193-205.
- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J. E., ... and Xu, J. (2011). Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current microbiology*, 62(3), 1081-1089.
- Özteber, M. (2013). Fermente süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle belirlenmesi (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Richter, S. and Ferraro M., (2007). Susceptibility Testing Instrumentation and Computerized Expert Systems For Data Analysis and Interpretation. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Washington Dc: American Society For Microbiology. s. 245-256.
- Ross, R. P., Morgan, S. and Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology*, 79(1-2), 3-16.
- Settanni, L. and Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International journal of food microbiology*, 121(2), 123-138.
- Sharma, P., Tomar, S. K., Goswami, P., Sangwan, V. and Singh, R. (2014). Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Research International*, 57, 176-195.
- Soomro, A. H., Masud, T. and Anwaar, K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1), 20-24.
- Tatlı, D. (2009). Geleneksel süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye*, 81s.
- Tavşanlı, H., Mus, T. E., Cetinkaya, F., Aynaoglu, E. and Cibik, R. (2021). Isolation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* from nature: Technological characterisation and antibiotic resistance. *Czech Journal of Food Sciences*, 39(4), 305-311.
- Terkuran, M., Turhan, E. Ü. and Erginkaya, Z. (2019). The risk of vancomycin resistant enterococci infections from food industry. In *Health and Safety Aspects of Food Processing Technologies* (pp. 513-535). Springer, Cham.
- Wang, K., Zhang, H., Feng, J., Ma, L., de la Fuente-Núñez, C., Wang, S. and Lu, X. (2019). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dairy products in Tianjin, China. *Journal of Agriculture and Food Research*, 1, 100006.
- Yerlikaya, O., Saygili, D. and Akpınar, A. (2020). Evaluation of antimicrobial activity and antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from commercial yoghurt starter cultures. *Food Science and Technology*, 41, 418-425.
- Zarzecka, U., Chajęcka-Wierzchowska, W. and Zadernowska, A. (2022). Microorganisms from starter and protective cultures-Occurrence of

antibiotic resistance and conjugal transfer of tet genes in vitro and during food fermentation. *LWT*, 153, 112490.

GIDA VE YEM BİLİMİ-TEKNOLOJİSİ DERGİSİ ETİK KURALLARI ve İNTİHAL KONTROLÜ

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, Yayın Etiği Komitesi [Committee on Publication Ethics (COPE)] tarafından hazırlanan yönerge (The COPE Code of Conduct for Journal Editors) hükümlerine uymayı kabul ve taahhüt etmiştir.

Dergi tarafından kabul edilen etik görev ve sorumluluklar Committee on Publication Ethics (COPE) ve Council of Science Editors (CSE) tarafından yayınlanan rehberler ve politikalar dikkate alınarak hazırlanmıştır.

A- EDİTÖRLER ve YAYIN KURULUNUN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi'nin Editörler Kurulu, açık erişim olarak Committee on Publication Ethics (COPE) tarafından yayınlanan "COPE Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors" ve "COPE Best Practice Guidelines for Journal Editors" rehberleri temelinde belirtilen tüm etik görev ve sorumluluklara bağlı kalmayı taahhüt eder.

1-Editörler, dergide basılan tüm makalelerden sorumlu olup derginin niteliğinin iyileştirilmesine katkı yapmakla yükümlüdürler.

2-Editörler, okuyuculardan gelen geri bildirimleri dikkate almak ve geri bildirim vermekle yükümlüdürler.

3- Editörler, dergiye gönderilen çalışmaların önemi, özgün değeri, geçerliliği, anlatımın açıklığı ve derginin amaç ve hedeflerine uygunluğu bakımından değerlendirerek olumlu ya da olumsuz karar vermelidirler.

4-Editörler, dergiye gönderilen çalışmaları; yazarların sosyal, kültürel, ekonomik özellikleri ile dini inançları göz önüne alınmaksızın, sadece entelektüel değerleri çerçevesinde değerlendirilmelidir.

5-Editörler ve Yayın Kurulu, dergiye yayınlanmak üzere gönderilen çalışmaların, 3 hafta içerisinde değerlendirmeye alıp almayacaklarına karar vermeli ve bunu yazara bildirmelidirler.

6-Editörler ve Yayın Kurulu, makaleyi ilk inceleme sonucunda red etme kararına varırsa yazarlara bunun nedenini açık bir şekilde bildirmekle yükümlüdürler.

7-Dergiye gönderilen çalışmalar editörler tarafından öncelikle intihal ihtimaline karşı raporların olup olmadığı kontrol edilmelidir. Bu aşamada intihal raporu olmayan çalışmalar ve intihal ihtimali olan çalışmalar, editörler tarafından reddedilir.

8-Editörler ve Yayın Kurulu Üyeleri Dergiye gönderilen makaleleri hakemler dışında hiç kimseye ifşa etmemelidirler.

9-Editörler, dergiye gönderilen çalışmaların kabulü için yazarlara dergideki herhangi bir makaleye veya başka bir çalışmaya atıf yapması konusunda telkinde bulunmamalıdır.

10-Editörler, makaleleri aynı disiplindeki konu uzmanlıklarına uygun olan hakemlere göndermelidirler.

11- Yayın Kurulu, yazarlarla, yazarların kurumları ya da yazarların bir veya daha fazla ilgi alanı ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması/çakışması yaşama durumundaysa, görevlendirilen editöre bilgi vermeli ve değerlendirme sürecinden çekilmelerini istemelidirler.

12-Editörler, hakemleri tarafsız, bilimsel ve nesnel bir dille çalışmayı değerlendirmeleri için teşvik etmelidirler.

13-Editörler, makaleleri objektif değerlendiren, hakemlik sürecini zamanında yerine getiren, makaleyi yapıcı eleştirilerle değerlendiren ve etik kurallara uygun davranan bilim insanlarının olmasına özen göstermelidirler.

14-Editörler, yayın kurulu ve hakemler kurulu üyelerini, uzmanlık alanlarına uygun, katkı sağlayabilir ve uygun nitelikte belirleyerek kurullara derginin yayın politikaları konusunda bilgi vermekle yükümlüdür.

B-YAZARLARIN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi yayın etiği açısından, COPE (Committee on Publication Ethics) tarafından kabul edilen kriterlere uymayı taahhüt eder.

1-Eserlerin tüm sorumluluğu yazarlarına aittir. Eserler, bilim etiği ilkelerine uygun olarak hazırlanmalı, Etik Kurul Raporu gerektiren durumlarda bir kopyası eklenmelidir.

Aşağıdaki araştırma konuları ile ilgili Etik Kurul Raporu bilgileri (kurul adı, tarih ve sayı no) yöntem bölümünde ve ayrıca makale son sayfasında ek olarak verilmelidir.

- ✓ Anket, mülakat, odak grup çalışması, gözlem, deney, görüşme teknikleri kullanılarak katılımcılardan veri toplanmasını gerektiren nitel ya da nicel yaklaşımlarla yürütülen her türlü araştırmalar.
- ✓ İnsan ve hayvanların (materyal/veriler dahil) deneysel ya da diğer bilimsel amaçlarla kullanılması,
- ✓ İnsanlar üzerinde yapılan klinik araştırmalar,
- ✓ Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar,
- ✓ Kişisel verilerin korunması kanunu gereğince retrospektif çalışmalar.
- ✓ Ayrıca, kullanılan fikir ve sanat eserleri için telif hakları düzenlemelerine riayet edilmeli, başkalarına ait ölçek, anket, fotoğrafların kullanımı için sahiplerinden izin alınması.

2-Yayımlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur.

3-Ancak; yurtiçi veya yurtdışı kongrelerde sunularak yalnızca özeti yayımlanmış makaleler yayıma kabul edilmektedir.

4-Dergiye yayımlanmak üzere gönderilen eserlerle birlikte Telif Hakkı Devir Sözleşmesi de tüm yazarlarca imzalanarak, makale ile birlikte gönderilmelidir.

5-Dergi, COPE hükümleri doğrultusunda, hakemlerin ve yazarların kimliklerinin birbirinden gizlendiği double blind peer review (Çift Kör) hakem değerlendirmesi sistemini kullanmaktadır

6-Yayın sürecinde, dergi ile yazışmaları yapan kişi/kişiler “Sorumlu Yazar” olarak kabul edilir. Yazışmaların diğer yazarlarla paylaşılması, gerekli işlemlerin zamanında ve doğru olarak yapılması “Sorumlu Yazar” a aittir. “Sorumlu Yazar” makalenin ilk ismi olmak zorunda değildir.

7-Değerlendirme süreci başlamış bir çalışmada yazar ekleme, yazar sırası değiştirme ve yazar çıkartma gibi özel durumlar “Sorumlu Yazar” inisiyatifindedir.

8-Son Kontrol Listesi sadece sorumlu yazar tarafından imzalanarak makale ile birlikte gönderilmelidir.

9-Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi yayımlanmak üzere gönderilen makaleler, hakem süreci başlatıldıktan sonra geri çekilemez.

10-Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi İntihal ve Duplicate önüne geçmek üzere sorumlu yazarlardan İntihal raporu talep edilir.

11-Benzerlik oranı kaynakça hariç en fazla %20-30 olmalıdır.

12-Yazarlar, yayınlanmak üzere gönderilen tüm çalışmaların potansiyel çıkar çatışması teşkil edebilecek durumları ve çalışmalarını destekleyen kuruluşları makalenin son kısmında beyan etmekle yükümlüdürler.

13-Ayrıca, çalışma lisansüstü tezlerden üretilmiş ise ve çalışmaya katkısı için teşekkür edilecek kişi veya kurumlar varsa bu gibi durumların da makalenin son kısmında belirtilmesi gerekmektedir.

C-HAKEMLERİN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR

1-Hakemler, Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi’ne gönderilen bir çalışma kendi uzmanlık alanında değilse, makale konusu hakkında yeterli bilgiye sahip değilse ya da zamanında bir değerlendirme yapamayacak durumda ise, editörü bu durumdan haberdar ederek değerlendirme görevinden ayrılmalıdır.

2-Hakemler, yazarı ile aralarında rekabet, iş birliği veya başka türlü ilişki ya da bağlantılar bulunduğunu tespit ettiği çalışmalarını kesinlikle değerlendirmemelidir.

3-Hakemler, gizlilik ilkesine riayet ederek değerlendirmesini yapmalı, çalışmayı üçüncü kişilerle paylaşmamalıdır.

4-Hakemler, inceleme sürecinde elde etmiş olduğu ayrıcalıklı bilgi ve fikirleri gizli tutmalı ve kişisel çıkarı için kullanmamalıdır.

5-Hakemler, eleştiri ve önerilerini nazik bir dille objektif ve yapıcı bir şekilde yapmalıdır.

6-Yazara karşı iftira ve hakaret içeren aşağılayıcı yorum ve eleştiri kullanılmamalıdır.

7-Hakemler, fikirlerini açık biçimde destekleyen belgelerle desteklemelidir.

8-Hakemler, değerlendirilen çalışmanın daha önce yayınlanmış başka bir çalışma ile arasında esaslı bir benzerlik tespit etmeleri halinde, durumu editöre iletmelidirler.

GIDA VE YEM BİLİMİ-TEKNOLOJİSİ DERGİSİ GENEL İLKELER ve YAZIM KURALLARI

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, yılda iki defa (Ocak ve Temmuz) yayımlanan hakemli bir dergidir.

Dergide, özgün araştırma ürünü makaleler ile belirli bir konuyu yeterli sayıda kaynaktan araştırarak hazırlanmış derleme makaleleri yayımlanır. Önemli bir potansiyeli ya da bulgusu olmayan ve sadece yerel ilgi çekecek makaleler basıma kabul edilmez. Dergide basılacak İngilizce makale sayısı toplam makale sayısının üçte birini geçemez.

Derleme makalelerde, en az %75'i son 10 yıla ait olmak üzere en az 25-30 kaynak olmalıdır.

Dergide yayımlanacak makaleler; gıda, yem, bunlara ait katkı maddeleri ve hammaddeler, su-atıksu, su ürünleri, gıda ile temas eden madde ve malzemelerde;

- Güvenilirlik ve kalite
- İşleme teknolojileri
- Analiz yöntemleri
- Biyogüvenlik ve biyoteknoloji
- Sosyo-ekonomik araştırmalar
- Mevzuatlar
- Diğer konular (geleneksel gıdalar, organik gıda ve yem, beslenme, gıda kimlik belirleme, gıda ve yem sanayi atıklarının değerlendirilmesi vb.) ile ilgili olmalıdır.

"Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisine gönderilmiş ve makalenin tamamı ya da bir bölümünün herhangi bir dilde daha önceden yayınlanmamış (tezler ve kongre sunu özetleri hariç) başka bir dergiye basım için gönderilmemiş olması gerekir. "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisinde yayınlanmış olan bir makale başka bir yerde yayınlanamaz.

"Etik Kurul İzin Belgesi"nin kullanıldığı araştırmalarda bu belgelerin makaleye eklenmesi gerekir.

Yayımlanması için "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisine gönderilen makalede herhangi bir kurum ya da kuruluşun doğrudan ya da dolaylı alınan desteğin makale içinde ilk sayfa dipnot veya teşekkür başlığı altında belirtilmesi tümüyle yazarların sorumluluğundadır.

Tüm aşamalardan geçmiş dergimizde yayımlanması uygun olarak değerlendirilmiş makaleler sisteme yükleniş tarihine göre yayımlanmak üzere sıraya konulur. Hangi sayıda yayımlanacağı ile ilgili bilgi sorumlu yazara iletilir.

Aşağıda verilen yazım kurallarına uymadan hazırlanmış ve/veya dergi yayın ilkeleri ile uyuşmayan makaleler, hakeme gönderilmeden yazara iade edilir.

MAKALE GÖNDERİMİ

Makaleler, basılı kopyaya gerek olmaksızın bursagida@tarimorman.gov.tr ve dergi.bursagida@gmail.com adresine e-posta yolu ile gönderilmelidir.

Makaledeki bilgilerin doğruluğunun sorumluluğu yazar(lar)a aittir.

Yazışma Adresi: e-posta: bursagida@tarimorman.gov.tr; dergi.bursagida@gmail.com

Yazar isterse, makaleyi değerlendirmek üzere "Son Kontrol Listesi Formu (BGA-FR-103)"nda ilgili bölüme üç isme kadar hakem önerebilir. Editör ve Yayın Kurulu, hakemleri seçme hakkını korur.

Gönderilen yazılar, önce yayım kurulunca dergi ilkelerine uygunluk açısından incelenir. Yayın kurulu üyeleri tarafından incelenen makaleler için "Yayın Kurulu Değerlendirme Formu (BGA-FR-105)" doldurulur. Uygun bulunmayanlar için kabul edilmeme sebebi yazara bildirilir.

Uygun bulunanlar, "Hakemlik Görev Yazısı Formu (BGA-FR-107)" doldurmuş olan o alandaki üç hakeme "Hakem Makale İnceleme Yazısı Formu (BGA-FR-106)" ile birlikte gönderilir (Öncelikle iki hakeme gönderilir. Hakemlerden birinden olumsuz sonuç gelmesi halinde üçüncü hakeme gönderilir). Dergi, COPE hükümleri doğrultusunda, hakemlerin ve yazarların kimliklerinin birbirinden gizlendiği double blind peer review (Çift Kör) hakem değerlendirmesi sistemini kullanmaktadır.

Hakemler "Hakem Değerlendirme Formu (BGA-FR-102)"nu doldurarak makale ile ilgili değerlendirmelerini editöre iletirler. Hakemlerin ve yazarların isimleri gizli tutulur ve raporlar beş yıl süreyle saklanır. Hakem raporlarından ikisi

olumlu, diğeri olumsuz olduğu takdirde, yazı yayımlanır. Olumsuz görüş bildiren hakeme durum hakkında bilgi verilir. Yazarlar, hakemlerin görüş ve önerileri doğrultusunda düzeltmeleri yaparlar. Editör ve Yayın Kurulu gerektiği durumlarda yazıların yazım şekli üzerinde değişiklik yapabilir. Makalesi kabul edilen yazarlara “Makale Kabul Yazısı (BGA-FR-110)” bu makalede değerlendirme yapan hakemlere de “Hakem Makale Teşekkür Yazısı (BGA-FR-115)” gönderilir.

Bütün makaleler ile birlikte "Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)" ile "Son Kontrol Listesi (BGA-FR-103)" de gönderilmelidir.

<http://arastirma.tarimormman.gov.tr/bursagida> adresindeki “Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)” doldurulup sorumlu yazar tarafından imzalandıktan sonra tarayıcıdan geçirilmeli ve elektronik dosya olarak bursagida@tarimormman.gov.tr ve dergi.bursagida@gmail.com adresine mail ile gönderilmelidir. Makale basım için kabul edilmezse, “Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)”nun yasal bir önemi kalmaz ve hükümsüz olarak kabul edilir.

“Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)”nun imzalanması ile yazar, makalenin "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisinde basılması ve web sayfasında yayınlamasına ilaveten makalenin tamamı ya da bir kısmının yasal olarak çoğaltılması, yeniden basılması ve dağıtılması hakkını Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne devrederek, kendi haklarından feragat etmektedir.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

Dergiye başvuru sırasında gönderilecek makale, Microsoft Word yazılımıyla, A4 boyutundaki kağıdın tek yüzüne Times New Roman yazı tipi, 12 punto ve 2 satır aralıkla iki yana yaslanmış olarak yazılmalı; kenar boşlukları, her bir kenardan 2,5 cm olmalıdır. Sayfada gölgelendirme ve çerçeve vb. uygulamalar yapılmamalıdır. Makale içeriği dil bilgisi kurallarına özen gösterilerek akıcı ve anlaşılır bir şekilde yazılmalıdır. Araştırma ve derleme makaleleri, çizelge ve şekiller dâhil toplam 22 sayfayı geçmemelidir. Editör ve yayın kurulu, makalenin kısaltılmasını isteyebilir. Ayrı kapak sayfası dışındaki tüm sayfalar numaralandırılmalı, ancak metin içinde belirli bir sayfa numarasına atıf olmamalıdır.

Makale; Başlık, İngilizce Başlık, Yazar İsimleri ve Adresleri ve ORCID ID, Özet, Türkçe Anahtar Kelimeler, Abstract, KeyWords, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç), Teşekkür (gerekliyse) ve Kaynaklar ana başlıkları altında hazırlanmalıdır. Kısaltmalar metin içerisinde tanımlanmalıdır. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır. İngilizce hazırlanacak makalelerde ana metin kısımları aynı başlıklardan oluşmalıdır.

Başlık: Makale başlığı metne uygun kısa ve açık, İngilizce ve Türkçe, sadece ilk harfi büyük, 12 punto, koyu ve sayfaya ortalanmış olmalıdır. Diğer başlıklarda sola dayalı olarak yazılmalı ve sadece ilk kelimenin ilk harfi büyük yazılmalıdır.

Yazar İsimleri: Eserin yazar ya da yazarlarının adı ve soyadı başlığın hemen altında bir satır boşluktan sonra, ünvan belirtilmeden, 10 punto, yazarın isim ve soyadı baş harfleri büyük ve kelime koyu yazılmalıdır. Ünvan ve bağlı oldukları kurumlar yazar isimlerinin altında italik ve 8 punto olarak yazılmalıdır.

Özet ve Abstract: Türkçede 250 İngilizcede 300 kelimeyi geçmeyecek şekilde yazılmalıdır. Bölünmüş özet (Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç) olarak düzenleme yapılmalıdır

Anahtar Kelimeler / Keywords: Özetlerin altına eser metnini ifade edebilecek en az 3 en çok 7 adet anahtar kelime belirtilmelidir.

Metin: Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç kısımlarından oluşur. Derlemelerde ise konuya uygun olarak bölümlendirme yapılabilir.

Çizelgeler ve Şekiller: Yazı içinde geçen tablolar, “çizelge”; grafik, resim, fotoğraf, harita ve akım şemaları ise “şekil” olarak isimlendirilmeli ve 11 puntodan düşük punto kullanılmasından olabildiğince kaçınılmalıdır.

Çizelge başlıkları çizelgenin üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve sırayla numaralandırılmalıdır. Kullanılan çizelge ve şekillere metin içinde atıf mutlaka yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler çizelge ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Çizelge ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekliyse şekiller) *.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır. Çizelge ve şekillerde verilecek dipnotlar çizelge ve şekillerin altına 8 punto ve italik olarak yazılmalıdır. Tercihe bağlı olarak Türkçe araştırma makalelerinde çizelge/şekil başlığı ve varsa tüm dipnotlar çizelgede/şekilde yer alan Türkçe kelimelerin İngilizcesi de italik olarak yazılmalıdır.

Metin içinde geçen kaynak bildirimleri ve Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayımlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağıında (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

KAYNAKLAR:

Metin içinde yazar veya yazarlara yapılan atf

Tek yazar:

Vurarak (2021) 'a göre
(Vurarak, 2021).

İki yazarlı:

Ciniviz ve Yılmaz Ersan (2021)'a göre
(Ciniviz ve Yılmaz Ersan, 2021)

Üç ve daha fazla yazarlı metinlerde, sadece ilk yazarın adı kullanılıp sonrasında “vd.” ifadesi kullanılır:

Harris vd. (2001) ifade ettiği üzere (...)
Harris vd. (2001)'ne göre (...)
(Harris vd., 2001)

Yazar bir organizasyon veya hükümet kurumu ise,

ilk atıfta olduğu gibi atf yapılır; eğer çok bilinen bir kurum ise, sonraki kullanımlarda kısaltması tercih edilir:

İlk atf: Association of Official Analytical Collaboration International'a (2021) göre

İkinci atf: AOAC'a (2021) göre

İlk atf: (Association of Official Analytical Collaboration International [AOAC], 2021)

İkinci atf: (AOAC, 2021)

Aynı parantezde birden fazla esere atıfta bulunulduğunda, bunlar harf sırasına göre dizilmeli ve iki eser noktalı virgül ile ayrılmalıdır:

(Ciniviz ve Yılmaz Ersan, 2021; Hamzaoğlu vd., 2021; Vurarak, 2021).

Aynı soyisme sahip yazarlarda, karışıklığı önlemek için ismin ilk harfi de kullanılır:

(E. Kural, 2010; L. Kural, 1999)

Aynı yazarın aynı yıl yayımlanan iki veya daha fazla eserine atf yapılıyorsa; yıldan sonra (a, b, c) harfleri kullanılır:

Rice (2017a)'nin çalışmasına göre
Rice (2017b)'nin çalışmasına göre

Dipnotlar ve sonnotlar

APA yazım stilinde, dipnot ve sonnot kullanımı pek tercih edilmemektedir. Bundan dolayı mümkün olduğu kadar az dipnot kullanılmalıdır. Yalnızca çok elzem bir açıklayıcı not gerektiğinde dipnot kullanılmalıdır.

Önemli not:

APA atf ve kaynakçada “and” yerine “&” kullanılmasını önermektedir. Ancak Türkçede “&” sembolü “ve” yerine kullanılmadığından, Türkçe olarak yazılan metinlerde atf yaparken ve kaynakça yazarken “&” sembolü kullanılmamalıdır. Ayrıca, üç kişiden çok yazarlı metinlere atf yaparken APA “et al.” (Hamzaoğlu et al., 2021) kullanılmasını önermektedir. Ancak Türkçe’de “et al.” yerine “vd.” (Hamzaoğlu vd., 2021) kullanılmalıdır. Makale İngilizce ise yerine göre “&” sembolü ve “et al.” kullanılmalıdır.

Kaynak listesi:

Yararlanılan kaynaklar sıra numarası verilmeksizin yazarın soyadı dikkate alınarak alfabetik sıraya göre yazılmalıdır. Aynı yazara ait fazla sayıdaki eserler kronolojik olarak sıralanmalıdır.

Tek yazar:

Vurarak, Y. (2021). Semi-Mechanical Harvesting Method Effect on Oil Content and Fat Composition of Sesame. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (25), 39-47. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/issue/60450/886028>

İki yazar:

Ciniviz, M. ve Yılmaz Ersan, L. (2021). Süt Ürünleri Tüketiminin Kolorektal Kansere Üzerine Etkisi. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (25), 1-14. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/issue/60450/885980>

Üç ile yedi yazar arası:

Hamzaoğlu, M., Demir, S., Tosunoğlu, H., Zengingönül Gökçay, R. ve Deniz, A. (2021). QuEChERS -LC MS/MS yönteminin ballarda bazı pestisit kalıntıları için metot validasyonu. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (25), 48-56. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/pub/bursagida/issue/60450/886069>

Yedi yazardan fazla ise; ilk altı yazarın adı listelendikten sonra üç nokta koyup son yazarın adı eklenir. Yedi isimden fazlası yer almamalıdır:

Miller, F. H., Choi, M. J., Angeli, L. L., Harland, A. A., Stamos, J. A., Thomas, S. T., . . . and Rubin, L. H. (2009). Web site usability for the blind and low-vision user. *Technical Communication*, 57, 323-335.

Organizasyonun yazar olduğu durumlarda:

AOAC. (2021).

Aynı yazarın iki ve daha fazla çalışması kullanılmışsa; kaynaklar tarih sırasına göre dizilmelidir:

Çetin, T. (2019).

Çetin, T. (2020).

Eğer yazar bir çalışmada tek yazar ve başka çalışmada ortak yazar ise, önce tek yazarlı olan çalışma listelenmelidir:

İç, E. (2000). Hıyar turşusu salamurasında kalsiyum klorür kullanarak tuz konsantrasyonunun azaltılma olanağı üzerine araştırma. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi-117 s. Ankara.

İç, E. ve Özçelik, F. (1999). Hıyar turşularının düşük tuzlu salamurada fermantasyonu üzerine bir araştırma. *Gıda*: 24 (2): 77-87. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği.

İç, E., Özçelik, F. ve Denli, Y. (1999). Hıyar Turşularının Depolanması Üzerine Kalsiyum Asetat ve Pastörizasyonun Etkisi. *Gıda* 24 (4): 243-250.

Eğer bir yazarın farklı yazarla yayımladığı eserler varsa, sıralama alfabetik olarak ikinci veya sonraki isme bağlı olarak yapılır:

Wegener, D. T. Kerr, N. L., Fleming, M. A. and Petty, R. E. (2000). Flexible corrections of juror judgments: Implications for jury instructions. *Psychology, Public Policy, and Law*, 6, 629-654.

Wegener, D. T., Petty, R. E. and Klein, D. J. (1994). Effects of mood on high elaboration attitude change: The mediating role of likelihood judgments. *European Journal of Social Psychology*, 24, 25-43.4

Bir yazarın aynı yıl yayımlanmış iki veya daha fazla çalışması varsa, (a, b, c) gibi harfler kullanılır:

Rice, W.E. (2017a). Alkalinity 2320 B, Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd Edition, ISBN: 9780875532875.

Rice, W.E. (2017b). Chloride 4500 CL, Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd edition, ISBN: 9780875532875.

Kitap: yazarı birden fazla olan ya da bilinmeyen durumlarda

Anonim (1983). Gıda maddeleri muayene ve analiz yöntemleri. TOKB Köy Hiz. Gen. Müd. Yayınları, Genel Yayın No: 65, 796 s, Ankara.

Kongre bildiri veya poster:

Parsons, C.M. (1994). Amino acid availability for poultry. 9th European Poultry Conference, World's Poultry Science Association, Book of proceedings, Glasgow, UK, Vol: 2, 356-359.

Makale:

Karakaya, M., Sariçoban, C. ve Aksoğan, M. (2003). Tavşan etinin prerigor ve postrigor aşamalarında bazı teknolojik özelliklerinin tespiti. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 3, 15-19.

İnternet Kaynağı:

Warrence, N.J., Bauder J.W. and Pearson K.E. (2004). Basics of salinity and sodicity effects on soil physical properties. Land Resources and Environmental Sciences Department, Montana State University, <http://waterquality.montana.edu/docs/methane/basics.pdf> (Accessed 15.12.2004).

e-ISSN 2822-2873

ISSN 1303-3107

GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ

JOURNAL OF FOOD AND FEED SCIENCE - TECHNOLOGY

Yıl/Year: 19

Sayı/Number: 28

2022/2