

E-ISSN 2602-2834

Vol. 8 Issue 3

2022

# FOOD and HEALTH



<http://jfhscscientificwebjournals.com>



# FOOD and HEALTH

Protein Carbohydrate EPA+DHA  
Vegetables Seafood Temperature  
Toxins Quality Food  
Moisture Antioxidant  
Pastorization Food  
Sugar Sulfites  
Control Microbiology  
Dietary Microbiology  
HAACP  
Packaging Processing  
Water Nutrition  
Sensory  
Meat Omega-3  
Milk Safety  
Food Technology  
Antimicrobial  
Chemistry  
Grain  
Omega-3  
Bread Storage  
Supplement

FOOD  
and  
HEALTH  
E-ISSN 2602-2834

## Aims and Scope

### FOOD and HEALTH

Abbreviation: FOOD HEALTH

e-ISSN: 2602-2834

Journal published in one volume of four issues per year by

<http://jfhs.scientificwebjournals.com> web page

“Food and Health” journal will publish peer-reviewed (double-blind) articles covering all aspects of **food science and their health effect** in the form of original research articles (full papers and short communications), and review articles. Their team of experts provides editorial excellence, fast publication processes, and high visibility for your paper.

Food / Seafood / Food Technology / Food Chemistry / Food Microbiology/Food Quality/Food Safety/Food Contaminant/Food Allergen/Food Packaging/Modified Food/Functional Food/Dietary Supplements/Nutrition and their health effect is the general topics of journal.

Manuscripts submitted to the "Food and Health" journal will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. Our journal will be published quarterly in English or Turkish language.

The target audience of the journal includes specialists and professionals working and interested in all disciplines of food and Nutrition Sciences.

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), and Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors

(EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal is in conformity with the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing ([doaj.org/bestpractice](http://doaj.org/bestpractice)).

“Food and Health” journal is indexed in TUBITAK ULAKBIM TR Index, FAO/AGRIS, ERIH PLUS, SciLit, and Bielefeld Academic Search Engine (BASE).

Processing and publication are free of charge with the journal. No fees are requested from the authors at any point throughout the evaluation and publication process. All manuscripts must be submitted via the online submission system, which is available at

<http://dergipark.gov.tr/journal/1646/submission/start>.

The journal guidelines, technical information, and the required forms are available on the journal’s web page.

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the ScientificWebJournals web portal, editors, editorial board, and/or publisher; the editors, editorial board, and publisher disclaim any responsibility or liability for such materials.

All published content is available online, free of charge at <http://jfhs.scientificwebjournals.com>.



**Editor in Chief:** Prof. Nuray ERKAN

**Address:** Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Food Safety, Kalenderhane Mah. 16 Mart Şehitleri Cad. No:2, 34134 Vezneciler Fatih/Istanbul, Türkiye

**E-mail:** [nurerkan@istanbul.edu.tr](mailto:nurerkan@istanbul.edu.tr)



## PVP/PVA blended hydrogels as a biofilm for use in food packaging applications

Fatma Özge GÖKMEN

### Cite this article as:

Gökmen, F.Ö. (2022). PVP/PVA blended hydrogels as a biofilm for use in food packaging applications. *Food and Health*, 8(3), 172-180.

<https://doi.org/10.3153/FH22017>

Bilecik Şeyh Edebali University, Central  
Research Laboratory, 11230, Bilecik,  
Türkiye

### ORCID IDs of the authors:

F.Ö.G. 0000-0002-5548-8790

Submitted: 19.12.2021

Revision requested: 30.12.2021

Last revision received: 02.01.2022

Accepted: 05.01.2022

Published online: 08.04.2022

### Correspondence:

Fatma Özge GÖKMEN

E-mail: [fatmaozge.gokmen@bilecik.edu.tr](mailto:fatmaozge.gokmen@bilecik.edu.tr)

### ABSTRACT

Bio-films have been produced that attract attention with their functional behavior among conventional food packaging materials of bio-based polymer blends. The physical and morphological properties of copolymeric biofilms have been extensively investigated. Biodegradable polymer and copolymer films were produced by in situ polymerization technique and prepared as solution casting. The strong water absorbency of polyvinyl alcohol and the antimicrobial property of polyvinylpyrrolidone are combined in a single material. Structural and morphological properties of the films were characterized by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy and Scanning Electron Microscope analysis. These results show that the films obtained can be used as an environmentally friendly bio-based polymer blend packaging material to extend the shelf life of food products.

**Keywords:** Food packaging, Bio-film, Hydrogel, Polymer



© 2022 The Author(s)

Available online at  
<http://jfhscscientificwebjournals.com>

## Introduction

Hydrogels can offer new opportunities for the design of efficient packaging materials with desirable properties (i.e. durability, biodegradability, and mechanical strength). It is a promising and emerging concept, as most biopolymer-based hydrogels must be biodegradable so they can be considered alternative eco-friendly packaging materials. In food packaging systems, hydrogels have a great potential to be used as covering and carrier materials. Nowadays, biopolymer-based hydrogels have been preferred for food packaging. Hydrogels that can adsorb more than 100% and up to thousands of times their dry weight in water are called superabsorbent hydrogels (Batista et al., 2019; Feng et al., 2014). The main role of hydrogels in the food packaging system is humidity control inside of a packaging container. The activity of hydrogels in these systems can be given as mechanical resistance, swelling behavior potential, and moisture-holding capacity (Chen et al., 2016; Guilherme et al., 2015; Gulrez et al., 2021; Sro et al., 2016). Because of these properties, hydrogels are interesting for various industrial fields. They contribute to the development of common applications such as cosmetics, wastewater treatment, tissue engineering, drug release, biosensing, agriculture, and biomedicine, generally, hydrogels are produced from synthetic compounds and their polymer matrices are linked predominantly by chemically crosslinking. Compounds commonly used in the literature; polyacrylamide, poly (sodium acrylate), poly (acrylic acid), polyvinylpyrrolidone (Kabiri et al., 2011; Ullah et al, 2015), and bio-based and biodegradable polymers. In most of the studies on food packaging, hydrogels have been prepared and used in film-shaped forms. While producing hydrogel films, the most important feature desired in food packaging applications is the absence of chemical crosslinkers (Kalia, 2016). Chemical crosslinkers may show toxic properties in their nutritional value. Generally, hydrogels obtained using PVP (polyvinylpyrrolidone) and PVA are transparent, biodegradable, flexible, hydrophilic, and permeable. The most important active application of hydrogels in food packaging systems is to control the moisture generated by meat products, fresh fruits, vegetables, and other food products with higher water content (Bodbodak & Rafiee, 2016). Among various polymers, Poly Vinyl Alcohol (PVA) is widely used as a film-forming polymer with highly flexible, emulsive, and adhesive properties. It has been reported in previous studies that PVA improves its mechanical and antimicrobial properties to take advantage of its wide applications (Jayakumar et al., 2019). Polyvinyl alcohol (PVA) is a hydrophilic and non-toxic polymer with excellent film-forming, emulsifying, and adhesion properties along with high tensile strength and flexibility (Yuan et al., 2015). However, the major disadvantage of PVA

is the moisture-related mechanical property changes that greatly limit its application (Jayakumar et al., 2019). Because of that, in this study, the physical properties of PVP were used to eliminate the disadvantage. Due to the chemical nature of each type of food, undesirable effects of ambient change require pH change indicators to be included in food packaging. This also increases consumer trust as it ensures the safety of the product (Park, 2016). At this point, hydrogels also act as smart materials, due to their responses in different pH environments. To examine the food packaging system in terms of waste management, biodegradable food packaging provides an advantage for existing packaging that cannot be recycled and degraded (Dilkes-Hoffman et al., 2018). The biodegradability problem of common plastic food packaging is a global environmental problem (Bergmann, 2015). This problem will continue to increase as urbanization and dietary change in developing countries lead to an increasing global dependence on packaged foods (Dilkes-Hoffman et al., 2018). Another attractive aspect of biodegradable food packaging is that it can expand waste management options for materials that cannot be easily recycled (Brine & Thompson, 2010; Volova et al., 2010). The desired improvement in food packaging systems is the replacement of non-biodegradable petroleum-based polymers with environmentally friendly bio-based polymeric hydrogels materials that also have a longer food shelf life (Haghighi et al., 2020; Kanatt et al., 2012). PVA is a synthetic, low-cost, non-toxic, and water-soluble polymer with the excellent film-forming ability, which has been commercially obtained from the hydrolysis of polyvinyl acetate. Although PVA is a synthetic material, it has been reported to be biodegradable. This defines PVA as a biodegradable polymer. High tensile strength, flexibility, gas barrier properties, and good resistance to acid/alkali environments are among the specific features of PVA (Aloui et al., 2021). PVA can easily form mixtures with hydrophilic polymers. Since PVP also has excellent physiological compatibility, when these two polymers are mixed, the easy interaction between PVA and PVP is expected to occur through intermolecular hydrogen bonding between the hydroxyl group of PVA and the carbonyl group of PVP (Mahdavinia et al., 2009; Sunitha & Jeba, 2017). Copolymer films resulting from the high compatibility of PVP and PVA show a homogeneous structure. In addition, with the PVA/PVP blend, the single film production cost is reduced and the mechanical properties and stability of the blend are improved (Haghighi et al., 2020). On the other hand, in 2003, PVA has been evaluated for safety by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (Haghighi et al., 2021; WHO, 2004) and it has also been confirmed for packaging of the meat and poultry products by the

USDA (Bellelli et al., 2018; Kanatt et al., 2012). Polyvinylpyrrolidone (PVP) as a hydrophilic synthetic polymer was discovered in 1939 (Fischer, 2009; Gregorova et al., 2015). PVP has been used as a binder and stabilizer in the cosmetic, pharmaceutical, and food industries (Keipert & Voigt, 1979). It is a water-soluble polymer with good biomedical properties but exhibits poor mechanical properties (Saha, 2014; Shkolnik, 1992). Due to its water solubility and film-forming ability, PVP can be mixed with other polymeric or cellulosic materials and form films with new improved mechanical properties (Wang et al., 2007). However, the water-soluble nature of PVP makes it impossible to use PVP directly as a packaging material (Li et al., 2020). This study includes the production of PVP/PVA blends as a bio-film with desired properties in different ratios (0:100; 25:75; 50:50; 75:25 and 100:0) for food packaging applications. Among the study, physicochemical, microstructural, physical, mechanical, and water barrier properties for food packaging applications were evaluated. PVP and PVA polymers have interacted with each other through hydrogen bonding. This article reports the production of synthetic biopolymer-based (polyvinylpyrrolidone (PVP)) and PVA as a novel copolymeric hydrogel biofilm and its physicochemical property under controlled environmental conditions.

## Materials and Methods

### Method

The composite biofilms were produced by mixing PVA and PVP solutions in different amounts by the solution casting method. Dry hydrogel films were prepared by solution casting method and named "PVP/PVA composite biofilms".

### Materials

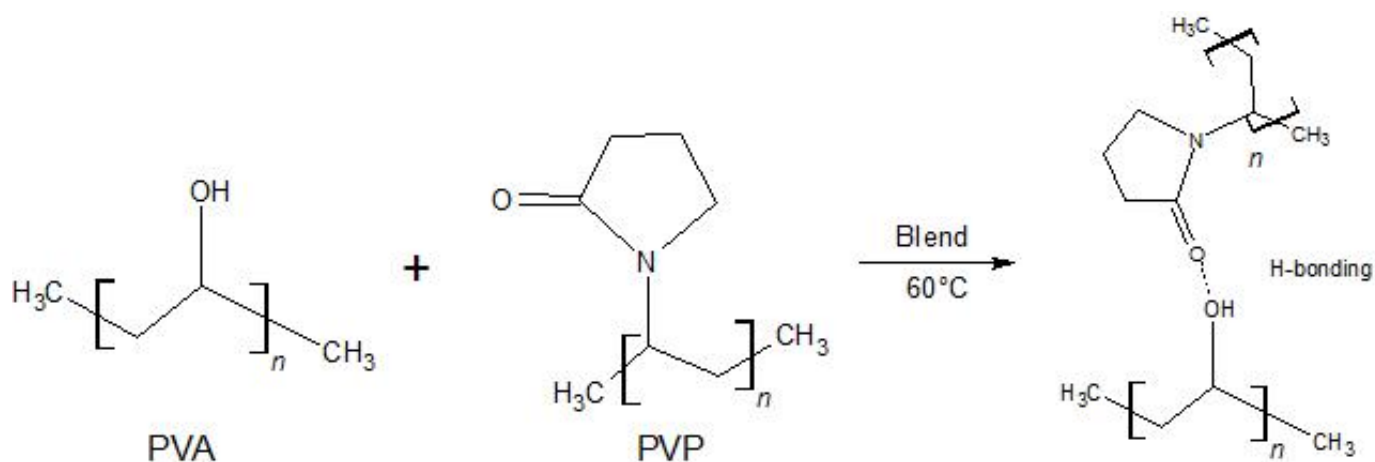
Polyvinylpyrrolidone (PVP) average molecular weight of 40,000 was purchased from Merck. Powder Poly (vinyl alcohol) PVA with an average molecular weight of 89,000-98,000 was purchased from Sigma-Aldrich. Both polymer solutions produced in this study were prepared using distilled water.

### Preparation of the PVP/PVA Composite Biofilms

10% PVA solution was stirred at 80°C for 4 hours. For the 10% PVP solution, the temperature was 60°C and the mixing time was 2 hours. 10% polymer solutions were blended in certain amounts (0:100; 25:75; 50:50; 75:25 and 100:0) and stirred for more 1 hour at 60°C. PVP/PVA blend was poured into 60x15 mm glass petri dishes in equal volumes. The solutions were left to dry for a week under room conditions. After, the film-formed polymers were separated from the glass petri dishes with the help of a micro spatula and forceps without any damage. The mechanism of these interactions is given in Figure 1.

### Characterization

Chemical bond properties of PVP/PVA composite biofilms obtained at different ratios were elucidated by FTIR analysis. Spectrums were taken in ATR mode with Perkin Elmer, Spectrum 100 device in the range of 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  wavenumber at 4 $\text{cm}^{-1}$  resolution. The morphological properties of the films were investigated in Carl Zeiss, Supra 40 VP FESEM device at 15 kV voltage value at different magnifications. The conductivity of the films was achieved by platinum coating with the Qourum DC Sputter device. The transparency properties of the films are demonstrated by photographing the text under the film.



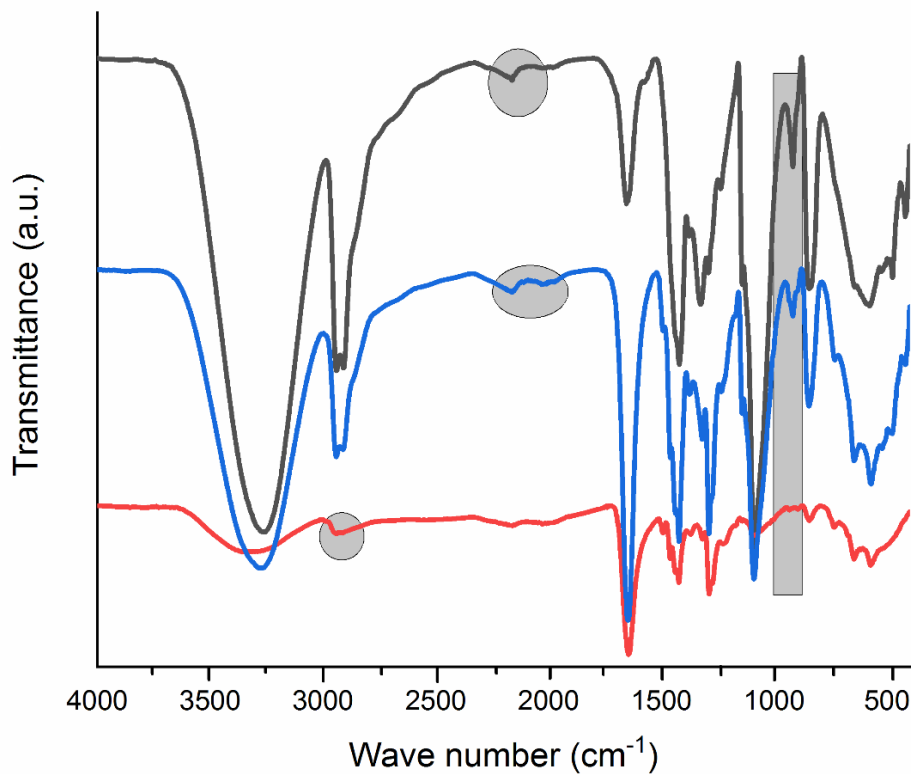
**Figure 1.** Schematic illustration of the PVP/PVA mechanism

## Results and Discussion

### FTIR Analysis

The Fourier transform infrared (FTIR) spectra were characterized to confirm the presence or absence of the various vibrational bands in PVP/PVA blended biofilms. The results obtained are given in Figure 2. In the samples with high PVA content (75% and 50%), the hydroxyl groups (O-H) of PVA were seen as wide and broadband in the  $3270\text{cm}^{-1}$  region (Portillo-Rodríguez et al., 2021). Wide flat peaks were observed in PVP/PVA (25:75%wt) (black line) and PVP/PVA (50:50%wt) at  $3267\text{cm}^{-1}$  and  $3278\text{cm}^{-1}$ , respectively, and PVP/PVA (75:25%wt) (red line) was seen as a narrow peak at  $3356\text{cm}^{-1}$ . While the asymmetric stretch bands of the C-H groups were observed at  $2943\text{cm}^{-1}$  in the black and blue lines (Portillo-Rodríguez et al., 2021), they lost their intensity in

the region enclosed in the circle which the blend containing 75% PVP shown in the red line. When the amount of PVP in the mixture increased to 75%, the strong peak at  $2943\text{cm}^{-1}$  disappeared. The short-intensity peak PVP/PVA (75:25 %wt) observed at approximately  $2158\text{cm}^{-1}$  in the region between  $1900\text{cm}^{-1} - 2250\text{cm}^{-1}$ , which is enclosed in the circle, is not seen in the (red line). In the region marked with a rectangle in the range of  $863\text{cm}^{-1} - 1007\text{cm}^{-1}$ , the moderate-intensity  $920\text{cm}^{-1}$  band completely disappeared in PVP/PVA (75:25 % wt) (red line). In all three samples, plane bending of CH-OH groups and  $\text{CH}_2$  bending vibrations were observed at  $1640\text{cm}^{-1}$  and  $1420\text{cm}^{-1}$ , respectively. The band at  $1079\text{cm}^{-1}$  corresponds to the C-O stretching vibration at all 3 samples (Portillo-Rodríguez et al., 2021). In addition, characteristic peaks of PVP, carbonyl, and -CN groups were observed at  $1650\text{cm}^{-1}$  and  $1300\text{cm}^{-1}$ , respectively (Bandatang et al., 2021).



**Figure 2.** FTIR spectrums of PVP/PVA (25:75 % wt) (black line); PVP/PVA (50:50 % wt) (blue line); PVP/PVA (75:25 % wt) (red line).

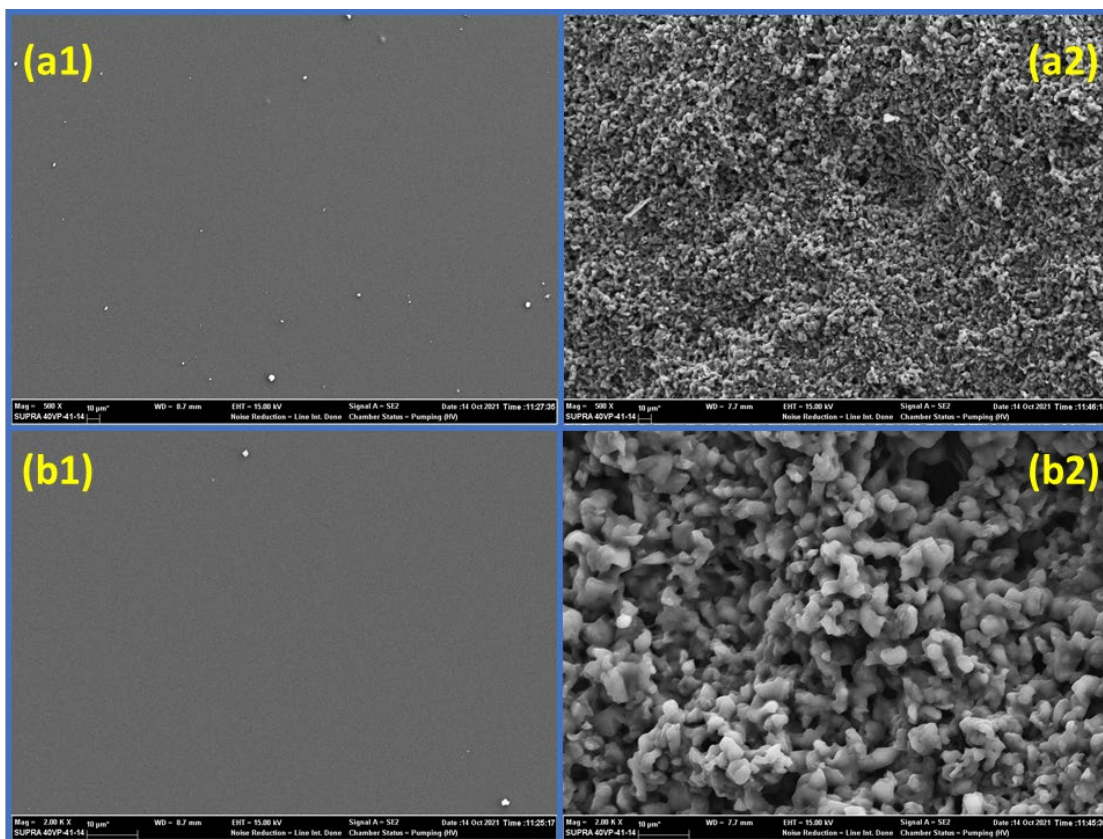


### SEM Results

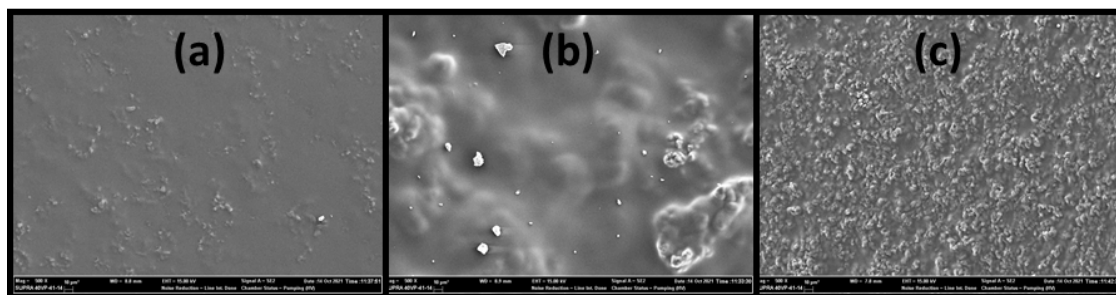
As the PVP ratio in the blends increased, the surface morphology of the films changed from homogeneous to heterogeneous. The porosity on the film surfaces was increased through the PVP additive. With increasing porosity, the mechanical strength of the films decreased and the transparent property of the films was lost. The film-forming ability of PVA decreased with increasing PVP amount in composites. Figure 3 shows SEM images of plain PVA and plain PVP at 500x and 2000x magnification, respectively. As seen in

Figure 3(a2 and b2), plain PVP which was obtained without the use of crosslinkers did not show film properties. While the homogeneous surface of PVA was evident in both magnifications, the film features of plain PVP were not observed.

In Figure 4, the morphological differences were seen with the amount of PVP in the blend increasing from left to right. In Figure 4(c), heterogeneous pore distribution on the surface of the film obtained by 75% PVP and 25% PVA blend is seen.



**Figure 3.** SEM images of plain PVA and PVP film at 500x magnification (a1 and b1, respectively); at 2000x magnification (a2 and b2, respectively).



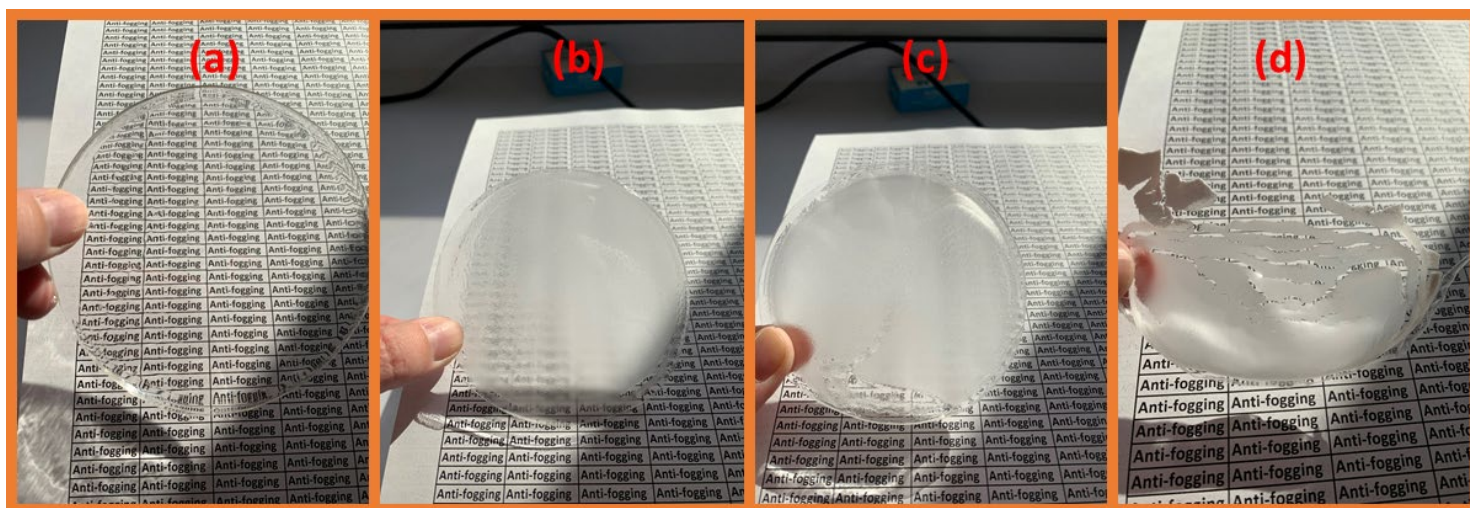
**Figure 4.** SEM images of (a) PVP/PVA (25:75 %wt); (b) PVP/PVA (50:50 %wt); (c) PVP/PVA (75:25 %wt) at 500x magnification.

### Transparency Tests

As seen in Figure 5, the visibility of the text placed under the obtained films was photographed to determine the transparency. It is seen in Figure 5(a) that the 100% PVA film is completely transparent. On the other hand, increased PVP additive in the blends engendered opacity in the films. Fig. 5(d) showed that the PVP/PVA with 75% PVP additive has lost its film form. As the amount of PVP increased in the films, the surface morphology lost its elasticity due to the increased heterogeneous porosity, as seen in the SEM images (Fig.4).

### Conclusion

PVA / PVP hydrogel films are transparent, flexible, and exhibit good mechanical properties. These biopolymer-based hydrogel films were produced without the use of toxic cross-linking agents. Significant differences of functional groups in FTIR spectra, and morphological evaluations of films obtained by SEM analysis. Composite biofilm with 25:75 ratios of PVP and PVA shows the best mechanical properties among all test specimens (i.e. 0:100; 25:75; 50:50; 75:25 and 100:0). Therefore, 25:75 %wt. PVP/PVA composite biofilm has been recognized as a useful food packaging material and further experiments with this particular composite biofilm are targeted.



**Figure 5.** Photograph of (a) plain PVA film (b) PVP/PVA (25:75 %wt.); (b) PVP/PVA (50:50 %wt.); (c) PVP/PVA (75:25 %wt.)

### Compliance with Ethical Standard

**Conflict of interests:** The author declares that for this article they have no actual, potential, or perceived conflict of interests.

**Ethics committee approval:** The author declares that this study does not include any experiments with human or animal subjects; therefore, no ethics committee approval is needed.

**Funding disclosure:** -

**Acknowledgments:** The author thanks Bilecik Seyh Edebali University, Central Research Laboratory for SEM and FTIR analysis.

**Disclosure:** -

### References

- Aloui, H., Khwaldia, K., Hamdi, M., Fortunati, E., Kenny, J.M. (2016). Synergistic effect of halloysite and cellulose nanocrystals on the functional properties of PVA-based nanocomposites. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(3), 794-800. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00806>
- Alves, N.M., Mano, J.F. (2008). Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43, 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2008.09.007>
- Bandatang, N., Pongsomboon, S., Jumpapaeng, P. (2021).

Antimicrobial electrospun nanofiber mats of NaOH-hydrolyzed chitosan (HCS)/PVP/PVA incorporated with in-situ synthesized AgNPs: Fabrication, characterization, and antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190, 585-600.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.209>

Batista, R.A., Judith, P., Espitia, P., Souza, J. De, Quintans, S., Machado, M., Cordeiro, J. (2019). Hydrogel as an alternative structure for food packaging systems. *Carbohydrate Polymers*, 205, 106-116.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.006>

Bellelli, M., Licciardello, F., Pulvirenti, A., Fava, P. (2018). Properties of poly (vinyl alcohol ) films as determined by thermal curing and addition of polyfunctional organic acids. *Food Packaging and Shelf Life*, 18, 95-100.

<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.10.004>

Bergmann, M. (2015). Marine Anthropogenic Litter. *Springer*, ISBN 978-3-319-16509-7.

<https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3>

Bodbodak, S., Rafiee, Z. (2016). Recent trends in active packaging in fruits and vegetables. In M. W. Siddiqui (Ed.), *Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality*, 77-125.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804313-4.00003-7>

Brine, T.O., Thompson, R.C. (2010). Degradation of plastic carrier bags in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2279-2283.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.005>

Caló, E., Khutoryanskiy, V.V. (2015). Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*, 65, 252-267.

<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024>

Carla, I., Souza, L., Fernandes, M., Souza, R.G. De, Cleveilton, J., Santos, D., Albuquerque-júnior, R.L.C. De. (2013). Effect of the maltodextrin-induced chemical reticulation on the physical properties and healing potential of collagen-based membranes containing Brazilian red propolis extract. *Global Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(1), 44-54.

Chang, C., Zhang, L. (2011). Cellulose-based hydrogels: Present status and application prospects. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 40-53.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.023>

Chen, Y., Tang, H., Liu, Y., Tan, H. (2016). Preparation and study on the volume phase transition properties of novel carboxymethyl chitosan grafted polyampholyte superabsorbent polymers. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 59, 569-577.

<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.09.011>

Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R.M., Chiellini, E. (2011). Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 36(8), 981-1014.

<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001>

Deligkaris, K., Tadele, T.S., Olthuis, W., Berg, A. Van Den. (2010). Hydrogel-based devices for biomedical applications. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 147(2), 765-774.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.03.083>

Dilkes-Hoffman, L.S., Lane, J.L., Grant, T., Pratt, S., Lant, P.A. (2018). Environmental impact of biodegradable food packaging when considering food waste. *Journal of Cleaner Production*, 180, 325-334.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.169>

Feng, E., Ma, G., Wu, Y., Wang, H., Lei, Z. (2014). Preparation and properties of organic-inorganic composite superabsorbent based on xanthan gum and loess. *Carbohydrate Polymers*, 111, 463-468.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.031>

Fischer, F., Bauer, S. (2009). Ein tausendsassa in der chemie polyvinylpyrrolidon. *Chem. Unserer Zeit*, 43, 376-383.

<https://doi.org/10.1002/ciuz.200900492>

Gregorova, A., Saha, N., Kitano, T., Saha, P. (2015). Hydrothermal effect and mechanical stress properties of carboxymethylcellulose based hydrogel food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 117, 559-568.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.009>

Guilherme, M.R., Aouada, F.A., Fajardo, A.R., Martins, A.F., Paulino, A.T., Davi, M.F.T., Muniz, E.C. (2015). Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. *European Polymer Journal*, 72, 365-385.

<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.017>

Gulrez, S.K., Al-Assaf, S., Phillips, G.O. (2021). Hydro-

gels: methods of preparation, characterization and applications. *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering—From Analysis and Modeling to Technology Applications*, 117-150.

<https://doi.org/10.5772/24553>

**Haghighi, H., Gullo, M., La, S., Pfeifer, F., Wilhelm, H., Licciardello, F., Pulvirenti, A. (2021).** Characterization of bio-nanocomposite films based on gelatin / polyvinyl alcohol blend reinforced with bacterial cellulose nanowhiskers for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 113, 106454.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106454>

**Haghighi, H., Kameni, S., Pfeifer, F., Wilhelm, H., Licciardello, F., Fava, P., Pulvirenti, A. (2020).** Food Hydrocolloids Development of antimicrobial films based on chitosan-polyvinyl alcohol blend enriched with ethyl lauroyl arginate (LAE) for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 100, 105419.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105419>

**Hebeish, A., Hashem, M., El-hady, M.M.A., Sharaf, S. (2013).** Development of CMC hydrogels loaded with silver nano-particles for medical applications. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 407-413.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.094>

**Hoare, T.R., Kohane, D.S. (2008).** Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, 49(8), 1993-2007.

<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.01.027>

**Jayakumar, A., Heera, K.V., Sumi, T.S., Joseph, M., Mathew, S., Praveen, G., Radhakrishnan, E.K., (2019).** Starch-PVA composite films with zinc-oxide nanoparticles and phytochemicals as intelligent pH sensing wraps for food packaging application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 395–403.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.018>

**Kabiri, K., Omidian, H., Zohuriaan-Mehr, M.J., Doroudiani, S. (2011).** Superabsorbent Hydrogel Composites and Nanocomposites: A Review. *Polymer Composites*, 32, 277-289.

<https://doi.org/10.1002/pc.21046>

**Kalia, S., (2016).** Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials. *Springer Series on Polymer and Composite Materials*, ISBN: 978-3-319-25322-0.

<https://doi.org/10.1007/978-3-319-25322-0>

**Kanatt, S.R., Rao, M.S., Chawla, S.P., Sharma, A. (2012).** Food Hydrocolloids Active chitosan e polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290-297.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.005>

**Keipert, S., Voigt, R. (1979).** Interactions between macromolecular adjuvants and drugs. Part 18: The binding behavior of sodium carboxymethylcellulose and other macromolecules towards streptomycin sulphate (author's transl). *Die Pharmazie*, 34(9), 548-551.

**Li, Y., Dong, Q., Chen, J., Li, L. (2020).** Effects of coaxial electrospun eugenol loaded core-sheath PVP / shellac fibrous films on postharvest quality and shelf life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 159, 111028.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111028>

**Mahdavinia, G.R., Mousavi, S.B., Karimi, F., Marandi, G.B., Garabaghi, H., Shahabvand, S. (2009).** Synthesis of porous poly ( acrylamide ) hydrogels using calcium carbonate and its application for slow release of potassium nitrate. *eXPRESS Polymer Letters*, 3(5), 279-285.

<https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2009.35>

**Nunes, P. S., Silva, A., Cristina, J., Souza, C. De, Vasconcelos, B., Monteiro, T., Araújo, D.S. (2016).** Gelatin-based membrane containing usnic acid-loaded liposome improves dermal burn healing in a porcine model. *International Journal of Pharmaceutics*, 513, 473-482.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.040>

**Park, K.S., Choi, E.M., Kim, J.Y., Choi, S.H., (2016).** Study on the containers and packaging of natural materials. *Food & Beverage Packaging*, 7, 7110.

<https://doi.org/10.4172/2157-7110.C1.039>

**Portillo-Rodríguez, B., Sanchez-Vasquez, J.D., Reyes-Reyes, M., Lopez-Sandoval, R. (2022).** The effect of the PVA hydrolysis degree on the electrical properties of organic resistive memories based on PVA + CNT composites. *Diamond & Related Materials*, 121, 108720.

<https://doi.org/10.1016/j.diamond.2021.108720>

**Porto, N., Carla, N., Cruz, S. (2017).** Usnic acid-incorporated alginate and gelatin sponges prepared by freeze-drying for biomedical applications. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 1707-1713.

<https://doi.org/10.1007/s10973-016-5760-8>

**Rodríguez-vázquez, M., Vega-ruiz, B., Ramos-zúñiga, R.,**

- Saldaña-koppel, D.A., Quiñones-olvera, L.F. (2015).** Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, 2015, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2015/821279>
- Saha, P., Gregorava, A., Saha, N., Kitano, T. (2015).** Hydrothermal effect and mechanical stress properties of carboxymethylcellulose based hydrogel food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 117, 559-568. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.009>
- Shkolnik, S. (1992).** Radiation effects on polymers (ACS Symposium Series 475), by R. L. Clough and S. W. Shalaby (eds), American Chemical Society, Washington, DC (1991), 633. *Polymers for Advanced Technologies*, 3, 191-192.
- Ng, W.L., Yeong, W.Y., Naing, M.W. (2016).** Development of polyelectrolyte chitosan-gelatin hydrogels for skin bioprinting. *Procedia CIRP*, 49, 105-112. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.09.002>
- Sunitha, N., Jeba Jeevitha R.S. (2017).** Study on the performance of PVA/PVP blends at different drying temperature. *International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology*, 233-238.
- Ullah, F., Othman, M.B.H., Javed, F., Ahmad, Z., Akil, H.M. (2015).** Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering C*, 57, 414-433. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.07.053>
- Volova, T.G., Boyandin, A.N., Vasiliev, A.D., Karpov, V.A., Prudnikova, S.V, Mishukova, O.V, Gitelson, I.I. (2010).** Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in tropical coastal waters and identification of PHA-degrading bacteria. *Polymer Degradation and Stability*, 95, 2350-2359. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.08.023>
- Wang, M., Xu, L., Hu, H., Zhai, M., Peng, J. (2007).** Radiation synthesis of PVP/CMC hydrogels as wound dressing. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 265, 385-389. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2007.09.009>
- World Health Organization (WHO) Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. (2004).** Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *World Health Organization*, ISBN: 9241209224, 922, 176.
- Yuan, P., Tan, D., Annabi-Bergaya, F. (2015).** Properties and applications of halloysite nanotubes: recent research advances and future prospects. *Applied Clay Science*, 112-113, 75-93. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2015.05.001>

## Vakumlu emdirim tekniği ile patates dilimlerinin C ve D vitaminlerince zenginleştirilmesi

Zehra GÜNEL

### Cite this article as:

Günel, Z. (2022). Vakumlu emdirim tekniği ile patates dilimlerinin C ve D vitaminlerince zenginleştirilmesi. *Food and Health*, 8(3), 181-192. <https://doi.org/10.3153/FH22018>

<sup>1</sup> Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi,  
Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, 42080,  
Konya, Türkiye

### ORCID IDs of the authors:

Z.G. 0000-0002-3431-7984

Submitted: 12.09.2021

Revision requested: 18.01.2022

Last revision received: 13.02.2022

Accepted: 14.02.2022

Published online: 06.05.2022

### Correspondence:

Zehra GÜNEL

E-mail:

[zehra.gunel@gidatarim.edu.tr](mailto:zehra.gunel@gidatarim.edu.tr)



© 2022 The Author(s)

Available online at  
<http://jfhscscientificwebjournals.com>

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı, vakumlu emdirim yöntemi ile patates dilimlerinin literatür çalışmalarınca insan sağlığı üzerine olan faydalı etkileri kanıtlanmış olan C ve D vitaminlerince zenginleştirilmesidir. Bu amaçla C ve D vitamini içeren solüsyonlarla vakumlu emdirim yapılan patates örneklerinin, vitamin içerikleri ile antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Ayrıca örnekler buharda ve derin yağda kızartılarak pişirilmiş, pişirme kayıpları belirlenmiş ve pişirilen örneklerle duyu analizler yapılmıştır. Vakumlu emdirim uygulanmamış patates dilimlerinin C vitamini içeriği  $14.13 \pm 0.08$  mg/100g olarak belirlenirken, vakumlu emdirme işlemi ile bu miktar %65 oranında artırılarak  $39.42 \pm 0.15$  mg/100g olarak belirlenmiştir. Patates dilimlerinin kontrol örneğinde tespit limit değerinin (LOD) altında olan D vitamini içerikleri vakumlu emdirim işlemi ile yaklaşık 6 kat artırılmıştır. Kontrol örneğine göre vakumlu emdirim uygulanan örneklerin antioksidan kapasite değerlerinde de artış (DPPH yönteminde yaklaşık %23 oranında ve ABTS yönteminde yaklaşık %6.5 oranında) gözlenmiştir. Buharda pişirme yönteminde vitamin içeriğinde oldukça düşük kayıplar gözlenirken, kızartma işleminde D vitamini içeriği yarı yarıya azalmıştır. Duyusal analizler sonucunda vakumlu emdirim uygulanan örneklerle kontrol örneği arasında istatistiki açıdan fark bulunamamıştır. Genel beğeni skorları değerlendirildiğinde panelistler tarafından en çok beğenilen örnekler derin yağda kızartılan örnekler olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Vakumlu emdirim, C vitamini, D vitamini, Patates dilimi

### ABSTRACT

#### Enrichment of potato slices with vitamins C and D by vacuum impregnation

This study aims to enrich the potato slices with vitamins C and D, whose beneficial effects on human health have been proven by literature studies, using the vacuum impregnation method. For this purpose, the vitamin contents and antioxidant capacities of potato samples vacuum impregnated with solutions containing vitamins C and D were determined. In addition, the samples were cooked by steaming and deep-fried, cooking losses were determined, and sensory analyzes were carried out on the cooked samples. While the vitamin C content of potato slices without vacuum impregnation was determined as  $14.13 \pm 0.08$  mg/100g, this amount was increased by 65% with the vacuum impregnation process and determined as  $39.42 \pm 0.15$  mg/100g. The vitamin D contents of the potato slices, which were below the limit of detection value (LOD) in the control sample, were increased approximately six times by the vacuum impregnation process. The antioxidant capacity values of the vacuum impregnated samples were also increased (approximately 23% in the DPPH method and approximately 6.5% in the ABTS method) compared to the control sample. While very low losses were observed in the vitamin content in the steam cooking method, the vitamin D content was reduced by half in the frying process. As a result of sensory analysis, no statistical difference was found between the vacuum-impregnated samples and the control sample. When the general appreciation scores were evaluated, the most liked samples by the panelists were deep-fried.

**Keywords:** Vacuum impregnation, Vitamin C, Vitamin D, Potato slices

## Giriş

Son yıllarda gıdaların sağlık üzerine faydaları gıda endüstrisinin ilgilendiği özel konulardan birisi haline gelmiştir. Bu nedenle gıda şirketleri sağlıklı bir yaşam tarzı için tüketici taleplerini karşılayan fonksiyonel gıdalara yönelmiştir. Literatürde fonksiyonel gıdalar, hastalıkları önleyen veya insan sağlığını destekleyen, ek faydalar sağlayan gıdalar olarak tanımlanmıştır (Menrad, 2003; Hironaka ve ark., 2015). Gıdaların mevcut vitamin ve mineral içeriğini arttırmak, insan sağlığına daha faydalı olabilecek yeni ürünler, bir diğer deyişle fonksiyonel gıdalar geliştirmek amacıyla günümüzde sıklıkla kullanılan tekniklerden biri vakumlu emdirim uygulamasıdır. Vakumlu emdirim yöntemi gıda materyalinin genellikle kapalı bir sistemde emdirilmesi istenen solüsyon içerisine bırakılıp, sisteme vakum uygulanması, uygulanan vakum ile gıda materyalinin porlarında bulunan gazın dışarı çıkması ve çıkan gazlardan boşalan gözeneklere atmosferik basınç altında emdirilmesi istenen sıvının doldurulması prensibine göre çalışmaktadır (Ursachi ve ark., 2009; Bellary ve ark., 2016; Yılmaz ve Ersus Bilek, 2017). Vakumlu emdirme işlemi uygulandığı gıda materyalinde önemli fizikokimyasal değişikliklere yol açan bir yöntem olup, günümüzde tuzlama işlemi (Chiralt vd., 2001), ozmotik dehidrasyon (Bellary vd., 2011; Adsare vd., 2016), pH düşürme (Derossi vd., 2010, 2013), probiyotik mikroorganizmalarca zenginleştirme (Betoret vd., 2003), farklı fonksiyonel bileşiklerce zenginleştirme (Barat vd., 2002; Park vd., 2005; Blanda vd., 2008; Hironaka vd., 2015;), C vitamini (Hironaka vd., 2011) ve D vitamini (Cortés vd., 2015) ile zenginleştirme amaçlarıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Nitekim son zamanlarda vakumlu emdirme yöntemi ile yapılan çalışmalar daha çok meyve ve sebzelerin vitamin ve mineraller açısından zenginleştirilmesine yönelik olmakta, zenginleştirme amacıyla kullanılan vitaminlerin başında da C ve D vitaminleri gelmektedir (Xie ve Zhao, 2003; Xie ve Zhao, 2004; Henríquez Arias vd., 2012; Duarte-Correa vd., 2020).

Literatür çalışmalarında insan vücudunda bir enfeksiyon başladığında serum ve lökosit C vitamini düzeylerinin azaldığı rapor edilmiş olup, enfeksiyon öncesi ve sırasında C vitamini takviyesinin hastalığın önlenmesi/hızlı atlatılabilmesi için elzem olduğu belirtilmiştir (Bauer ve ark., 2020). Konu ile alakalı yapılmış klinik çalışmalarda C vitamini takviyesinin solunum yolu viral enfeksiyonlarının şiddetini ve süresini azalttığı bildirilmiştir (Abobaker ve ark., 2020; Bauer ve ark., 2020). Ayrıca yapılan çalışmalar C vitamininin böbrek ve meme kanseri üzerinde faydalı etkileri bulunduğunu, C vitamini takviyesinin söz konusu kanser hücrelerini önemli ölçüde inhibe edebileceğini rapor etmişlerdir (Naidu, 2003). Bu nedenle C vitamini yönünden zengin gıdalarla beslenmenin

insan sağlığına önemli ölçüde faydalar sağlayacağı bildirilmiştir (Bendich ve Langseth, 1995; Naidu, 2003). Bunun dışında D vitamininin de literatür çalışmalarınca insan sağlığı üzerine pek çok faydalı etkisi olduğu bildirilmiş olup, özellikle alzheimer gibi nöropatik hastalıklara karşı koruyucu etki sağladığı rapor edilmiştir (Holick, 2011). D vitamininin bakterisit etkisinin yanı sıra rinovirüs ve influenza gibi virüsler üzerinde virüs etkisinin olduğu, zarlı virüslere karşı antiviral etki gösterdiği bildirilmiştir (Griffin ve ark., 2020). Tüm bu sebeplerden dolayı hem C hem de D vitamini takviyesi insan sağlığı için oldukça önemli olup, günlük beslenmede bulunmalarının pek çok hastalığa karşı koruyucu etki göstereceği bildirilmiştir (Abobaker ve ark., 2020; Bauer ve ark., 2020; Griffin ve ark., 2020). Söz konusu vitaminlerin günlük diyetle alınabilmesi için tüketilmesi gereken gıdalardan hem dünyada hem de ülkemizde en çok tüketilen (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019) sebzelerden birisi olan patates öne çıkmaktadır. Ancak literatür çalışmalarında patatesin C ve D vitaminleri açısından zengin bir sebze olmadığı (Singh ve Bradbury, 1988; Aburjai vd., 1998; Boland vd., 2003) var olan vitaminlerinin de kavurma, kızartma, fırınlama gibi ısı işlemlerinin etkisi ile neredeyse tamamının kaybolduğu bildirilmiştir (Burg ve Fraile, 1995).

Bu çalışmanın amacı günlük beslenmede hemen her hanede sıklıkla tüketilen patatesin vakumlu emdirim yöntemi ile C ve D vitaminlerince zenginleştirilmesidir. Bu bağlamda literatür çalışmalarınca C ve D vitaminleri açısından fakir olduğu bildirilen patatesin hem vakumlu emdirme ile vitamin içeriğinin artırılması hem de pişirme esnasında oluşan vitamin kayıplarının en aza indirilmesi amaç edinilmiştir.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Çalışmada kullanılan patatesler Uşak/Türkiye’de yer alan yerel bir marketten aynı hasat döneminden olmasına dikkat edilerek temin edilmiştir. Kızartma işlemi için kullanılan ayçiçeği yağı (Yudum, Türkiye) yerel bir firmadan satın alınmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan kimyasallar ve vitaminler (C vitamini 50-81-7 CAS numarası ve 200-066-2 EC numarası, D vitamini 67-97-0 CAS numarası ve 200-673-2 EC numarası) niteliğine uygun olarak analitik ve kromatografik safılıkta Merck (Darmstadt, Almanya) ve Sigma-Aldrich (St. Louis, ABD) firmalarından alınmıştır.

### Vakum İmpregnasyon İşlemi

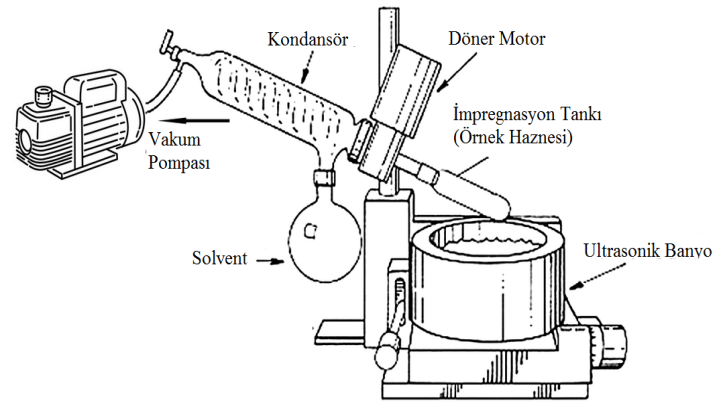
Vakumlu emdirim işleminde patates örneklerine emdirilecek olan solüsyonun hazırlanması için Duarte-Correa ve ark. (2020) tarafından uygulanan yöntem bazı modifikasyonlarla uygulanmıştır. Buna göre, %2 C vitamini ve %2 D vitamini

içeren emdirme solüsyonu hazırlanmıştır. (Vitaminlerin emdirme solüsyonu içerisindeki oranlarına ön denemeler ile karar verilmiştir. %0.5 ile %5 arasında farklı vitamin konsantrasyonlarına sahip on farklı solüsyon ile patates dilimlerine vakumlu emdirme yapılmış, %2'lik vitamin konsantrasyonundan sonra emilebilen vitamin miktarının aynı olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle çalışma kapsamında hem C vitamini hem de D vitamini için %2'lik konsantrasyon belirlenmiştir.) Söz konusu vitaminler %0.8 NaCl içeren izotonik bir sulu baz üzerinde emülsiyon haline getirilmiştir. Emülgatör olarak %0.05 oranında Tween 80 ve Span 60 kullanılmıştır. Emdirme solüsyonu için elde edilen karışım 20000 rpm hızda ve 3 dakika boyunca bir homojenizatör (T-25, IKA, Staufen, Almanya) yardımıyla homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemi olası ısınmayı engellemek amacıyla 3'er dakikalık dinlenme ile aynı koşullarda 3 defa tekrar edilmiştir. Ardından elde edilen emülsiyon bekletilmeksizin detayları Şekil 1'de gösterilen vakumlu emdirim sistemi içerisinde eklenmiştir. İmpregnasyon solüsyonunun hazırlanmasını takiben patates örnekleri soyulmuş ve dilimleyici yardımıyla 5x1x1 cm ebatlarında dilimlenmiştir. Dilimlenen patates örnekleri olası esmerleşmeyi önlemek amacıyla bekletilmeksizin vakumlu emdirim tankına ilave edilmiştir. Vakumlu emdirim işlemi için döner evaporatöre (Heidolph, Laborota 4000, Schwabach, Almanya) bir vakum pompası (Heidolph, Rotavac, Schwabach, Almanya) bağlanıp, sistem ultrasonik bir banyo (Bandelin Electronic, RK 100 H, Berlin, Almanya) ile desteklenmiştir (Şekil 1). Sisteme 75 mmHg vakum basıncı uygulanmış ve her 5 dakikalık uygulama arasında 2 dakikalık atmosfer basıncı döngüsü (restorasyon) tekrar edilmiştir. İşlem süresi toplam 30 dakika vakum basıncı olacak şekilde 5 defa dinlenme (atmosferik basınca bırakma) ile tamamlanmıştır. (Vakumlu emdirim işlemi boyunca vakuma maruz kalma süresinin etkisini ölçebilmek amacıyla her 5 dakikalık vakum uygulaması sonunda C ve D vitamini içerikleri belirlenmek üzere örnekler alınmıştır. Örnekler alınmadan restorasyon sürelerinin de dolması beklenmiştir) Vakumlu emdirim işlemi tamamlandıktan sonra analize tabi tutulacak örnekler ağzı kapalı polietilen poşetler içerisinde  $-18\pm 2$  °C sıcaklıkta saklanırken, pişirme işlemine tabi tutulacak örnekler fazla yüzey suları kağıt havlu yardımı ile alındıktan sonra pişirmeye alınmıştır. Analizlerde kontrol örneği olarak hiçbir işlem uygulanmamış patates dilimleri kullanılmıştır.

### Pişirme

Vakumlu emdirim işlemine tabi tutulan patates dilimleri buharda pişirme ve derin yağda kızartma olmak üzere 2 farklı pişirme işlemine tabi tutulmuştur. Buharda pişirme işlemi için 1000 W gücünde paslanmaz çelik bir buharda pişirici (Tolero, Fakir Hausgeräte, Stuttgart, Almanya) kullanılmıştır. Örnekler (20 adet patates dilimi) atmosferik basınç altında

25 dakika boyunca pişirilmiş, pişirme işleminin akabinde analize alınmıştır (Hironaka ve ark., 2014). Derin yağda kızartma işlemi için 1.2 litre ürün kapasiteli, 1800 W güçte çalışan ve döner kızartma haznesine sahip ticari bir fritöz (RotoFry F28311.W1, De'Longhi, Treviso, İtalya) kullanılmıştır. Fritöz içerisine yaklaşık 500 ml yağ yerleştirilmiş, yağ sıcaklığı  $165\pm 2$  °C olunca 20 adet patates dilimi kızarmaya bırakılmıştır. Kızartma işlemi boyunca homojen kızarmayı sağlamak amacıyla fritöz haznesi 300 rpm hızda döndürülmüş ve işlem 5 dakika sürmüştür (Moreira ve Almohaimed, 2018). Tüm pişirme işlemleri iki tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1. Vakumlu emdirim düzeneği

Figure 1. Vacuum impregnation apparatus

### C ve D Vitaminlerinin Belirlenmesi

Kontrol örnekleri ve vakumlu emdirim işlemi uygulanmış örneklerin C vitamini içeriklerini belirlemek amacıyla 2,4-dinitrofenilhidrazin kullanılan spektroskopik yöntem uygulanmıştır (İkanone ve Oyekan, 2014). C vitamini analizi için öncelikle %5 metafosforik asit-%10 asetik asit çözeltisi hazırlanmış, 15 g metafosforik asit (MFA) 40 ml asetik asit (AA) içerisinde çözündürülmüştür. Ardından 450 ml distile su karışıma ilave edilmiştir. Analiz edilecek örnekler bir ezici yardımıyla püre haline getirilmiş ve bu püreden 10 g örnek alınıp, 50 ml MFA-AA ile karıştırılmış ve homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırma işlemi devam ettirilmiştir. Elde edilen karışım 100 ml hacme sahip balon joje içerisine aktarılmış ve hacim MFA-AA ile çizgisine kadar tamamlanmıştır. Elde edilen miks filtre edilmiş ve berrak süzüntü C vitamini analizi için kullanılmıştır (Rahman ve ark., 2007). Örneklerin C vitamini içerikleri mg/100 g olarak ifade edilmiştir.

D vitamini yağda çözünen vitaminlerden biri olduğu (Barba ve ark., 2012) için örneklerin D vitamini içeriklerini belirlemek amacıyla öncelikle sabunlaştırma işlemi yapılmıştır. Sa-



bunlaştırma işlemi için bir ezici yardımıyla püre haline getirilmiş 5 g patates örneği 50 ml alkolik KOH (50 g KOH 50 ml distile su içerisinde çözündürüldükten sonra hacim %95'lik etanol ile 500 ml tamamlanmıştır) ile karıştırılmış ve bir homojenizatör yardımıyla 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen bulamaç 80-85 °C sıcaklıkta 1 saat boyunca ısıtılmış ve üzerine 50 ml saf su ilave edilerek soğutulmuştur. Ardından soğutulan bulamaç her biri 30 ml olmak üzere 3 defa hekzanla yıkanmıştır. Karışım hekzanla yıkama işleminden sonra her biri 50 ml olmak üzere 3 defa da saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra susuz sodyum sülfatla süzme işlemi yapılarak, elde edilen bulamaç döner buharlaştırıcıda kuruyana kadar buharlaştırılmıştır. Kuruyan tortu 5 ml hekzan içerisinde çözündürülüp, filtreden geçirildikten sonra D vitamini analizi için toplanmıştır (Singh ve Bradbury, 1988). Toplanan örneklerin D vitamini analizi için kromatografik yöntem kullanılmıştır (Barba ve ark., 2011; Barba ve ark., 2012). Örnekler LiChro-Spher C18 kolonda (5 µm, 25 x 0.4 cm), 1 mL/dk akış hızına sahip hareketli faz (hekzan-kloroform, 50:50) yardımıyla HPLC'de (HP1100, Agilent, Waldbronn, Almanya) analiz edilmiş, bireysel pikler SPD-M20A Diode Array dedektör ile tespit edilmiştir. Analizde kolekal-siferol internal standart (0-10 µg) olarak kullanılmış olup, örneklerin D vitamini içerikleri µg/kg cinsinden ifade edilmiştir. D vitamininin kromatografik yöntemle analizinde gözle- nebilme sınırı (LOD) 0.80 µg/kg olarak belirlenirken, tayin sınırı (LOQ) 1.00 µg/kg olarak hesaplanmıştır.

### **Antioksidan Kapasite**

Vakumlu emdirim işlemi ile C ve D vitamini açısından zenginleştirilen patates dilimlerinin antioksidan kapasitelerindeki değişimi belirlemek amacıyla DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil ve ABTS (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit) olmak üzere 2 farklı metot kullanılmıştır. Her iki metot için de Reddivari ve ark. (2007) tarafından kullanılan yöntem uygulanmıştır. Örneklerin antioksidan kapasiteleri µg Trolox eş- değeri/g cinsinden ifade edilmiştir.

### **Duyusal Analiz**

Vakumlu emdirim yöntemi ile C ve D vitamini içerikleri artırılmış olan patates örnekleri buharda pişirilmiş ve derin yağda kızartılmış olarak duyusal analize tabi tutulmuştur. Ayrıca vakumlu emdirim uygulanmamış ancak buharda pişirme ve derin yağda kızartma işlemleri uygulanmış olan kontrol örnekleri de duyusal analizlerde kullanılmıştır. Duyusal analizlerde temel olarak C ve D vitamini içeriği vakumlu emdirim ile arttırılan patates örneklerinin duyusal karakteristiklerinin kontrol örneği ile benzer/aynı olması, vakumlu emdirim ile söz konusu karakteristiklerin değiştirilmemesi amaç edilmiştir. Duyusal analiz, patatesin karakteristik özellikleri konusunda önceden bilgilendirilmiş 25-50 yaş aralığında 7'si

erkek 5'i kadın toplamda 12 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizlerde panelistlerden 1 ile 9 (1-çok kötü ve 9-çok iyi) arasında puanlama sistemine sahip, patatesin duyusal özelliklerini (görünüş, tat, koku, renk, aroma, genel beğeni) analiz eden bir formu doldurmaları istenmiştir (Bough ve ark., 2020). Duyusal analizler iki paralel şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **İstatistiksel Analiz**

Vakumlu emdirim işlemi üç tekerrürlü ve analizler ise iki paralelli olarak yürütülmüştür. Analiz sonuçları varyans analizi (SPSS paket programı, Versiyon 23.0, IBM, New York, ABD) ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi (SAS, Windows V7, SAS Enstitüsü, Cary, NC, ABD) kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

## **Bulgular ve Tartışma**

### **Patates dilimlerinin C ve D Vitamini İçerikleri**

Vakumlu emdirim yöntemi ile C vitamini açısından zenginleştirilmiş patates dilimlerine ait veriler Tablo 1'de yer almaktadır. Patates dilimlerine vakumlu emdirim uygulamasının patates dilimlerinin C vitamini içeriği üzerinde istatistiki açıdan önemli ( $p < 0.01$ ) etkisi bulunmuştur (Tablo 1). Benzer şekilde vakum uygulama süresinin de patates dilimlerinin C vitamini içerikleri üzerinde istatistiki açıdan önemli ( $p < 0.01$ ) etki gösterdiği bulgulanmıştır. Tabloda yer alan sonuçlara göre, kontrol örneğinin C vitamini içeriği  $14.13 \pm 0.08$  mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Bu veri literatürde daha önce patates ile yapılmış çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur (Burg ve Fraile, 1995; Külen vd., 2013). Vakumlu emdirim uygulaması ile 30 dakikalık işlem süresi sonunda patates dilimlerinin C vitamini içeriği yaklaşık %65 oranında arttırılarak  $39.42 \pm 0.15$  mg/100 g seviyesine ulaşmıştır. Vakum uygulama süresindeki artışla birlikte örneklerin C vitamini içeriklerinin arttığı, 10. dakikadan itibaren ise daha keskin bir artış gösterdiği saptanmıştır. Literatür çalışmalarında vakum uygulamaları arasında uygulanan restorasyonun da oldukça önemli bir parametre olduğu, vakum uygulaması ile gevşeyen/deforme olan porlara asıl kütle transferinin restorasyon sırasında gerçekleştiği bildirilmiştir (Hironaka vd., 2011; Panarese vd., 2013; Yılmaz ve Ersus Bilek, 2017). Nitekim konu ile alakalı yapılan çalışmalarda vakumlu emdirim yönteminde emdirilmesi istenen sıvının gıda materyaline geçişini, vakum uygulamasından çok restorasyon periyodunun etkilediği rapor edilmiştir (Panarese vd., 2013; Senturk Parreidt vd., 2018). Bu verilere dayanarak, minimum 10 dakikalık bir vakum uygulaması ve bu vakum uygulamaları arasında verilen 4 dakikalık bir restorasyon süresi ile patates porlarındaki havanın boşaltılabileceği, söz konusu bu boşluklara 10. daki-

kadan sonra vakumlu emdirim solüsyonunun emdirilebileceği öngörülmüştür. Nitekim literatürde yapılan benzer çalışmalarda da patates porlarındaki havanın boşaltılabilmesi ve emdirim solüsyonunun porlara emdirilebilmesi için gerekli bir minimum basınç ve restorasyon süresi (patates çeşidi ve türüne göre değişmekle birlikte) olduğu bildirilmiştir (Hironaka vd., 2011; Hironaka vd., 2014; Hironaka vd., 2015).

Mevcut çalışmada patates dilimlerinin C vitamini içeriğini yaklaşık %65 oranında arttırabilmek için gerekli olan vakumlu emdirim süresi 30 dakika vakum ve 10 dakika restorasyon olarak belirlenmiş olup, bu süre literatürde patates ile

yapılmış olan çalışmalarda belirtilen vakum uygulama sürelerinden neredeyse 2 kat daha düşüktür (Hironaka vd., 2014; Hironaka vd., 2015). Bu durumun temel sebebinin patates dilimlerinin boyutu olduğu düşünülmektedir. Zira Salvatori ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada 2 cm kalınlığa sahip meyve ve sebze dilimlerinin, daha yüksek kalınlıklara sahip meyve ve sebze dilimlerine göre vakum uygulamasına daha hızlı yanıt verdiğini, emdirim solüsyonunun boşalmış porlara daha hızlı dolduğunu rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmada kullanılan patates dilimleri 1 cm kalınlığa sahip olduğu için, bazı literatür çalışmalarından daha kısa sürede vakumlu emdirim işleminin tamamlandığı düşünülmüştür.

**Tablo 1.** Vakumlu emdirim uygulanan patates dilimlerinin C ve D vitamini içerikleri

**Table 1.** Vitamin C and D contents of vacuum impregnated potato slices

Uygulanan işlem	C vitamini (mg/100 g)	D vitamini (µg/kg)	Antioksidan Kapasite (µg Trolox eşdeğeri/g)	
			DPPH	ABTS
Kontrol	14.13 <sup>b</sup> ±0.08	<LOD <sup>b</sup>	270.56 <sup>b</sup> ±10.45	931.55 <sup>b</sup> ±18.56
Vakumlu emdirim	39.42 <sup>a</sup> ±0.15	6.30 <sup>a</sup> ±0.00	350.56 <sup>a</sup> ±22.51	996.58 <sup>a</sup> ±24.45
Önem Düzeyi	**	**	**	**
<b>Vakum Süresi (dk)</b>				
0	14.13 <sup>f</sup> ±0.08	<LOD <sup>f</sup>	270.56 <sup>f</sup> ±10.45	931.55 <sup>f</sup> ±18.56
5	14.18 <sup>f</sup> ±0.06	<LOD <sup>e</sup>	275.46 <sup>ef</sup> ±10.02	935.51 <sup>ef</sup> ±12.51
10	14.59 <sup>e</sup> ±0.05	<LOD <sup>de</sup>	282.58 <sup>e</sup> ±11.06	941.23 <sup>e</sup> ±10.47
15	16.22 <sup>d</sup> ±0.11	1.02 <sup>d</sup> ±0.01	321.21 <sup>d</sup> ±10.14	957.88 <sup>d</sup> ±14.75
20	20.26 <sup>c</sup> ±0.13	3.52 <sup>c</sup> ±0.04	333.57 <sup>c</sup> ±10.05	971.01 <sup>c</sup> ±10.09
25	26.56 <sup>b</sup> ±0.22	4.90 <sup>b</sup> ±0.02	341.86 <sup>b</sup> ±18.45	982.07 <sup>b</sup> ±17.06
30	39.42 <sup>a</sup> ±0.18	6.30 <sup>a</sup> ±0.07	350.56 <sup>a</sup> ±22.45	996.58 <sup>a</sup> ±24.45
Önem Düzeyi	**	**	**	**

\*\*p<0.01; LOD: Tespit limiti; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli etki ifade eder.

Tablo 1’de yer alan sonuçlara göre vakumlu emdirim işleminin patates dilimlerinin D vitamini içerikleri üzerinde istatistiki açıdan önemli ( $p<0.01$ ) etkisi olduğu görülmüştür. Vakumlu emdirim işleminde artan vakum uygulama süresinin de örneklerin D vitamini içeriklerine istatistiki açıdan önemli ( $p<0.01$ ) etki gösterdiği bulunmuştur. Mevcut çalışmada D vitamini analizi için LOD değeri 0.80 µg/kg olarak belirlenmiş olup, kontrol örneğinde D vitamini miktarı LOD değerinin altında kaldığı için hesaplanamamıştır. Patatesin, tür ve cinsine göre değişmekle birlikte, D vitamini açısından fakir bir sebze olduğu literatür çalışmalarında da rapor edilmiştir (Singh ve Bradbury, 1988; Aburjai vd., 1998; Boland vd., 2003). Mevcut çalışmada D vitamini açısından fakir bir sebze olan patatesin vakumlu emdirim yöntemi ile D vitamini içeriği yaklaşık 6 kat arttırılarak, 6.30 µg/kg seviyesine ulaşmıştır. Vakum uygulama süresindeki artış ile birlikte D vitamini içeriği de artış göstermiş, C vitamininin vakumlu emdiriminde karşılaşılan durum ile benzer şekilde bu artış 10. dakı-

kadan sonra daha keskin olmuştur. Bu sonuçlardan yola çıkılarak patatesin vakumlu emdirim ile D vitamini içeriğinin arttırılabilmesi için uygulanması gereken minimum 10 dakikalık vakum ve bu vakumlar arasında minimum 4 dakikalık bir restorasyon süresi olması gerektiği belirlenmiştir. Literatürde patates dilimlerine D vitamini solüsyonunun vakumlu emdirim ile emdirildiği bir çalışmaya rastlanmamasına rağmen, patates örneklerine farklı vitamin ve mineral solüsyonlarının emdirildiği çalışmalarda da aşılması gereken minimum bir vakum süresi ve vakum süreleri arasında uygulanması gereken minimum restorasyon süresi olduğu rapor edilmiştir (Joshi vd., 2016).

Vakumlu emdirim uygulaması sırasında negatif basınç sebebiyle örneklerin porlarındaki dahili gazın genleştiği ve kılcal penetrasyon ile kısmen dışarı aktığı bilinmektedir. Her bir vakum uygulaması arasında uygulanan restorasyon (2 dakikalık atmosferik basınca bırakma) sırasında da basınç artışı nedeniyle gaz sıkışmakta ve emdirim solüsyonu gözeneklere emdirilmektedir (Zhao ve Xie, 2014; Mashkour vd., 2018). Söz

konusu bu mekanizma ile patates dilimlerine C ve D vitaminlerinin emdirildiği düşünülmektedir. Ayrıca mevcut çalışmada vakumlu emdirim düzeneğinin ultrasonik banyo ile desteklenmesinin de vakumlu emdirim sürecini hızlandırdığı düşünülmüştür. Literatür çalışmalarında da belirtildiği üzere ultrason uygulamasının kavitasyon sebebiyle bitki dokusunun geçirgenliğini arttırdığı, geçirgenliği artan dokulardan da emdirim solüsyonunun rahatlıkla geçebildiği gözlenmiştir (Yılmaz ve Ersus Bilek, 2018; Mashkour vd., 2018).

### Antioksidan Kapasite

Literatürde konu ile ilgili yapılmış çalışmalarda C ve D vitaminlerinin oldukça yüksek antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Padayatty vd., 2003; Mokhtari vd., 2016). Mevcut çalışmada vakumlu emdirim ile C ve D vitamini solüsyonu emdirilen patates dilimlerinin antioksidan kapasitelerindeki değişim incelenmiş, analiz sonuçları Tablo 1’de verilmiştir. Şekilde yer alan sonuçlara göre kontrol örneğinin antioksidan kapasite değerleri DPPH ve ABTS analizleri sonucunda sırasıyla 270.56 ve 931.55 µg Trolox eşdeğeri/g olarak hesaplanmıştır. Vakumlu emdirim işlemi sonucunda C ve D vitaminlerinin antioksidan kapasitesinin yüksek olmasından dolayı patates dilimlerinin de antioksidan kapasite değerleri yaklaşık olarak %23 oranında artmıştır. Vakumlu emdirim uygulanan patates dilimlerinin DPPH ve ABTS sonuçları ise sırasıyla 350.56 ve 996.58 µg Trolox eşdeğeri/g olarak belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre vakumlu emdirim uygulamasının patates dilimlerinin antioksidan kapasite değerleri üzerinde istatistiki açıdan önemli ( $p<0.01$ ) etki gösterdiği bulunmuştur.

Literatürde vakumlu emdirim ile doğrudan patatesin antioksidan kapasitesinin geliştirildiği bir çalışmaya rastlamamakla birlikte, vakumlu emdirim ile farklı meyve ve sebzelerin antioksidan kapasitesinin geliştirildiği çalışmalar mevcuttur. Söz konusu bu çalışmalardan birinde aronya (chokeberry) adı

verilen bir meyvenin elma-armut suyu karışımı ile vakumlu emdirimi yapılmış, çalışma sonunda meyvenin antioksidan kapasitesinin yükseldiği bildirilmiştir (Nawirska-Olszańska vd., 2020). Bir diğer çalışmada ise farklı konsantrasyondaki bal solüsyonları ile impregne edilen elma dilimlerinin vakumlu emdirim işlemi ile konsantrasyona bağlı olarak antioksidan kapasitesinin arttığı rapor edilmiştir (Röfle vd., 2011).

### Pişirme İşleminin C ve D Vitaminini İçeriği Üzerine Etkisi

Vakumlu emdirim yöntemi ile C ve D vitaminleri açısından zenginleştirilen patates dilimleri, C ve D vitamini içeriklerindeki değişimi belirleyebilmek amacıyla buharda pişirme ve derin yağda kızartma yöntemleri ile pişirilmiştir. Pişirilmiş patates örneklerinin antioksidan kapasite, C vitamini ve D vitamini içeriklerindeki değişim Tablo 2’de verilmiştir. Tabloda yer alan sonuçlara göre, pişirme işleminde vakumlu emdirim uygulanan patates dilimlerinin antioksidan kapasite, C vitamini ve D vitamini değerlerindeki değişim ile kontrol örneğinde meydana gelen değişimler arasında istatistiki açıdan önemli ( $p<0.01$ ) fark bulunmuştur. Aynı zamanda buharda pişirme ve derin yağda kızartma işlemleri arasında da istatistiki açıdan önemli ( $p<0.01$ ) fark olduğu belirlenmiştir.

Vakumlu emdirim uygulanan patates dilimlerinin antioksidan kapasitesindeki en yüksek kayıp yaklaşık %7’lik bir değerle kızartma uygulanan örneklerde gözlenmiştir. Kontrol örneklerinde ise kızartma işlemi yapılan örneklerde yaklaşık %25’lik bir kayıp gözlenmiştir. Pişirme işlemi sonrasında vakumlu emdirim uygulanan örneklerin antioksidan kapasite değerlerinde kontrol örneğine göre daha az kayıplar olduğu belirlenmiştir. Ayrıca buharda pişirme yöntemi ile pişirilen örneklerin (hem kontrol hem de vakumlu emdirim uygulanan örnekler) antioksidan kapasite değerlerinin kızartma yöntemi ile pişirilen örneklere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 2.** Pişirmenin patates dilimlerinin antioksidan kapasite, C vitamini ve D vitamini değerlerine etkisi

**Table 2.** The effect of cooking on antioxidant capacity, vitamin C and vitamin D values of potato slices

Pişirme Yöntemi	C vitamini (mg/100 g)	D vitamini (µg/kg)	Antioksidan kapasite (µg Trolox eşdeğeri/g)	
			DPPH	ABTS
Kontrol-B	14.06 <sup>c</sup> ±0.06	<LOD <sup>c</sup>	250.41 <sup>c</sup> ±12.11	876.50 <sup>c</sup> ±9.59
Kontrol-K	13.75 <sup>d</sup> ±0.07	<LOD <sup>c</sup>	201.03 <sup>d</sup> ±11.16	721.48 <sup>d</sup> ±10.00
VE-B	39.03 <sup>a</sup> ±0.02	6.04 <sup>a</sup> ±0.20	337.56 <sup>a</sup> ±12.52	961.77 <sup>a</sup> ±11.10
VE-K	38.21 <sup>b</sup> ±0.06	3.52 <sup>b</sup> ±0.08	325.45 <sup>b</sup> ±11.13	936.13 <sup>b</sup> ±9.85
Önem Düzeyi	**	**	**	**
<b>Ön İşlem</b>				
Kontrol	14.09 <sup>b</sup> ±0.04	<LOD <sup>b</sup>	243.52 <sup>b</sup> ±10.03	903.78 <sup>b</sup> ±10.04
VE	39.27 <sup>a</sup> ±0.09	6.18 <sup>a</sup> ±0.10	341.13 <sup>a</sup> ±10.78	982.01 <sup>a</sup> ±11.13
Önem Düzeyi	**	**	**	**

\*\* $p<0.01$ ; LOD: Tespit limiti; VE: Vakumlu emdirim; B: Buharda pişirme, K: Derin yağda kızartma

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli etki ifade eder.

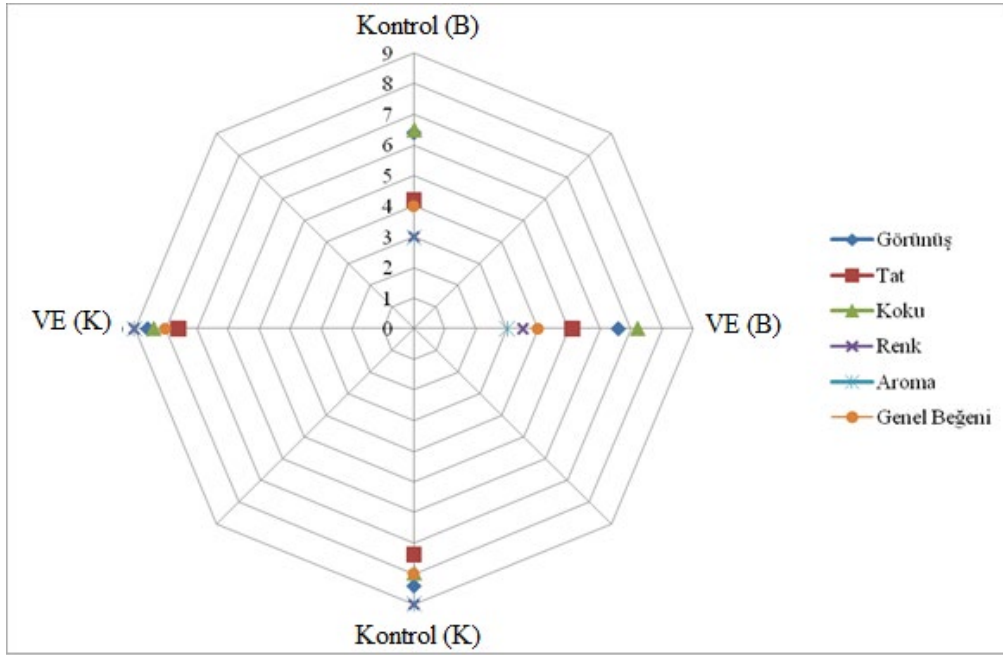
Kontrol örneği ve vakumlu emdirim uygulanan örneklerin C vitamini içeriklerinde istatistiki açıdan önem arz etmekle birlikte oldukça küçük değişiklikler belirlenmiştir. Antioksidan kapasitede elde edilen verilere benzer şekilde vakumlu emdirim uygulanan örneklerdeki kayıp kontrol örneğine göre daha düşük kalmıştır. Ayrıca buharda pişirilen örneklerin C vitamini içeriklerindeki kaybın kızartma ile pişirilen örneklere göre daha düşük olduğu bulgulanmıştır.

Kontrol örneğinin D vitamini içeriği LOD değerinin altında kaldığı için tespit edilememiş olup, vakumlu emdirim uygulanan örneklerin D vitamini içerikleri pişirme yöntemine göre değişen değerlerde hesaplanmıştır. Buarda pişirme işlemi kızartma işlemine göre patateslerin D vitamini içeriğinde nispeten daha az değişime neden olurken, kızartılan örneklerin D vitamini içerikleri yaklaşık 2 kat azalmıştır. Kızartma işleminde karşılaşılan bu büyük kaybın temel sebebinin D vitamininin yağda çözünen bir vitamin (Barba ve ark., 2012) olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Doğrudan konu ile alakalı literatürde yapılmış bir çalışmaya rastlanılmasa da benzer çalışmalarda buharda pişirme yönteminin derin yağda kızartma işlemine göre vitamin ve mineral kayıplarını önlemede daha etkili bir yöntem olduğu rapor edilmiştir (Moreira ve Almohaimeed, 2018). Ayrıca vakumlu emdirim yönteminde hücreler arası ve hücre içi boşluklara emdirim solüsyonunun doldurulması ile porlarda dışarı sızacak suyun azalması, vitamin ve mineral kayıplarının pişirme işleminde dahi minimize edilebileceği de literatür çalışmalarında bildirilmiştir (Hironaka vd., 2011; Hironaka vd., 2013; Hironaka vd., 2014; Moreira ve Almohaimeed, 2018). Bu bağlamda mevcut çalışmada elde edilen veriler literatür çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur.

### *Duyusal Analiz*

Vakumlu emdirim ile C ve D vitamini açısından zenginleştirilen patates dilimleri ve herhangi bir işlem uygulanmayan kontrol örnekleri buharda pişirme ve derin yağda kızartma olmak üzere iki farklı yöntemle pişirilmiş ve 10 kişilik bir panelist grubu tarafından duyuşal değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Örneklerin duyuşal analiz sonuçlarına ilişkin verilen Şekil 2 ve Tablo 3'te yer almaktadır. Analiz sonuçlarına göre vakumlu emdirim uygulamasının patates dilimlerinin duyuşal karakteristikleri üzerinde istatistiki açıdan önemli ( $p>0.01$ ) bir etkisi gözlenmemiştir. Bunun yanı sıra buharda pişirme ve derin yağda kızartma işlemleri arasında istatistiki açıdan önemli ( $p<0.01$ ) bir farklılık belirlenmiştir. Vakumlu emdirim uygulamasında tüketici beğenisindeki temel amaç vakumlu emdirim işlemi uygulanan örneklerin şayet emdirim solüsyonu kokusuz ve/veya tatsız ise örneğin duyuşal karakteristiklerini değiştirmemesidir (Park vd., 2005; Joshi vd., 2010). Mevcut çalışmada da duyuşal analizlerde temel amaç kontrol örnekleri ile vakumlu emdirim işlemi uygulanmış örneklerin duyuşal karakteristiklerinin farklı olmamasıdır. Bu bağlamda duyuşal analizler sonucunda panelistlerin verdiği puanlara göre, kontrol örneği ile vakumlu emdirim uygulanan örnekler arasında fark gözlenmemiş olup, pişirme yöntemleri arasında fark belirlenmiştir. Tüm duyuşal parametrelerde derin yağda kızartılmış örneklere en yüksek puanlar verilmiş olup, genel beğenide de kızartılan örnekler buharda pişirilen örneklerden yaklaşık 2 kat fazla puan almıştır. Tüketicilerin alışkın olduğu parlak sarı/hafif kırmızı kızarmış patates rengi buharda pişirme yöntemi ile elde edilemediği için özellikle renk ve aroma parametrelerinde buharda pişirilmiş örnekler düşük puanlar almıştır. Literatürde konu ile alakalı yapılmış çalışmalarda kızartma işlemi ile bazı fonksiyonel bileşiklerin azalabildiği, ancak duyuşal parametreler konusunda tüketiciler tarafından kızartılan örneklerin beğenildiği rapor edilmiştir (Moreira ve Almohaimeed, 2018; Lopez ve Moreira, 2019).



**Şekil 2.** Buharda (B) ve derin yağda kızartma (K) ile pişirilen kontrol ve vakumlu emdirim (VE) uygulanmış patates dilimlerinin duyu analizi sonuçları

**Figure 2.** Sensory analysis results of control and vacuum impregnated (VE) potato slices cooked by steaming (B) and deep frying (K)

**Tablo 3.** Pişirilmiş patates örneklerine ait duyu analizi sonuçları

**Table 2.** Sensory analysis results of cooked potato samples

Piştirme Yöntemi	Görünüş	Tat	Koku	Renk	Aroma	Genel Beğeni
Kontrol-B	6.40 <sup>d</sup> ±0.01	4.22 <sup>d</sup> ±0.00	6.52 <sup>c</sup> ±0.04	3.02 <sup>c</sup> ±0.05	3.11 <sup>b</sup> ±0.08	4.01 <sup>b</sup> ±0.02
Kontrol-K	8.42 <sup>b</sup> ±0.03	7.41 <sup>b</sup> ±0.04	8.08 <sup>a</sup> ±0.05	9.00 <sup>a</sup> ±0.00	8.98 <sup>a</sup> ±0.02	8.88 <sup>a</sup> ±0.06
VI-B	6.63 <sup>c</sup> ±0.02	5.12 <sup>c</sup> ±0.06	7.22 <sup>b</sup> ±0.04	3.52 <sup>b</sup> ±0.02	3.14 <sup>b</sup> ±0.00	4.06 <sup>b</sup> ±0.00
VI-K	8.62 <sup>a</sup> ±0.00	7.63 <sup>a</sup> ±0.02	8.11 <sup>a</sup> ±0.03	9.00 <sup>a</sup> ±0.00	9.00 <sup>a</sup> ±0.00	8.82 <sup>a</sup> ±0.00
Önem Düzeyi	**	**	*	*	*	*
Uygulanan Yöntem						
Kontrol	7.63 <sup>a</sup> ±0.02	7.03 <sup>a</sup> ±0.04	8.04 <sup>a</sup> ±0.00	6.07 <sup>a</sup> ±0.07	6.14 <sup>a</sup> ±0.04	6.22 <sup>a</sup> ±0.02
VI	7.57 <sup>a</sup> ±0.03	7.09 <sup>a</sup> ±0.02	8.07 <sup>a</sup> ±0.04	6.04 <sup>a</sup> ±0.02	6.11 <sup>a</sup> ±0.08	6.27 <sup>a</sup> ±0.00
Önem Düzeyi	-	-	-	-	-	-

\*\*p<0.01; VI: Vakumlu emdirim; B: Buharda piştirme, K: Derin yağda kızartma  
Aynı sütundaki farklı harfler istatistikî açıdan önemli etki ifade eder.

## Sonuç

Vakumlu emdirim yöntemi ile insan sağlığına pek çok faydaları bulunan C ve D vitaminlerince, dünyada en çok tüketilen sebzelere birisi olan patatesin zenginleştirilmesinin amaçlandığı bu çalışmada, elde edilen son ürünlerdeki bazı değişimler incelenmiştir. Çalışma sonucunda patates dilimlerinin vakumlu emdirim yöntemi ile C ve D vitaminleri açısından başarılı bir şekilde zenginleştirilebileceği, söz konusu vitaminlerin antioksidan etkilerinden dolayı patates dilimlerinin antioksidan etkilerinin de artırılabilirliği gözlenmiştir. Nitekim vakumlu emdirim uygulanan patates dilimlerinin C vitamini içerikleri %65 oranında artırılırken, D vitamini içeriklerinde yaklaşık 6 katlık bir artış belirlenmiştir. Ayrıca buharda pişirme ve yağda kızartma olmak üzere iki farklı teknikle pişirilen patates dilimlerinin pişirme sonrası da vitamin içeriklerini belirli bir seviyede koruyabildiği belirlenmiştir. Buharda pişirme yönteminde daha yüksek oranda vitamin korunumu gözlenirken, kızartma işleminde vakumlu emdirim uygulanan patates dilimlerinin D vitamini içeriklerinin yarı yarıya azaldığı gözlenmiştir. Tüm bunların yanı sıra yapılan duyu analizler sonucunda vakumlu emdirim uygulanan patates dilimlerinin kontrol örneğine göre farklılık arz etmediği, tat ve koku gibi kalite karakteristiklerinin değişmediği gözlenmiştir. Sonuç olarak, günlük diyetinde en çok tüketilen sebzelerden biri olan patatesin vakumlu emdirim yöntemi ile C ve D vitamini açısından zengin bir besine başarıyla dönüştürülebileceği görülmüştür. Gelecek çalışmalarda vakumlu emdirim uygulamasını etkileyen en önemli parametrelerden olan restorasyon süresi ve farklı vakum güçleri üzerinde çalışmalar gerçekleştirilebilir. Daha yüksek vakum gücü ve daha uzun restorasyon süresi uygulamaları ile patates dilimlerinin vakumlu emdirim süresinin kısaltılması çalışılabilir. Ayrıca ultrasonik destekli sistemde farklı ultrasonik güçler çalışılarak, kavitasyon gücünün patates dilimlerine emdirilen vitamin miktarı üzerindeki etkisi incelenebilir.

## Etik Standart ile Uyumluluk

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Etik izin:** Araştırma niteliği bakımından etik izne tabii değildir.

**Finansal destek:** -

**Teşekkür:** -

**Açıklama:** -

## Kaynaklar

**Abobaker, A., Alzwi, A., Alraied, A.H.A. (2020).** Overview of the possible role of vitamin C in management of COVID-19. *Pharmacological Reports*, 1-12.

<https://doi.org/10.1007/s43440-020-00176-1>

**Aburjai, T., Al-Khalil, S., Abuirjeie, M. (1998).** Vitamin D3 and its metabolites in tomato, potato, egg plant and zucchini leaves. *Phytochemistry*, 49(8), 2497-2499.

[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00246-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00246-5)

**Barat, J.M., Talens, P., Barrera, C., Chiralt, A., Fito, P. (2002).** Pineapple candying at mild temperature by applying vacuum impregnation. *Journal of Food Science*, 67(8), 3046-3052.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08857.x>

**Barba, F.J., Esteve, M.J., Frígola, A. (2011).** Determination of vitamins E ( $\alpha$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherol) and D (cholecalciferol and ergocalciferol) by liquid chromatography in milk, fruit juice and vegetable beverage. *European Food Research and Technology*, 232(5), 829-836.

<https://doi.org/10.1007/s00217-011-1450-8>

**Barba, F.J., Esteve, M.J., Frígola, A. (2012).** Impact of high-pressure processing on vitamin E ( $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -tocopherol), vitamin D (cholecalciferol and ergocalciferol), and fatty acid profiles in liquid foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(14), 3763-3768.

<https://doi.org/10.1021/jf205355h>

**Bauer, S.R., Kapoor, A., Rath, M., Thomas, S.A. (2020).** What is the role of supplementation with ascorbic acid, zinc, vitamin D, or N-acetylcysteine for prevention or treatment of COVID-19?. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 1-3.

<https://doi.org/10.3949/ccjm.87a.ccc046>

**Bellary, A.N., Indiramma, A.R., Prakash, M., Baskaran, R., Rastogi, N.K. (2016).** Anthocyanin infused watermelon rind and its stability during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 554-562.

<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.010>

**Bendich, A., Langseth, L. (1995).** The health effects of vitamin C supplementation: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 14(2), 124-136.

<https://doi.org/10.1080/07315724.1995.10718484>

Betoret, N., Puente, L., Diaz, M., Pagán, M., Garcia, M., Gras, M., Martínez-Monzó, J., Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56(2), 273-277.

[https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00268-6](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00268-6)

Blanda, G., Cerretani, L., Bendini, A., Cardinali, A., Scarpellini, A., Lercker, G. (2008). Effect of vacuum impregnation on the phenolic content of Granny Smith and Stark Delicious frozen apple cvv. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1229-1237.

<https://doi.org/10.1007/s00217-007-0624-x>

Boland, R., Skliar, M., Curino, A., Milanesi, L. (2003). Vitamin D compounds in plants. *Plant Science*, 164(3), 357-369.

[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00420-X](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00420-X)

Bough, R.A., Holm, D.G., Jayanty, S.S. (2020). Evaluation of cooked flavor for fifteen potato genotypes and the correlation of sensory analysis to instrumental methods. *American Journal of Potato Research*, 97(1), 63-77.

<https://doi.org/10.1007/s12230-019-09757-0>

Burg, P., Fraile, P. (1995). Vitamin C destruction during the cooking of a potato dish. *LWT-Food Science and Technology*, 28(5), 506-514.

<https://doi.org/10.1006/fstl.1995.0085>

Cortés, M., Herrera, E., Rodríguez, E. (2015). Experimental optimization of the freeze dry process of cape gooseberry added with active compounds by vacuum impregnation. *Vitae*, 22(1), 47-56.

<https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v22n1a06>

Duarte-Correa, Y., Díaz-Osorio, A., Osorio-Arias, J., Sobral, P.J., Vega-Castro, O. (2020). Development of fortified low-fat potato chips through vacuum impregnation and microwave vacuum drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 64, 102437.

<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102437>

Griffin, G., Hewison, M., Hopkin, J., Kenny, R., Quinton, R., Rhodes, J., Thickett, D. (2020). Vitamin D and COVID-19: evidence and recommendations for supplementation. *Royal Society Open Science*, 7(12), 201912.

<https://doi.org/10.1098/rsos.201912>

Henríquez Arias, L. E., Patiño Gómez, J. H., Salazar, J. A. (2012). Application of the matrix engineering on the development of minimally processed Hass avocado (Persea

americana Mill) with additions of vitamin C and calcium. *Revista Lasallista de Investigación*, 9(2), 44-54.

Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yamamoto, K., Tsuda, S. (2011). Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. *Food Chemistry*, 127(3), 1114-1118.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.111>

Hironaka, K., Oda, Y., Koaze, H. (2014). Iron enrichment of whole potato tuber by vacuum impregnation. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 504-509.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.043>

Hironaka, K., Koaze, H., Oda, Y., Shimada, K. (2015). Zinc enrichment of whole potato tuber by vacuum impregnation. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2352-2358.

<https://doi.org/10.1007/s13197-013-1194-5>

Holick, M. F. (2011). Health benefits of vitamin D and sunlight: a D-bate. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(2), 73-75.

<https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.234>

Ikanone, C.E.O., Oyekan, P.O. (2014). Effect of boiling and frying on the total carbohydrate, vitamin C and mineral contents of Irish (*Solanum tuberosum*) and sweet (*Ipomea batatas*) potato tubers. *Nigerian Food Journal*, 32(2), 33-39.

[https://doi.org/10.1016/S0189-7241\(15\)30115-6](https://doi.org/10.1016/S0189-7241(15)30115-6)

Joshi, A.P.K., Rupasinghe, H.P.V., Pitts, N.L. (2010). Sensory and nutritional quality of the apple snacks prepared by vacuum impregnation process. *Journal of Food Quality*, 33(6), 758-767.

<https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00349.x>

Joshi, A., Kar, A., Rudra, S.G., Sagar, V.R., Varghese, E., Lad, M., Singh, B. (2016). Vacuum impregnation: a promising way for mineral fortification in potato porous matrix (potato chips). *Journal of Food Science and Technology*, 53(12), 4348-4353.

<https://doi.org/10.1007/s13197-016-2424-4>

Külen, O., Stushnoff, C., Holm, D.G. (2013). Effect of cold storage on total phenolics content, antioxidant activity and vitamin C level of selected potato clones. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(10), 2437-2444.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.6053>

- Lopez, S.V., Moreira, R.G. (2019). Increased phenolic compounds in potato chips vacuum impregnated with green tea. *Journal of Food Science*, 84(4), 807-817. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14492>
- Mashkour, M., Maghsoudlou, Y., Kashaninejad, M., Aalami, M. (2018). Effect of ultrasound pretreatment on iron fortification of potato using vacuum impregnation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(5), e13590. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13590>
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56(2), 181-188. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00247-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00247-9)
- Mokhtari, Z., Hekmatdoost, A., Nourian, M. (2016). Antioxidant efficacy of vitamin D. *Journal of Parathyroid Disease*, 5(1), 11-16.
- Moreira, R.G., Almohaimeed, S. (2018). Technology for processing of potato chips impregnated with red rootbeet phenolic compounds. *Journal of Food Engineering*, 228, 57-68. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.02.010>
- Naidu, K. A. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-2-7>
- Nawirska-Olszańska, A., Pasławska, M., Stępień, B., Oziębłowski, M., Sala, K., Smorowska, A. (2020). Effect of vacuum impregnation with apple-pear juice on content of bioactive compounds and antioxidant activity of dried chokeberry fruit. *Foods*, 9(1), 108. <https://doi.org/10.3390/foods9010108>
- Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1), 18-35. <https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>
- Panarese, V., Dejmek, P., Rocculi, P., Galindo, F. G. (2013). Microscopic studies providing insight into the mechanisms of mass transfer in vacuum impregnation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 18, 169-176. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.01.008>
- Park, S.I., Kodihalli, I., Zhao, Y. (2005). Nutritional, sensory, and physicochemical properties of vitamin E-and mineral-fortified fresh-cut apples by use of vacuum impregnation. *Journal of Food Science*, 70(9), S593-S599. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb08334.x>
- Rahman, M.M., Khan, M.M.R., Hosain, M.M. (2007). Analysis of vitamin C (ascorbic acid) contents in various fruits and vegetables by UV-spectrophotometry. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 42(4), 417-424. <https://doi.org/10.3329/bjsir.v42i4.749>
- Röbke, C., Brunton, N., Gormley, T.R., Butler, F. (2011). Quality and antioxidant capacity of fresh-cut apple wedges enriched with honey by vacuum impregnation. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(3), 626-634. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02526.x>
- Salvatori, D., Andrés, A., Chiralt, A., Fito, P. (1998). The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Process Engineering*, 21(1), 59-73. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1998.tb00439.x>
- Senturk Parreidt, T., Schmid, M., Müller, K. (2018). Effect of dipping and vacuum impregnation coating techniques with alginate based coating on physical quality parameters of cantaloupe melon. *Journal of Food Science*, 83(4), 929-936. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14091>
- Singh, U., Bradbury, J.H. (1988). HPLC determination of vitamin A and vitamin D2 in South Pacific root crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 45(1), 87-94. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740450111>
- Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı. (2019, Aralık). Dünyada patates. <https://www.tarimorman.gov.tr/bugem/belgeler/m%20b01l%20tarim/patates%20aralik%20b09clten%20b0.pdf> adresinden alındı. (Erişim 03.09.2021).
- Ursachi, C., Segal, R., Muresan, C. (2009). Vacuum impregnation viability of some fruits. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 15(2), 316-319.
- Xie, J., Zhao, Y. (2003). Nutritional enrichment of fresh apple (Royal Gala) by vacuum impregnation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54(5), 387-398. <https://doi.org/10.1080/09637480310001595261>
- Xie, J., Zhao, Y. (2004). Use of vacuum impregnation to develop high quality and nutritionally fortified frozen strawberries. *Journal of Food Processing and Preservation*, 28(2), 117-132. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2004.tb00815.x>



**Yılmaz, F. M., Ersus Bilek, S. (2017).** Vakumlu Emdirim (İmpregnasyon) Teknolojisinin Fonksiyonel Meyve ve Sebze Ürünlerinin Geliştirilmesinde Kullanımı. *Akademik Gıda*, 15(2), 163-171.

<https://doi.org/10.24323/akademik-gida.333673>

**Yılmaz, F. M., Bilek, S. E. (2018).** Ultrasound-assisted vacuum impregnation on the fortification of fresh-cut apple with calcium and black carrot phenolics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 509-516.

<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.007>

**Zhao, Y., Xie, J. (2004).** Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(9), 434-451.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.01.008>

## Mikronize edilmiş şeker pancarı besinsel lifinin buğday hamuru ve ekmek özellikleri üzerine etkileri

Ayla HANÇER, İhsan KARABULUT, İncilay GÖKBULUT

### Cite this article as:

Hançer, A., Karabulut, İ., Gökbulut, İ. (2022). Mikronize edilmiş şeker pancarı besinsel lifinin buğday hamuru ve ekmek özellikleri üzerine etkileri. *Food and Health*, 8(3), 193-207. <https://doi.org/10.3153/FH22019>

<sup>1</sup> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Gürün Meslek Yüksekokulu, Otel, Lokanta ve İkram Hizmetleri Bölümü, 58800, Gürün, Sivas, Türkiye

<sup>2</sup> İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 44280, Malatya, Türkiye

### ORCID IDs of the authors:

A.H. 0000-0002-4370-8039

İ.K. 0000-0002-9014-8863

İ.G. 0000-0003-4994-5788

Submitted: 16.11.2021

Revision requested: 25.02.2022

Last revision received: 04.03.2022

Accepted: 05.03.2022

Published online: 11.05.2022

### Correspondence:

Ayla HANÇER

E-mail:

[aylahancer@cumhuriyet.edu.tr](mailto:aylahancer@cumhuriyet.edu.tr)



© 2022 The Author(s)

Available online at  
<http://jfh.sciencwebjournals.com>

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı yüksek basınç homojenizasyonu aracılığıyla mikronize edilmiş şeker pancarı lifi ilavesinin hamurun reolojik ve tekstürel özellikleri ile ekmeğin kalite parametreleri üzerine etkilerini belirlemektir. Mikronize edilmemiş (S) ve mikronize edilmiş (Sm) şeker pancarı lifi örnekleri ekmek formülasyonunda %2, 4, 6, 8 ve 10 oranlarında kullanılmıştır. Lif ilavesi hamur örneklerinin elastisite modülü (G') ve viskoz modülü (G'') değerlerinde artışa yol açmış, daha elastik ve katı benzeri bir materyalin elde edilmesine neden olmuştur. Ayrıca, hamurların sertlik değeri artarken sakızimsılık ve yapışkanlık değerlerinde önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Ekmek örneklerine şeker pancarı lifi ilavesi, hacim değerlerinin önemli düzeyde azalmasına yol açmıştır (P <0.05). Ekmek örneklerinin tekstürel özellikleri üzerine lif ilavesinin etkileri saptanmış, örneklerin sertlik ve çiğnenabilirlik değerlerinde artış meydana gelirken koheziflik ve esneklik gibi parametrelerde önemli bir değişim belirlenmemiştir. Şeker pancarı lifi ilavesi, ekmek içi parlaklığını (L) önemli düzeyde azaltırken kırmızı renk (a) oranında artış meydana getirmiştir. Lif ilave edilmiş bütün ekmekler duyuşal değerlendirmede panelistler tarafından kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir. Mikronize edilmemiş şeker pancarı lifi örnekleri %4, mikronize edilmiş şeker pancarı lifi örnekleri ise %2 ilave oranlarında kontrol ekmeğine benzer puanlar almıştır. Mikronizasyon aracılığıyla fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş şeker pancarı lifinin çeşitli gıdalarda kullanımı değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Şeker pancarı lifi, Mikronizasyon, Reoloji, Tekstür, Ekmek kalitesi

### ABSTRACT

#### Effects of micronized sugar beet dietary fiber addition on the properties of wheat dough and bread

The aim of this study is to determine the effect of sugar beet fiber, micronized by high pressure homogenization, addition on the rheological and textural properties of wheat dough and the quality parameters of bread. The micronized and unmikronized sugar beet fibers were used in the bread formulation and they were incorporated into flour at levels of 2, 4, 6, 8, and 10%. The addition of sugar beet fiber increased the storage modulus (G') and loss modulus (G'') values and led to more solid-like and elastic bread dough. Also, the hardness values of bread dough increased while the gumminess and adhesiveness values didn't change significantly. The addition of sugar beet fiber significantly decreased the volume of bread samples (P <0.05). The effect of fiber addition on the textural properties of bread was determined and it was observed that the hardness and chewiness of bread samples increased while the cohesiveness and springiness parameters didn't change. Sugar beet fiber addition significantly decreased the lightness (L) values and increased the redness (a) values of the crumbs. According to the results of sensory analysis, all bread samples that contain sugar beet fiber were evaluated as acceptable by the panelists. The bread samples that contain unmikronized sugar beet fiber at a 4% level and micronized sugar beet fiber at a 2% level got similar scores to the control bread. Mikronization by high pressure homogenization has developed functional properties of sugar beet fiber and it is understood that it could be used in various foods.

**Keywords:** Sugar beet fiber, Mikronization, Rheology, Texture, Bread quality

## Giriş

Günümüzde tüketicilerde sağlıklı gıdalara doğru bir yönelim söz konusudur ve sağlık açısından yararları olan yüksek lifli gıdalar talep edilmektedir (Felli vd., 2018). Besinsel lifler, insan sindirim sistemi enzimleri tarafından hidrolize edilemeyen, yenilebilir bitkisel materyallerdir. Besinsel lif tüketimi; koroner kalp hastalıkları, diyabet ve belirli gastrointestinal hastalıklara dair riskin azaltılması da dahil olmak üzere sağlık açısından çeşitli yararlar sağlamakta (Wu ve Shiau, 2015), dolayısıyla besinsel lifler fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Sağlık açısından meydana getirdikleri bu olumlu etkilerin yanı sıra lifler, ilave edildikleri gıda ürünlerinin konsistensini, tekstürünü, reolojik özelliklerini ve duyuşal özelliklerini de etkileyebilmektedir (Rosell vd., 2009). Besinsel liflerin gıdalarda kullanımı; kimyasal kompozisyonlarına, su tutma kapasitesi, yağ adsorpsiyonu, viskozite, jel oluşturma gibi teknofonksiyonel özelliklerine ve kısmen de renk ve aroma gibi organoleptik karakteristiklerine bağlıdır (Rabetafika vd., 2014).

Ekmek, günlük beslenmenin önemli bir parçasıdır. Ekmekte besinsel lif mevcudiyeti, ekmeğin besleyici değerini arttırmakta ve enerji değerini azaltmaktadır. Lif ilavesi hamurun reolojik özellikleri ve ekmeğin kalite parametrelerinde de değişime neden olmaktadır (Soronja-Simovic vd., 2016). Genel olarak, lif ilavesi ekmek hacmini azaltmakta, daha az havalandırılmış daha yoğun bir yapı meydana getirmekte, daha sert ve daha koyu renkli bir ekmek içi oluşturmaktadır. Lifin ekmek kalitesi üzerine etkisi çoğunlukla lifin türü ve bileşenleri, partikül boyutu ve miktarına bağlıdır. Besinsel lifler, su tutma ve tekstürel özelliklerinden yararlanılarak ekmekte özellikle muhafaza üzerine olan etkileri (bayatlamayı önleyici etki) nedeniyle kullanılmaktadırlar (Ktenioudaki ve Gallagher, 2012). Ancak, pek çok gıda ürünü içerisinde çözünmez besinsel lifin dahil edilmesi, özellikle renk ve tekstür açısından istenmeyen duyuşal değişikliklere neden olmaktadır. Dolayısıyla, çözünmez besinsel lifin kalitesini geliştirmeye yönelik alternatif uygulamalar belirlemek amacıyla araştırmalar üstlenilmiştir ve bu sayede tüketici albenisinden ödün vermeksizin çözünmez lif gıda materyalleri içine dahil edilebilmektedir. (Hu vd., 2015). Çeşitli çözünmez besinsel liflerin fizikokimyasal özelliklerini modifiye etmek için kullanılan farklı teknikler arasında mikronizasyon teknikleri muhtemelen en dikkate değer olanlardır (Wang vd., 2012).

Geleneksel parçalama metodları ile kıyaslandığında, mikron-ve nanoteknolojiler pek çok avantaja sahiptir. İlk olarak, daha küçük bir boyut daha büyük bir yüzey alanı anlamına gelmektedir ki bu durum da su absorpsiyonunun gelişmesi, yüksek çözünürlük, aroma salınımı ve hafif bir ağız hissine neden ol-

maktadır. Bununla birlikte, çok ince öğütme aracılığıyla boyut azalmasına bağlı olarak besleyici bileşenlerin çözünürlüğü artmakta ve bu bileşenler aynı zamanda insan vücudu tarafından kolaylıkla absorbe edilmektedir. İnce partiküllerin büyük spesifik yüzey alanına bağlı olarak, biyolojik ve kimyasal reaksiyonlarda ürünün reaksiyon hızı etkili bir şekilde artmaktadır. Yüksek miktarda lif içeren materyallerde, geleneksel parçalama yöntemleri ürünü tam olarak öğütememekte ve çok miktarda atık oluşumuna yol açmaktadır. Mikron- ve nanoteknoloji, materyallerin aktif bileşenlerini zarar görmeden muhafaza etmek suretiyle gıdaların düşük sıcaklıkta ve kısa sürede öğütülmesi amacıyla kullanılabilen ve yüksek kaliteli ürünlerin üretimine olanak sağlamaktadır (Chen vd., 2018). Mikronizasyon teknikleri arasında en etkili yöntemlerden biri yüksek basınç homojenizasyonudur.

Yüksek basınç homojenizasyonu (YBH), gıda ürünlerinin işlenmesi amacıyla son zamanlarda araştırılan bir teknolojidir, ancak yalnızca sıvı gıda ürünleri ile birlikte kullanılabilir (Espejo vd., 2014). Geleneksel homojenizasyon metodlarında görülen aynı prensibe dayanmakta, fakat daha yüksek basınç seviyeleri kullanmaktadır. Gıda endüstrisinde kullanılan geleneksel homojenizasyon prosesleri 20 ile 50 MPa arasında basınç uygularken, yüksek basınç homojenizasyonu 100-400 MPa aralığında basınç uygulamaktadır (Lopes vd., 2018). Yüksek basınç homojenizasyon teknolojisi kimya, eczacılık, özel gıdalar ve biyoteknoloji gibi çeşitli endüstriyel sektörlerdeki farklı ürünleri disperslemek, karıştırmak, emülsifiye etmek ve işlemek amacıyla kullanılmaktadır (Floury vd., 2002). Homojenizasyon teknolojisi, homojenize edici bir valfin bağlı olduğu karşıt hareketli bir pompadan oluşmaktadır. Pompa, basınç altında akışkanları homojenize edici valf boyunca hareket etmeye zorlamakta ve ardından sıvı, valf boyunca yüksek hızda akmaktadır. Akışkanın hızı arttıkça, basınç ani bir düşüş meydana getirerek azalmakta ve önem sırasına göre sıralanması ve ölçülmesi oldukça zor olan fakat materyal yapısını parçalamak için yeterli enerjiye sahip olan kavitasyon, kesme, türbülans ve sıcaklık artışı gibi olayların eş zamanlı olarak gerçekleşmesine neden olmaktadır (Jacquet vd., 2013).

Bitkisel gıdaların işlenmesi sırasında elde edilen yan ürünlerin değerli fonksiyonel bileşenlere dönüştürülmesi gıdalardaki atık problemini azaltmaktadır. Şeker pancarı posası, şeker pancarından serbest şekerin ekstrakte edilmesinden sonra kalan bir yan üründür. Şeker endüstrisi aracılığıyla 1 ton şeker pancarının işlenmesinin ardından, %70-80 oranında su içeren yaklaşık 250 kg preslenmiş şeker pancarı posası artakalmaktadır (Mišan vd., 2016; Bogdanović vd., 2013). Kuru madde bazında şeker pancarı posası kabaca %40'ı selüloz, %30'u hemiselüloz ve %30'u pektinden oluşmak üzere %65-

80 oranında polisakarit içermektedir. (Mišan vd., 2016). Uygun mikrobiyolojik özelliklerine ilaveten olumlu duyuşsal, fiziksel ve kimyasal özellikleri bu materyalin değerli bir lif kaynağı olmasını sağlamaktadır. Hububat kepeğine kıyasla şeker pancarı lifi, düşük fitat içeriğine ve daha iyi su bağlama ve su tutma kapasitesine sahiptir. Yüksek fitat içeriğı mineral absorpsiyonunu olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle beslenme uzmanlarının özel ilgi alanına girmektedir (Filipovic vd., 2007).

Farklı partikül büyüklüğüne sahip şeker pancarı lifi örneklerinin ekmek ve diğere unlu mamullerde kullanıldığı çeşitli çalışmalar incelendiğinde, genellikle bu lif örneklerinin geleneksel öğütme metotları sonucu elde edildiğı görülmektedir (Özboy ve Köksel, 1999; Filipovic vd., 2007; Öztürk vd., 2008; Sakaç vd., 2011; Šoronja Simović vd., 2017). Geleneksel öğütme metotları ile elde edilen besinsel lif örneklerine kıyasla fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş besinsel lif örnekleri elde etmek amacıyla yapılan çalışmada, şeker pancarı posası farklı ekstraksiyon uygulamalarına (su, etanol, alkali ile) tabi tutulmuş, ardından yüksek basınç homojenizasyonu aracılığıyla mikronize edilmiş ve bu örneklerin fonksiyonel özellikleri tespit edilmiştir (Hançer ve Karabulut, 2019). Örnekler arasında, su ile muamele edilerek mikronize edilmiş şeker pancarı besinsel lifinin, su tutma ve yağ tutma kapasitesi açısından en iyi fonksiyonel özelliklere ve en yüksek çözünmez besinsel lif içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, su ile muamele edilmiş şeker pancarı besinsel lifi ekmek üretiminde kullanılmıştır. Bu çalışmanın amacı, yüksek basınç homojenizasyonu ile mikronize edilmiş şeker pancarı besinsel lifinin ekmek formülasyonuna farklı oranlarda ilave edilmesinin hamurun reolojik ve tekstürel özellikleri ile ekmeğın kalite parametreleri üzerine etkilerini incelemektir.

## Materyal ve Metot

Şeker ekstraksiyonundan sonra atık olarak elde edilen şeker pancarı posası Malatya Şeker Fabrikası'ndan temin edilmiştir. İçerisinde bulunan koyu renkli parçacıkların ayrılmasının ardından şeker pancarı posası serilerek oda sıcaklığında kurutulmuş ve kullanılıncaya kadar plastik poşetler içinde derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Ticari buğday unu (Söke Geleneksel Un; kuru maddede maksimum %10 protein, maksimum %0.59 kül), pres maya (Pak Maya) ve tuz yerel bir marketten temin edilmiştir. Ekmek üretiminde ayrıca gıda saflığında L-askorbik asit ve un işlem maddesi (Puratos; buğday unu, alfa amilaz, hemiselülaz, lipaz) kullanılmıştır.

## Şeker Pancarı Lifinin Elde Edilmesi

Şeker pancarı posasından besinsel lif içeren örneklerin hazırlanması amacıyla suyla yıkama yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, uygun miktarda posa yaklaşık iki katı kadar distile su

içerisinde mutfak tipi parçalayıcı ile 1 dakika süreyle parçalanmış ve karışım filtre edilmiştir. Parçalama ve filtrasyon işlemi art arda üç kez tekrarlanmıştır. Elde edilen lifli yapı dondurarak kurutucuda kurutulup kullanılıncaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

## Mikronize Edilmemiş Şeker Pancarı Lifinin Hazırlanması

Suyla yıkama yöntemi ile elde edilen lifli materyalin mutfak tipi kahve öğütücüsünde öğütülüp 250 µm'lik elekten geçirilmesi sonucu mikronize edilmemiş lif örneğı (S) elde edilmiştir ve kullanılıncaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

## Mikronize Edilmiş Şeker Pancarı Lifinin Hazırlanması

Şeker pancarı posasından elde edilen lifli materyal, yüksek basınç homojenizatöründen (SUFLUX, ISA-NLM 100 Nano Disperser) geçirilerek boyut küçültme (mikronize etme) işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla, belirli miktarda örnek üzerine distile su ilave edilip örnek süspanse edilmiş ve ardından yüksek devirli parçalayıcıdan (Ultra Turrax T25, IKA-WERKE, Germany) 5 dakika süreyle geçirmek suretiyle bir ön boyut küçültme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnek yüksek basınç homojenizatöründen ortalama 100 MPa basınçta 5 kez geçirilerek boyut küçültme işlemi uygulanmış ve elde edilen yapı dondurarak kurutucuda kurutulmuştur. Kahve öğütücüsünde 2 dakika süreyle öğütülerek toz haline getirilmiş ve böylece mikronize edilmiş şeker pancarı lifi örneğı (S<sub>m</sub>) elde edilmiştir. Bu örnek kullanılıncaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

## Ekmek Üretiminde Kullanılacak Formülasyon

Ekmek üretiminde Wang vd. (2002) tarafından uygulanan prosedür modifiye edilerek kullanılmıştır. Kullanılan su miktarı 100 gram un için 60 mililitre olarak sabit kabul edilmiştir. Temel hamur formülasyonu 100 gram un esasına göre; 2 gram tuz, 3 gram pres maya, 3 gram un işlem maddesi, 50 mg/kg L-askorbik asit ve 60 mililitre su şeklindedir. Formülasyona lif ilavesi %2, 4, 6, 8 ve 10 olacak şekilde ilave edilen lif miktarına karşılık gelen un miktarını eksiltmek suretiyle yapılmıştır.

## Hamur Reolojisi

Hamurun reolojik özelliklerini belirlemek için Upadhyay vd. (2012) tarafından uygulanan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Dinamik testler için paralel plaka geometrisi (25 mm çap, 1 mm açıklık) kullanılmış ve tüm ölçümler 25°C sıcaklıkta yapılmıştır. Hamur merkezinden alınan örnek plaka üzerine yerleştirilerek reometrede (Anton Paar, PHYSICA MCR 301) ölçümler gerçekleştirilmiştir. Deneysel prosedür, zaman ve salınım frekansının bir fonksiyonu olarak elastisite

modülü ( $G'$ ) ve viskoz modülünden ( $G''$ ) oluşan kesme modülünün gelişim ve sonlanmasının belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Dolayısıyla, frekans salınım testi esnasında,  $G'$  ve  $G''$  değerleri 1 ve 100 rad/s arasında değişen frekansın bir fonksiyonu olarak ölçülürken gerilme oranı sabit tutulmuştur.

### **Hamurun Tekstürel Özellikleri**

Hamur örneklerinin tekstür profil analiz bir Texture Analyzer cihazı (Lloyd Instruments) kullanılarak Ayadi vd. (2009) tarafından belirtilen prosedüre uygun olarak yapılmıştır. Silindirik bir prob kullanmak suretiyle hamur örneği 10 mm/s hızda orijinal yüksekliğinin %50'si oranında sıkıştırılmış ve örnekler için sertlik, sakızimsılık, yapışkanlık ve koheziflik gibi parametreler belirlenmiştir.

### **Ekmek Üretimi**

Ekmek örnekleri direkt hamur metoduna göre hazırlanmıştır. Bütün kuru bileşenler karıştırıldıktan sonra pres maya katılmış, ardından su yavaş yavaş ilave edilmek suretiyle homojen bir karışım elde edilmiştir. Elde edilen hamur 10 dakika süreyle el ile yoğurma işlemine tabi tutulmuş, sonrasında  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dakika boyunca fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyon sonrasında hamur örnekleri elektrikli bir fırında  $290^{\circ}\text{C}$ 'de pişirilmiştir. Pişirme süresi kontrol ekmeği ile %2 ve %4 oranlarında lif içeren ekmeklerde 11-12 dakika iken %6, %8 ve %10 oranlarında lif içeren ekmek örnekleri için 18-19 dakika olmuştur. Oda sıcaklığında 1 saat süreyle soğutmanın ardından ekmeğin kalite parametreleri değerlendirilmiştir. %10 oranında lif içeren ekmek örnekleri aşırı sertleştiği için değerlendirilmeye alınmamıştır.

### **Ekmekğin Fizikokimyasal Özellikleri**

Oda sıcaklığında soğutmanın ardından ekmek örneklerinin ağırlıkları kaydedilmiştir. Ekmek hacmi buğday taşıma metoduna göre belirlenmiş ve spesifik hacim, ekmek hacmini ekmek ağırlığına oranlamak suretiyle hesaplanmıştır. Ekmeklerin nem içeriği Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği'ne (Anonim, 2012) uygun olarak belirlenmiştir. Ekmek örneklerinde renk analizi Minolta Color Reader CR-10 renk ölçüm cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve ekmek kabuğu ile ekmek içine ait  $L^*$  (parlaklık),  $a^*$  (kırmızılık) ve  $b^*$  (sarılık) değerleri belirlenmiştir.

### **Ekmek İçi Tekstür Özellikleri**

Ekmek örneklerinin tekstür profil analizi, bir Texture Analyzer cihazı (Lloyd Instruments) kullanılarak Wang vd. (2002) tarafından belirtilen prosedüre uygun olarak yapılmıştır. Ekmeğin merkezinden alınan 2 cm'lik iki farklı dilim 25 mm çapa sahip bir prob kullanmak suretiyle %50 oranında preslenmiştir. İki farklı ekmekten alınan dört dilim örnek analiz edilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Ekmek içine ait

sertlik, koheziflik, esneklik ve çiğnenebilirlik gibi parametreler belirlenmiştir.

### **Ekmekğin Duyusal Değerlendirmesi**

Ekmek örneklerinin duyusal değerlendirilmesi Wang vd. (2002) tarafından belirtilen prosedüre uygun olarak yapılmıştır. Panelistlere kodlanmış (kontrol ekmeği ile farklı oranda lif içeren ekmekler) ekmek dilimleri verilerek koku, ekmek kabuğu rengi, ekmek içi rengi, ekmek içi gözenek yapısı, esneklik, pütürlülük (ağızda bıraktığı his), tat/aroma ve genel kabul edilebilirlik özellikleri bakımından 1 (en düşük) ile 10 (en yüksek) puanlar arasında değerlendirmeleri istenmiştir. Ortalama puanların 5'ten büyük olması ürünün kabul edilebilir olarak değerlendirilmesini sağlamıştır.

### **İstatistiksel Analiz**

Her deney en az iki paralelli olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Uygulamalar içinde ve arasındaki farklılıklar SPSS 22.0 kullanılarak One-Way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ile incelenmiş ve çoklu karşılaştırma amacıyla Tukey testi uygulanmıştır. Sonuçlar ( $P < 0.05$ ) önem seviyesinde değerlendirilmiştir.

## **Bulgular ve Tartışma**

### **Hamur Reolojisi**

Kontrol örneği (K) ile un esasına göre farklı oranlarda S lifi (yüksek basınç homojenizatöründen geçmemiş lif örneği) içeren hamur örneklerine ait  $G'$  ve  $G''$  değerleri Şekil 1'de,  $S_m$  lifi (yüksek basınç homojenizatöründen geçmiş lif örneği) içeren hamur örneklerine ait  $G'$  ve  $G''$  değerleri ise Şekil 2'de sunulmuştur.

Lif içeren hamurların kontrol hamuruna göre önemli derecede yüksek  $G'$  ve  $G''$  değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer bir sonuç, selüloz, buğday lifi ve yulaf lifi ilave edilmiş hamurlarda da gözlenmiş, daha yüksek  $G'$  ve  $G''$  değerlerinin, daha yüksek konsistens ve daha düşük akma eğilimine sahip olan daha katı bir hamurun göstergesi olduğu ifade edilmiştir (Gomez vd., 2010). Viskoelastik hamur matriksi içinde fibröz kepeğin bir dolgu maddesi olarak faaliyet gösterdiği ve kepek ile gluten arasındaki su rekabetinden dolayı sudan kaynaklanan yağlama etkisini azalttığı, sonuç olarak da  $G'$  değerini arttırdığı belirtilmiştir (Ishwarya vd., 2017). Her iki lif grubunu içeren hamur örneklerinde  $G'$  değerlerinin  $G''$  değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. S lifi kullanılması durumunda, ilave oranındaki artışla birlikte hamur daha kuvvetli hale gelmiştir ( $S_m$  lifine göre daha büyük  $G'$  değerleri). Bu durum, S lifinin  $S_m$  lifine kıyasla oluşturduğu daha

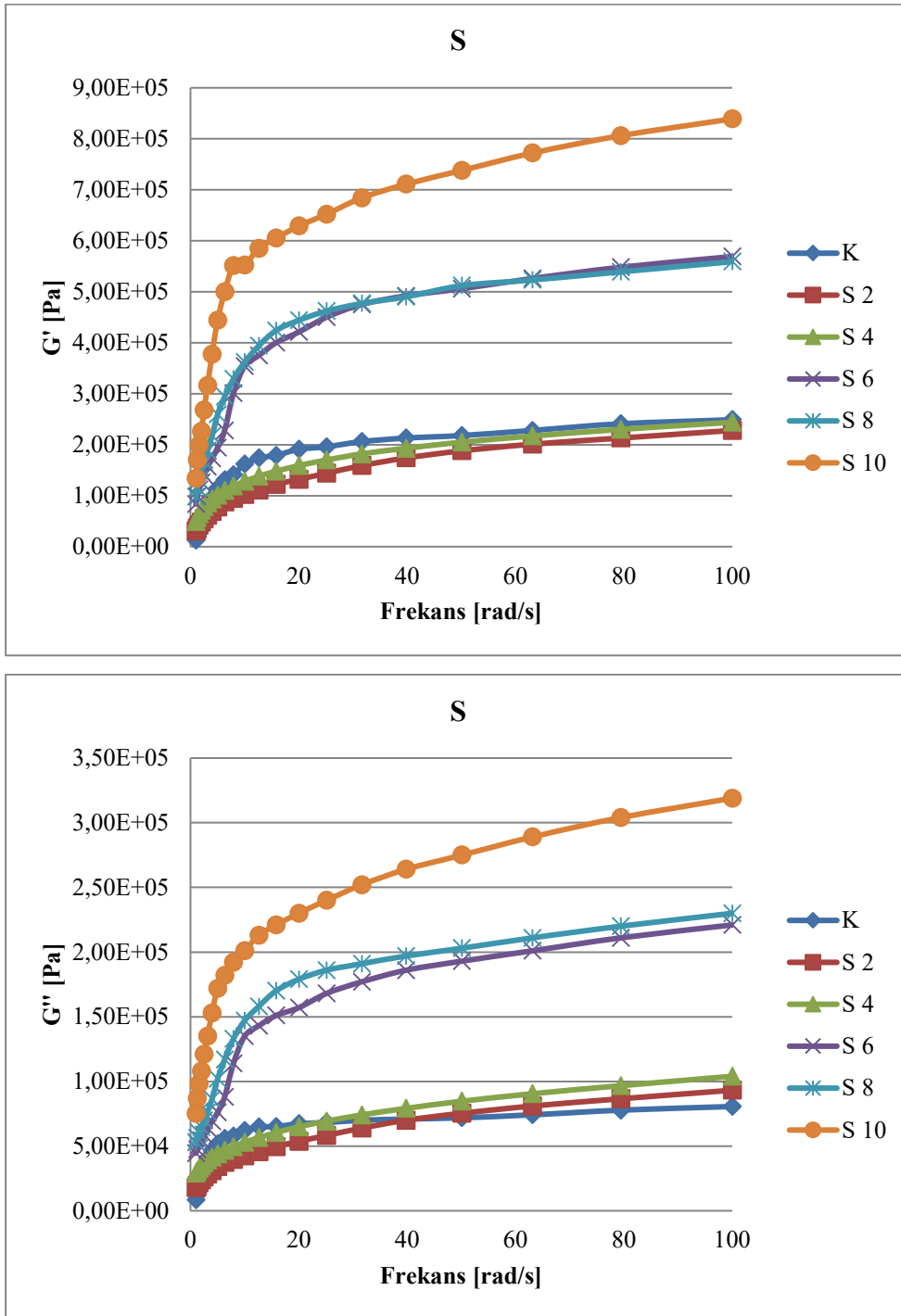
yüksek viskoziteden kaynaklanmaktadır. Bu sonuçlar, su ve maya miktarının bir fonksiyonu olarak ve hidrokolloidlerin ilavesi ile buğday unu hamurunun reolojik ve mikroyapısal özelliklerindeki değişimi tanımlayan Upadhyay vd. (2012)'nin elde ettiği sonuçlara benzemektedir. Bu araştırmacılar hamur formülasyonunda %0.5, 1.5 ve 3.0 oranlarında sodyum aljinat ve ksantan gam kullanmış ve hidrokolloid kullanıldığı su miktarını sabit %60, maya miktarını sabit %2 olarak belirlemişlerdir. Hidrokolloid ilavesi ile birlikte  $G'$  ve  $G''$  değerleri artmış ve hamurda daha fazla sertlik meydana gelmiştir. Ksantan gam kullanılması durumunda, hidrokolloid ilavesi arttıkça sodyum aljinata kıyasla daha büyük  $G'$  değerleri elde edilmesi nedeniyle hamurun daha kuvvetli hale geldiği bildirilmiş, bu durum ksantan gamın sodyum aljinata kıyasla oluşturduğu daha yüksek viskoziteye dayandırılmıştır. Benzer şekilde, bira posası, elma posası (Ktenioudaki vd., 2013), inülin (Peressini ve Sensidoni, 2009) ve suda çözünmeyen hurma lifi (Ahmed vd., 2013) ilavesinin hamurun reolojik özellikleri üzerine etkilerini inceleyen çeşitli çalışmalarda lif ilavesi ile birlikte  $G'$  ve  $G''$  değerlerinde artış gözlenmiştir. Lifle zenginleştirilmiş hamurun kontrol örneğine göre daha yüksek mekanik kuvvet gösterdiği, bunun da daha sert bir hamurun göstergesi olduğu belirtilmiştir. Hamur örneklerine ait  $G'$  değerlerinin  $G''$  değerlerinden yüksek olması ise hamurların elastik benzeri bir davranış göstermesine bağlanmış ve bu durumun ( $G' > G''$ ) viskoelastik ağ yapının gerçek bir göstergesi olduğu ifade edilmiştir.

### **Hamurun Tekstürel Özellikleri**

Kontrol örneği (K) ile un esasına göre farklı oranlarda lif (S ve  $S_m$  lifi) içeren hamur örneklerine ait tekstürel parametreler Tablo 1'de sunulmuştur.

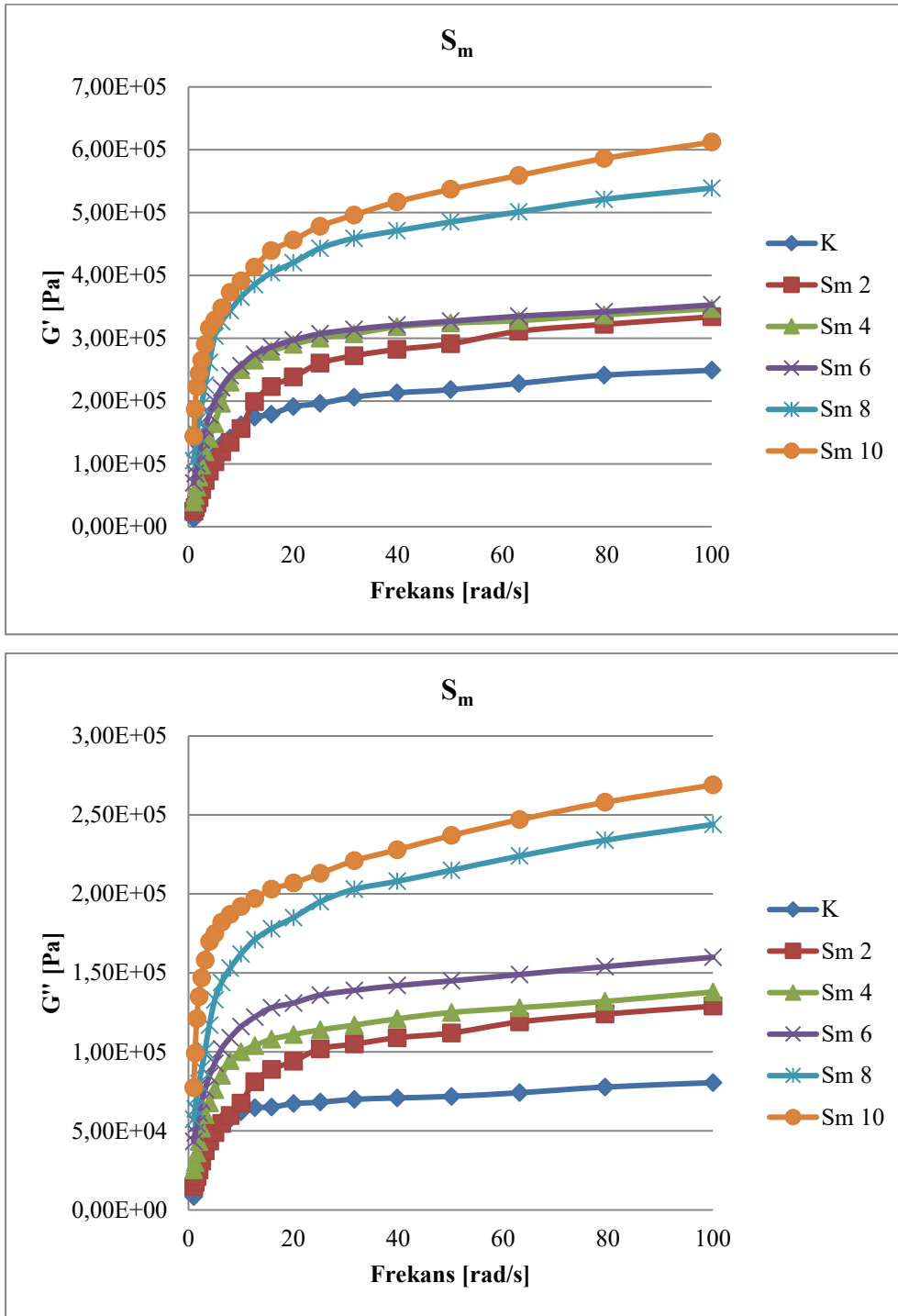
Kontrol hamuru ile %2 ve %4 oranlarında lif içeren hamurların benzer sertlik değerlerine sahip olduğu ve bu hamurların sertlik değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı görülmektedir ( $P > 0.05$ ). Ancak, daha yüksek

oranda lif ilavesi, hamurların sertlik değerlerinde önemli düzeyde artışa neden olmuştur. Yüksek basınç homojenizasyonuna tabi tutulmuş lif örneklerinin hamur sertliği açısından aynı ilave düzeyinde diğer lif grubuna kıyasla önemli bir değişime yol açmadığı belirlenmiştir. S lifi, hamurların koheziflik değerlerinde kontrol hamuruna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artışa neden olurken ( $P < 0.05$ ),  $S_m$  lifi içeren hamurların genellikle kontrol hamuruna benzer koheziflik değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Her iki lif grubunun da hamur örneklerinin sakızimsılık ve yapışkanlık değerlerini önemli düzeyde etkilemediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, kek formülasyonunda kladod tozu (Ayadi vd., 2009) ve elma posası (Sudha vd., 2007) kullanılan çalışmalarda elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu araştırmacılar, karışımında bulunan lif fraksiyonundaki artışla birlikte hamurun daha sert bir hal almasının ya gluten proteinlerinin seyrelmesine ya da buğday unundaki proteinler ile polisakaritler arasındaki etkileşime bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca, hamur kohezyonu üzerine kladod tozu ilavesinin hemen hemen önemsiz bir etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir. Ekmek kalitesi üzerine lif ilavesinin etkilerini inceleyen başka bir çalışmada ise bezelye ve bakla kabuğu lifi ilavesinin hamurun tekstürel özelliklerini önemli ölçüde geliştirdiği belirtilmiştir. İlave edilen lif konsantrasyonu arttıkça kohezyon, yapışkanlık ve esneklik parametreleri artış göstermiştir. Düşük konsantrasyondaki (0.25 ve 0.5 g/100g) lif ilavesinde hamur sertliği azalırken yüksek konsantrasyondaki (0.75 ve 1 g/100g) lif ilavesinde sertlik kısmen artmıştır (Fendri vd., 2016). Armero ve Collar (1997), buğday unu hamuruna ait bazı tekstür parametrelerinin primer öneme sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yapışkanlığın, hamurun işlenebilirliğini son derece etkileyen bir parametre olduğu, diğer tekstür parametrelerinin ise hamurun işlenebilirliği üzerinde bir avantaj ya da dezavantaja sahip olmadığı ancak ekmek kalitesini tahmin etme açısından önemli olduğu ifade edilmiştir. İç yapıları yüksek gerilim ve deformasyona dirençli daha kohezif hamurların, spesifik hacmi daha yüksek ve daha yumuşak ekmeklere yol açtığı bildirilmiştir.



**Şekil 1.** Farklı oranlarda (%2, 4, 6, 8, 10) S lifi içeren hamur örneklerine ait elastisite modülü ( $G'$ ) ve viskoz modülü ( $G''$ ) değerleri

**Figure 1.** The storage modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) values of wheat dough containing unmicronized sugar beet dietary fiber at different levels (2, 4, 6, 8, 10%)



**Şekil 2.** Farklı oranlarda (%2, 4, 6, 8, 10)  $S_m$  lifi içeren hamur örneklerine ait elastisite modülü ( $G'$ ) ve viskoz modülü ( $G''$ ) değerleri

**Figure 2.** The storage modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) values of wheat dough containing micronized sugar beet dietary fiber at different levels (2, 4, 6, 8, 10%)



**Tablo 1.** Şeker pancarı lifi ilavesinin hamurun tekstürel özellikleri üzerine etkisi**Table 1.** The effect of sugar beet dietary fiber addition on textural properties of wheat dough

	Sertlik (N)	Koheziflik	Sakızimsılık (N)	Yapışkanlık (N.s)
K	1.46 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.02 <sup>ab</sup>
S				
%2	1.42 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.64 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.02 <sup>ab</sup>
%4	2.10 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.70 ± 0.11 <sup>bc</sup>	0.84 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.04 <sup>ab</sup>
%6	4.42 ± 0.13 <sup>cd</sup>	0.97 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.00 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.04 <sup>ab</sup>
%8	5.28 ± 0.33 <sup>cd</sup>	0.67 ± 0.05 <sup>bc</sup>	1.78 ± 2.13 <sup>a</sup>	0.46 ± 0.05 <sup>ab</sup>
%10	5.28 ± 1.54 <sup>cd</sup>	0.55 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.86 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.07 <sup>ab</sup>
S <sub>m</sub>				
%2	1.61 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.22 <sup>ab</sup>	0.55 ± 0.26 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.10 <sup>b</sup>
%4	3.26 ± 0.06 <sup>abc</sup>	0.35 ± 0.14 <sup>ab</sup>	0.77 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.20 <sup>ab</sup>
%6	3.96 ± 0.30 <sup>bcd</sup>	0.38 ± 0.05 <sup>ab</sup>	1.25 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.25 <sup>a</sup>
%8	4.41 ± 1.03 <sup>cd</sup>	0.67 ± 0.04 <sup>bc</sup>	1.15 ± 1.01 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.07 <sup>ab</sup>
%10	5.75 ± 0.10 <sup>d</sup>	0.42 ± 0.08 <sup>ab</sup>	0.59 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.11 <sup>ab</sup>

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ( $P < 0.05$ )

*Different small letters in the same column show the statistical difference between the values ( $P < 0.05$ )*

K: Kontrol

*K: Control*

S: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmemiş lif örneği

*S: Unmicronized sugar beet dietary fiber*

S<sub>m</sub>: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

*S<sub>m</sub>: Micronized sugar beet dietary fiber*

**Tablo 2.** Şeker pancarı lifi ilavesinin ekmeğin fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisi**Table 2.** The effect of sugar beet dietary fiber addition on physicochemical properties of wheat bread

	Nem (%)	Ağırlık (g)	Hacim (mL)	Spesifik Hacim (mL/g)
K	37.02 ± 0.64 <sup>bcde</sup>	141.69 ± 0.84 <sup>bc</sup>	440.00 ± 16.43 <sup>f</sup>	3.11 ± 0.12 <sup>f</sup>
S				
%2	38.47 ± 1.98 <sup>e</sup>	146.86 ± 0.48 <sup>d</sup>	420.00 ± 7.75 <sup>ef</sup>	2.86 ± 0.05 <sup>e</sup>
%4	38.29 ± 0.58 <sup>de</sup>	147.83 ± 0.96 <sup>d</sup>	309.17 ± 11.58 <sup>c</sup>	2.09 ± 0.09 <sup>c</sup>
%6	33.86 ± 2.15 <sup>abc</sup>	140.18 ± 0.10 <sup>ab</sup>	236.67 ± 6.06 <sup>ab</sup>	1.69 ± 0.04 <sup>ab</sup>
%8	31.67 ± 2.76 <sup>a</sup>	136.31 ± 5.86 <sup>a</sup>	237.50 ± 9.87 <sup>ab</sup>	1.74 ± 0.08 <sup>ab</sup>
S <sub>m</sub>				
%2	37.28 ± 0.16 <sup>cde</sup>	141.98 ± 0.08 <sup>bc</sup>	401.67 ± 20.17 <sup>e</sup>	2.83 ± 0.14 <sup>e</sup>
%4	37.63 ± 0.74 <sup>de</sup>	144.90 ± 0.42 <sup>cd</sup>	331.67 ± 9.83 <sup>d</sup>	2.29 ± 0.06 <sup>d</sup>
%6	34.81 ± 0.84 <sup>abcd</sup>	138.08 ± 1.30 <sup>ab</sup>	246.67 ± 4.08 <sup>b</sup>	1.79 ± 0.04 <sup>b</sup>
%8	33.60 ± 1.12 <sup>ab</sup>	140.19 ± 0.99 <sup>ab</sup>	225.00 ± 4.47 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.03 <sup>a</sup>

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ( $P < 0.05$ )

*Different small letters in the same column show the statistical difference between the values ( $P < 0.05$ )*

K: Kontrol

*K: Control*

S: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmemiş lif örneği

*S: Unmicronized sugar beet dietary fiber*

S<sub>m</sub>: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

*S<sub>m</sub>: Micronized sugar beet dietary fiber*

### *Ekmekğin Fizikokimyasal Özellikleri*

Ekmek örneklerine ait nem, ağırlık, hacim ve spesifik hacim değerleri Tablo 2’de sunulmuştur.

Kontrol ekmeğine ait nem değeri %37.02 iken S lifi içeren ekmeklerin nemi %31.67-38.47 değerleri arasında,  $S_m$  lifi içeren ekmeklerin nemi ise %33.60- 37.63 değerleri arasında değişmiştir. %2, 4 ve 6 oranlarında S lifi içeren ekmeklerin nem değerleri ile kontrol ekmeğinin nem değeri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı, %8 ilave oranında ise ekmeğe ait nem değerinin kontrole göre önemli ölçüde düşük olduğu görülmektedir.  $S_m$  lifi ilavesi ise ekmek örneklerinin nem miktarı üzerinde kontrol ekmeğine kıyasla istatistiksel olarak önemli bir farka yol açmamıştır ( $P > 0.05$ ). Ekmeklerin ağırlıklarının da nem değerleri ile paralel bir eğilim içinde olduğu görülmektedir.

Ekmeklere şeker pancarı lifi ilavesi, ekmek örneklerinin hacimlerinin kontrol ekmeğine göre istatistiksel olarak önemli ölçüde azalmasına neden olmuştur ( $P < 0.05$ ). İlave edilen lif oranı arttıkça hacim değerleri de aşamalı olarak azalmıştır. Aynı durum, her iki lif örneği ile zenginleştirilmiş ekmeklerin spesifik hacim değerlerinde de gözlenmiştir. Kontrol ekmeğinin hacmi 440 mL iken %2, 4, 6 ve 8 oranlarında S lifi içeren ekmeklerin hacmi sırasıyla 420, 309.17, 236.67 ve 237.50 mL olarak belirlenmiştir. Aynı ilave oranlarında  $S_m$  lifi içeren ekmeklerin hacim değerleri ise sırasıyla 401.67, 331.67, 246.67 ve 225 mL’dir. Ekmek hacmine dair elde edilen bu sonuçlar, ekmek üretiminde şeker pancarı katkısı kullanan Filipović vd. (2004)’nin sonuçları ile uyumludur. Bu araştırmacılar, katkı ilavesindeki artışla birlikte ekmek hacminin azaldığını ve %0, 2, 5 ve 10 oranlarındaki katkı ilavesi için ekmek hacminin sırasıyla 337, 309, 268 ve 194 mL olarak belirlendiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, ekmek içi yapısının oldukça kaba ve ekmek içi renginin kabul edilemez şekilde koyu bir hal aldığı ifade edilmiştir. Fendri vd. (2016), lif ilavesinin ekmek hacmi üzerinde meydana getirdiği bu olumsuz etkinin glutenin dilüsyonuna veya gluten ve lif arasındaki etkileşime bağlı olabileceğini, aynı zamanda lifin hamur yapısını zayıflatması ya da bozması ve dolayısıyla  $CO_2$  gazı tutulmasını azaltmasının bir sonucu olabileceğini bildirmişlerdir. Ekmek yapımında buğday kepeğinin etkilerini inceleyen bir çalışmada, kepeğin su için gluten ve nişasta ile rekabete girmesinin glutenin yeterli bir şekilde hidrasyonunu engelleyebileceği, bu durumun da ekmek hacminin azalmasına yol açabileceği belirtilmiştir (Lai vd., 1989). Başka bir çalışmada ise, ortalama partikül boyutları 75  $\mu m$  ve 150  $\mu m$  olan yulaf lifi

tozları ekmek üretiminde farklı oranlarda (%4, 8, 12, 16, 20) kullanılmıştır. Buğday ekmeğinde bulunan daha küçük partikül boyutuna sahip besinsel lif, son ürünün spesifik hacmini arttırmış fakat bu hacmin kontrole göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Kurek vd., 2016).

Ekmek örneklerinin kabuk ve iç kısımlarına ait renk parametreleri Tablo 3’te sunulmuştur.

Her iki lif grubu için, %2 ve %4 oranlarında lif ilavesi ekmek kabuğunda parlaklığın önemli düzeyde azalmasına neden olurken, yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği %6 ve %8 ilave oranlarında ekmek kabuğu parlaklığının kontrole kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde artmasına neden olmuştur ( $P < 0.05$ ). Lif ilavesi ekmek içinin daha koyu bir renk almasına yol açmış ve ilave edilen lif miktarı arttıkça ekmek içi parlaklığı giderek azalmıştır. Unlu mamullerin parlaklığındaki azalmanın, şekerler ve aminoasitler arasındaki reaksiyonlar için ortam yaratan suyun life bağlanması olayının bir sonucu olabileceğine dikkat edilmesi gerektiği bildirilmiştir (Kurek vd., 2016). Ekmeğin teknolojik kalitesi üzerine farklı besinsel lif kaynaklarının (buğday kepeği, dirençli nişasta ve keçi boynuzu gamı) etkilerini inceleyen bir çalışmada ise keçi boynuzu gamının ekmek içi parlaklığında meydana getirdiği azalma, bu lif kaynağının ekmek içi nem miktarı üzerindeki etkisi ile ilişkilendirilmiştir (daha fazla nem, daha düşük parlaklık) (Almeida vd., 2013). S lifi ekmek kabuğu ve ekmek içine ait kırmızı renk oranında kontrole göre önemli bir değişim meydana getirirken,  $S_m$  lifi yalnızca ekmek içine ait kırmızılık değerlerinde artışa neden olmuştur. Genel olarak, lif içeren ekmek örneklerinin sarı renk oranının benzer olduğu ve bu örneklerde b değerlerinde kontrol ekmeğine kıyasla istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmektedir ( $P > 0.05$ ). Farklı besinsel lifler ile zenginleştirilmiş ekmeklerin kalite özelliklerini araştıran çeşitli çalışmalarda da ekmek rengine dair benzer sonuçlar elde edilmiş, genel olarak lif ilavesi ile birlikte ekmek kabuğu ve ekmek içine ait parlaklık (L) ve sarılık (b) değerlerinin azaldığı, kırmızı renk oranının (a) arttığı bildirilmiştir (Filipović vd., 2004; Romanekiewicz vd., 2017; Fendri vd. 2016). Yüksek sıcaklıklara doğrudan maruz bırakılmış unlu mamullerin yüzey renginin, karamelizasyon ve maillard reaksiyonları sonucu değiştiği belirtilmiştir. Pişirme prosesi sırasında ekmek içinin sıcaklığı  $100^\circ C$ ’ye ulaşmazken, ekmek kabuğunda sıcaklık  $100^\circ C$ ’nin üzerindedir. Ürünün rengini etkileyen maillard reaksiyonunun yalnızca ekmek kabuğunda meydana geldiği, ekmek içi renginin ise yalnızca hamur üretiminde kullanılan bileşenlerle doğrudan ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Romankiewicz

vd., 2017). Ekmek üretiminde iki farklı boyutta (ortalama 75 µm ve 150 µm) yulaf lifi tozu kullanılan bir çalışmada ise unlu mamullere ilave edilen daha küçük boyuttaki besinsel lifin kontrol örneği ile karşılaştırıldığında renk bakımından daha az farklılığa neden olduğu belirtilmiştir (Kurek vd., 2016). Bu durum, bu çalışmada elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

### **Ekmek İçi Tekstür Özellikleri**

Ekmek içine ait sertlik, koheziflik, esneklik ve çiğnenebilirlik gibi tekstürel parametreler Tablo 4'te sunulmuştur.

Kontrol ekmeğinin sertlik değeri 6.42 N iken, S lifi içeren ekmeklerin 9.00-46.56 N arasında, S<sub>m</sub> lifi içeren ekmeklerin ise 9.47-44.02 N arasında sertlik değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Her iki lif grubunu içeren ekmek örneklerinin sertlik ve çiğnenebilirlik değerleri, %2 ilave oranı hariç kontrol ekmeğine kıyasla istatistiksel olarak önemli bir artış göstermiştir (P < 0.05). Lif oranındaki artış, bu parametrelere ait değerlerin gittikçe artmasına neden olmuştur. Bu durum, formülasyondaki su miktarının sabit olması ile ilişkilendirilebilir. Cappa vd. (2013), hidrokolloidler ve yüksek lifli bileşenlerin kullanımının, genellikle ekmek ve ilişkili ürünlerin tekstürü üzerinde olumlu etkilere neden olduğunu, bu maddelerin ilavesinin, özellikle de glutensiz ekmeklerde, liflerin su bağlama ve pişirme prosesi boyunca bu suyu tutma kabiliyetleri nedeniyle ekmek içi yumuşaklığını geliştirebildiğini bildirmişlerdir. Özellikle çözünür lif oranı yüksek liflerin (psyllium ve şeker pancarı lifi gibi), nemin tutulmasına yardım etmek ve ekmek içi nemliliğinin algılanmasını arttırmak suretiyle ekmek içi yumuşaklığını pozitif bir şekilde etkileyebileceği belirtilmiştir. Ancak, eğer orijinal kütledeki su miktarı sınırlı ve birçok madde bu su için rekabet etmek zorunda ise hem hidrokolloidler hem de yüksek lifli bileşenlerin fonksiyonlarını en iyi şekilde yerine getiremeyeceği ifade edilmiştir. Bu çalışmada, ekmek örneklerinin sertlik ve çiğnenebilirlik parametrelerine dair elde edilen sonuçlar, Gül ve Şen (2017)'in sonuçları ile uyumludur. Ekmek üretiminde nar çekirdeği unu kullanan bu araştırmacılar, formülasyondaki lif oranı arttıkça ekmek içi sertliği ve çiğnenebilirliğinin arttığını belirtmişlerdir. Tüketicilerin ekmek tazeliği ile ilgili algılarının kuvvetli bir şekilde ilişkili olması nedeniyle, unlu mamul-

ler için özellikle ekmek içi sertliğinin yaygın bir kalite özelliği olduğu bildirilmiştir. Genel olarak ekmek hacmi ne kadar büyüksertlik değerinin o kadar düşük olacağı yani ekmeğin daha yumuşak olacağı ifade edilmiştir. Başka bir çalışmada ise, fitik asitten arındırılmış ve konsantre edilmiş buğday kepeği ile pirinç kepeği ekmek üretiminde kullanılmış, kepek ilavesinin ekmek içi sertliğini önemli düzeyde arttırdığı bildirilmiştir. Sertliğin istenen bir özellik olmadığı çünkü aynı zamanda ekmeğin bayatlaması ile ilişkili olduğu belirtilmiş ve yüksek hacim ile üstün ekmek içi tekstürü arasında pozitif bir ilişki olduğu ifade edilmiştir. Ekmek sertliğinin; ekmek içi tekstürü, nişasta retrogradasyonu, ekmek içi gözeneği ve suyun ekmek içinden yüzeye göç etmesi gibi pek çok faktöre dayandığı bildirilmiştir (Özkaya vd., 2018). Farklı kaynaklardan (portakal, bezelye, kakao, kahve, buğday ve mikrokristalin selüloz) elde edilen saflaştırılmış bazı besinsel liflerin ekmek formülasyonunda %2 ve %5 oranlarında kullanıldığı bir çalışmada, ekmek sertliğinin gluten ve lifli materyaller arasındaki etkileşimin bir sonucu olduğu belirtilmiştir. Genel olarak, %2 lif ilave edilmiş taze ekmeğin kontrol ekmeğine göre önemli ölçüde daha sert bir ekmek içi tekstürüne sahip olduğu ifade edilmiştir. Ortalama lif boyutu 35 µm olan buğday-S lifi ile ortalama lif boyutu 250 µm olan buğday-L lifi olmak üzere iki buğday lifi kullanılmıştır. %2 oranında buğday-S lifi içeren ekmek örneklerinin sertlikteki en büyük artışı meydana getirdiği, bu etkinin muhtemelen ekmek içindeki hava kabarcıklarını çevreleyen duvarların lif etkisiyle kalınlaşmasına bağlı olduğu bildirilmiştir. Yalnızca, %2 oranında buğday-L lifi içeren ekmekler sertlikte çok az bir azalma göstermiştir (Gomez vd., 2003).

Genel olarak, lif ilavesi ile birlikte (%4 S lifi ve %4 S<sub>m</sub> lifi ilavesi haricinde) ekmek örneklerinin koheziflik ve esneklik değerlerinde kontrol ekmeğine kıyasla istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir (P > 0.05). Ekmek üretiminde farklı besinsel liflerin kullanıldığı çeşitli çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Rodriguez-Sandoval vd., 2017; Gül ve Şen, 2017; Romankiewicz vd., 2017). Kırılmanın azalmasının göstergesi olan yüksek bir koheziflik değerinin, ekmek için istenen bir özellik olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, ekmeğe ait düşük esneklik değerlerinin elastisite kaybı ile, yüksek esneklik değerlerinin ise tazeliğe ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Özkaya vd., 2018).

**Tablo 3.** Şeker pancarı lifi ilavesinin ekmeğin renk özellikleri üzerine etkisi**Table 3.** The effect of sugar beet dietary fiber addition on colour properties of wheat bread

	Ekmek kabuğu rengi			Ekmek içi rengi		
	L	a	b	L	a	b
K	61.8 ± 2.51 <sup>c</sup>	9.3 ± 0.78 <sup>ab</sup>	27.8 ± 1.26 <sup>b</sup>	71.9 ± 1.67 <sup>g</sup>	-1.9 ± 0.36 <sup>a</sup>	19.0 ± 0.80 <sup>cd</sup>
S						
%2	52.9 ± 2.23 <sup>a</sup>	11.5 ± 2.23 <sup>bc</sup>	25.9 ± 1.61 <sup>b</sup>	69.3 ± 0.85 <sup>f</sup>	0.2 ± 0.91 <sup>cd</sup>	18.7 ± 1.01 <sup>c</sup>
%4	51.8 ± 1.24 <sup>a</sup>	15.7 ± 1.69 <sup>c</sup>	27.0 ± 2.55 <sup>b</sup>	66.4 ± 0.37 <sup>de</sup>	5.0 ± 1.43 <sup>e</sup>	17.3 ± 0.65 <sup>b</sup>
%6	61.7 ± 4.27 <sup>c</sup>	16.8 ± 12.41 <sup>c</sup>	20.6 ± 9.79 <sup>a</sup>	62.4 ± 1.15 <sup>ab</sup>	8.2 ± 0.48 <sup>f</sup>	16.1 ± 0.16 <sup>a</sup>
%8	62.6 ± 1.76 <sup>c</sup>	6.7 ± 1.71 <sup>ab</sup>	27.6 ± 2.88 <sup>b</sup>	63.9 ± 0.41 <sup>c</sup>	0.8 ± 0.10 <sup>d</sup>	18.9 ± 0.40 <sup>c</sup>
S <sub>m</sub>						
%2	53.0 ± 2.32 <sup>a</sup>	9.5 ± 0.72 <sup>ab</sup>	25.8 ± 1.00 <sup>b</sup>	67.2 ± 0.63 <sup>e</sup>	-1.3 ± 0.17 <sup>ab</sup>	18.6 ± 0.20 <sup>c</sup>
%4	56.5 ± 2.94 <sup>b</sup>	9.0 ± 0.80 <sup>ab</sup>	26.7 ± 1.30 <sup>b</sup>	65.4 ± 0.42 <sup>d</sup>	-0.5 ± 0.12 <sup>bc</sup>	19.0 ± 0.21 <sup>c</sup>
%6	66.6 ± 0.84 <sup>d</sup>	4.1 ± 0.52 <sup>a</sup>	26.0 ± 0.97 <sup>b</sup>	63.3 ± 0.43 <sup>bc</sup>	0.5 ± 0.11 <sup>d</sup>	19.7 ± 0.23 <sup>d</sup>
%8	66.6 ± 0.32 <sup>d</sup>	3.9 ± 1.13 <sup>a</sup>	27.0 ± 1.63 <sup>b</sup>	61.7 ± 0.34 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.29 <sup>d</sup>	18.7 ± 0.38 <sup>c</sup>

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır (P < 0.05)

Different small letters in the same column show the statistical difference between the values (P < 0.05)

K: Kontrol

K: Control

S: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmemiş lif örneği

S: Unmicronized sugar beet dietary fiber

S<sub>m</sub>: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S<sub>m</sub>: Micronized sugar beet dietary fiber

**Tablo 4.** Şeker pancarı lifi ilavesinin ekmeğin tekstürel özellikleri üzerine etkisi**Table 4.** The effect of sugar beet dietary fiber addition on textural properties of wheat bread

	Sertlik (N)	Koheziflik	Esneklik	Çiğnenebilirlik (N)
K	6.42 ± 0.89 <sup>a</sup>	0.36 ± 0.01 <sup>bcde</sup>	6.52 ± 0.11 <sup>abc</sup>	17.28 ± 1.92 <sup>a</sup>
S				
%2	9.00 ± 0.52 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.03 <sup>cde</sup>	6.18 ± 0.53 <sup>a</sup>	20.51 ± 4.75 <sup>a</sup>
%4	26.03 ± 0.96 <sup>b</sup>	0.29 ± 0.00 <sup>a</sup>	6.43 ± 0.24 <sup>abc</sup>	48.75 ± 1.03 <sup>b</sup>
%6	32.49 ± 1.49 <sup>c</sup>	0.31 ± 0.01 <sup>ab</sup>	7.02 ± 0.25 <sup>cd</sup>	79.29 ± 9.04 <sup>c</sup>
%8	46.56 ± 2.55 <sup>d</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	6.26 ± 0.28 <sup>ab</sup>	92.17 ± 12.99 <sup>cd</sup>
S <sub>m</sub>				
%2	9.47 ± 2.29 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.01 <sup>de</sup>	6.97 ± 0.15 <sup>bcd</sup>	26.08 ± 3.55 <sup>a</sup>
%4	21.41 ± 0.78 <sup>b</sup>	0.41 ± 0.05 <sup>e</sup>	7.44 ± 0.25 <sup>d</sup>	59.37 ± 6.73 <sup>b</sup>
%6	44.02 ± 3.37 <sup>d</sup>	0.37 ± 0.03 <sup>cde</sup>	6.95 ± 0.66 <sup>bcd</sup>	90.61 ± 11.00 <sup>cd</sup>
%8	42.64 ± 5.44 <sup>d</sup>	0.33 ± 0.05 <sup>abc</sup>	6.83 ± 0.61 <sup>abcd</sup>	96.56 ± 16.86 <sup>d</sup>

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır (P < 0.05)

Different small letters in the same column show the statistical difference between the values (P < 0.05)

K: Kontrol

K: Control

S: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmemiş lif örneği

S: Unmicronized sugar beet dietary fiber

S<sub>m</sub>: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S<sub>m</sub>: Micronized sugar beet dietary fiber

**Tablo 5.** Şeker pancarı lifi ilavesinin ekmeğin duyusal özellikleri üzerine etkisi**Table 5.** The effect of sugar beet dietary fiber addition on sensorial properties of wheat bread

	Koku	Kabuk Rengi	Ekmeğin İçi Rengi	Ekmeğin İçi Gözenek Yapısı	Esneklik	Pütürlülük	Tat/Aroma	Genel Kabul Edilebilirlik
K	8.00 ± 0.56 <sup>a</sup>	8.00 ± 0.53 <sup>c</sup>	8.79 ± 0.73 <sup>b</sup>	8.75 ± 0.50 <sup>b</sup>	8.33 ± 0.76 <sup>c</sup>	8.08 ± 1.12 <sup>a</sup>	8.13 ± 0.71 <sup>b</sup>	8.54 ± 0.43 <sup>d</sup>
S								
%2	7.50 ± 1.41 <sup>a</sup>	7.88 ± 0.83 <sup>c</sup>	7.75 ± 0.89 <sup>ab</sup>	8.13 ± 0.83 <sup>ab</sup>	7.38 ± 1.51 <sup>bc</sup>	7.88 ± 1.13 <sup>a</sup>	7.75 ± 1.16 <sup>ab</sup>	8.13 ± 0.83 <sup>cd</sup>
%4	6.63 ± 1.41 <sup>a</sup>	7.38 ± 0.92 <sup>bc</sup>	6.88 ± 1.64 <sup>ab</sup>	7.50 ± 1.51 <sup>ab</sup>	6.25 ± 1.58 <sup>abc</sup>	7.00 ± 1.41 <sup>a</sup>	6.63 ± 1.51 <sup>ab</sup>	6.75 ± 1.04 <sup>abcd</sup>
%6	6.25 ± 1.75 <sup>a</sup>	7.00 ± 1.07 <sup>bc</sup>	6.00 ± 1.31 <sup>a</sup>	6.38 ± 1.19 <sup>a</sup>	4.88 ± 1.55 <sup>a</sup>	6.38 ± 1.51 <sup>a</sup>	5.75 ± 1.58 <sup>a</sup>	5.75 ± 1.58 <sup>ab</sup>
%8	5.75 ± 1.39 <sup>a</sup>	4.88 ± 1.25 <sup>a</sup>	5.75 ± 2.12 <sup>a</sup>	6.38 ± 1.60 <sup>a</sup>	4.75 ± 1.16 <sup>a</sup>	6.13 ± 2.10 <sup>a</sup>	5.63 ± 1.92 <sup>a</sup>	5.50 ± 1.60 <sup>a</sup>
S <sub>m</sub>								
%2	7.50 ± 1.69 <sup>a</sup>	7.75 ± 0.71 <sup>bc</sup>	7.38 ± 1.19 <sup>ab</sup>	7.63 ± 0.92 <sup>ab</sup>	8.00 ± 1.07 <sup>bc</sup>	7.38 ± 1.92 <sup>a</sup>	7.38 ± 1.41 <sup>ab</sup>	7.63 ± 1.41 <sup>bcd</sup>
%4	6.38 ± 1.19 <sup>a</sup>	6.38 ± 1.41 <sup>abc</sup>	6.25 ± 1.67 <sup>a</sup>	6.13 ± 0.99 <sup>a</sup>	6.00 ± 1.85 <sup>abc</sup>	6.63 ± 0.92 <sup>a</sup>	6.00 ± 1.20 <sup>ab</sup>	5.88 ± 1.25 <sup>ab</sup>
%6	6.13 ± 1.64 <sup>a</sup>	6.13 ± 0.83 <sup>ab</sup>	6.00 ± 1.31 <sup>a</sup>	6.50 ± 1.60 <sup>a</sup>	6.13 ± 1.55 <sup>abc</sup>	6.13 ± 1.96 <sup>a</sup>	6.00 ± 1.85 <sup>ab</sup>	6.13 ± 1.55 <sup>abc</sup>
%8	6.25 ± 1.58 <sup>a</sup>	6.50 ± 1.41 <sup>abc</sup>	6.25 ± 1.98 <sup>a</sup>	6.50 ± 2.07 <sup>a</sup>	5.88 ± 1.81 <sup>ab</sup>	5.88 ± 1.25 <sup>a</sup>	6.13 ± 1.25 <sup>ab</sup>	6.00 ± 1.41 <sup>ab</sup>

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ( $P < 0.05$ )

*Different small letters in the same column show the statistical difference between the values ( $P < 0.05$ )*

K: Kontrol

K: Control

S: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmemiş lif örneği

S: Unmicronized sugar beet dietary fiber

S<sub>m</sub>: Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S<sub>m</sub>: Micronized sugar beet dietary fiber

### Ekmeğin Duyusal Değerlendirmesi

Şeker pancarı lifi ilavesinin ekmeğin duyusal özellikleri üzerine etkisi Tablo 5'te sunulmuştur.

Kontrol ekmeğine kıyasla, lifle zenginleştirilmiş ekmeklere panelistler tarafından her bir parametre için daha düşük puanlar verilmiştir. Formülasyondaki lif oranının artması genellikle puanların düşmesine neden olmuştur ancak birçok ilave oranında kontrol ekmeği ile lifli ekmekler arasında puanlar açısından istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ( $P > 0.05$ ). Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif içeren ekmeğin örnekleri, esneklik bakımından S lifi içeren ekmeklere göre daha yüksek puanlar almıştır ve daha fazla tercih edilmiştir. S<sub>m</sub> lifi içeren ekmekler koku, ağızda bıraktığı his, tat/aroma gibi parametreler bakımından bütün ilave oranlarında kontrol ekmeğine benzer sonuçlar vermişlerdir. Genel kabul edilebilirlik açısından bakıldığında, panelistlerin bütün ekmekleri kabul edilebilir olarak değerlendirdiği görülmektedir (ortalama puanlar 5'ten büyüktür). %4 oranında S lifi ve

%2 oranında S<sub>m</sub> lifi içeren ekmeğin örneklerinin, kontrol ekmeğine benzer puanlar aldığı ve tüketici beğenilerini karşılayabileceği söylenebilir.

### Sonuç

Şeker pancarı posasından elde edilen şeker pancarı çözünmez lifi yüksek basınç homojenizasyonu ile mikronize edilmiş ve bu lif ekmeğin formülasyonunda farklı oranlarda kullanılarak hamur özellikleri ve ekmeğin kalitesi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Aynı zamanda, mikronize edilmemiş şeker pancarı lifi de ekmeğin üretiminde aynı oranlarda kullanılarak bu ekmeğin örnekleri değerlendirilen kalite özellikleri bakımından mikronize edilmiş lif içeren ekmeğin örnekleri ile kıyaslanmıştır. Lif ilavesi hamur örneklerinin G' ve G'' değerlerinde artışa yol açmış ve daha katı benzeri hamurların elde edilmesine neden olmuştur. Ayrıca bütün hamur örneklerinde, viskoelastik bir davranışın göstergesi olan G' değerlerinin G'' değerlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Lif ilavesi, hamurların sertlik değerlerinde artışa yol açarken sakızimsılık ve ya-

pışkanlık gibi parametreler üzerine önemli düzeyde etki etmemiştir. Mikronize edilmiş şeker pancarı lifi içeren ekmek örnekleri ağırlık ve nem içeriği bakımından kontrol ekmeğine benzer sonuçlar vermiştir. Ekmek örneklerine ilave edilen lif oranı arttıkça örneklerin hacim değerleri azalmıştır. Lif ilavesi ekmek örneklerinin sertlik ve çiğnenebilirlik özelliklerinde artışa neden olurken koheziflik değerlerinde önemli bir değişim meydana getirmemiştir. %4 oranında mikronize edilmiş şeker pancarı lifi içeren ekmek örneği kontrol örneğine kıyasla önemli düzeyde yüksek bir esneklik değerine sahiptir ve bu da ekmek tazeliği açısından önemli bir kriterdir. Lif ilavesi ile birlikte, ekmek içi parlaklığı önemli ölçüde azalırken genel olarak ekmeklerin kırmızı renk oranı artmış, sarı renk oranında ise önemli bir değişim gözlenmemiştir. Lif ilave edilmiş bütün ekmekler duysal değerlendirmede panelistler tarafından kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir. Yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneğini içeren ekmekler esneklik bakımından diğer ekmeklere göre daha yüksek puanlar almış ve koku, ağızda bıraktığı his, tat ve aroma gibi parametreler bakımından kontrol ekmeğine benzer sonuçlar vermiştir. Yüksek basınç homojenizasyonu aracılığıyla mikronize edilerek fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş olan şeker pancarı lifinin, ekmeğin yanı sıra farklı gıdaların bileşiminde kullanılarak bu gıdalarda tekstür ve stabilite açısından meydana getirebileceği etkiler değerlendirilebilir.

#### Etik Standart ile Uyumluluk

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Etik izin:** Araştırma niteliği bakımından etik izne tabii değildir.

**Finansal destek:** Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi (Proje No: 2015/35) tarafından desteklenmiştir.

**Teşekkür:** -

**Açıklama:** Bu çalışma 13/01/2020 tarihinde tamamlanan “Mikronize edilmiş şeker pancarı lifinin hamur ve ekmek özellikleri üzerine etkileri” başlıklı Doktora tezi esas alınarak hazırlanmıştır.

#### Kaynaklar

**Ahmed, J., Almusallam, A.S., Al-Salman, F., AbdulRahman, M.H., Al-Salem, E. (2013).** Rheological properties of water insoluble date fiber incorporated wheat flour dough. *Food Science and Technology*, 51(2), 409-416.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.11.018>

**Almeida, E.L., Chang, Y.K., Steel, C.J. (2013).** Dietary fibre sources in bread: Influence on technological quality. *Food Science and Technology*, 50(2), 545-553.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.012>

**Anonim (2012).** Türk Gıda Kodeksi. Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği (2012/2). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 4 Ocak 2012 tarih ve 28163 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/01/20120104-6.htm> (Erişim tarihi 05.05.2018)

**Armero E., Collar C. (1997).** Texture properties of formulated wheat doughs. Relationships with dough and bread technological quality. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung A*, 204, 136-145.

<https://doi.org/10.1007/s002170050050>

**Ayadi M.A., Abdelmaksoud W., Ennouri M., Attia H. (2009).** Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products*, 30, 40-47.

**Bogdanović, B., Šereš, Z., Gyura, J. (2013).** The influence of the extraction parameters on the quality of dried sugar beet pulp. *Hemijaska Industrija*, 67(2), 269-275.

<https://doi.org/10.2298/HEMIND120412067B>

**Cappa, C., Lucisano, M., Mariotti, M. (2013).** Influence of *Psyllium*, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydrate Polymers*, 98(2), 1657-1666.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.007>

**Chen, T., Zhang, M., Bhandari, B., Yang, Z. (2018).** Micronization and nanosizing of particles for an enhanced quality of food: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(6), 993-1001.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1236238>

**Espejo, G.G.A., Hernandez-Herrero, M.M., Juan, B., Trujillo, A.J. (2014).** Inactivation of *Bacillus* spores inoculated in milk by ultra-high-pressure homogenization. *Food Microbiology*, 44, 204-210.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.010>

- Felli, R., Yang, T.A., Abdullah, W.N.W., Zzaman, W. (2018). Effects of incorporation of jackfruit rind powder on chemical and functional properties of bread. *Tropical Life Sciences Research*, 29(1), 113-126.  
<https://doi.org/10.21315/tlsr2018.29.1.8>
- Fendri, L.B., Chaari, F., Maaloul, M., Kallel, F., Abdelkafi, L., Chaaboni, S.E., Ghribi-Aydi, D. (2016). Wheat bread enrichment by pea and broad bean pod fibers: Effect on dough rheology and bread quality. *Food Science and Technology*, 73, 584-591.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.070>
- Filipovic, N., Djuric, M., Gyura, J. (2007). The effect of the type and quantity of sugar-beet fibers on bread characteristics. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1047-1053.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.050>
- Filipović, N.K., Gyura, J.F., Filipović, J.S. (2004). Influence of additive from sugar beet on white bread quality. *Acta Periodica Technologica*, 35, 25-29.  
<https://doi.org/10.2298/APT0435025F>
- Floury, J., Desrumaux, A., Axelos, M., Legrand, J. (2002). Degradation of methylcellulose during ultra-high-pressure homogenization. *Food Hydrocolloids*, 16(1), 47-53.  
[https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00039-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00039-X)
- Gomez, M., Moraleja, A., Oliete, B., Ruiz, E., Caballero, P.A. (2010). Effect of fibre size on the quality of fibre-enriched layer cakes. *Food Science and Technology*, 43(1), 33-38.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.026>
- Gómez, M., Ronda, F., Blanco, C.A., Caballero, P.A., Apesteguía, A. (2003). Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *European Food Research and Technology*, 216, 51-56.  
<https://doi.org/10.1007/s00217-002-0632-9>
- Gül, H., Şen, H. (2017). Effects of pomegranate seed flour on dough rheology and bread quality. *CyTA-Journal of Food*, 15(4), 622-628.  
<https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1327461>
- Hancer, A., Karabulut, İ. (2019). Şeker pancarı besinsel lifinin fonksiyonel özellikleri üzerine farklı ekstraksiyon uygulamaları ve mikronizasyonun etkileri. *GIDA*, 44 (3), 498-512.  
<https://doi.org/10.15237/gida.GD19031>
- Hu, R., Zhang, M., Adhikari, B., Liu, Y. (2015). Effect of homogenization and ultrasonication on the physical properties of insoluble wheat bran fibres. *International Agrophysics*, 29, 423-432.  
<https://doi.org/10.1515/intag-2015-0048>
- Ishwarya, S.P., Desai, K.M., Naladala, S., Anandharamakrishnan, C. (2017). Bran-induced effects on the evolution of bubbles and rheological properties in bread dough. *Journal of Texture Studies*, 48(5), 415-426.  
<https://doi.org/10.1111/jtxs.12244>
- Jacquet, N., Vanderghem, C., Danthine, S., Blecker, C., Paquot, M. (2013). Influence of homogenization treatment on physicochemical properties and enzymatic hydrolysis rate of pure cellulose fibers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(4), 1315-1328.  
<https://doi.org/10.1007/s12010-012-0057-2>
- Ktenioudaki, A., Gallagher, E. (2012). Recent advances in the development of high-fibre baked products. *Trends in Food Science and Technology*, 28(1), 4-14.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.004>
- Ktenioudaki, A., O'Shea, N., Gallagher, E. (2013). Rheological properties of wheat dough supplemented with functional by-products of food processing: Brewer's spent grain and apple pomace. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 362-368.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.005>
- Kurek, M., Wyrwisz, J., Piwińska, M., Wierzbicka, A. (2016). The effect of oat fibre powder particle size on the physical properties of wheat bread rolls. *Food Technology and Biotechnology*, 54(1), 45-51.  
<https://doi.org/10.17113/ftb.54.01.16.4177>
- Lai, C.S., Hosene, R.C., Davis, A.B. (1989). Effects of wheat bran in breadmaking. *Cereal Chemistry*, 66(3), 217-219.
- Lopes, M.T., Mota, M.J., Gomes, A.M., Delgadillo, I., Saraiva, J.A. (2018). Application of high pressure with homogenization, temperature, carbon dioxide, and cold plasma for the inactivation of bacterial spores: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 532-555.  
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12311>
- Mišan, A., Sakač, M., Medić, D., Tadić, V., Marković, G., Gyura, J., Pagano, E., Izzo, A.A., Borrelli, F., Šarić, B.,

- Milovanović, I., Milić, N. (2016). Antioxidant and physicochemical properties of hydrogen peroxide-treated sugar beet dietary fibre. *Phytotherapy Research*, 30(5), 855-860. <https://doi.org/10.1002/ptr.5598>
- Özboy, Ö., Köksel, H. (1999). Utilization of sugar beet fiber in the production of high fiber bread. *Zuckerindustrie*, 124(9), 712-715.
- Özkaya, B., Baumgartner, B., Özkaya, H. (2018). Effects of concentrated and dephytinized wheat bran and rice bran addition on bread properties. *Journal of Texture Studies*, 49(1), 84-93. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12286>
- Öztürk, S., Özboy Özbaş, Ö., Cavidoğlu, I., Köksel, S. (2008). Utilization of sugar beet fiber and zero-trans interesterified and non-interesterified shortenings in cookie production. *Zuckerindustrie*, 133(11), 704-709.
- Peressini, D., Sensidoni, A. (2009). Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs. *Journal of Cereal Science*, 49(2), 190-201. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.09.007>
- Rabetafika, H.N., Bchir, B., Aguedo, M., Paquot, M., Blecker, C. (2014). Effects of processing on the compositions and physicochemical properties of fibre concentrate from cooked fruit pomaces. *Food and Bioprocess Technology*, 7(3), 749-760. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1073-0>
- Rodriguez-Sandoval, E., Polania-Gaviria, L.Y., Lorenzo, G. (2017). Effect of dried cassava bagasse on the baking properties of composite wheat bread. *Journal of Texture Studies*, 48(1), 76-84. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12212>
- Romankiewicz, D., Hassoon, W.H., Cacak-Pietrzak, G., Sobczyk, M., Wirkowska-Wojdyla, M., Ceglińska, A., Dziki, D. (2017). The effect of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) addition on quality and nutritional value of wheat bread. *Journal of Food Quality*, 2017(1) 1-7. <https://doi.org/10.1155/2017/7352631>
- Rosell, C.M., Santos, E., Collar, C. (2009). Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: A comparative approach, *Food Research International*, 42(1), 176-184. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.10.003>
- Sakać, M.B., Gyura, J.F., Mišan, A.Č, Šereš, Z.I., Pajin, B.S., Šoronja-Simović, D.M. (2011). Antioxidant activity of cookies supplemented with sugar beet dietary fiber. *Sugar Industry*, 136(3), 151-158.
- Šoronja Simović, D., Maravić, N., Šereš, Z., Mišan, A., Pajin, B., Jevrić, L.D., Podunavac-Kuzmanović, S.O., Kovačević, S.Z. (2017). Antioxidant capacity of cookies with non-modified and modified sugar beet fibers: chemometric and statistical analysis. *European Food Research and Technology*, 243(2), 239-246. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2739-4>
- Šoronja-Simović, D.M., Smole-Možina, S., Raspor, P., Maravić, N.R., Zahorec, J.J., Luskar, L., Šereš, Z.I. (2016). Carob flour and sugar beet fiber as functional additives in bread. *Acta Periodica Technologica*, 47, 83-93. <https://doi.org/10.2298/APT1647083S>
- Sudha, M.L., Baskaran, V., Leelavathi, K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, 104(2), 686-692. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.016>
- Upadhyay, R., Ghosal, D., Mehra, A. (2012). Characterization of bread dough: Rheological properties and microstructure. *Journal of Food Engineering*, 109(1), 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.028>
- Wang, J., Rosell, J.M., Barber, C.B. (2002). Effect of the addition of different fibers on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79(2), 221-226. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00135-8)
- Wang, T., Sun, X., Zhou, Z., Chen, G. (2012). Effects of microfluidization process on physicochemical properties of wheat bran. *Food Research International*, 48(2), 742-747. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.015>
- Wu, M.Y., Shiau, S.Y. (2015). Effect of the amount and particle size of pineapple peel fiber on dough rheology and steamed bread quality. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 549-558. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12260>



## Gaziantep piyasasında satışı sunulan nar ekşili ve limon soslarının bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi

Hatice Neval ÖZBEK<sup>1</sup>, Aysel ELİK<sup>2</sup>

### Cite this article as:

Özbek, H.N., Elik, A. (2022). Gaziantep piyasasında satışı sunulan nar ekşili ve limon soslarının bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Food and Health*, 8(3), 208-217. <https://doi.org/10.3153/FH22020>

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

<sup>2</sup> Tarsus Üniversitesi, Mersin Tarsus Organize Sanayi Bölgesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi, Mersin, Türkiye

### ORCID IDs of the authors:

H.N.Ö. 0000-0001-6543-4086

A.E. 0000-0003-4949-9108

Submitted: 13.07.2021

Revision requested: 31.01.2022

Last revision received: 10.02.2022

Accepted: 01.04.2022

Published online: 31.05.2022

### Correspondence:

Aysel ELİK

E-mail: [avselelik@tarsus.edu.tr](mailto:avselelik@tarsus.edu.tr)



© 2022 The Author(s)

Available online at  
<http://jfhns.scientificwebjournals.com>

### ÖZ

Bu çalışmada, Gaziantep piyasasında satışı sunulan nar ekşili ve limon soslarının bazı kimyasal özellikleri incelenmiştir. Bu amaç için altı adet limon sosu ve altı adet nar ekşili sos örneği alınmıştır. Örneklerin, toplam fenolik içerik, toplam antosiyanin içerik, briks, titrasyon asitliği, pH, organik asit ve şeker içerikleri belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, nar ekşili sos örneklerinin kimyasal analiz sonuçları; toplam fenolik içerik 0.27-1.41 mg GAE/g nar ekşili sosu (NS); toplam antosiyanin içerik 0.37-4.77 µg/g NS; briks % 68.45-73.20; titrasyon asitliği % 4.3-8.7 ve pH 1.32-1.71 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Limon sos örnekleri için gerçekleştirilen kimyasal analiz sonuçlarına göre ise toplam fenolik madde 0.07-0.66 mg GAE/mL limon sosu; titrasyon asitliği % 5.1-7.6 ve pH 1.23-1.49 aralığında tespit edilmiştir. Ayrıca, nar ekşili ve limon soslarında bulunan ana organik asitin sitrik asit olduğu tespit edilmiştir ve miktarlarının sırasıyla 5.19-9.95 g/100g ve 52.26-84.59 g/L arasında değiştiği bulunmuştur. Örneklerde bulunan ana şekerin limon sosları için glikoz ve fruktoz, nar ekşili sosları için ise sadece glikoz olduğu belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan limon sosu ve nar ekşili sos örneklerinin bazı kimyasal özellikler açısından birinden farklı olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Nar ekşili sos, Limon sos, Organik asit, Şeker, pH, Toplam fenolik

### ABSTRACT

#### Determination of some chemical properties of pomegranate and lemon juice sauces in Gaziantep

In this study, some chemical properties of pomegranate and lemon juice sauces sold in the Gaziantep market were investigated. For this purpose, six samples of lemon sauce and pomegranate sauce samples were taken. The total phenolic content, total anthocyanin content, brix, titration acidity, pH, organic acid, and sugar contents of the samples were determined. According to the results of the study, the chemical analysis results of the pomegranate sauce samples were determined as follows; total phenolic content of 0.27-1.41 mg GAE/g pomegranate sauce (PS); total anthocyanin content of 0.37-4.77 µg/g PS; brix of 68.45-73.20 %; the titration acidity of 4.3-8.7 % and the pH of 1.32 -1.71. For the lemon sauces, the total phenolic content, titration acidity, and pH were found in a range of 0.07-0.66 mg GAE/mL lemon sauce, 5.1-7.6 %, and 1.23-1.49, respectively. In addition, the main organic acid in pomegranate and lemon sauces was detected as citric acid and the quantity varied between 5.19-9.95 g/100g and 52.26-84.59 g/L, respectively. The main sugar in the samples was determined as glucose and fructose for lemon sauces and only glucose for pomegranate sauces. It was concluded that the samples of lemon and pomegranate sauce used in the study were different from each other in terms of some chemical properties.

**Keywords:** Pomegranate sauce, Lemon sauce, Organic acid, Sugar, pH, Total phenolic

## Giriş

Limon (*Citrus limonia* (L.) Burm.), ılıman iklime sahip ülkelerde yetiştirilen önemli turunçgil çeşitlerinden biridir. Dünya turunçgil üretiminin 2019/20 sezonunda %8'ini limon oluşturmaktadır. Üretimde önde gelen ilk 4 ülke olan Meksika, Arjantin, AB ve Türkiye dünya limon üretiminin %82'sini karşılamaktadır. Ülkemizde ise üretimin %93'ü Akdeniz, %7'si Ege Bölgesi'nden karşılanırken, iller açısından bakıldığında Mersin, Adana ve Muğla illeri üretimin %90'ını karşılamaktadır (Anonim, 2021). Limon meyvesi, flavonoidler, sitrik asit, C vitamini ve mineraller dahil olmak üzere çok sayıda bileşeni ile sağlık üzerinde olumlu etkileri olan zengin bir besin kaynağıdır (Lorento vd., 2014). Ülkemizde limon çeşitli yemek, çorba ve salatalara ekşilik ve lezzet vermek için taze ve sıkımlık olarak tüketilmektedir. Bunun dışında limon gıda sanayinde limon suyu ve limonata başta olmak üzere gazlı ve gazsız içeceklerde, dondurma gibi çeşitli gıdalarda ve limon sosu üretiminde kullanılmaktadır (Barlak, 2019). TS 13551'e göre limon sosu "Limon suyu konsantresine tekniğine uygun olarak belirli oranda su ve mevzuatında katılmasına müsaade edilen katkı maddeleri katılarak hazırlanan mamul" olarak tanımlanmaktadır. Limon sosunun meyve oranı en az %20 ve pH değeri ise 1.5-3.0 arasında olmalıdır (Anonim, 2013).

Nar (*Punica granatum* L.), Punicaceae familyasının Punica cinsine ait ılıman iklimlerde yetişen bir meyvedir. Asya, Kuzey Afrika, Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde önemli bir ticari ürün olan nar, Türkiye'de en çok Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilmektedir (Ergin, 2020). Nar içerdiği polifoneller (punikalın, elajik asit, gallik asit, elajitanenler, vb.), antosiyaninler, vitamin ve mineraller gibi çok sayıda biyoaktif bileşen ile antioksidan, antiviral, antikanser, antibakteriyel, antidiyabetik gibi fonksiyonel ve tedavi edici özellikler sergilemekte ve birçok hastalığın önlenmesinde rol oynamaktadır (İncedayı, 2021; İncedayı vd., 2010). Nar, taze olarak tüketilmesinin yanında nar suyu ve konsantresi, nar ekşisi, nar reçeli, nar şarabı, nar ekstraktı ve nar çekirdeği yağı üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca, tatlılarda, pastalarda ve meyve salatalarında hem lezzet vermesi hem de görsellik açısından kullanılabilir (Baysal ve Taştan, 2018; Özdoğan, 2014). TS 12720'ye göre nar ekşisi "Nar meyvesinin iki veya dört parçaya bölünüp preslenmesi, elde edilen nar suyunun durultulması ve tekniğine uygun olarak açıkta veya vakum altında koyulaştırılması ile elde edilen ve gıdalara çeşni vermek amacıyla üretilen ekşi bir gıda maddesi" olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2016). Nar ekşisi gibi çeşitli yiyeceklere lezzet vermek amacıyla kullanılan soslardan biri de nar ekşili sosudur. Nar ekşili sos, nar ekşisinden farklı olarak içeriğinde glikoz şurubu, su, nar aroması, asitliği düzenleyici (sitrik asit), renk-

lendirici ve koruyucu madde içermektedir (Metin, 2014). Ancak, nar ekşili sosları için yasal bir düzenleme bulunmamaktadır.

Barlak (2019) farklı marka limon soslarına koruyucu katkı maddesi olarak katılan sorbik asit ve benzoik asit miktarlarını belirlemiştir. On adet limon sosu örneğinden bir tanesinde sorbik ve benzoik asit tespit edilememiş olup, beş tanesinde yalnızca sorbik asit, iki tanesinde ise yalnızca benzoik asit ve iki tanesinde sorbik ve benzoik asidin birlikte kullanıldığı belirtilmiştir. Örneklerdeki sorbik asit miktarı ortalama 221.62 ±9.94 ppm ve benzoik asit miktarı ortalama 54.87 ±4.054 ppm olarak bulunmuştur. Vatansver (2018) iki farklı nar ekşili sosun hidrosimetilfurfural, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite, biyoerişilebilirlik ve bazı fizikokimyasal özelliklerini incelemiştir. İki nar ekşili sos için sırasıyla pH 1.71 ve 2.01, asitlik (sitrik asit cinsinden) 3.29 ve 3.73 g/100g, briks 72.3° ve 70.6°, askorbik asit 1.42 ve 1.06 mg/100g ile HMF miktarları ise 117.15 ve 387.32 mg/kg olarak bildirilmiştir. Nar ekşili sosların toplam fenolik madde miktarları 31.40 ve 133.10 mg gallik asit eşdeğeri/100 g suda çözünür kuru madde, CUPRAC yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasiteleri ise 18.90 ve 179.60 mg troloks eşdeğeri/100g suda çözünür kuru madde olarak bulunmuştur. Metin (2014) Ankara piyasasında satışa sunulan dokuz adet nar ekşili sosun HMF değerlerini incelemiş ve 41 ile 151.9 mg/kg arasında değiştiğini göstermiştir. Hoca (2019) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise Bursa ilinde satışa sunulan 4 adet nar ekşili sosun sorbik asit ve benzoik asit miktarları sırasıyla 68.50 ile 528.83 mg/kg ve 155.23 ile 754.96 mg/kg aralığında belirlenmiştir. Limon ve nar ekşili sosları ile ilgili yapılan çalışmaların sınırlı olduğu göz önünde bulundurularak bu çalışmanın amacı, Gaziantep ilindeki marketlerden temin edilen altı farklı marka limon sosu ve altı farklı marka nar ekşili sosun pH, titrasyon asitliği, briks, toplam fenolik içerik, toplam antosiyanin içerik, organik asit ve şeker içeriğinin incelenmesi ve karşılaştırılmasıdır.

## Materyal ve Metot

### Kimyasallar

Sitrik, malik, oksalik, askorbik, süksinik ve laktik asit standartları Fluka (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Glikoz, fruktoz ve sakaroz standartları Sigma-Aldrich (Amerika) firmasından sağlanmıştır. Diğer kullanılan bütün kimyasal ve çözgenler analitik veya kromatografik saflıktadır.

### Limon ve Nar ekşili Sos Örnekleri

Bu çalışmada Gaziantep marketlerinde satışa sunulan farklı markalara ait altı adet limon sosu ve altı adet nar ekşili sos 15-23 Nisan 2021 tarihleri arasında alınarak incelenmiştir.

Plastik ya da cam şişelerde temin edilen örnekler analizler gerçekleştirilinceye kadar buzdolabında ( $4 \pm 1$  °C) muhafaza edilmiştir.

### **Briks, pH ve Titrasyon Asitliği Tayini**

Nar ekşili soslarının suda çözünür kuru madde miktarları refraktometre cihazı (Isolab, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Refraktometre ile okunan değerler briks değeri olarak ifade edilmiştir.

Limon ve nar ekşili soslarının pH değerleri masa üstü tip bir pH metre (Isolab, Almanya) kullanılarak tespit edilmiştir.

Limon ve nar ekşili soslarının titrasyon asitliği Cemeroglu (2013) tarafından önerilen metoda göre yapılmıştır. Limon sosları doğrudan nar ekşili sosları ise 1:2 (h/h) oranında saf suyla seyreltilerek kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler 3 damla fenolfitaleyn eklendikten sonra 0.1 N NaOH çözeltisiyle hafif pembe renk verene kadar titre edilmiştir. Örneklerin titrasyon asitliği aşağıdaki denklem (1) kullanılarak hesaplanmıştır. Nar ekşili ve limon sos örneklerinin titrasyon asitliği, % sitrik asit cinsinden hesaplanmıştır.

$$\text{Titrasyon asitliği, \% sitrik asit cinsinden} = \frac{V.f.E}{M} \times 100 \quad (1)$$

V: harcanan 0.1 N NaOH miktarı, mL

f: çözültide kullanılan bazın normalite faktörü

E: 1mL 0.1 N NaOH eşdeğeri asit miktarı, g (0.0064 g)

M: titre edilen örneğin miktarı, mL veya g

### **Toplam Fenolik İçerik**

Örneklerin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Singleton vd., 1999). Kısaca, 450 µL seyreltilmiş örnek 2.25 mL önceden saf su ile seyreltilmiş olan Folin-Ciocalteu reaktifi (1:9, h/h) ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 3 dakika karıştırıldıktan sonra 1.8 mL sodyum karbonat çözeltisi (75 g/L) ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 2 saat boyunca bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı 760 nm dalga boyunda spektrofotometre (Optima, model SP-3000 nano, Tokyo, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisini çizmek için çeşitli konsantrasyonlarda (10-100 µg/mL) gallik asit solüsyonları kullanılmıştır. Toplam fenolik değerleri, nar ekşili sos için mg gallik asit eşdeğerleri (GAE)/g örnek, limon sosu için ise mg GAE/mL örnek olarak verilmiştir.

### **Toplam Antosiyanin İçerik**

Nar ekşili soslarının antosiyanin içeriğini belirlemek için pH-diferansiyel yöntemi kullanılmıştır (Lee vd., 2005). Bu yöntemde iki tampon sistemi: potasyum klorür tamponu, pH 1.0

(0.025 M) ve sodyum asetat tamponu, pH 4.5 (0.4 M) hazırlanmıştır. 1 mL seyreltilmiş örneğin içerisine, ayrı olacak bir şekilde 4 mL tampon çözültileri eklenmiştir ve absorbanslar şahit örneğe karşı (saf su) 515 nm ve 700 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Örneğin absorbansı (A), aşağıdaki denklem kullanılarak bulunmuştur:

$$A=(A_{515}-A_{700})_{pH1,0}-(A_{515}-A_{700})_{pH4,5} \quad (2)$$

Örneklerdeki antosiyanin konsantrasyonu ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Toplam antosiyanin içerik (mg/L)} = A \times MW \times DF \times 1000 / (\epsilon \times l) \quad (3)$$

Burada siyanidin-3-glukozit'in moleküler ağırlığı (MW = 449.2) ve molar soğurma ( $\epsilon = 26.900$ ) sabitleri kullanılmıştır. Nar ekşili soslarının toplam antosiyanin madde miktarı mg siyanidin-3-glukozit eşdeğeri/g nar ekşili sosu olarak ifade edilmiştir.

### **Organik Asit Analizi**

Limon ve nar ekşili soslar deiyonize su ile uygun derişimlere seyreltilmiş ve 1 dk boyunca vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır. Hazırlanan çözültüler 0.45 µm PTFE membran filtreden süzülerek HPLC'ye verilmiştir. Organik asit miktarlarının belirlenmesi için Karadeniz (2004) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilmiştir. Örnekler Aminex HPX-87H (300 x 7.8 mm, Bio-rad, Amerika) kolonu ve UV/Vis dedektör (Shimadzu SPD-20A, Japonya) ile donanımlı Shimadzu SCL-10A vp HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Mobil faz olarak 8 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılmış ve 0.6 mL/dk akış hızında izokratik elüsyon yapılmıştır. UV/Vis dedektörün dalga boyu 210 nm'ye ve kolon fırın sıcaklığı 60°C'ye ayarlanmıştır. Organik asit standart çözültileri ultra saf suda çözülerek hazırlanmıştır. Piklerin tanımlanması, alıkonma sürelerinin standartların alıkonma süreleri ile kıyaslanması ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar limon sosları için g/L limon sosu, nar ekşili soslar için ise g/100g nar ekşili sos olarak ifade edilmiştir.

### **Şeker Analizi**

Limon ve nar ekşili soslar deiyonize su ile uygun derişimlere seyreltilmiş ve 1 boyunca dk vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır. Hazırlanan çözültüler 0.45 µm PTFE membran filtreden süzülerek HPLC'ye verilmiştir. Örneklerin şeker miktarları Guo vd. (2015) tarafından önerilen metod modifiye edilerek yukarıda belirtilen HPLC cihazında CARBOsep CHO-682 (300 x 7.8mm, Transgenomic, Amerika) karbonhidrat kolonu ve refraktif indeks (RI) dedektörü (Shimadzu LC RID-10A, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Mobil faz olarak ultra saf su kullanılmış ve 0.4 mL/dk akış hızında izokratik elüsyon yapılmıştır. Kolon sıcaklığı ise 80°C'de tutulmuştur. Şekerlerin tanımlanması, hazırlanan standart şeker bileşenlerinin alıkonma süreleri ile kıyaslanarak yapılmıştır.

Sonuçlar limon sosları için g/L limon sosu, nar ekşili soslar için ise g/100 g nar ekşili sos olarak ifade edilmiştir.

### İstatistiksel Analizler

Çalışmada her bir analiz 3 tekrarlı gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ölçümlerin ortalaması  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak sonuçlar arasındaki önemli farklılıklar belirlenmiştir.

### Bulgular ve Tartışma

Nar ekşili soslar, temelde konsantre edilmiş nar suyunun istenilen düzeyde sulandırılması ve ardından glikoz şurubu, katkı maddeleri, sitrik asit, tuz, antioksidan, boya maddesi (karamel, sinered, vb) ilavesi yapılarak üretilen ürünlerdir (Karabıyıklı, 2010). Gaziantep piyasasında satışa sunulan nar ekşili sosların kimyasal özellikleri Tablo 1’de verilmiştir. Nar ekşili sosların toplam fenolik içerikleri 0.27-1.41 mg GAE/g nar ekşili sos (NS) ve toplam antosiyanin içerikleri ise 0.37-4.77  $\mu$ g/g NS arasında değiştiği saptanmıştır. Örneklerinin toplam fenolik ve antosiyanin içerikleri açısından istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Çalışmada kullanılan nar ekşili sosların nar konsantresi oranlarının %2 ila %30 arasında değiştiği etiket üzerinde belirtilmiştir. Nar, fenolik ve özellikle antosiyanin açısından oldukça zengin bir meyvedir (İncedayı vd., 2010). Nar ekşili soslar için kullanılması gereken minimum nar konsantresi ile ilgili Türkiye’de herhangi bir standart bulunmamaktadır. Bu sebeple oldukça farklı nar konsantresi oranlarına sahip ürünler piyasada bulunmaktadır. Dolayısıyla, nar ekşili sosların hazırlanması için kullanılan nar konsantresi oranı arttıkça ürünün fenolik ve antosiyanin içeriğinin arttığı düşünülmektedir. Vatansever (2018) piyasada satışa sunulan iki farklı nar ekşili sos örneği ile yaptığı çalışmada, toplam fenolik madde

içeriğini 31.40-133.10 mg GAE/100g suda çözünür kuru madde arasında tespit etmiştir.

Nar ekşili sosların titrasyon asitliği % sitrik asit cinsinden hesaplanmıştır. Örneklerin titrasyon asitliği değerleri %4.3 ile % 8.7, pH değerleri 1.32-1.71 ve toplam kuru madde değerinin (Briks<sup>o</sup>) ise 68.45-73.20 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Karabıyıklı vd. (2012) nar ekşili soslar üzerine yaptığı çalışmada nar ekşili sosların pH değerleri 2.33-2.68 olarak, toplam asitlikleri ise % 8.6-9.3 arasında rapor edilmiştir. Metin (2014) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, nar ekşili sosların pH değerleri 1.74-2.62 aralığında tespit edilmiştir. Vatansever (2018) nar ekşili sosların pH ve titrasyon asitlik değerlerini sırasıyla 1.71-2.01 ve % 3.29-3.73 arasında belirlemiştir. Aynı çalışmada suda çözünür kuru madde miktarı (Briks) ise 70.6–78.5 g/100g arasında bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, literatür verileri ile uyum göstermiştir. Olası farklılıkların temelde hammadde ve proses koşullarından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Gaziantep piyasasında satışa sunulan altı farklı limon sosunun toplam fenolik içerik, titrasyon asitliği ve pH değerleri Tablo 2’de sunulmuştur. Limon soslarının toplam fenolik içerikleri 0.07-0.66 mg GAE/mL LS arasında belirlenmiştir. Toplam fenolik madde içeriği açısından limon sosu örnekleri birinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Limon soslarının pH ve titrasyon asitliği değerleri sırasıyla 1.23-1.49 ve % 5.1-7.6 arasında olup örneklerin pH ve titrasyon asitliği arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Türk Standartları (TS) 13551’e göre limon sosunun pH değeri 1.5-3.0 arasında olmalıdır (Anonim, 2013). Analiz edilen limon soslarının pH değerleri TS’nin belirlediği aralığın altında bulunmuştur. Piyasaya sunulan limon soslarının analiz sonuçlarının farklılık göstermesi, üretim yöntemlerinin ve formülasyonun farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

**Tablo 1.** Nar ekşili soslarının kimyasal özellikleri

**Table 1.** Chemical properties of pomegranate sauces

Ürün	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g NS)	Toplam antosiyanin içerik ( $\mu$ g/g NS)	Titrasyon asitliği (% sitrik asit cinsinden)	Briks (°)	pH
NS-1	0.27 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.37 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	4.3 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	72.65 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	1.32 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
NS-2	0.47 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	4.46 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	6.3 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	72.01 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	1.67 $\pm$ 0.02 <sup>b,c</sup>
NS-3	1.28 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	4.77 $\pm$ 0.02 <sup>f</sup>	7.7 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	73.20 $\pm$ 0.28 <sup>f</sup>	1.71 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
NS-4	1.41 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	2.44 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	7.5 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	71.05 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.61 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
NS-5	0.44 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	1.07 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	8.7 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	68.45 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
NS-6	1.29 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	1.25 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	7.7 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	71.55 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.63 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>

NS: Nar ekşili sos

Örnek için her bir sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 2.** Limon soslarının kimyasal özellikleri**Table 2.** Chemical properties of lemon sauces

Ürün	Toplam fenolik içerik (mg GAE/mL LS)	Titrasyon asitliği (% sitrik asit cinsinden)	pH
LS-1	0.66 ±0.00 <sup>c</sup>	6.4 ±0.02 <sup>b,c</sup>	1.37 ±0.03 <sup>b,c</sup>
LS-2	0.27 ±0.00 <sup>b</sup>	5.1 ±0.03 <sup>c</sup>	1.40 ±0.02 <sup>b,c</sup>
LS-3	0.07 ±0.00 <sup>a</sup>	6.2 ±0.01 <sup>b</sup>	1.37 ±0.01 <sup>b</sup>
LS-4	0.55 ±0.00 <sup>d</sup>	5.2 ±0.01 <sup>a</sup>	1.43 ±0.01 <sup>c</sup>
LS-5	0.55 ±0.01 <sup>d</sup>	7.6 ±0.01 <sup>d</sup>	1.49 ±0.01 <sup>d</sup>
LS-6	0.32 ±0.00 <sup>c</sup>	7.4 ±0.01 <sup>d</sup>	1.23 ±0.01 <sup>a</sup>

LS: Limon sosu

Örnek için her bir sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

### Organik Asit İçeriği

Limon soslarının organik asit içeriği Tablo 3’de verilmiştir. Limon soslarında bulunan ana organik asit sitrik asit olup miktarı  $52.26 \pm 3.01$  ile  $84.59 \pm 5.14$  g/L arasında değişmektedir. Örneklerde tespit edilen diğer organik asitler ise laktik ve askorbik asitlerdir. Yapılan istatistiksel analizler örneklerin organik asit içeriklerinde önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Ürünlerin etiketlerinde asitlik düzenleyici olarak sitrik asit, antioksidan olarak askorbik asit ve farklı oranlarda limon suyu ya da limon konsantresi kullanıldığı belirtilmektedir. Örneklerin organik asit içeriklerinde tespit edilen farklılıklar bu durumlardan kaynaklanmaktadır. Literatürde limon soslarının organik asit içerikleri ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, Khosravi vd. (2015) limon suyunda bulunan ana organik asidi sitrik asit (85.26 g/L) olarak rapor etmişler ve onu takiben örneklerin laktik (1.32 g/L), malik (0.99 g/L) ve askorbik (0.91 g/L) asit içerdiklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Nour vd. (2010) limon suyunda bulunan ana organik asitleri sitrik (73.94 g/L), laktik (1.55 g/L), malik (1.47 g/L) ve askorbik asit (0.72 g/L) olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda limon soslarında tespit edilen laktik asidin kullanılan limon suyu ya da konsantresinden geldiği düşünülmektedir.

Tablo 4 nar ekşili soslarının organik asit içeriğini göstermektedir. Nar ekşili soslarda bulunan ana organik asit sitrik asit

olup miktarı  $5.19 \pm 0.12$  ile  $9.95 \pm 0.13$  g/100g arasında değişmektedir. Örneklerin tümünde tespit edilen diğer asitler malik ve oksalik asittir. Laktik ve süksinik asit ise bazı örneklerde tespit edilmiştir. İstatistiksel analizler örneklerin organik asit içeriklerinde önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Ürünlerin etiketlerinde asitlik düzenleyici olarak sitrik asit ve farklı oranlarda nar suyu ya da nar suyu konsantresi kullanıldığı belirtilmektedir. Örneklerin organik asit içeriklerinde tespit edilen farklılıklar bu durumlardan kaynaklanmaktadır. Limon soslarında olduğu gibi literatürde nar ekşili sosun ya da nar ekşisinin organik asit içerikleri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Gundogdu ve Yilmaz (2012) Türkiye’de yetişen farklı nar çeşitlerinden elde edilen nar sularının organik asit içeriğini incelemiştir. Sonuçlar nar sularının, sitrik asit (0.61-2.18 g/L), malik asit (0.12-2.23 g/L), oksalik asit (0.03-1.02 g/L), süksinik asit (0.04-0.33 g/L), tartarik asit (0.03-0.13 g/L), laktik asit (4.52-33.12 mg/L) ve fumarik asit (0.01-0.30 mg/L) içerdiklerini göstermiştir. Poyrazoğlu vd. (2002) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, 13 çeşit nardan elde edilen meyve sularının organik asit içeriği incelenmiş ve ana organik asidin sitrik asit (0.33-8.96 g/L) olduğu, onu sırasıyla malik ve oksalik asitlerin takip ettiği rapor edilmiştir. Nar sularında tespit edilen diğer organik asitler ise süksinik, tartarik ve kinik asitler olarak bildirilmiştir. Bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda nar ekşili soslarda tespit edilen sitrik asidin bir kısmı ile diğer organik asitler kullanılan nar suyu ya da nar suyu konsantresinden gelmektedir.

**Tablo 3.** Limon soslarının organik asit içeriği**Table 3.** Organic acid content of lemon sauces

Örnek	Sitrik asit (g/L)	Laktik asit (g/L)	Askorbik asit (g/L)
LS-1	69.74 ±4.49 <sup>b</sup>	0.21 ±0.02 <sup>a</sup>	0.13 ±0.01 <sup>a</sup>
LS-2	52.26 ±3.01 <sup>a</sup>	-	0.52 ±0.07 <sup>b</sup>
LS-3	68.51 ±4.17 <sup>b</sup>	0.28 ±0.04 <sup>b</sup>	0.08 ±0.01 <sup>a</sup>
LS-4	57.99 ±2.54 <sup>a</sup>	-	0.45 ±0.06 <sup>b</sup>
LS-5	84.59 ±5.14 <sup>c</sup>	-	0.14 ±0.04 <sup>a</sup>
LS-6	80.02 ±4.67 <sup>c</sup>	0.19 ±0.01 <sup>a</sup>	0.08 ±0.02 <sup>a</sup>

LS: Limon sosu

Örnek için her bir sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.** Nar ekşili soslarının organik asit içeriği**Table 4.** Organic acid content of pomegranate sauces

Örnek	Sitrik asit (g/100 g)	Malik asit (g/100 g)	Oksalik asit (g/100 g)	Laktik asit (g/100 g)	Süksinik asit (g/100 g)
NS-1	5.19 ±0.12 <sup>a</sup>	0.02 ±0.002 <sup>a</sup>	0.01 ±0.001 <sup>a</sup>	-	-
NS-2	7.25 ±0.22 <sup>b</sup>	0.02 ±0.002 <sup>a</sup>	0.03 ±0.002 <sup>a</sup>	0.10 ±0.02 <sup>a</sup>	0.02 ±0.002 <sup>a</sup>
NS-3	9.88 ±0.25 <sup>d</sup>	1.27 ±0.08 <sup>c</sup>	0.17 ±0.02 <sup>b</sup>	0.20 ±0.02 <sup>b</sup>	1.27 ±0.08 <sup>b</sup>
NS-4	9.81 ±0.36 <sup>d</sup>	0.43 ±0.01 <sup>b</sup>	0.22 ±0.06 <sup>b</sup>	-	0.03 ±0.003 <sup>a</sup>
NS-5	9.95 ±0.13 <sup>d</sup>	0.03 ±0.003 <sup>a</sup>	0.03 ±0.009 <sup>a</sup>	0.10 ±0.01 <sup>a</sup>	-
NS-6	9.28 ±0.17 <sup>c</sup>	0.41 ±0.02 <sup>b</sup>	0.21 ±0.05 <sup>b</sup>	-	0.03 ±0.006 <sup>a</sup>

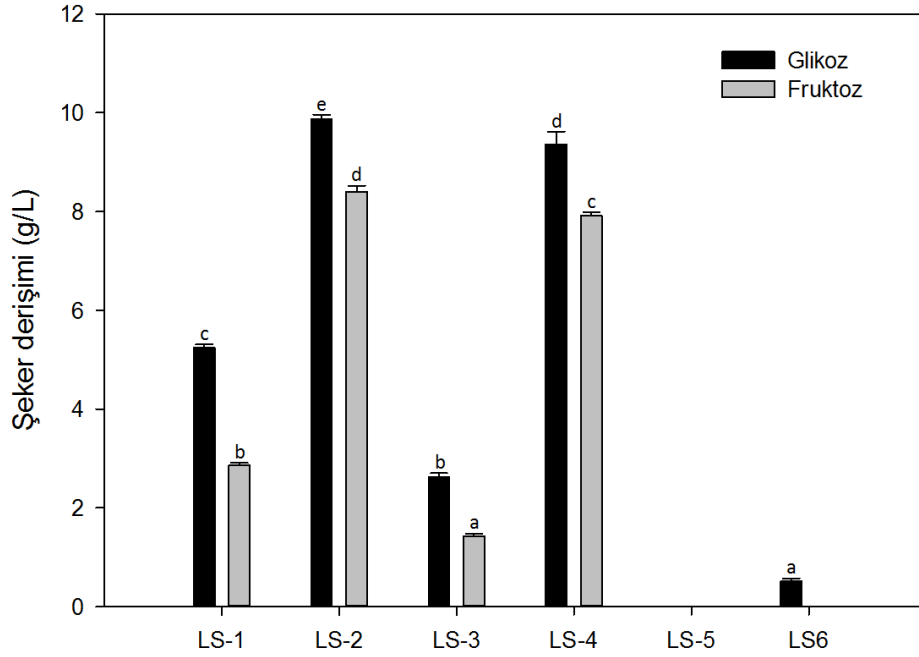
NS: Nar ekşili sos

Her sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

### Şeker Kompozisyonu

Şekil 1 limon soslarında tespit edilen şekerleri ve miktarlarını göstermektedir. İlk dört üründe hem glikoz hem de fruktoz tespit edilmiş olup miktarları  $9.86 \pm 0.10$  ile  $2.62 \pm 0.08$  g/L ve  $8.40 \pm 0.12$  ile  $1.42 \pm 0.06$  g/L arasında değişmektedir. Yapılan istatistiksel analizler ürünlerin şeker içeriklerinde önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Limon soslarının etiketlerinde farklı miktarlarda limon suyu konsantresi içerdikleri belirtilmektedir. Aynı zamanda, bazı ürünlerde şeker ilavesi yapıldığı belirtilirken, bazılarında ise şeker ilave edilmediğine dair bir bilgi bulunmamaktadır. LS-5 örneğinde hiç şeker tespit edilmemiş olup, LS-6 örneğinde ise düşük miktarda glikoz ( $0.51 \pm 0.06$  g/L) bulunmuştur. Her iki örneğin etiketinde 100 g ya da 100 mL ürün için şeker miktarı sıfır olarak

belirtilmiştir. Diğer yandan LS-5 ürününün etiketinde meyve oranının en az %20, LS-6 ürününün etiketinde ise limon suyunun minimum %2 olduğu ifade edilmektedir. Asencio vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada limon meyvelerinde bulunan ana şekerin çeşide bağlı olarak değiştiği, 'Sanguino' çeşidi limonda ana şeker glikoz iken (4 g/100 g taze meyve), "Dulce" ve "Fino" çeşidi limonlarda ise fruktoz (sırasıyla 3.03 ve 2.69 g/100 g taze meyve) olarak belirtilmiştir. Bir diğer çalışmada, Lorente vd. (2014) çeşitli limonlardan elde ettikleri limon sularında bulunan şekerleri glikoz (3.0-15.7 g/L), fruktoz (3.4-13.6 g/L) ve sakaroz (1.0-15.0 g/L) olarak rapor etmişlerdir. Bu bilgilerden yola çıkarak LS-6 örneğinde tespit edilen glikozun limon suyundan geldiği düşünülmektedir. LS-5 örneğinde ise meyve oranı en az %20 olarak belirtilmesine rağmen şeker tespit edilememiştir.

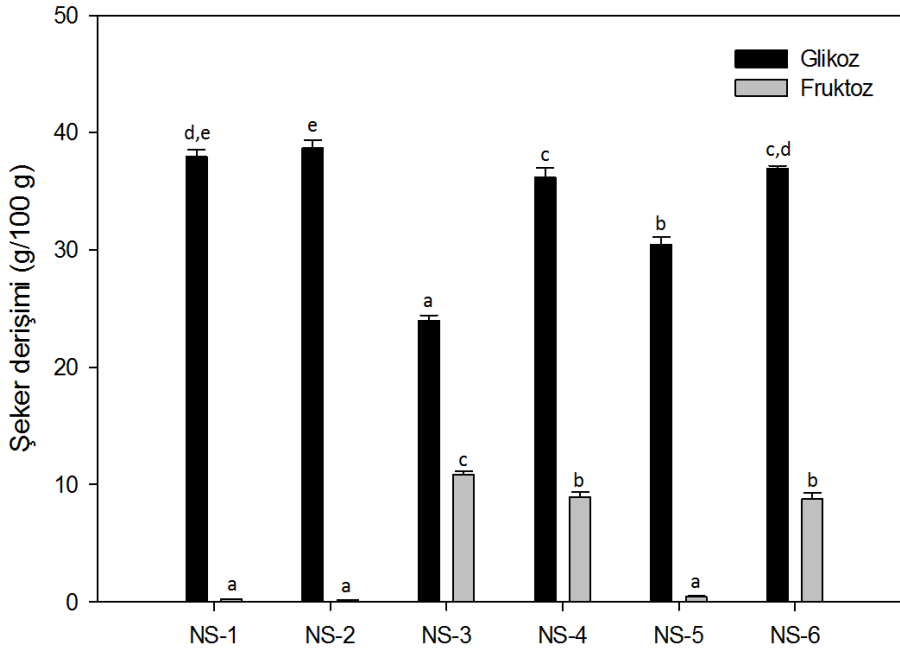


**Şekil 1.** Limon soslarının şeker içeriği

**Figure 1.** The sugar content of lemon sauces

Nar ekşili soslarda ana şeker olan glikozun miktarı  $23.93 \pm 0.51$  ile  $38.68 \pm 0.70$  g/100g arasında değişirken (Şekil 2), diğer şeker ise fruktoz olup miktarı  $0.16 \pm 0.01$  ile  $10.88 \pm 0.26$  g/100g arasında bulunmuştur. Nar ekşili sosların toplam şeker miktarları 30.90 ile 45.72 g/100g arasında tespit edilmiştir. Ürünlerin şeker içeriklerinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ). Nar ekşili sosların şeker miktarı ya da şeker içerikleri ile ilgili literatürde herhangi bir çalışma bulunmazken, İncedayı vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada 7 farklı nar ekşisi için toplam şeker miktarı 44.80 ile 65.30 g/100g arasında rapor edilmiştir. Ürünlerin etiketlerinde glikoz şurubu ve farklı oranlarda nar

suyu ya da nar suyu konsantresi kullanıldığı belirtilmektedir. Örneklerin şeker içeriklerinde tespit edilen farklılıklar bu durumlardan kaynaklanmaktadır. Bu bilgiler ışığında nar ekşili soslarda tespit edilen glikozun bir kısmının ve fruktozun soslarda bulunan nar suyu ya da nar suyu konsantresinden geldiği söylenebilir. Melgarejo vd. (2000) 40 farklı nar meyvesinin şeker kompozisyonunu analiz etmiş ve meyvelerde fruktoz ve glikozun ana şekerler olduğunu belirtmişlerdir. Örneklerin fruktoz içeriğinin 8.24 ile 5.54 g/100g kuru ağırlık arasında değiştiğini ve ortalama fruktoz miktarının (6.58 g/100g kuru ağırlık) glikozdan (6.14 g/100g kuru ağırlık) daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.



**Şekil 2.** Nar ekşili soslarının şeker içeriği

**Figure 2.** Sugar content of pomegranate sauces

## Sonuç

Piyasadan temin edilen limon ve nar ekşili sos örneklerinin toplam fenolik içerik, toplam antosiyanin içerik, briks, titrasyon asitliği, pH, organik asit ve şeker içerikleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde ticari nar ekşili sos ürünlerinin biyoaktif madde miktarları (toplam fenolik madde ve toplam antosiyanin madde) arasında farklılıklar olduğu açıkça görülmüştür. Nar ekşili soslar için kullanılması gereken minimum nar konsantresi ile ilgili Türkiye’de herhangi bir standart yoktur. Bu durumun ürünler arasında biyoaktif madde miktarları açısından farklılıklara sebep olduğu düşünülmektedir. Nar ekşili sos örneklerinin organik asit içeriklerinde de önemli farklılıklar olduğunu tespit edilmiştir. Tespit edilen bu farklılıkların üründe doğrudan farklı oranlarda nar suyu ya da nar suyu konsantresi kullanılması ya da asitlik düzenleyici olarak sitrik asit kullanımı ile ilgili olduğu söylenebilir. Benzer şekilde nar ekşili sos örneklerin şeker içeriklerinin birbirinden farklı olduğu ve tespit edilen bu farklılıkların ürünlerde kullanılan glikoz şurubu ve farklı oranlarda nar suyu ya da nar suyu konsantresinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nar ekşili soslar için ayrıntılı bir yasal düzenlemenin olmamasının piyasadaki ürünler arasında kimyasal içerik olarak farklılıklara sebep olduğu sonucu çıkarılmıştır.

Limon sos örnekleri için elde edilen sonuçlar incelendiğinde pH gibi bazı kimyasal özelliklerinin standartların altında olduğu ve organik asit ve şeker kompozisyonları arasında ciddi farklar olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin organik asit içeriklerinde tespit edilen farklılıklar asitlik düzenleyici olarak sitrik asit, antioksidan olarak askorbik asit ve farklı oranlarda limon suyu ya da limon konsantresi kullanımından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, standartlara göre meyve oranının en az %20 olması gereken bazı limon soslarının bu kriteri sağlamadığı görülmüştür.

### Etik Standart ile Uyumluluk

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Etik izin:** Araştırma niteliği bakımından etik izne tabii değildir.

**Finansal destek:** -

**Teşekkür:** -

**Açıklama:** -



## Kaynaklar

**Anonim (2013).** Türk Standartları Enstitüsü 13551 Limon Sosu Tebliği, Ankara.

**Anonim (2016).** TS 12720 Nar ekşili standardı, 2016. Türk Standartları Enstitüsü. No: ICS 67.080.10, Ankara.

**Anonim (2021).** Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Tarım Ürünleri Piyasa Raporu, Limon, Ocak-2021.

**Asencio, A.D., Serrano, M., García-Martínez, S., Pretel, M.T. (2018).** Organic acids, sugars, antioxidant activity, sensorial and other fruit characteristics of nine traditional Spanish Citrus fruits. *European Food Research and Technology*, 244(8), 1497-1508.  
<https://doi.org/10.1007/s00217-018-3064-x>

**Barlak, N. (2019).** Bursa piyasasında bulunan limon sosu ve limon sularında sorbik asit ve benzoik asit miktarının HPLC ile belirlenmesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.

**Baysal, T., Taştan, Ö. (2018).** Nar ürünleri ve üretimi. Nar Sağlıkta Yıldız, Eren Akçiçek, Hüsnüye Kayalar, Semih Ötleş, Editör, Gece Kitaplığı, İzmir, ss. 90-110. ISBN: 9786052883464

**Cemeroğlu, B.S. (2013).** Gıda analizleri. Ankara: Bizim Grup Basımevi, ss. 38-44. ISBN: 9786056341939

**Ergin, S.Ö. (2020).** Investigation of the physicochemical, nutritional properties and antioxidant activities of commercial and traditional pomegranate molasses samples. *Food and Health*, 6(3), 177-185.  
<https://doi.org/10.3153/FH20019>

**Gundogdu, M., Yilmaz, H. (2012).** Organic acid, phenolic profile and antioxidant capacities of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars and selected genotypes. *Scientia Horticulturae*, 143, 38-42.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.05.029>

**Guo, S., Duan, J.A., Qian, D., Tang, Y., Wu, D., Su, S., Wang, H., Zhao, Y. (2015).** Content variations of triterpenic acid, nucleoside, nucleobase, and sugar in jujube (*Ziziphus jujuba*) fruit during ripening. *Food Chemistry*, 167, 468-474.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.013>

**Hoca, G. (2019).** Bursa ilinde tüketime sunulan nar ekşisi ve nar ekşili soslarda sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının belirlenmesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.

**İncedayı, B. (2021).** Assessment of antioxidant properties and in-vitro bioaccessibility of some pomegranate products. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1), 96-110.  
<https://doi.org/10.25092/baunfbed.829863>

**İncedayı, B., Tamer, C.E., Çopur, Ö.U. (2010).** A research on the composition of pomegranate molasses. *Journal of Agricultural Faculty of Uludağ University*, 24(2), 37-47.

**Karabıyıklı Ş. (2010).** Bazı nar ürünlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi ve salatalarda koruyucu etkisinin araştırılması, Ege Üniversitesi, Doktora Tezi.

**Karabıyıklı, S., Kışla, D. 2012.** Inhibitory effect of sour pomegranate sauces on some green vegetables and kisir. *International Journal of Food Microbiology*, 155, 211-216.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.02.006>

**Karadeniz, F. (2004).** Main organic acid distribution of authentic citrus juices in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28(4), 267-271.

**Khosravi, F., Iranmanesh, B., Olia, S.S.S.J. (2015).** Determination of organic acids in fruit juices by UPLC. *International Journal of Life Sciences*, 9(5), 41-44.  
<https://doi.org/10.3126/ijls.v9i5.12690>

**Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. (2005).** Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-1278.  
<https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>

**Lorente, J., Vegara, S., Martí, N., Ibarz, A., Coll, L., Hernández, J., Valero, M., Saura, D. (2014).** Chemical guide parameters for Spanish lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.) juices. *Food Chemistry*, 162, 186-191.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.042>

**Melgarejo, P., Salazar, D.M., Artes, F. (2000).** Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *European Food Research and Technology*, 211(3), 185-190.

<https://doi.org/10.1007/s002170050021>

**Metin, Z.E. (2014).** Ankara piyasasında satışı sunulan nar ekşisi, nar ekşili sosu ve üzüm pekmezlerinin hidroksimetil-furfural düzeyinin saptanması, Hacettepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.

**Nour, V., Trandafir, I., Ionica M.E. (2010).** HPLC organic acid analysis in different citrus juices under reversed phase conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 44-48.

<https://doi.org/10.15835/nbha3814569>

**Özdoğan, N. (2014).** Nar çekirdek yağının ekstraksiyonu ve

özelliklerinin araştırılması, İstanbul Aydın Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.

**Poyrazoğlu, E., Gökmen, V., Artık, N. (2002).** Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(5), 567-575.

<https://doi.org/10.1006/jfca.2002.1071>

**Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

**Vatansever, A. (2018).** Nar ve ürünlerinin fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.

## Cytotoxic effects of water and ethanolic extracts of Turkish propolis on human laryngeal epidermoid carcinoma cell lines

Betül DEĞER KULAKSIZ<sup>1</sup>, Mehmet İMAMOĞLU<sup>2</sup>, Orhan DEĞER<sup>3</sup>, Kübra AKBULUT ÇAKIROĞLU<sup>3</sup>, Selim DEMİR<sup>3</sup>, Mehmet SÖNMEZ<sup>4</sup>

### Cite this article as:

Değer Kulaksız, B., İmamoğlu, M., Değer, O., Akbulut Çakiroğlu, K., Demir, S., Sönmez M. (2022). Cytotoxic effects of water and ethanolic extracts of Turkish propolis on human laryngeal epidermoid carcinoma cell lines. *Food and Health*, 8(3), 218-228. <https://doi.org/10.3153/FH22021>

<sup>1</sup> University of Health Sciences, Trabzon Faculty of Medicine, Department of Otolaryngology, Trabzon, Türkiye

<sup>2</sup> Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Otolaryngology, Trabzon, Türkiye

<sup>3</sup> Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Trabzon, Türkiye

<sup>4</sup> Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Hematology, Trabzon, Türkiye

### ORCID IDs of the authors:

B.D.K. 0000-0002-5486-6139

M.İ. 0000-0001-7259-9567

O.D. 0000-0003-3584-6324

K.A.Ç. 0000-0003-0227-5174

S.D. 0000-0002-1863-6280

M.S. 0000-0002-2176-4371

Submitted: 12.12.2021

Revision requested: 14.02.2022

Last revision received: 14.03.2022

Accepted: 14.03.2022

Published online: 08.06.2022

### Correspondence:

Betül DEĞER KULAKSIZ

E-mail: [dr.betul@hotmail.com](mailto:dr.betul@hotmail.com)



© 2022 The Author(s)

### ABSTRACT

Propolis is a natural resinous substance collected by bees from various types of trees and plants and has antibacterial, antiviral and antitumoral features depending on its antioxidant properties. Major aim is to investigate cytotoxic effect of Turkish propolis on human laryngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. HEp-2 cells/well were loaded on RTCA (real time cell analysis) system and the cell index was followed up during 48 hours. Water extract of Turkish propolis (WEP) of 250-10.000 µg/mL concentrations and ethanolic extracts of Turkish propolis (EEP) of 10-2.400 µg/mL concentrations were treated with HEp-2 cells and followed by RTCA system. The cell indexes and IC<sub>50</sub> values were determined. HEp-2 cells were incubated with WEP and EEP. Proliferation was followed by flow cytometric DNA cycle analysis. WEP and EEP were found to be cytotoxic to HEp-2 cells. When WEP and EEP were incubated with HEp-2 cells during 72 hours, the highest antiproliferative effect was seen by interfering DNA cycles. Turkish propolis extracts were found to be cytotoxic and antiproliferative to HEp-2 cells in the present study, therefore, it was concluded that it may fall within chemotherapy or target therapies for larynx cancers.

**Keywords:** Antiproliferative effect, Cytotoxic effect, HEp-2 cells, Larynx cancer, Propolis

## Introduction

Cancer is still ranked as the second most common cause of death in the world. Head and neck cancers make up 4% of all cancers and 2% of cancer deaths. It has been reported that approximately 12,000 deaths per year in the USA are due to head and neck cancer. According to US national cancer reporting data, approximately 6.6% of all newly diagnosed cancers develop in the head and neck region. Laryngeal cancers are ranked 6th among cancers that cause the most death in men (da Silva Frozza et al., 2013).

As with all diseases, prevention and early diagnosis are very important in cancer. Over 90% of head and neck cancers are preventable. With the application of radical surgeries in patients with cancer, scientists are seeking new treatment modalities because cancer affects the patient physically and mentally and lowers the living standards. New treatment approaches models in laryngeal cancers give new hopes for patients. We aimed to contribute a new approach to treatment of laryngeal cancer in our study.

Propolis is a natural, highly complex resin-like bee product that has been used in traditional medicine for centuries all over the world and produced by bees from trees and plants (Sforcin, 2007). Propolis protects the hive against intruders and bacteria, fungi and virus attacks (Sforcin & Bankova, 2011). The composition of propolis is quite complex and varies according to the plant origin. It usually comprises 50% resin, 30% wax, 10% essential and aromatic oils, 5% pollen and 5% various other compounds. The main chemical classes found in propolis are flavonoids, phenolic and various aromatic compounds known as antioxidants. In recent years, the use of propolis in food, beverages and cosmetics has increased to improve health and prevent diseases. Therefore, propolis is also called functional food, designed food, or therapeutic food. Antioxidants in the composition of propolis affect the immune system and thus exhibit anti-inflammatory, antibacterial, antiviral and antitumoral effects (Sforcin & Bankova, 2011).

HEp-2 (Human Laryngeal Epidermoid Carcinoma) cell line is produced from laryngeal carcinoma cells of the human laryngeal mucosa. They are in the slow-growing tumor group. Possible cytotoxic effect of propolis on these cells was previously studied with alcoholic extracts of Brazilian propolis (Microscopic cell viability analysis) (Búfalo et al., 2010; Búfalo et al., 2009). Extracts of natural products prepared with alcohol affect biological systems and tissues negatively.

Our aim is to investigate the cytotoxic effect of water and ethanolic extracts of Turkish propolis on HEp-2 cell line with a

different experimental protocol (RTCA, that is, Real-Time Cell Analysis, then Flow Cytometric DNA Analysis).

## Materials and Methods

### Chemicals

Penicillin (10000U), streptomycin (10 mg), RPMI 1640, sodium pyruvate solution (100 mL), trypsin EDTA solution (100 mL), and Fetal Bovine Serum (500 mL) were purchased from Biological Industries; NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, and KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> from Merck.

### Preparation of Water Extract of Propolis (WEP) and Ethanolic Extract of Propolis (EEP)

Propolis samples were collected from four different regions of Türkiye from Fanus Food Company (Trabzon) and kept in the freezer (-20 °C) until further use. The locations of samples from Türkiye were Trabzon (North of Türkiye), Erzurum (East of Türkiye), Zonguldak (West of Türkiye), and Adıyaman (South of Türkiye). These four different cities of Türkiye were selected since they represent the four separate geographical locations. WEP and EEP were prepared according to our previous work (Bozkuş et al., 2021). Working solutions in various concentrations were prepared by dilution from the stock propolis extract at a concentration of 100 mg/mL prepared in this way.

### Planning the Experiment and Passaging Cells

HEp-2 cells kept in the nitrogen tank were slowly dissolved and centrifuged. The medium was removed. About 2 mL of RPMI 1640 was added to it. Cultivation was done in a 25 cm<sup>2</sup> flask, completed to 5 mL with RPMI 1640. It was incubated in a 5% CO<sub>2</sub> incubator. Flask was divided to 4 flasks of 1 mL. Each flask was completed to 5 mL with RPMI 1640. Flasks were put in a CO<sub>2</sub> incubator. Mediums were replaced at intervals of 3 days.

### Determining the Number of Cells to Work and RTCA Analysis

The medium on the confluent cells was removed. Approximately 300 µL of trypsin-EDTA (enough to cover the bottom of the flask) was added to the flask. After waiting and observing under the microscope that the cells were lifted, approximately 3 mL of RPMI 1640 was added to the flask to neutralize the trypsin-EDTA. The cells were transferred to a 15 mL-tube. It was centrifuged at 300g for 5 min. The medium-trypsin mixture in the 15 mL-tube was removed.

Considering the cell density here, the E-plate was inoculated in a manner corresponding to the numbers designed below to

load into RTCA (Real Time Cell Analysis System, xCELLigence System Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) with a dilution of 20000, 10000, 5000, 2500, 1250 cells/well. Proliferation was observed in RTCA for 24 hours. (measurement taken every 30 minutes). It was determined that the number of cells suitable for the study was 5000 cells per well.

Cells in continuous exponential phase were preferred considering the duration of the experiment to be run. The number of cells matching this condition was 5000 cells/well. The main experiment was continued with this number of cells. Background reading of E-plates loaded with 100  $\mu$ L of complete medium was taken. The plates were taken from the incubator and 100  $\mu$ L of cell suspension were loaded onto these plates. They were kept in a CO<sub>2</sub> incubator at 37°C during the experimental periods.

Following the 24-hour plating step, 100  $\mu$ L of medium was carefully removed from the E-plate wells and the solutions at different concentrations prepared from stock WEP or stock EEP by diluting with RPMI-1640 were added to the plates as 100  $\mu$ L. WEP concentrations were 250-10000  $\mu$ g/mL and EEP 10-2400  $\mu$ g/mL. The medium was added as a control. After the accuracy check-in RTCA, the experiment was started. Proliferation was followed for 48 hours. Propolis concentrations affecting cell proliferation were determined for both EEP and WEP. Cytotoxic concentrations and IC<sub>50</sub> levels (50% inhibiting concentration) were calculated using the RTCA instrument software. This value can be interpreted as the concentration that causes the death of 50% of Hep-2 cells.

#### ***Evaluation of the Antiproliferative Effect of Propolis on HEp-2 Cells by Flow Cytometric DNA Analysis***

100,000 cells from Hep-2 cells were inoculated into 25 cm<sup>2</sup> flasks with 4 mL of RPMI 1640 medium. Cell count was done with trypan blue method and hemacytometer. 200, 400, and 600  $\mu$ g/mL WEP and 75, 150 and 300  $\mu$ g/mL EEP solutions were added to the flasks and allowed to incubate for 48, 72, and 96 hours. All concentrations were run in triplicate. DNA analysis was performed in flow cytometry (Becton Dickinson FACSCalibur) using Cycle Test Plus DNA Reagent Kit (Cat No: 340242).

After 48, 72 and 96 hours of Hep-2 /propolis incubations were completed, cell suspensions were placed in 17X100 mm tubes. It was centrifuged at 300xg for 5 minutes. 1 mL of the buffer solution from the kit was added. The same centrifugation was repeated twice.

The cell concentration was adjusted to  $1 \times 10^6$  cells/mL with buffer solution by using a hemacytometer. Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) were used as control cells in

DNA analysis. For this purpose, blood was taken into the hemogram tube and lymphocyte (PBMC) isolation was performed by Ficoll (Biocoll Separating Solution, Biochrom AG, Cat NO: L 6113, Germany) density gradient centrifugation method. 5 mL of buffer was added to the tube and vortexed at low speed. It was centrifuged at 300 xg for 5 min. It was aspirated until 50  $\mu$ L of liquid remained, and 1.5 mL of buffer solution was added and vortexed at low speed. It was centrifuged at 300 xg for 5 min. It was aspirated until 50  $\mu$ L of liquid remained, 1 mL of buffer solution was added and vortexed at low speed. Cell count was made and the number of cells was adjusted to  $1 \times 10^6$  cells/mL with buffer solution. Incubations were made by adding the solutions in the kit for the staining process, the samples were filtered and analyzed in Flow-Cytometry. Flow cytometry was standardized using a quality control kit (DNA QC Particles, Becton Dickinson, Cat.No: 349523, USA).

## **Results and Discussion**

### ***Evaluation of the Cytotoxic Effect of Propolis on Hep-2 Cells***

The optimal number of Hep-2 cells obtained using the RTCA system and software is given in Figure-1. In the RTCA system, the cell index against time is determined. The cell index parameter is related to cell viability, number, morphology, and adhesion. In these studies, a cell index between 0.5-1.5 is ideal. The number of 20,000 and 10,000 cells (top 2 lines on the graph) exceeded this limit, while the number of 2,500 and 1,250 cells (bottom 2 lines on the graph) remained below this limit. The number of cells 5000 (middle line) appears to meet this criterion. The curves obtained by kinetic monitoring of aqueous propolis extracts (WEP) at various concentrations with Hep-2 cells by the RTCA system are given in Figure-2. In the figure, the cell indices of the 1st control (red) (medium) and the 2nd control (purple) (1/2 diluted medium) are high. 10,000  $\mu$ g/mL (dark green) is a high dose. At concentrations of 4,000  $\mu$ g/mL (pink), 2,000  $\mu$ g/mL (orange), 1,000  $\mu$ g/mL (dark blue), 500  $\mu$ g/mL (blue), and 250  $\mu$ g/mL (light green) with cell indexes <1, it was observed that WEP was appeared to be cytotoxic to Hep-2 cells.

The curves obtained by kinetic monitoring of ethanolic propolis extracts (EEP) at various concentrations with Hep-2 cells by RTCA system are given in Figure-3. In the figure, 0.5% ethanol (orange), 10 (pink) and 20 (dark purple)  $\mu$ g/mL concentrations have high cell indices. With cell indices <1, 2,400  $\mu$ g/mL (light green) is the most cytotoxic concentration. It is seen that concentrations of 800  $\mu$ g/mL (blue), 200  $\mu$ g/mL (dark green), 100  $\mu$ g/mL (dark blue) are cytotoxic, while concentrations of 50  $\mu$ g/mL (light purple) are less cytotoxic.

The IC50 value (50% inhibiting concentration) found by RTCA analysis of the WEP was 140 µg/mL while that of the EEP was found to be 38.2 µg/mL (Figure-4).

*Evaluation of the antiproliferative effect of propolis on Hep-2 cells by flow cytometric DNA analysis*

Flow cytometric cell cycle image of PBMCs (lymphocytes), which are control cells, after 48 hours of cell culture is given in Figure-5.

As seen in the figure, all of the PBMCs with control cells are diploid and almost in the G1 cycle. When HEP-2 cancer cells, are added to these cells, the image is as in Figure-6. About half of the two cell groups are diploid (86% G1 phase) and half are tetraploid (51% G1, 49% S phases).

The data obtained in flow cytometry (only diploid data) because of incubation of WEP with HEP-2 cells at various concentrations for 48, 72, and 96 hours are given in Table-1 and those obtained with EEP are given in Table-2. As seen in the tables, 600 µg/mL WEP kept the cells in 80% S phase in 72

hours (also as seen in Fig. 7); It is understood that 150 µg/mL EEP keeps DNA cycle as 99% in the G1 phase in 72 hours (Fig 8). Therefore, EEP in this concentration have an antiproliferative effect on laryngeal cancer cells.

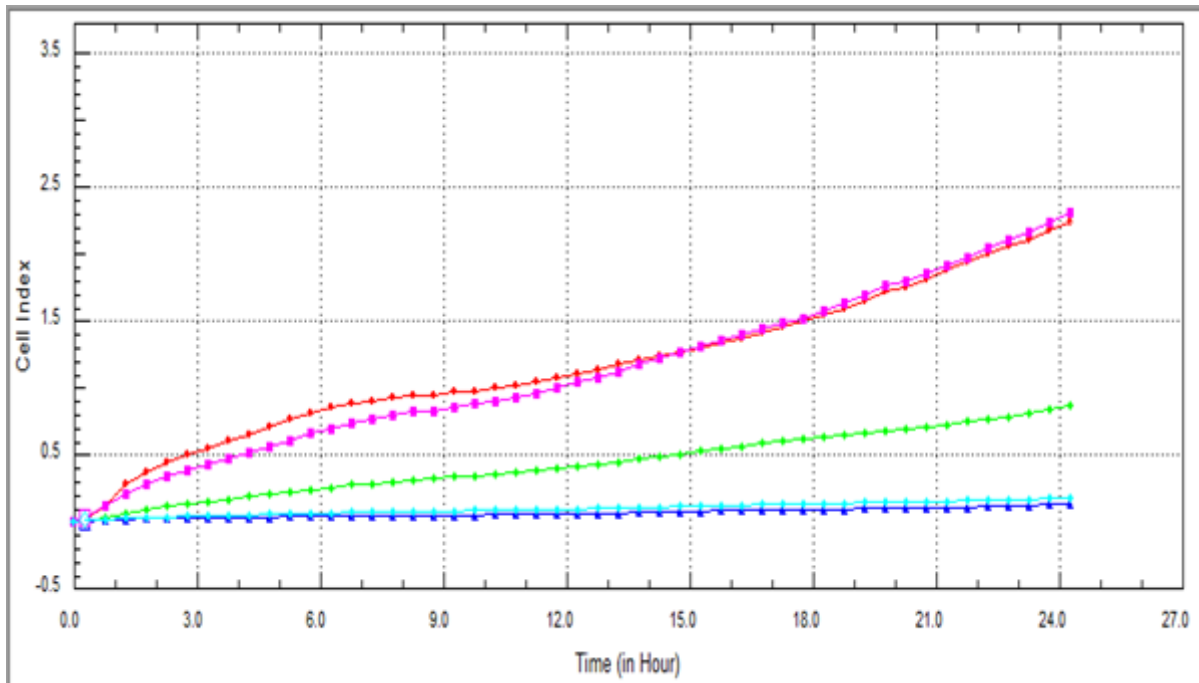
Propolis is a bee product that has been used frequently since ancient times. The Egyptians took advantage of the anti-putrefactive properties of propolis to embalm their dead. Greek and Roman physicians used propolis as an antiseptic and anticancer. The Incas used it as an antipyretic agent. In the 17<sup>th</sup> century London pharmacopoeia, propolis was listed as a medicine. With the development of the pharmaceutical design industry in the last two centuries, interest in natural products has decreased; however, its use as a popular drug still continues. Its use has increased in cosmetic products. Since the 2000s, scientists' interest in propolis has increased and studies on its components, as well as its biological and medicinal properties, have intensified (Russo et al., 2004; J.M. Sforcin, 2007).

**Table 1.** Data obtained by flow cytometric DNA cell cycle analysis for Hep-2 cells incubated with WEP

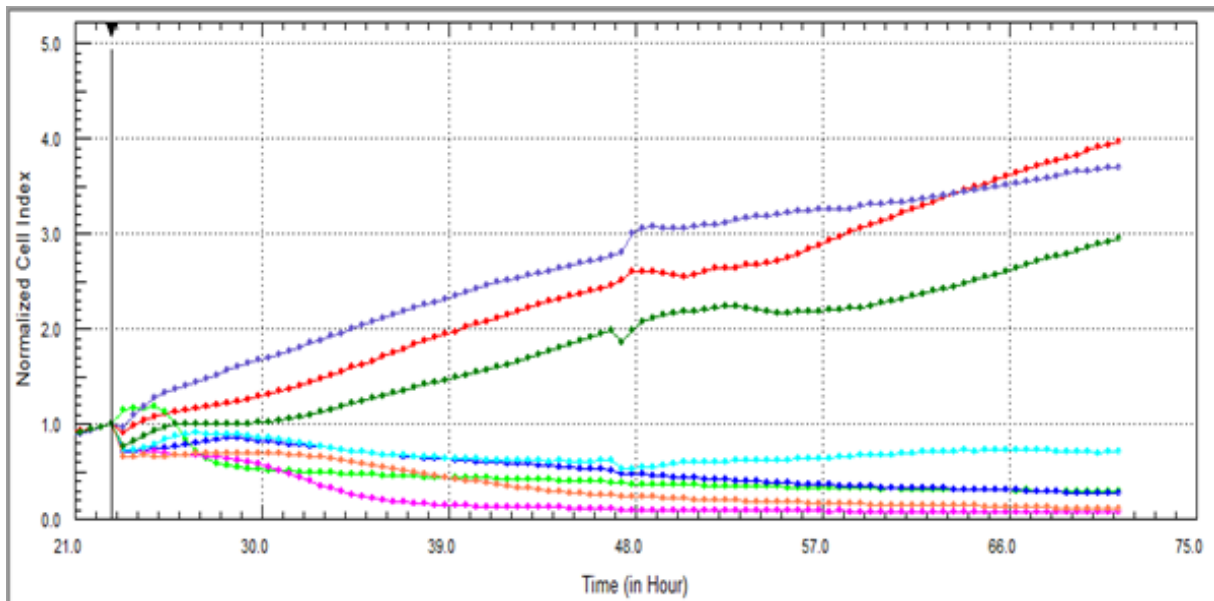
Time (h)	Concentration (µg/mL)	Diploid %	G1 %	G2 %	S %	Viability %
48	200	96.6	59.2	8.0	32.8	100
	400	97.6	58.9	8.0	33.1	100
	600	83.9	62.5	8.0	29.5	100
72	200	81.2	63.1	1.4	35.6	100
	400	96.5	59.3	8.0	32.7	100
	600	100	15.6	4.5	80.0	100
96	200	100	55.9	-	44.1	100
	400	98.7	60.7	8.0	31.4	100
	600	90.0	50.0	1.4	48.6	100

**Table 2.** Data obtained by flow cytometric DNA cycle analysis for Hep-2 cells incubated with EEP

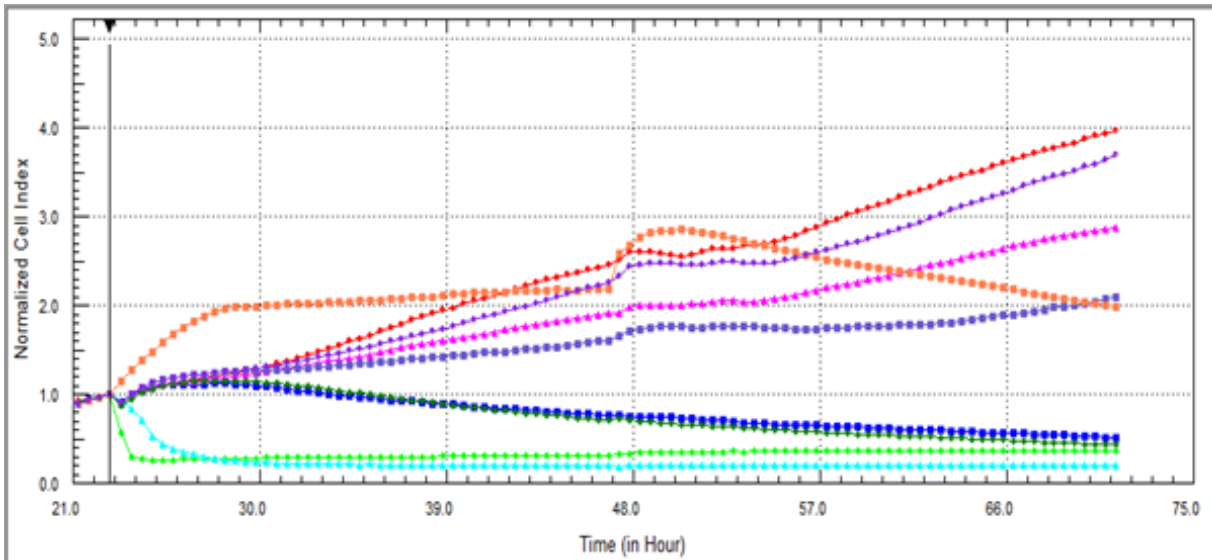
Time (h)	Concentration (µg/mL)	Diploid %	G1 %	G2 %	S %	Viability %
48	75	94.1	32.1	8.0	55.9	90
	150	100	37.2	4.4	58.3	50
	300	100	40.4	16.1	43.3	0
72	75	82.3	50.6	8.0	41.4	74
	150	100	99.3	0.7	-	50
	300	100	48.0	13.6	38.4	0
96	75	88.6	43.5	8.0	48.5	76
	150	89.1	45.3	4.3	50.5	57
	300	100	55.9	-	44.1	0



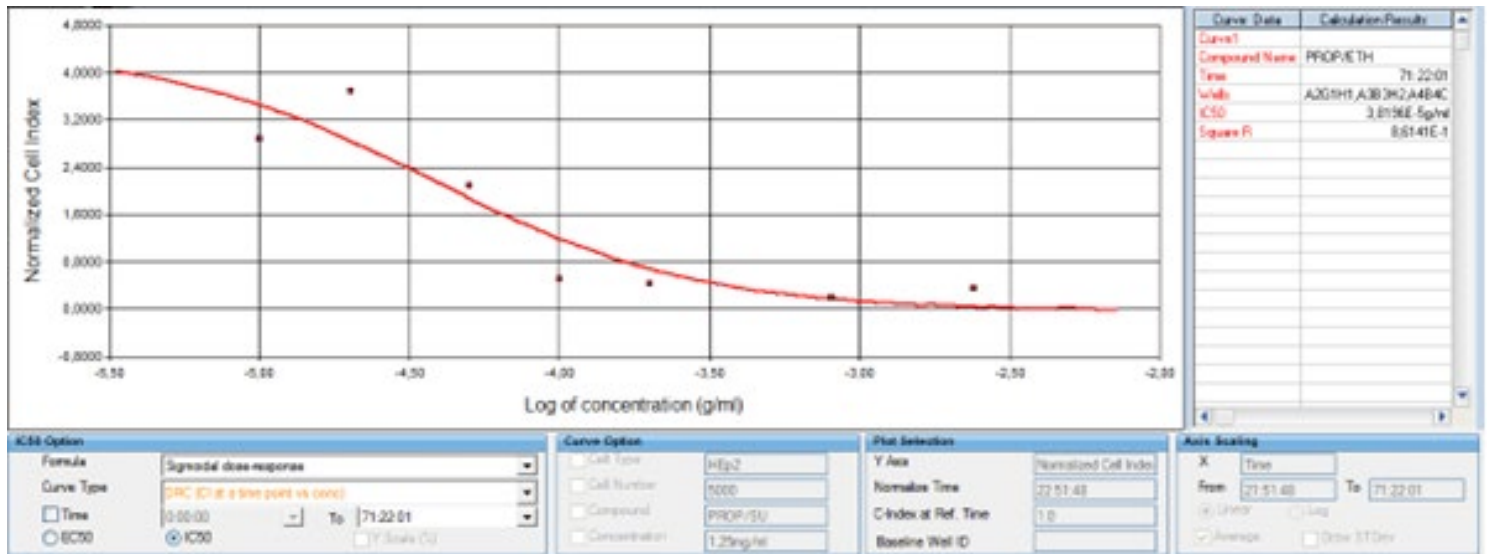
**Figure 1.** Change in Hep-2 cell number by time obtained with RTCA system [Cell numbers are 1250 (light blue), 2500 (light blue), 5000 (green), 10000 (purple), 20000 (red)]



**Figure 2.** Kinetic monitoring of WEPs with RTCA system [Cell indexes are high: red (control 1=medium), purple (control 2), dark green (10000 µg/mL); cell indexes are <1 (cytotoxic): pink (4000 µg/mL), orange (2000 µg/mL), dark blue (1250 µg/mL), light blue (500 µg/mL), light green (250 µg/mL)]



**Figure 3.** Kinetic monitoring of EEPs with RTCA system [Cell indexes are high: orange(%0.5 ethanol), pink ( 10 µg/mL), purple (20 µg/mL); cell indexes are <1 (cytotoxic): light green (2.400 µg/mL), blue (800 µg/mL), dark green(200 µg/mL), dark blue (100 µg/mL), light purple (50 µg/mL)]



**Figure 4.** IC50 curve of EEP



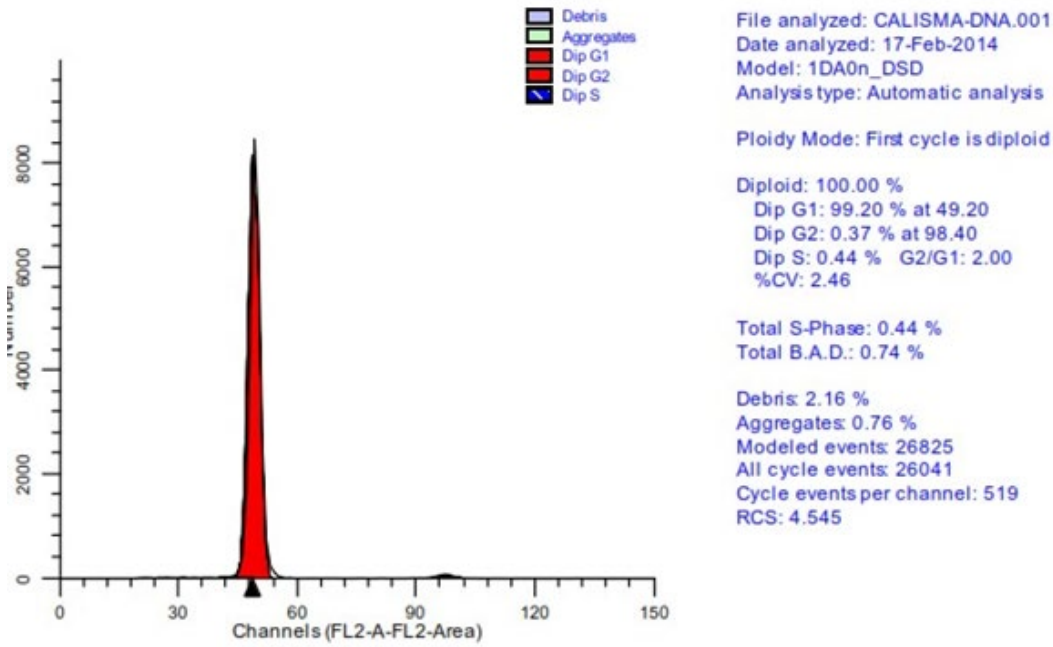


Figure 5. Flow cytometric image of PBMCs after cell culture of 48 hour

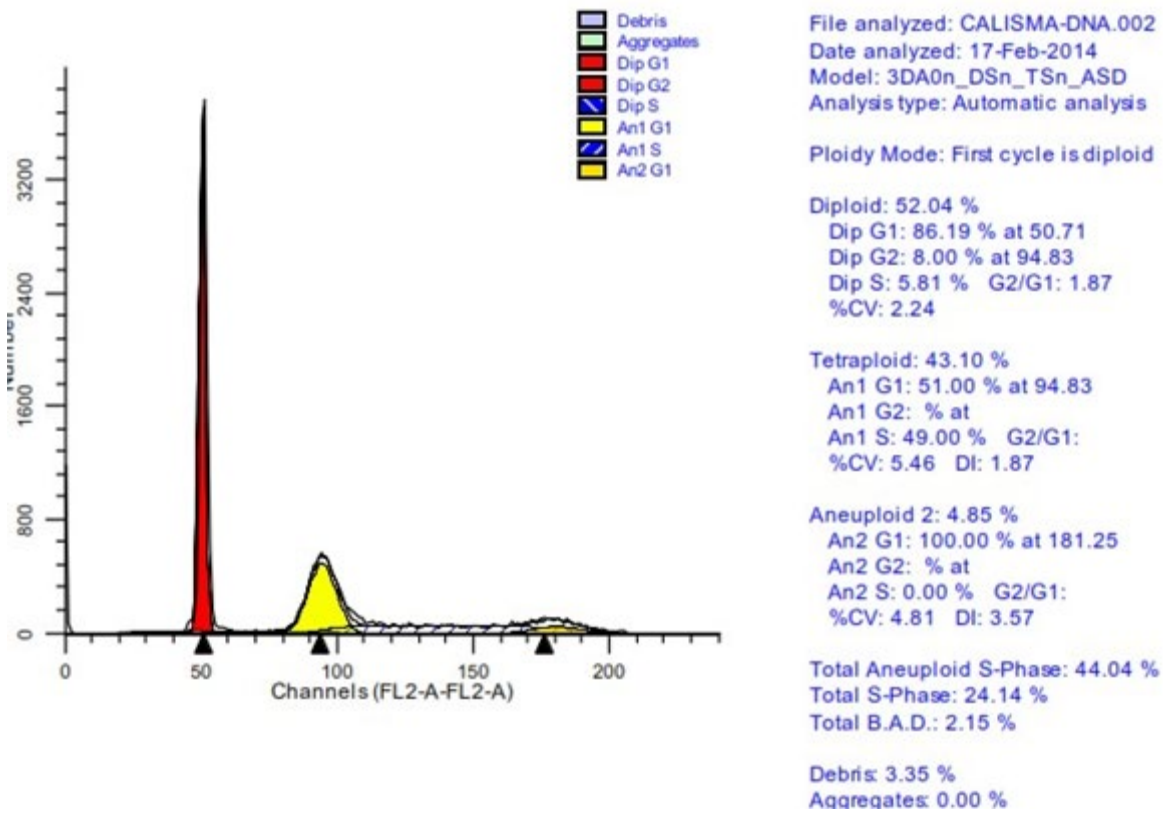
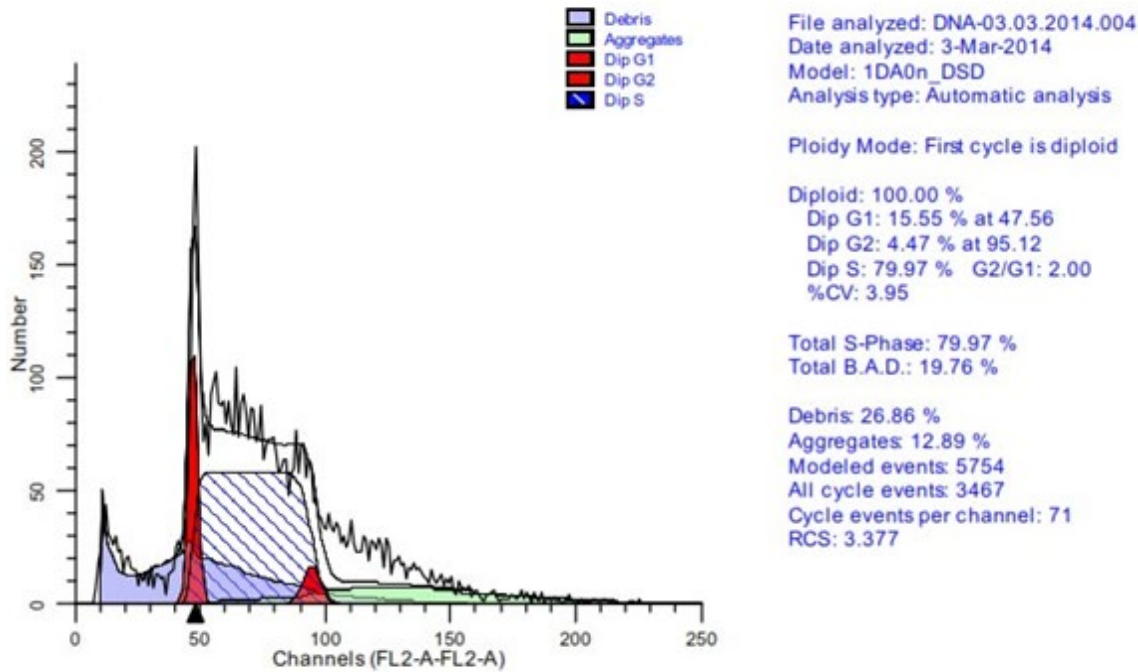
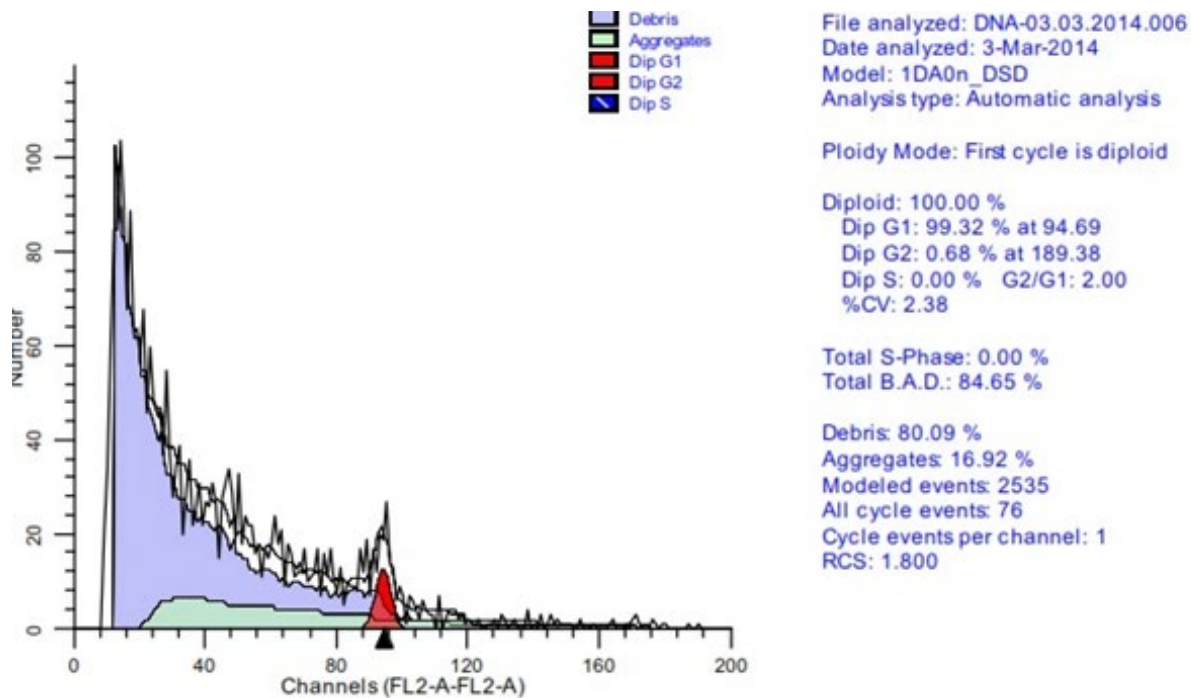


Figure 6. Flow cytometric image of PBMC + Hep-2 cells after cell culture of 48 hour



**Figure 7.** Flow cytometric image of Hep-2 incubated with WEP of 600 µg/mL for 72 hour



**Figure 8.** Flow cytometric image of Hep-2 incubated with EEP of 150 µg/mL for 72 hour

It has been understood that the aqueous extract also meets these criteria. Antibacterial and antiviral properties of Turkish propolis have been noted (Barlak et al., 2015). The most important antioxidant mechanism of propolis is that it can repair DNA damage caused by free radicals, and its ability to break the polymer chain reactions that cause lipid peroxidation, and its effect to remove ROS from tissues (Aliyazicioglu et al., 2011).

Studies and evidence on the antitumoral efficacy of propolis are increasing. Some suggest that the primary mechanism of action of propolis on tumor cells is the inhibition of cell proliferation and apoptosis (Sforzin, 2007). Therefore, the view that propolis and its components can be a potential chemotherapeutic or chemopreventive anticancer drug by inhibiting tumor cell progression is getting stronger as the studies increase (Oršolić et al., 2004). The most widely used propolis in research is Brazilian green propolis. It is understood that this propolis shows significant activities against various tumor cells at different concentrations (100, 250, 500, and 1000 µg/mL) (Mishima, et al., 2005a). Flow cytometric analysis has shown that CAPE, the main compound of propolis, also interrupts the cell cycle in oral squamous cell carcinoma cells in the G2/M phase (Lee et al., 2005). Poplar origin propolis (50-150 mg/kg) and some isolated polyphenolic compounds (caffeic acid, CAPE and quercetin) reduced the number of tumor nodules in the lung (Oršolić et al., 2004). In these studies, it is emphasized that the antimetastatic activity of propolis solutions is higher than its components.

Some suggest that propolis, caffeic acid and CAPE (50 mg/kg) are useful tools in the control of tumor cell proliferation and that it provides polyphenolic compounds with a synergistic effect (Oršolic et al., 2005). Carballo et al. reported that propolis had a cytotoxic effect on cancer cells at concentrations of 5-23 µg/mL (IC) in their study with Cuban propolis in various cell lines (colon, ovarian, and prostate carcinoma, neuroblastoma) (Díaz-Carballo et al., 2008). Cuban propolis showed cytotoxic effect at a concentration of 10 µg/mL in PC-3 cells and at a concentration of 12.3 µg/mL in LNCap cells. Since the cancer cells used in this study are independent of immunity, it has been argued that Cuban propolis exerts its anti-tumoral effect by its direct cytotoxic effect rather than its immunomodulating effect. Russo et al. examined the antioxidant properties and antiproliferative capacity of propolis using ethanolic extracts of Chilean propolis in oral epidermoid carcinoma (KB), colon adenocarcinoma (Caco-2) and androgen-insensitive prostate cancer cells (DU-145) (Russo et al., 2004). As a result, in parallel with the increase in the phenolic content of Chilean propolis, its capacity to scavenge free radicals and inhibit the growth of tumor cells increases, it has

been reported that although it protects normal cells from oxidative damage, it decreases the viability of cancer cells by increasing DNA damage in cancer cells.

There are studies on the antitumoral activity of Turkish propolis. Some suggest that Turkish propolis dimethylsulfoxide (DEP) and aqueous extracts (WEP) show antiproliferative activity by changing the protein expression profile in PC-3 prostate cancer cell lines (Barlak et al., 2011). In the same cell lines, the same extracts have been shown to have antimetastatic activity by suppressing the mRNA expression of voltage-gated sodium channels (VGSC Nav 1.5 and 1.7 isoforms), showing the metastatic potential of prostate cancer (Uçar et al., 2016).

In vitro cytotoxic effect of Brazilian green propolis ethyl alcohol extract (50-1000 µg/mL) on HEp-2 Cells (Búfalo et al., 2010; Búfalo et al., 2009). In these studies, the cytotoxic activity of propolis was showed by analyzing cell viability using the simple microscopic staining technique (trypan blue). Some note that the cytotoxic effect is dose-dependent and the best effect is seen at 1000 µg/mL.

In the current study we conducted, there are important differences from the studies of Bufalo et al.:

- i. Turkish propolis was used,
- ii. besides EEP, WEP was also used for the first time,
- iii. instead of viability analysis, which was determined by the cytotoxic effect staining method and the variance of the results was quite high, in the present the kinetic RTCA system was used and the IC<sub>50</sub> values were determined. Since this value is the concentration of the substance that prevents the proliferation of half of the cells, it provides how much propolis should be used in the studies. The RTCA system uses a standardized method, with kinetic analysis also providing which cell number should be used in trials. With the kinetic analysis finding in Figure-5 obtained by RTCA, it was decided that 5000 HEp-2 cells were suitable for the study,
- iv. besides the cytotoxic effect, flow cytometric proliferation analysis (cell cycle analysis) was performed to reveal the antitumoral activity.

In the present study, both WEP, at concentrations of 250-4,000 µg/mL (Figure-2), and EEP, at concentrations of 100-2,400 µg/mL (Figure-3) were cytotoxic to HEp-2 cells. It reduced cell viability.

The IC<sub>50</sub> value found for WEP is 140 µg/mL and the IC<sub>50</sub> value found for EEP is 38.2 µg/mL (Figure 4). Here, EEP appears to be effective at lower concentrations. However, considering the cellular damage from alcohol in direct use by humans, it can be said that WEP can be used safely. Different extraction methods are used in preparing WEP. In the current study, we used the extraction method developed in the laboratory of the K.T.U, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry (Bozkuş et al., 2021). Prepared extracts contain highly effective antioxidants. Nagai et al. reported that Brazilian WEP inhibited lipid peroxidation at a concentration of 1-5 mg/mL and completely inhibited superoxide and hydroxyl radical anions at concentrations of 50-100 mg/mL, so these extracts have pharmaceutical potential in cancer, cardiovascular diseases and diabetes (Nagai et al., 2003). Mishima et al. showed that the major component of Brazilian WEP is caffeoylquinic acids (Mishima, et al., 2005b). Nakajima et al. concluded that WEP is better than other bee products (EEP, pollen, royal jelly) in terms of antioxidant capacity; they reported that among the WEP and EEP components, 3,4-di-O-caffeoylquinic acid showed the highest antioxidant capacity against hydrogen peroxide, superoxide and hydroxyl radicals (Nakajima et al., 2009). It is known that the WEP we prepared from Turkish propolis also contains high amounts of caffeoylquinic acids (Bozkuş et al., 2021).

Suzuki et al. suggested that when they used 5-fluorouracil and mitomycin C chemotherapeutics and WEP subcutaneously in experimental Ehrlich carcinoma mice, they significantly increased tumor regression compared to the use of chemotherapeutic alone and minimized the side effects of chemotherapy (Suzuki et al., 2002).

Since propolis has antitumoral effects with apoptotic (Lee et al., 2005) and antiproliferative Mechanisms (Oršolić et al., 2004), the antiproliferative effect of WEP besides EEP has been proven in laryngeal cancer cells in this study, propolis extracts promise a new hope in the treatment of head and neck cancers.

## Conclusions

It was concluded that i. In studies of treating Turkish propolis with HEP-2 cells, it was found appropriate to work with 5000 cells per well in RTCA studies, ii. WEP was cytotoxic to HEP-2 cells at concentrations of 250-4,000 µg/mL and EEP at 100-2,400 µg/mL concentrations, iii. WEP at a concentration of 600 µg/mL and EEP at a concentration of 150 µg/mL showed the highest antiproliferative effect by inhibiting the DNA cycle when incubated with HEP-2 cells for 72 hours,

and iv. Turkish propolis extracts were cytotoxic and antiproliferative in HEP-2 cells, so they may be included in chemotherapy or target therapies in laryngeal cancer.

## Compliance with Ethical Standard

**Conflict of interests:** The author declares that for this article they have no actual, potential, or perceived conflict of interests.

**Ethics committee approval:** The author declares that this study does not include any experiments with human or animal subjects; therefore, no ethics committee approval is needed.

**Funding disclosure:** The study was supported by Karadeniz Technical University Research Funding (Project No: 10010).

**Acknowledgments:** -

**Disclosure:** -

## References

- Aliyazicioglu, Y., Demir, S., Turan, I., Cakiroglu, T., Akalin, I., Deger, O., & Bedir, A. (2011). Preventive and pro-protective effects of Turkish propolis on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage in foreskin fibroblast cell lines. *Acta Biologica Hungarica*, 62(4), 388-396. <https://doi.org/10.1556/ABiol.62.2011.4.5>
- Barlak, Y., Değer, O., Çolak, M., Karataylı, S., Bozdayı, A., Yücesan, F. (2011). Effect of Turkish propolis extracts on proteome of prostate cancer cell line. *Proteome Science*, 9(1), 74. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-9-74>
- Barlak, Y., Değer, O., Uçar, M., Çakiroğlu, T. N. (2015). Effects of Turkish propolis extract on secretion of polymorphonuclear elastase following respiratory burst. *Turkish Journal of Biology*, 39, 194-201. <https://doi.org/10.3906/biy-1402-48>
- Bozkuş, T. N., Değer, O., Yaşar, A. (2021). Chemical characterization of water and ethanolic extracts of Turkish propolis by HPLC-DAD and GC-MS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 44(1-2), 77-86. <https://doi.org/10.1080/10826076.2021.1883648>
- Búfalo, M.C., Candeias, J.M.G., Sousa, J.P.B., Bastos, J.K., Sforcin, J.M. (2010). In vitro cytotoxic activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis against HEP-2 cells. *Natural Product Research*, 24(18), 1710-1718. <https://doi.org/10.1080/14786410902909300>

Búfalo, Michelle C., Candeias, J.M.G., Sforcin, J.M. (2009). In Vitro Cytotoxic Effect of Brazilian Green Propolis on Human Laryngeal Epidermoid Carcinoma (HEp-2) Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6(4), 483-487.

<https://doi.org/10.1093/ecam/nem147>

da Silva Frozza, C.O., Garcia, C.S.C., Gambato, G., de Souza, M.D.O., Salvador, M., Moura, S., Padilha, F.F., Seixas, F.K., Collares, T., Borsuk, S., Dellagostin, O.A., Henriques, J.A.P., Roesch-Ely, M. (2013). Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 52, 137-142.

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.013>

Díaz-Carballo, D., Malak, S., Bardenheuer, W., Freistuehler, M., Peter Reusch, H. (2008). The contribution of plukenetione A to the anti-tumoral activity of Cuban propolis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(22), 9635-9643.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.10.019>

Lee, Y.-T., Don, M.-J., Hung, P.-S., Shen, Y.-C., Lo, Y.-S., Chang, K.-W., Chen, C.-F., Ho, L.-K. (2005). Cytotoxicity of phenolic acid phenethyl esters on oral cancer cells. *Cancer Letters*, 223(1), 19-25.

<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.09.048>

Mishima, S., Inoh, Y., Narita, Y., Ohta, S., Sakamoto, T., Araki, Y., Suzuki, K.-M., Akao, Y., Nozawa, Y. (2005a). Identification of caffeoylquinic acid derivatives from Brazilian propolis as constituents involved in induction of granulocytic differentiation of HL-60 cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(20), 5814-5818.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.05.044>

Mishima, S., Narita, Y., Chikamatsu, S., Inoh, Y., Ohta, S., Yoshida, C., Araki, Y., Akao, Y., Suzuki, K.-M., Nozawa, Y. (2005b). Effects of propolis on cell growth and gene expression in HL-60 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1), 5-11.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.005>

Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., Suzuki, N. (2003). Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry*, 80(1), 29-33.

[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00231-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00231-5)

Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(1), 4.

<https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-4>

Oršolić, N., Knežević, A.H., Šver, L., Terzić, S., Bašić, I. (2004). Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2-3), 307-315.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.06.006>

Oršolic, N., Šver, L., Terzić, S., Bašić, I. (2005). Peroral Application of Water-soluble Derivative of Propolis (WSDP) and Its Related Polyphenolic Compounds and Their Influence on Immunological and Antitumour Activity. *Veterinary Research Communications*, 29(7), 575-593.

<https://doi.org/10.1007/s11259-005-3303-z>

Russo, A., Cardile, V., Sanchez, F., Troncoso, N., Vanella, A., Garbarino, J.A. (2004). Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. *Life Sciences*, 76(5), 545-558.

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.07.019>

Sforcin, J.M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), 1-14.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.012>

Sforcin, José Mauricio, Bankova, V. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 253-260.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032>

Suzuki, I., Hayashi, I., Takaki, T., Groveman, D. S., Fujimiya, Y. (2002). Antitumor and Anticytopenic Effects of Aqueous Extracts of Propolis in Combination with Chemotherapeutic Agents. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 17(5), 553-562.

<https://doi.org/10.1089/108497802760804781>

Uçar, M., Değer, O., Barlak, Y. (2016). Effect of Turkish propolis extracts on expression of voltage-gated sodium channel Nav 1.5 and 1.7  $\alpha$ -Isoforms in PC-3 human prostate cancer cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(10), 2093.

<https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i10.6>



## Introduction

Drying and fermentation processes can be considered the oldest and the most common methods for preservation in the meat industry, and thanks to these techniques, a wide variety of meat products can be produced, such as sausages, ham, and salami. In the fermentation process, preservative effects are generally achieved by mixing the minced meat and fatty tissue with curing agents, carbohydrates, and spices. Then, considering the sausages production, the mixture is stuffed into natural or synthetic casings and allowed to ripening and drying. The difference and quality of raw material, various curing agents, fermentation and drying conditions enable the production of a wide variety of fermented meat products (Ercoskun & Özkal, 2011; Kaban, 2013; Demirgöl & Tuncer, 2017).

Sucuk, a dry-fermented sausage, is one of the traditional foods that widely produced and consumed in Turkey. Production of Sucuk consists of mixing the beef, sheep or water buffalo meat and sheep tail fat and/or beef fat with the curing agents (nitrite and/or nitrate), various spices including cumin, garlic, salt, and black and red pepper, stuffing this mixture into a casing (mostly cattle small intestines), hung for fermentation (ripening) at 22-23 °C by natural meat microbiota or added starter cultures and allowing to dry for several weeks at ambient temperature and humidity (Kilic, 2009). Although the initial microbiota of the mixture is dominated by microorganisms originating mainly from raw meat, such as *Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae*, and *Escherichia coli*, the microbiota shifts toward the lactic acid bacteria (LAB) and *Micrococcaceae* due to ripening, moisture loss, and oxygen consumption. Therefore, these products are mainly stabilized by acidification via LAB and reduction in water activity ( $a_w$ ) during ripening and drying (Vignolo et al., 2010; Paramithiotis et al., 2010).

Nitrites and/or nitrates are the most commonly used curing agents in dry-fermented sausage production because of the interactions between these compounds and meat myoglobin, as well as their antioxidant properties contributing to desired meat flavor, and antimicrobial properties, especially against *Clostridium botulinum* (Martin, 2012; Hospital et al., 2014, 2016; Bonifacie et al., 2021). However, ingestion of high amounts of nitrite can cause various adverse effects on human health, both due to the residual content in cured meat and/or excessive consumption of cured meat (Parthasarathy & Bryan, 2012; Waga et al., 2017). Nitrite can interact with secondary amines to produce nitric oxide, which forms N-nitrosamines, which is reported to cause gastric cancer (De Mey et al., 2017; Flores et al., 2019; Flores & Toldrá, 2020). Thus,

the amount of these compounds added to foods is being limited, and only the lowest concentrations are consistent in terms of food safety and health (Cammack et al., 1999). And also consumers demand safe meat products without chemical additives (Fraqueza et al., 2021). For this purpose, the replacement of nitrite/nitrate with natural antioxidants and antimicrobials in meat products is gained attraction by many researchers (Riel et al., 2017; Jin et al., 2018; Sucu & Turp, 2018; Pini et al., 2020; Tang et al., 2021).

Culinary herbs and spices have been used since ancient times for taste and shelf-life purposes (Bishov et al., 1977). Thyme (*Thymus vulgaris* L.), which belongs to the genus *Thymus* of the Lamiaceae family, is an aromatic and well-known herb that is widely cultivated worldwide (Morales, 2002). It is a good source of a vast variety of bioactive materials, such as lutein, apigenin, naringenin, luteolin, thymol and carvacrol, possessing significant antioxidant properties (El-Guendouz et al., 2019). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is a wild shrub, which generally grows in the Mediterranean basin, belonging to the Lamiaceae family. Owing to antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antimutagen, anti-tumor, and aromatic properties, it is widely used in different foods and traditional medicine (Al-Sereiti et al., 1999; Moreno et al., 2006). *Anethum graveolens* L., commonly known as dill, is an annual herb that belongs to the family Apiaceae, widely cultivated in Mediterranean countries. Besides the fact that it is a good source of essential oils, calcium, potassium, magnesium, phosphorus, sodium, vitamin A, and niacin, it exhibits antioxidant, antimicrobial, anticancer and anti-inflammatory effects (Oshaghi et al., 2015; Sintim et al., 2015; Sendjani et al., 2020).

In the literature, the effects of thyme and rosemary on dry fermented sausages have been reported by different authors (Oz et al., 2011; Jin et al., 2016), but studies in this topic are limited. There is, however, no report about the effects of dill on the properties of dry-fermented sausages. Therefore, the aim of the present study was to determine the effects of thyme, rosemary, dill, and combination of these herbs on the chemical, color, textural and sensory properties as well as lipid oxidation values of Sucuk products.

## Materials and Methods

### Materials

The materials used for the production of Sucuk (beef, tail fat, spices) were purchased from a local meat processing plant in Kırklareli, Turkey. On the other hand, NaNO<sub>2</sub> was purchased from Merck (Germany). The production and analysis of the

samples were carried out in the laboratories of Kırklareli University, Department of Food Engineering.

#### **Preparation of Rosemary, Thyme, and Dill Powder**

Thyme and rosemary were taken as dried. Dill was taken as fresh and dried ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) in laboratory conditions. Then, they were ground into powder form using a grinder (Siemens, Germany) and added to sucuk samples in powder form.

#### **Production of Sucuks**

Beef (80%) and tail fat (20%) constituted the main components of sucuk. For this purpose, the frozen meat and the fat were first thawed for 24 hours at  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , and then the meat was cleaned of impurities such as visible fat, tendon, cartilage, nerves, connective tissues, blood, and dirt. Afterward, the meat and the fat were separately minced through a 12 mm plate using a meat grinder (Ari Makina,

Istanbul). Five batches were prepared depending on the antioxidant source used in the formulations, namely nitrite (control), thyme, rosemary, dill-containing groups, and a group that containing a combination of these herbs (mixed). The amounts of these compounds and other additives such as salt, garlic, sugar, etc. showed in Table 1. Each group of prepared sausage dough was minced again and made ready for stuffing. The sucuk doughs was stuffed in pre-soaked natural bovine intestines, tied, and hanged. The prepared sucuks were ripened first by keeping them at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 90% RH for 3 days and then at  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-85% RH for 12 days. All treatments were replicated independently twice. For each replicate, 5 Sucuks were produced per treatment. Sucuk samples at days 5, 10, and 15 of ripening were taken for pH, aw, TBARS, while samples at day 15 of ripening (end of ripening period) for dry matter, ash, color, textural and sensorial analysis.

**Table 1.** The formulations of the Sucuks.

Ingredients (%)	Sample groups				
	Nitrite AS	Thyme AS	Rosemary AS	Dill AS	Mixed Herbs AS
Meat	80	80	80	80	80
Fat	20	20	20	20	20
Salt	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Garlic	1	1	1	1	1
Sugar	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Sweet paprika	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Black pepper	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5
Cumin	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5
NaNO <sub>2</sub>	0.0015	-	-	-	-
Thyme	-	0.5	-	-	0.5
Rosemary	-	-	0.5	-	0.5
Dill	-	-	-	0.5	0.5

Abbreviation: AS, Added Sucuk



### **Chemical and Physicochemical Analysis**

The dry matter content of sucuk was determined by drying the sample in an oven at 105 °C until a constant weight was obtained (AOAC, 1990). Ash content was determined by dry ashing in a furnace oven at 525 °C for 24 h (AOAC, 1990). Ten grams of sucuk was homogenized in 90 mL of distilled water for 1 min and the pH value of sucuk was determined by immersing the probe of the pH meter (Hanna, Germany). Water activity ( $a_w$ ) was measured using a water activity measuring device (Novasina LabSwift, Switzerland) after the samples stabilized for 30 min at 25 °C (Cetin et al., 2019). The method of Gokoglu et al. (2010) was employed for the determination of the extent of lipid oxidation (TBARS) in Sucuk samples using a spectrophotometer (Shimadzu, Japan). Results were expressed as mg malonaldehyde/kg.

### **Color Measurement**

The color of the sucuks that sliced to the approximately same sizes was determined using a colorimeter (CR-400, Minolta, Japan). Five consecutive readings were taken from the insides of the samples using the CIE L\* (lightness), a\* (redness), and b\* (yellowness) system and the results were averaged. In the measurements, the device was adjusted that illuminator D65, aperture size of 8 mm and an observer angle of 10°.

### **Texture Profile Analysis**

The sucuk samples were subjected to texture profile analysis (TPA) using the Texture Analyzer (TA.HD Plus Stable Micro Systems LTD., Surrey, England). Sucuk samples were given a cubic shape with 2x2x2 cm<sup>3</sup>. A double compression cycle test was performed up to 50% strain compression of the original portion height using an aluminum cylinder probe (SMS P/36, 36 mm diameter, TA.HD Plus Stable Micro Systems LTD., Surrey, England). A time of 3 s was allowed to elapse between the two compression cycles. Force-time deformation curves were obtained with a 30 kg load cell applied. Pretest, test, and posttest speeds were 1, 5, and 1 mm/s, respectively. The force-distance curves were recorded and force and distance of maximum force peak and the area under the curve were evaluated as representative mechanical parameters, i.e., hardness, chewiness, gumminess, adhesiveness, springiness, cohesiveness, and resilience. All measurements were repeated five times and mean values were recorded (Dertli et al., 2016).

### **Sensory Evaluation**

Sensory parameters (color, odor, flavor, texture, and overall acceptance) of the samples were evaluated by ten panelists. The panelists were chosen especially from people who habitually consume Sucuk and had experience in sensory analysis of various meat products. All panelists were informed about the study at the beginning of panel. Panelists participated in one session and ten samples (two pieces for each sample group) were presented to each panelist. Before the assessment, Sucuk samples were sliced to approximately 0.5 cm and cooked for 3 minutes at 180 °C via the preheated grill. After cooking, the samples were coded using letters and randomly presented to the panelists. Trained panelists evaluated the effects of the addition of different spices on the sensory attributes of sucuk. Water has been consumed before the assessment of each sample. Responses were recorded using a hedonic scale, where the panelists scored from 0 (dislike extremely) to 10 (like extremely) for corresponding attributes (Uran & Gokoglu, 2014).

### **Statistical Analysis**

A one-way analysis of variance (ANOVA) design were performed using with SPSS 18 (SPSS Statistics/IBM, Armonk, NY) software. As random and fixed factors, replications and five different treatments (Nitrite, Thyme, Rosemary, Dill and Mixed Herbs AS) were used, respectively. TBARS,  $a_w$  and pH analysis were applied as a repeated factor for four levels of ripening period (Day 1, 5, 10 and 15) and one level (after ripening, day 15) were used for the determination of dry matter, ash, TPA and color of Sucuks. Also the treatments were identified as a fixed effect for the statistical evaluation of sensory data, while panelists were accepted as a random effect. When there were differences among the samples, Duncan's Multiple Comparison Test was used to compare differences between means. The significance level was set at 0.05 ( $p < 0.05$ ). All data were expressed as mean values  $\pm$  standard error of the mean (SEM) in tables.

## **Results and Discussion**

### **Proximate Composition and pH Values**

As shown in Table 2, the incorporation of different herbs did not influence the dry matter and ash content of Sucuk samples significantly ( $p > 0.05$ ). Similar results were reported in the literature for the proximate composition of Sucuk by different authors (Kayaardı & Gök, 2004; Ekici et al., 2015). According to the Turkish Standard Institute (TS 1070, 2002), the moisture content of sucuk must be reduced below 40% in the ripening period.

**Table 2.** Proximate composition and pH values of the Sucuks.

Sample	Dry Matter	Ash	pH			
			Day 1	Day 5	Day 10	Day 15
Nitrite AS	62.52±1.28 <sup>a</sup>	5.99±0.27 <sup>a</sup>	5.46±0.04 <sup>aA</sup>	4.57±0.12 <sup>aB</sup>	4.19±0.08 <sup>aB</sup>	4.31±0.11 <sup>aB</sup>
Thyme AS	62.76±1.15 <sup>a</sup>	5.54±0.01 <sup>a</sup>	5.45±0.00 <sup>aA</sup>	4.26±0.05 <sup>abB</sup>	4.26±0.10 <sup>abB</sup>	4.17±0.06 <sup>abB</sup>
Rosemary AS	65.04±2.22 <sup>a</sup>	5.84±0.05 <sup>a</sup>	5.34±0.01 <sup>bA</sup>	4.21±0.00 <sup>bB</sup>	4.31±0.12 <sup>abB</sup>	4.22±0.05 <sup>abB</sup>
Dill AS	62.09±0.33 <sup>a</sup>	6.20±0.18 <sup>a</sup>	5.45±0.00 <sup>aA</sup>	4.30±0.01 <sup>abB</sup>	4.20±0.14 <sup>abB</sup>	4.25±0.06 <sup>abB</sup>
Mixed herbs AS	65.48±0.14 <sup>a</sup>	6.12±0.01 <sup>a</sup>	5.39±0.01 <sup>abA</sup>	4.26±0.03 <sup>abB</sup>	4.16±0.08 <sup>abB</sup>	4.45±0.01 <sup>abB</sup>

Note: Means with different superscript lowercase letters at the same column show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ). Means with different superscript uppercase letters at the same line show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ).

Abbreviation: AS, Added Sucuk.

As can be seen from the dry matter values in Table 2, the moisture content of sucuk samples at day 15 of the ripening period was acceptable. Bozkurt and Bayram (2006) reported that the reduction in moisture content of sucuk is associated with the moisture loss at high ripening temperature and low relative humidity. Furthermore, the authors found a significant relationship between moisture content and sensorial properties, and thus stated that the decreased moisture content has led to an increase in the sensory scores. Similarly, no significant difference was observed in the moisture content of Sucuk samples with the addition of thyme, while the moisture content decreased from 58.63% to 36.74% after 14 days of ripening (Oz et al., 2011).

Fermentation and drying are the most crucial processes for the development of the main quality attributes of Sucuk. pH values of the samples were identical for the first day of the fermentation period except for the rosemary added group and showed a similar trend during fermentation, where the pH decreased sharply at day 5, due to organic acid production by microorganisms, and then no statistical differences were observed (Table 2). After the 10th day, a slight increase observed towards the 15th day in the nitrite and mixed herbs containing groups can be attributed to the decomposition of acids and production of basic nitrogenous compounds (Ercoskun & Ozkal, 2011). These results are in agreement with

the literature (Bozkurt, 2006; Kurt, 2016), where a sharp decrease reported at first days followed by an increase. The decrease in pH due to glycolysis and LAB provides some serious advantages, including selective inhibition of undesirable microbial flora and growth, promoting the texture development due to a decrease in water-retention capacity, as well as the drying process and gelation mechanisms, avoiding the enzymatic and chemical reactions associated with flavor, odor, and color (Ordóñez et al., 1999). The Turkish Standard Institute (TS 1070, 2002) states that the pH value of high-quality Sucuk must be in the range of 4.7-5.4. However, our samples were found to be lower than this range, which might be due to the initial pH value and general microbiota of raw meat and/or ripening conditions. Similarly, Gök et al. (2011) reported that the storage time of 60 days gave better results in terms of pH rather than Sucuks stored for 0, 30, or 90 days, which had lower or higher pH values than standard range.

#### Water Activity ( $a_w$ ) Values

According to Table 3, although the highest  $a_w$  value was observed for the thyme added group, it was not statistically different from other groups ( $p > 0.05$ ). During ripening period,  $a_w$  values decreased seriously due to the gradual drying of Sucuk samples, and the minimum  $a_w$  values were obtained at day 15.

**Table 3.** Water activity values of the Sucuks.

Sample	Water Activity ( $a_w$ )			
	Day 1	Day 5	Day 10	Day 15
Nitrite AS	0.950±0.001 <sup>aA</sup>	0.919±0.000 <sup>aB</sup>	0.898±0.001 <sup>aC</sup>	0.878±0.000 <sup>aD</sup>
Thyme AS	0.952±0.000 <sup>aA</sup>	0.915±0.002 <sup>aB</sup>	0.894±0.004 <sup>aC</sup>	0.873±0.004 <sup>aD</sup>
Rosemary AS	0.950±0.000 <sup>aA</sup>	0.907±0.003 <sup>aB</sup>	0.894±0.004 <sup>aB</sup>	0.874±0.000 <sup>aC</sup>
Dill AS	0.944±0.005 <sup>aA</sup>	0.914±0.003 <sup>aB</sup>	0.888±0.000 <sup>aC</sup>	0.872±0.004 <sup>aC</sup>
Mixed herbs AS	0.950±0.001 <sup>aA</sup>	0.913±0.001 <sup>aB</sup>	0.888±0.003 <sup>aC</sup>	0.867±0.001 <sup>aD</sup>

Note: Means with different superscript lowercase letters at the same column show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ). Means with different superscript uppercase letters at the same line show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ).

Abbreviation: AS, Added Sucuk.

Similar results were reported in the literature (Soncu et al., 2018, 2020). This reduction caused by dehydration helps to the evolution of characteristic texture and to stabilization of Sucuk (Ordóñez et al., 1999). Decreasing the  $a_w$  values to 0.90 or below exhibits a significant hurdle effect and inhibits bacterial growth (Lücke, 1998). Furthermore, there might be a relation between  $a_w$  and pH values of Sucuk samples. This relation has been explained as a characteristic property of Sucuk by Gökalp et al. (1999), where the decreasing pH values to the isoelectric points of the meat proteins on the first days has led to an increase in moisture loss. In addition, a decrease in  $a_w$  of the dry-fermented sausages exhibits a significant inhibitory effect on the cathepsin B, L, H, and D activities (Toldrá et al., 1992).

### Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Values

Nitrites and nitrates are often incorporated into dry-fermented sausages due to their ability to interact with meat components and providing color, flavor, antibacterial and antioxidant properties to the product (Zubillaga et al., 1984; Hospital et al., 2014, 2016; Bonifacie et al., 2021). However, health-related concerns of these chemical antioxidants, such as chemical toxicity, formation of carcinogens in food or after ingestion, and reproductive and developmental toxicity, as well as increasing consumer demands towards more natural and organic foods have led to intensive research for substituting these compounds with natural ones (Sebranek & Bacus, 2007). Compounds present in various plant products, such as flavonoids, tannins, coumarins, curcuminoids, xanthenes, phenolics, lignans, and terpenoids, exhibit significant antioxidant properties (Roby et al., 2013) and thus they may be an alternative to nitrate/nitrite in sucuk. In this context, owing to the carnosol, carnosic acid, ursolic acid, rosmarinic acid in rosemary (Rašković et al., 2014), thymol and carvacrol in thyme (Kulisić et al., 2005), and chlorogenic acid and myricetin in dill (Shyu et al., 2009), the use of these herbs would have been expected to show antioxidant activity. However, TBARS values of sucuk samples were higher than the control

group for the entire ripening period ( $p < 0.05$ ). In our study, TBARS values of the control group significantly increased with ripening time (Table 4). Moreover, the rate of TBARS formation was faster during the first 5 days, which might be an indication of the lipid oxidation started from the first 5 days for all groups as reported by Bozkurt and Erkmen (2007), but remained almost the same after day 10 for natural antioxidant incorporated groups.

Although the TBARS values of the control group were lower at the end of the ripening period, it may be concluded that herbs showed higher stability than nitrite in terms of lipid oxidation, as can be seen in Table 4, which indicates a 245% increase in the control group compared to 167%, 148%, 131%, and 130% in thyme, rosemary, dill, and mixed groups, respectively. These results are in agreement with the findings of Tsoukalas et al. (2011), who reported that the TBARS values of freeze-dried leek powder added fermented sausages were higher than nitrite added ones, but they suggested that nitrite combined with the freeze-dried leek powder must be added to fermented sausages for suppressing the lipid oxidation. Similarly, Jin et al. (2016) found that the addition of thyme and rosemary powder did not affect the TBARS values of sausages, while the DPPH radical scavenging capacity of the sausage samples was significantly improved with the addition of these spices. In contrast, Soncu et al. (2020) applied the thyme or rosemary essential oil containing chitosan to dry-fermented sausages as an antifungal approach and found that the thyme or rosemary essential oils combined with the chitosan resulted in lower TBARS values than control groups. The differences between TBARS results may be due to different application methods (e.g., the extracts or essential oils might contain higher amounts of phenolic components than powder form and thus exhibit better antioxidant activity), ripening conditions, salt concentration, fat contents, and incorporation of different spices and additives. In addition, it should be noted that these spices possess various health-promoting and therapeutic effects, which are important factors in terms of consumer perception and advantages over nitrite.

**Table 4.** TBARS values of the Sucuks.

Sample	TBARS (mg malonaldehyde/kg)			
	Day 1	Day 5	Day 10	Day 15
Nitrite AS	0.040±0.002 <sup>bD</sup>	0.079±0.002 <sup>bC</sup>	0.086±0.000 <sup>bB</sup>	0.098±0.001 <sup>bA</sup>
Thyme AS	0.073±0.008 <sup>aC</sup>	0.101±0.001 <sup>aB</sup>	0.110±0.004 <sup>aAB</sup>	0.122±0.003 <sup>aA</sup>
Rosemary AS	0.080±0.009 <sup>aB</sup>	0.106±0.001 <sup>aA</sup>	0.110±0.000 <sup>aA</sup>	0.118±0.002 <sup>aA</sup>
Dill AS	0.090±0.001 <sup>aC</sup>	0.102±0.003 <sup>aB</sup>	0.111±0.001 <sup>aAB</sup>	0.118±0.004 <sup>aA</sup>
Mixed herbs AS	0.095±0.004 <sup>aC</sup>	0.106±0.000 <sup>aBC</sup>	0.113±0.002 <sup>aAB</sup>	0.124±0.003 <sup>aA</sup>

Note: Means with different superscript lowercase letters at the same column show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ). Means with different superscript uppercase letters at the same line show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ).

Abbreviation: AS, Added Sucuk.

### Texture Properties

Textural properties of Sucuk significantly influence the commercial value of the product. It has been reported that the most important textural properties are hardness, springiness, and cohesiveness in dry-fermented sausages, and high values of these parameters may have a negative impact on the sensory evaluation. Furthermore, significant correlations were found between sensory chewiness and these parameters (Chorbadzhiev et al., 2017). Hardness, which is defined as a maximum force to compress a sample, is the most important parameter as it is one of the factors that determines the commercial value of Sucuk. Cohesiveness is an indicator of the strength of internal bonds and it represents the viscoelastic properties of Sucuk together with the springiness. Adhesiveness is the work needed to overcome the attractive forces between the surface of the sucuk and the surface of other materials, which come into contact with the food, such as the mouth, lips, and teeth. Chewiness, which is an indicator of the ease of the chewing process, represents the total time for the reduction of Sucuk into a state ready for swallowing, while gumminess is defined as the chewing energy required to disintegrate Sucuk before swallowing. Resilience defines how well the Sucuk regains its original height following the removal of deformation (Kilcast, 2004; Pandey et al., 2014).

In our study, the textural properties of Sucuk samples produced with different herbs in terms of hardness, adhesiveness,

cohesiveness, springiness, gumminess, chewiness, and resilience were determined and the results were given in Table 5. In the ripening period, the initial meat mixture, which has weak internal bonds and hence exhibits soft behavior, is converted into a semisolid/solid product due to protein coagulation at low pH, moisture loss, and gelation of proteins, with an increase in the hardness, gumminess and chewiness, and a decrease in adhesiveness and springiness (Bozkurt & Bayram, 2006; Kargozari et al., 2014).

As seen in Table 5, the addition of herbs caused a significant decrease in the hardness and adhesiveness values of the Sucuk samples ( $p < 0.05$ ). Especially rosemary and dill made the Sucuks softer. However, the addition of spices did not cause any significant difference between samples in terms of cohesiveness, springiness, chewiness and resilience ( $p > 0.05$ ) and thus, it can be concluded that no negative effect was observed on textural properties. Furthermore, the texture of our Sucuk samples was elastic and easily sliceable, and they did not stick to the knife during slicing. Similar to our findings, Sucu and Turp (2018) found no significant changes in textural properties of Sucuk with the addition of beetroot powder, but higher values for these parameters (hardness and gumminess) were determined in our study. In another study, although no significant changes were observed for hardness values of Sucuks prepared with the black carrot concentrate, other textural properties were found to be significantly lower, especially with the addition of 2% black carrot concentrate + 150 mg/kg sodium nitrite (Ekici et al., 2015).

**Table 5.** Texture profile (TPA) of the Sucuks at day 15 of the ripening period.

Sample	Hardness (N)	Adhesiveness (g.sec)	Cohesiveness	Springiness	Gumminess (Nxmm)	Chewiness (Nxmm)	Resilience
Nitrite AS	52.45 ±1.78 <sup>a</sup>	-15.32 ±0.78 <sup>a</sup>	0.66 ±0.00 <sup>a</sup>	0.56 ±0.00 <sup>a</sup>	30.42 ±1.53 <sup>a</sup>	13.76 ±1.39 <sup>a</sup>	0.25 ±0.00 <sup>a</sup>
Thyme AS	45.41 ±0.28 <sup>ab</sup>	-26.95 ±0.53 <sup>b</sup>	0.58 ±0.00 <sup>a</sup>	0.55 ±0.00 <sup>a</sup>	26.55 ±0.46 <sup>ab</sup>	14.87 ±0.52 <sup>a</sup>	0.21 ±0.00 <sup>a</sup>
Rosemary AS	40.52 ±1.22 <sup>b</sup>	-36.67 ±1.52 <sup>c</sup>	0.58 ±0.00 <sup>a</sup>	0.60 ±0.00 <sup>a</sup>	23.59 ±0.55 <sup>b</sup>	14.23 ±0.45 <sup>a</sup>	0.19 ±0.00 <sup>a</sup>
Dill AS	40.11 ±1.54 <sup>b</sup>	-39.04 ±1.04 <sup>c</sup>	0.62 ±0.00 <sup>a</sup>	0.59 ±0.00 <sup>a</sup>	25.05 ±0.64 <sup>b</sup>	14.85 ±0.34 <sup>a</sup>	0.23 ±0.00 <sup>a</sup>
Mixed herbs AS	50.18 ±0.49 <sup>a</sup>	-47.05 ±1.57 <sup>d</sup>	0.60 ±0.00 <sup>a</sup>	0.56 ±0.00 <sup>a</sup>	30.44 ±0.51 <sup>a</sup>	17.21 ±0.22 <sup>a</sup>	0.23 ±0.00 <sup>a</sup>

Note: Means with different superscript lowercase letters at the same column show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ).

Abbreviation: AS, Added Sucuk.

**Color and Sensorial Properties**

Color is one of the most important properties of Sucuk, which generally shows a brick-red color in Turkey, in terms of quality and consumer perception. Color of Sucuk develops in the first days of ripening due to the production of nitrosomyoglobin and moisture loss and starts to decrease following days as a consequence of denaturation of nitrosomyoglobin via lactic acid generation (Bozkurt & Bayram, 2006). Thus, to protect this desired red color for a longer period, antioxidants such as

nitrate/nitrite are generally used. In the present study, the replacement of nitrite with natural antioxidants did not influence the lightness ( $L^*$ ) and  $b^*$  values of Sucuk samples, while the  $a^*$  values were found to be significantly different from the control group ( $p < 0.05$ ) (Table 6). However, the dill added group had dramatically higher  $b^*$  values than the thyme added group, which indicated that the color of Sucuk slightly more blue rather than yellow in the thyme added group ( $p < 0.05$ ). This might be due to the difference in pigment intensity between the two spices.

**Table 6.** Color characteristics of the Sucuks at day 15 of the ripening period.

Sample	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Nitrite AS	48.71±0.74 <sup>a</sup>	16.84±0.35 <sup>a</sup>	9.66±0.37 <sup>ab</sup>
Thyme AS	48.62±0.77 <sup>a</sup>	10.41±0.89 <sup>b</sup>	8.18±0.67 <sup>b</sup>
Rosemary AS	50.01±0.88 <sup>a</sup>	9.60±0.36 <sup>b</sup>	8.65±0.48 <sup>ab</sup>
Dill AS	46.81±0.85 <sup>a</sup>	2.60±0.37 <sup>c</sup>	10.67±0.55 <sup>a</sup>
Mixed herbs AS	49.41±0.33 <sup>a</sup>	4.57±0.11 <sup>c</sup>	10.14±0.06 <sup>ab</sup>

Note: Means with different superscript lowercase letters at the same column show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ).

Abbreviation: AS, Added Sucuk.

**Table 7.** Sensory properties of the Sucuks at day 15 of the ripening period.

Sample	Color	Odor	Flavor	Texture	Overall Acceptance
Nitrite AS	7,18±0,04 <sup>a</sup>	6,29±0.20 <sup>a</sup>	7,13±0.14 <sup>a</sup>	7,08±0.15 <sup>a</sup>	6,98±0.14 <sup>a</sup>
Thyme AS	5,58±0.10 <sup>b</sup>	6,39±0.02 <sup>a</sup>	7,08±0.13 <sup>a</sup>	6,24±0.16 <sup>ab</sup>	6,51±0.23 <sup>a</sup>
Rosemary AS	5,15±0.10 <sup>bc</sup>	6,11±0.02 <sup>ab</sup>	5,48±0.11 <sup>b</sup>	5,87±0.10 <sup>b</sup>	5,02±0.33 <sup>b</sup>
Dill AS	4,76±0.10 <sup>c</sup>	5,44±0.10 <sup>b</sup>	5,10±0.11 <sup>b</sup>	6,14±0.27 <sup>ab</sup>	5,17±0.35 <sup>b</sup>
Mixed herbs AS	5,02±0.20 <sup>bc</sup>	5,63±0.24 <sup>ab</sup>	5,22±0.10 <sup>b</sup>	6,26±0.15 <sup>ab</sup>	5,51±0.47 <sup>ab</sup>

Note: Means with different superscript lowercase letters at the same column show the significant differences between the samples ( $p < 0.05$ ).

Abbreviation: AS, Added Sucuk.

## Conclusion

In the present study, the use of various herbs (dill, thyme, rosemary) as a replacement of nitrite in Sucuk production was performed and it has been seen that these herbs can be an alternative to nitrite as natural antioxidants. To the best of our knowledge, this is the first study on the use of dill as a natural antioxidant on Sucuk, a traditional fermented sausage. According to the results, the pH and  $a_w$  values were not affected by the addition of herbs, these values dramatically reduced as the ripening continued, due to lactic acid production and moisture loss, respectively. The addition of thyme, rosemary, and dill to the samples did not effectively reduce the TBARS values compared to nitrite. According to the color analysis, herbs addition decreased the  $a^*$  values of samples and this decrease negatively affected the panelist scores for sensory attributes. However, it has been understood that the addition of herbs has positive contributions in terms of flavor and odor. In the texture analysis, the use of herbs showed the softer structure compared the control group produced with nitrite. Considering all these results, herbs can be used as a good natural source of dietary bioactive components to reduce the amount of nitrate/nitrite in Sucuk at optimized concentrations without affecting the quality properties.

## Compliance with Ethical Standard

**Conflict of interests:** The author declares that for this article they have no actual, potential, or perceived conflict of interests.

**Ethics committee approval:** The author declares that this study does not include any experiments with human or animal subjects; therefore, no ethics committee approval is needed.

**Funding disclosure:** This research was supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) within the 2209/A projects.

**Acknowledgments:** -

**Disclosure:** -

## References

Al-Sereiti, M.R., Abu-Amer, K.M., Sen, P. (1999). Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37, 124-130.

AOAC (1990). *Official methods of analyses of association of analytical chemists*. Method 930.15 (Moisture in Animal Feed) & Method 942.05 (Ash of Animal Feed). Washington DC. ISBN: 0-935584-42-0.

Bishov, S.J., Masuoka, Y., Kapsalis, J.G. (1977). Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolyzates in freeze-dried model systems: Synergistic action with synthetic phenolic antioxidants. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1(2), 153-166.

<https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1977.tb00320.x>

Bonifacie, A., Promeprat, A., Nassy, G., Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V., Théron, L. (2021). Chemical reactivity of nitrite and ascorbate in a cured and cooked meat model implication in nitrosation, nitrosylation and oxidation. *Food Chemistry*, 348, 129073.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129073>

Bozkurt, H. (2006). Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. *Meat Science*, 73, 442-450.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.01.005>

Bozkurt, H., Bayram, M. (2006). Colour and textural attributes of sucuk during ripening. *Meat Science*, 73, 344-350.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.01.001>

Bozkurt, H., Erkmen, O. (2007). Effects of some commercial additives on the quality of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Food Chemistry*, 101, 1465-1473.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.002>

Cammack, R., Joannou, C.L., Cui, X.Y., Martinez, C.T., Maraj, S.R., Hughes, M.N. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1411(2-3), 475-488.

[https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(99\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(99)00033-X)

Cetin, B., Ozkaya, G.U., Uran, H., Durak, M.Z. (2019). Determination of the effect of ethyl pyruvate on the surface contamination of sausage to *Listeria monocytogenes* by using Q-PCR assay. *Journal of Food Safety*, 39(6), 12689.

<https://doi.org/10.1111/jfs.12689>

Chorbazhiev, P., Zsivanovits, G., Gradinarska, D., Danov, K., Jorgova, K. V. (2017). Improvement of texture profile attributes of cooked sausage type “Krenvirsh”. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 23(2), 338-347.

De Mey, E., De Maere, H., Paelinck, H., Fraeye, I. (2017). Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2909-2923.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1078769>

- Demirgöl, F., Tuncer, Y. (2017).** Detection of antibiotic resistance and resistance genes in Enterococci isolated from sucuk, a traditional Turkish-dry fermented sausage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(5), 670-681.  
<https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.5.670>
- Dertli, E., Yilmaz, M. T., Tatlısu, N. B., Toker, O.S., Cankurt, H., Sagdic, O. (2016).** Effects of in situ exopolysaccharide production and fermentation conditions on physicochemical, microbiological, textural and microstructural properties of Turkish-type fermented sausage (sucuk). *Meat Science*, 121, 156-165.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.008>
- Ekici, L., Ozturk, I., Karaman, S., Caliskan, O., Tornuk, F., Sagdic, O., Yetim, H. (2015).** Effects of black carrot concentrate on some physicochemical, textural, bioactive, aroma and sensory properties of sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 718-726.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.025>
- El-Guendouz, S., Aazza, S., Dandlen, S.A., Majdoub, N., Lyoussi, B., Raposo, S., Antunes, M., Gomes, V., Miguel, M.G. (2019).** Antioxidant activity of thyme waste extract in O/W emulsions. *Antioxidants*, 8, 243.  
<https://doi.org/10.3390/antiox8080243>
- Ercoskun, H., Ozkal, S.G. (2011).** Kinetics of traditional Turkish sausage quality aspects during fermentation. *Food Control*, 22, 165-172.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.06.015>
- Flores, M., Mora, L., Reig, M., Toldrá, F. (2019).** Risk assessment of chemical substances of safety concern generated in processed meats. *Food Science and Human Wellness*, 8(3), 244-251.  
<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.07.003>
- Flores, M., Toldrá, F. (2020).** Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products. *Meat Science*, 171, 108272.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108272>
- Fraqueza, M.J., Laranjo, M., Elias, M., Patarata, L. (2021).** Microbiological hazards associated with salt and nitrite reduction in cured meat products: control strategies based on antimicrobial effect of natural ingredients and protective microbiota. *Current Opinion in Food Science*, 38, 32-39.  
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.027>
- Gokoglu, N., Yerlikaya, P., Uran, H., Topuz, O.K. (2010).** The effect of modified atmosphere packaging on the quality and shelf life of frankfurter type-sausages. *Journal of Food Quality*, 33, 367-380.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00317.x>
- Gök, V., Obuz, E., Sahin, M.E., Serteser, A. (2011).** The effects of some natural antioxidants on the color, chemical and microbiological properties of sucuk (Turkish dry-fermented sausage) during ripening and storage periods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 677-690.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00517.x>
- Gökalp H.Y., Kaya M., Zorba Ö. (1999).** *Meat Products Processing Engineering*. 3th ed. Atatürk University, Faculty of Agriculture; Erzurum. (In Turkish). Publication No: 786.
- Hospital, X. F., Hierro, E., & Fernández, M. (2014).** Effect of reducing nitrate and nitrite added to dry fermented sausages on the survival of Salmonella Typhimurium. *Food Research International*, 62, 410-415.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.055>
- Hospital, X.F., Hierro, E., Stringer, S., Fernández, M. (2016).** A study on the toxigenesis by Clostridium botulinum in nitrate and nitrite-reduced dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 218, 66-70.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.009>
- Jin, S.K., Choi, J.S., Lee, S.J., Lee, S.Y., Hur, S.J. (2016).** Effect of thyme and rosemary on the quality characteristics, shelf-life, and residual nitrite content of sausages during cold storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(5), 656-664.  
<https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.5.656>
- Jin, S.K., Choi, J.S., Yang, H.S., Park, T.S., Yim, D.G. (2018).** Natural curing agents as nitrite alternatives and their effects on the physicochemical, microbiological properties and sensory evaluation of sausages during storage. *Meat Science*, 146, 34-40.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.032>
- Kaban, G. (2013).** Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Science*, 95(4), 912-918.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.021>

- Kargozari, M., Moini, S., Basti, A.A., Djomeh, Z.E., Gandomi, H., Martin, I.R., Ghasemlou, M., Carbonell-Barrachina, A.A. (2014). Effect of autochthonous starter cultures isolated from Siahmazgi cheese on physicochemical, microbiological and volatile compound profiles and sensorial attributes of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage. *Meat Science*, 97(1), 104-114.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.013>
- Kayaardı, S., Gök, V. (2004). Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). *Meat Science*, 66(1), 249-257.  
[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00098-6)
- Kilcast, D. (2004). *Texture in food: Solid foods*. Elsevier. ISBN: 0-8493-2357-4  
<https://doi.org/10.1201/9780203023952>
- Kilic, B. (2009). Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *LWT – Food Science and Technology*, 42(10), 1581-1589.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.016>
- Kulisc, T., Radonić, A., Milos, M. (2005). Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. *Italian Journal of Food Science*, 17(3), 1-10.
- Kurt, S. (2016). The effects of grape seed flour on the quality of Turkish dry fermented sausage (sucuk) during ripening and refrigerated storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3), 300-308.  
<https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.3.300>
- Lücke, F.K. (1998). Fermented sausages. In B. J. B. Wood (Ed.), *Microbiology of fermented foods* (pp. 441-483). Blackie Academic & Professional. ISBN: 978-1-4613-7990-4  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0309-1\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0309-1_14)
- Martin, J.M. (2012). Meat-curing technology. In Y.H. Hui (Ed.), *Handbook of meat and meat processing* (pp. 531-544). CRC Press. ISBN: 978-1-4398-3684-2
- Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In E. Stahl-Biskup, F. Saez (Eds.), *Thyme: The genus Thymus* (pp. 1-44). Taylor Francis. ISBN: 0-415-28488-0
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40(2), 223-231.  
<https://doi.org/10.1080/10715760500473834>
- Ordóñez, J.A., Hierro, E.M., Bruna, J.M., Hoz, L.D.L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(4), 329-367.  
<https://doi.org/10.1080/10408699991279204>
- Oshaghi, E.A., Tavilani, H., Khodadadi, I., Goodarzi, M.T. (2015). Dill tablet: A potential antioxidant and anti-diabetic medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(9), 720-727.  
<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.06.012>
- Oz, F., Kaya, M., Aksu, M. I. (2011). Utilization of *Thymus vulgaris* L. in the production of sucuk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 483-487.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2010.00491.x>
- Pandey, M.C., Harilal, P.T., Radhakrishna, K. (2014). Effect of processing conditions on physico-chemical and textural properties of *shami kebab*. *International Food Research Journal*, 21(1), 223-228.
- Paramithiotis, S., Drosinos, E.H., Sofos, J.N., Nychas, G.J.E. (2010). Fermentation: Microbiology and biochemistry. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of meat processing* (pp. 185-198). Wiley-Blackwell. ISBN: 978-0-8138-2182-5.  
<https://doi.org/10.1002/9780813820897.ch9>
- Parthasarathy, D.K., Bryan, N.S. (2012). Sodium nitrite: The “cure” for nitric oxide insufficiency. *Meat Science*, 92(3), 274-279.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.001>
- Pini, F., Aquilani, C., Giovannetti, L., Viti, C., Pugliese, C. (2020). Characterization of the microbial community composition in Italian Cinta Senese sausages dry-fermented with natural extracts as alternatives to sodium nitrite. *Food Microbiology*, 89, Article 103417.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103417>
- Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S., Mikov, M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 225.  
<https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-225>



- Riel, G., Boulaaba, A., Popp, J., Klein, G. (2017). Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages-Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. *Meat Science*, 131, 166-175. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.05.007>
- Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.H., Khalel, K.I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827-831. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.029>
- Sebranek, J.G., Bacus, J.N. (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*, 77(1), 136-147. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025>
- Sendijani, R.S., Kenari, A.A., Smiley, A.H., Esmaili, M. (2020). The effect of extract from dill *Anethum graveolens* on the growth performance, body composition, immune system, and antioxidant system of rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture*, 82, 119-131. <https://doi.org/10.1002/naaq.10123>
- Shyu, Y.S., Lin, J.T., Chang, Y.T., Chiang, C.J., Yang, D.J. (2009). Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chemistry*, 115(2), 515-521. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.039>
- Sintim, H.Y., Burkhardt, A., Gawde, A., Cantrell, C.L., Astatkie, T., Obour, A.E., Zheljzkov, V.D., Schlegel, V. (2015). Hydrodistillation time affects dill seed essential oil yield, composition, and bioactivity. *Industrial Crops and Products*, 63, 190-196. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.058>
- Soncu, E.D., Arslan, B., Ertürk, D., Küçükkaya, S., Ozdemir, N., Soyer, A. (2018). Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Turkish fermented sausages (sucuk) coated with chitosan-essential oils. *LWT – Food Science and Technology*, 97, 198-204. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.049>
- Soncu, E.D., Ozdemir, N., Arslan, B., Küçükkaya, S., Soyer, A. (2020). Contribution of surface application of chitosan-thyme and chitosan-rosemary essential oils to the volatile composition, microbial profile, and physicochemical and sensory quality of dry-fermented sausages during storage. *Meat Science*, 166, 108127. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108127>
- Sucu, C., Turp, G.Y. (2018). The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat Science*, 140, 158-166. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.012>
- Tang, R., Peng, J., Chen, L., Liu, D., Wang, W., Guo, X. (2021). Combination of *Flos Sophorae* and chili pepper as a nitrite alternative improves the antioxidant, microbial communities and quality traits in Chinese sausages. *Food Research International*, 141, 110131. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110131>
- Toldrá, F., Rico, E., Flores, J. (1992). Activities of pork muscle proteases in model cured meat systems. *Biochimie*, 74(3), 291-296. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(92\)90128-2](https://doi.org/10.1016/0300-9084(92)90128-2)
- Tsoukalas, D.S., Katsanidis, E., Marantidou, S., Bloukas, J.G. (2011). Effect of freeze-dried leek powder (FDLP) and nitrite level on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 87(2), 140-145. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.10.003>
- Turkish Standard Institute (TSI). (2002). *Turkish Sucuk* (TS 1070). Ankara, Turkey.
- Uran, H., Gokoglu, N. (2014). Effects of cooking methods and temperatures on nutritional and quality characteristics of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Journal of Food Science and Technology*, 51, 722-728. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0551-5>
- Vignolo, G., Fontana, C., Fadda, S. (2010). Semidry and dry fermented sausages. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of meat processing* (pp. 379-398). Wiley-Blackwell. ISBN: 78-0-8138-2182-5 <https://doi.org/10.1002/9780813820897.ch22>
- Waga, M., Takeda, S., Sakata, R. (2017). Effect of nitrate on residual nitrite decomposition rate in cooked cured pork. *Meat Science*, 129, 135-139. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.03.002>
- Zubillaga, M.P., Maerker, G., Foglia, T.A. (1984). Antioxidant activity of sodium nitrite in meat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(4), 772-776. <https://doi.org/10.1007/BF02672133>

## Fonksiyonel çikolata üretiminde inovatif yaklaşımlar

Kıvılcım ÇELİK, Pelin GÜNÇ ERGÖNÜL, Simgе ÇELİK

### Cite this article as:

Çelik, K., Günç Ergönül, P., Çelik, S. (2022). Fonksiyonel çikolata üretiminde inovatif yaklaşımlar. *Food and Health*, 8(3), 241-259.

<https://doi.org/10.3153/FH22023>

Manisa Celal Bayar Üniversitesi,  
Mühendislik Fakültesi, Gıda  
Mühendisliği Bölümü, 45010, Manisa,  
Türkiye

### ORCID IDs of the authors:

K.Ç. 0000-0001-6807-6472

P.G.E. 0000-0003-4993-7219

S.Ç. 0000-0002-2553-8208

Submitted: 15.11.2021

Revision requested: 11.12.2021

Last revision received: 14.12.2021

Accepted: 04.01.2022

Published online: 17.06.2022

Correspondence: Kıvılcım ÇELİK

E-mail: [kvlcmlk94@gmail.com](mailto:kvlcmlk94@gmail.com)



© 2022 The Author(s)

Available online at  
<http://jfhscientificwebjournals.com>

### ÖZ

Çikolata; kakao ürünleri, şekerler ve/veya tatlandırıcılar, süt veya süt ürünleri ile Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nde izin verilen katkı ve/veya aroma maddelerinin ilavesiyle elde edilen bir gıda maddesidir. Hammaddesi olan kakao (*Theobroma cocoa*); içerdiği mineraller, polifenoller ve buna bağlı olarak yüksek antioksidan aktivitesi ile özellikle kalp sağlığını olumlu yönde etkilemektedir. Fonksiyonel gıdalar; sentetik bileşenler içermeyen, besleyici etkisinin yanı sıra sağlığı ve iyi hali geliştirici özelliklere sahip olan gıda formunda tüketilen besinlerdir. Bir gıdanın fonksiyonel olabilmesi için biyoaktif bileşenler ve/veya probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotik maddeleri içermelidir. Günümüzde tüketiciler, daha sağlıklı olabilmek için yağ oranı ve kalori miktarı azaltılmış ürünlere yönelmektedir. Çikolata içerdiği yüksek miktarda yağ ve sakkaroz oranı ile kalorisini yüksek bir besin olduğundan tüketimi kısıtlanmaktadır. İnsan sağlığına etkisini arttırmak amacıyla probiyotik mikroorganizmalar kullanarak, İnülin, polidekstroz, tatlandırıcılar, farklı yağ ikameleri gibi bileşenler ekleyip şeker ve yağ miktarlarını azaltarak ve antioksidan kapasitesini artırarak fonksiyonel çikolata üretimleri gerçekleştirilmektedir. Bu derlemede çikolata üretiminde yıldan yıla meydana gelen gelişmeler, fonksiyonel çikolata nedir, fonksiyonel çikolata üzerine yapılan çalışmalar ve çikolata bileşiminin sağlık yönü irdelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Fonksiyonel çikolata, Kakao, Probiyotik, Prebiyotik, Diyet lif

### ABSTRACT

#### Innovative approaches in functional chocolate production

Chocolate; It is a foodstuff obtained by using cocoa products, sugars and/or sweeteners, milk or dairy products and additives and/or flavorings permitted in the Turkish Food Codex Regulation. Cocoa (*Theobroma cocoa*), the raw material of chocolate, positively affects heart health, due to the minerals, polyphenols, and high antioxidant activity. Functional foods are foods that do not contain synthetic components and have health and well-being promoting properties as well as nutritious effects. For a food to be functional, it must contain factors such as bioactive components, probiotic microorganisms and prebiotic substances. Today, consumers to be healthier to their nutrition and turn to products with reduced fat and calorie content. Since chocolate is a high-calorie food with its high fat and sucrose ratio, its consumption is at a low rate. To positively affect human health, functional chocolate is produced by using probiotic microorganisms, adding ingredients such as inulin, polydextrose, sweeteners, different fat substitutes to it, reducing the amount of sugar and fat, and increasing the antioxidant capacity. In this review, the developments in chocolate production from year to year, what is functional chocolate, studies on functional chocolate and the health aspect of chocolate composition are examined.

**Keywords:** Functional chocolate, Cacao, Probiotic, Prebiotic, Dietary fiber

## Giriş

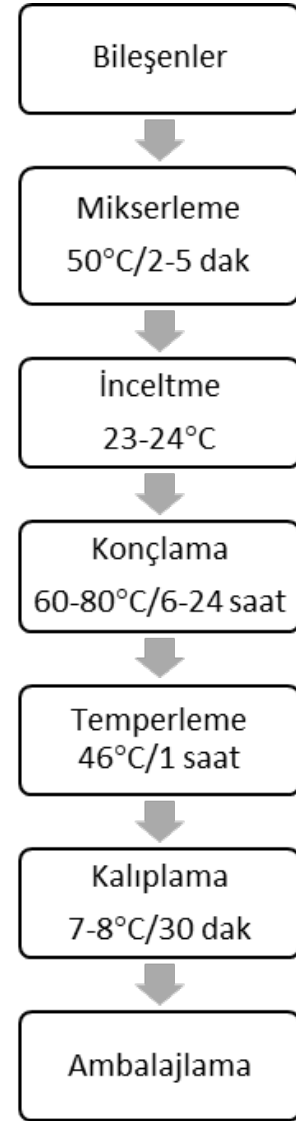
Çikolata tüketilmesi zorunlu olmayan ve doyurucu amaçlı tüketilmeyen; bunun yerine keyif ve tat için tüketilen bir gıda maddesidir (Parlatır, 2019). Çikolatanın geçmişi 3000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır (Coe & Coe, 2005; Terme, 2019). Kakao ve çikolata ürünleri tıbbi ilaçlar, lezzetli tatlılar ve lüksün simgesi olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır (Shadwell ve ark., 2013). Kakao, çikolata ve benzeri gıda ürünlerinin hammaddesidir. Amazon ve Orinoco vadilerinden gelen Güney Amerika'ya özgü kakao ağacının (*Theobroma cacao*) meyvesinin tohumlarından elde edilmektedir (Parlatır, 2019). Criollo, Forastero ve Trinitario olmak üzere 3 farklı kakao çekirdeği türü mevcut olup yılda 2 defa hasat edilir (Erdem ve ark., 2014; McShea ve ark., 2008). Kakao, bir dizi işlem sonrasında tüketilebilir hale gelmektedir. İlk olarak kakao çekirdekleri hasat edilir ve gün boyunca doğal fermantasyona bırakılır. Daha sonra fermente kakao çekirdekleri kurutulur ve 120-150 °C arasında kavurma işlemine tabii tutulur. Çikolata likörü buradan elde edilirken daha sonra soğutma ve öğütme işlemi yapılarak kakao tozu elde edilir (Erdem ve ark., 2014).

Çikolata tüm dünyada sıklıkla tüketilen bir gıda ürünüdür. Tüketim verileri incelendiğinde 2015/2016 yıllarında tüm dünyada tüketilen çikolata miktarı 7,3 milyon ton iken 2018/2019 yılında 7,7 milyon tona ulaşmıştır (Smith ve ark., 2020). Dünya çikolata tüketiminde ilk sırada İsviçre yer almakla birlikte üretimin en yaygın olduğu ülkeler ABD, Almanya, İsviçre ve Belçika'dır. İsviçre'de 2017 yılı verilerine göre kişi başı çikolata tüketimi 8,8 kg'dır (Özat, 2018). Türkiye'de ise çikolata tüketimi 2009 yılında kişi başı 1,3 kg iken 2018 yılında 3,1 kg'a yükselmiştir (Özat, 2018; Palacıoğlu, 2003; Üzümcü, 2017). Çikolata üretiminde kakao likörü, şeker, kakao yağı, lesitin, süt tozu ve tatlandırıcılar kullanılmaktadır (Parlatır, 2019). Şekil 1'de de verildiği üzere tüm bu bileşenler karıştırma, rafine etme, konçlama, tavlama, kristalleştirme ve son olarak kalıplama işlemlerine tabii tutularak çikolata üretimi tamamlanmaktadır (Albak, 2015; Cidell & Alberts, 2006; Özkan, 2019).

Malzemelerin bileşimi bitter, sütlü ve beyaz olmak üzere 3 farklı sınıfa göre değişmektedir (Tablo 1) (Özgen, 2010). Çikolata sade, aromalı ve dolgulu olmak üzere 3 farklı gruba ayrılmaktadır. Bu grupların kakao likörü, süt yağı ve kakao yağı oranları çeşide göre farklılık göstermektedir (Afoakwa ve ark., 2007; Üzümcü, 2017).

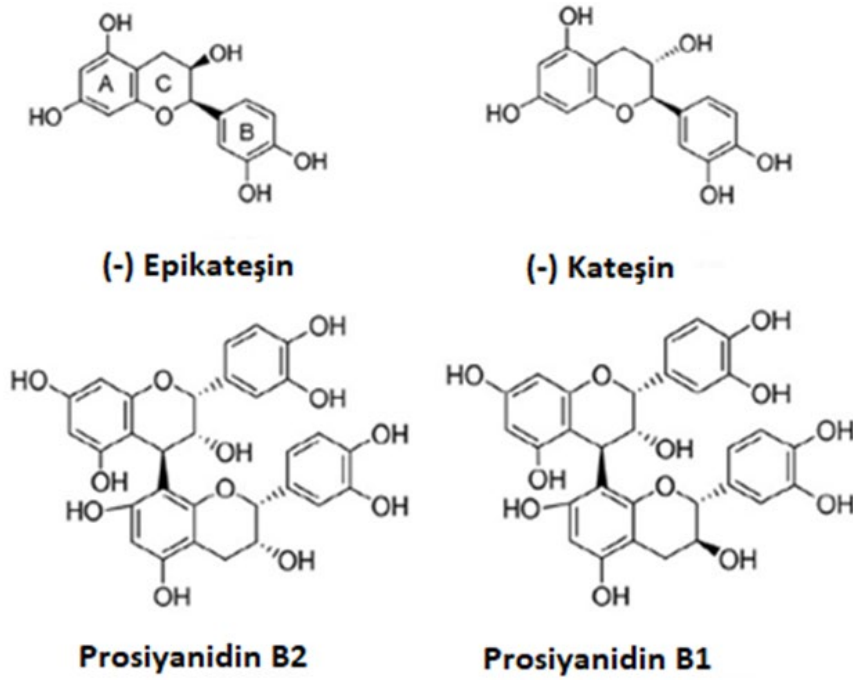
Kakao ve türevleri (toz, likör ve çikolata); metilksantin, epikateşin, polifenoller ve antosiyaninler gibi fenolik bileşenle-

rin kaynağıdır (Batista ve ark., 2016). Şekil 2'de kakao çekirdeklerinde bulunan ana flavonoidler gösterilmektedir (Martín & Ramos, 2016). Ayrıca yapılan çalışmalarla çikolatada aldehitler, pirazinler, asitler, ketonlar, esterler, furan ve fenoller olmak üzere 400 aroma bileşeni tespit edilmiştir (Tannenbaum, 2004).



Şekil 1. Çikolata üretim akım şeması (Özkan, 2019)

Figure 1. Chocolate production (Özkan, 2019)



**Şekil 2.** Kakao çekirdeği yapısında en çok bulunan flavonoidler (Martín & Ramos, 2016)

**Figure 2.** Most abundant flavonoids in cocoa bean butter (Martín & Ramos, 2016)

**Tablo 1.** Sütli, bitter ve beyaz çikolata genel kompozisyonu, toplam ağırlık üzerinden % (Afoakwa ve ark., 2007; Üzümcü, 2017)

**Table 1.** Overall composition of milk, dark and white chocolate, based on total weight % (Afoakwa et al., 2007; Üzümcü, 2017)

	Sütli Çikolata	Bitter Çikolata	Beyaz Çikolata
Şeker	45.0	43.5	45.0
Yağsız süt tozu	15.6	-	17.9
Süt yağı	5.3	-	4.0
Kakao kütlesi	10.0	44.0	-
Kakao yağı	23.6	12.0	32.6(deodorize)
Lesitin	0.5	0.5	0.5
<b>Toplam yağ içeriği</b>	<b>35.0</b>	<b>35.0</b>	<b>36.6</b>

## Çikolata ve Sağlık

Çikolata içeriğindeki flavanoidlerin, kan basıncını düzenlemek, antikarsinogenik etki göstermek, biyoyararlanımı arttırmak, bağışıklığı desteklemek, trombosit sayısı üzerinde olumlu etki yaratmak, kalp sağlığını iyileştirmek ve kalp krizi riskini azaltmak gibi sağlığa birçok yararı bulunmaktadır (Steinberg ve ark., 2003). Flavonoidlerin antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri de mevcuttur (Corti ve ark., 2009; Pedan ve ark., 2017). Neşe ve zevk ile ilişkilendirilen çikolata aynı zamanda potansiyel uyarıcı, rahatlatıcı ve antidepresan özelliğe de sahiptir (Thamke ve ark., 2009). Ana etken maddeler olan alkaloidlerden özellikle teobromin ve kafein uyarıcı etkileri ile bilinmektedir (Pedan ve ark., 2017). Çikolatada bulunan flavanoidler, düşük yoğunluklu lipoprotein olan LDL'nin oksidasyonunu azaltmaktadır (Coşkun, 2005; Eo, 2008). LDL'nin oksidasyonunun önlenmesi aterogenezde önemli bir rol oynamaktadır ve arteriyel duvarda LDL oksidasyonunu önleyen ajanlar aterosklerozun gecikmesini sağlayabilmektedir (Mursu ve ark., 2004). Ayrıca bu flavanoidler içerdikleri antioksidan özellikler sayesinde hiperkolestemi, hipertansiyon ve gelişmiş endotel fonksiyonu gibi kardiyovasküler bozukluklara karşı önleyici-koruyucu olarak da görev yapmaktadırlar (Latham ve ark., 2014). Çikolatanın ana flavonollerinden epikateşin, vasküler sistemin önemli bir düzenleyicisi olan nitrik oksit biyoyararlanımını artırarak endotel fonksiyonu iyileştirir ve kan basıncı regülasyonunda iyileşmelere yol açmaktadır (Socci ve ark., 2017). Ayrıca çikolatada bulunan polifenoller bağışıklığı güçlendirir ve astıma neden olan lipoksigenaz enzimlerinin üretimini engeller (Katz ve ark., 2011). Yapılan *ex vivo* karşılaştırmalı bir çalışma flavanol bakımından zengin kakaonun aspirine benzer şekilde epinefrinle uyarılan trombosit aktivasyonu ve işlevi üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Fernández-Murga ve ark., 2011). Flavonoid bakımından zengin çikolatadan elde edilen epikateşin, insan dokularında hızla emilmektedir. Yapılan çalışmalar sağlıklı yetişkin insanlarda flavonoid bakımından zengin çikolata tüketiminden sonraki 2 saat içinde plazma konsantrasyonlarının 1 mol/L'ye yaklaşabildiğini ortaya koymuşlardır. Plazma epikateşin konsantrasyonlarındaki artış alınan doza bağlı olup çikolatadaki flavonoid konsantrasyonuna da bağlı olarak değişmektedir (Steinberg ve ark., 2003).

Kakao, çok çeşitli uçucu bileşenlere (4-metil-2-fenil-e-pental ve 5-metil-2-fenil-2-hekzanal vb.) sahiptir. Kakaoda bulunan uçucu bileşenler kakao çekirdeğinin acı ve buruk tadından sorumludurlar (Batista ve ark., 2016; Drownowski & Gomez-carneros, 2000; Serra Bonvehí & Ventura Coll, 1997). Bitter çikolatada bulunan 2-metilbutanal ve 3-metilbutanal bileşikleri tipik bitter tat ve kokusunu sağlamaktadırlar (Counet ve ark., 2002). Sütlü çikolata ise başlıca 3-metilbutanal,

(E)-2-oktenal, 2,3-dietil-5-metilpirazin, (E)-2-nonenal, 2 ve 3-metilbütenoik asit, vanilin, R-δ-dekalakton, furaneol ve (E,E)-2,4-decadienal gibi uçucu maddeleri içermektedir (Schnermann & Schieberle, 1997).

## Fonksiyonel Çikolata Üretimindeki Gelişmeler

Fonksiyonel gıda kavramı, temel beslenmenin yanı sıra sağlık yararları sağlayan gıdalar-olarak tanımlanmaktadır. Kaliteli ve uzun bir yaşam sürmek için vücuda alınan besinler büyük önem taşımaktadır (Hasler, 2000; Meral ve ark., 2012). Fonksiyonel gıda ürünü geliştirme, son yıllarda gıda endüstrisinde çok popüler bir hale gelmiştir. Bu tür ürünler; içeriği güçlendirilmiş ve zenginleştirilmiş ya da yeniden geliştirilmiş ürünlerdir (Siró ve ark., 2008). Fenolik maddeler, antioksidanlar, besin lifleri, oligosakkaritler, probiyotikler, prebiyotikler, vitaminler, çoklu doymamış yağ asitleri, kükürt içeren bileşenler, fitoöstrojenler ve bitki sterollerini kullanılarak gıdalar işlevsel hale getirilebilmektedir (Meral ve ark., 2012). Bunlar arasında probiyotikler, prebiyotikler, bitki antioksidanları, vitaminler ve mineraller sıklıkla kullanılmaktadır (Grajek ve ark., 2005) Fonksiyonel gıda olarak tüketilen gıdalar sentetik bileşenler içermemelidir. Ayrıca hastalık riskini azaltan, sağlığı ve iyilik halini arttıran farklı faktörlere sahip besinler fonksiyonel gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Gıdanın işlevsel olabilmesi için biyoaktif bileşikler, probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotik maddeleri içermesi ve bunların vücutta biyoyararlanımlarının yüksek olması gerekmektedir. Biyoaktif bileşiğin etkisi, eksikliğinden kaynaklanan hastalık semptomlarının ortadan kaldırılmasıyla karıştırılmamalı, temel işlevi dışında sağladığı fayda olarak algılanmalıdır. Fonksiyonel besinler kalp damar hastalıkları, kanser, yüksek tansiyon, kolesterol, şeker, ülser ve ishal gibi hastalıkların riskini azalmaktadır. Bunu insan temel fizyolojisi, bağışıklık, sinir, hormon, solunum, dolaşım ve sindirim sistemlerine sağladıkları yarar ile yapmaktadırlar (Coşkun, 2005; Özhan, 2012; Özkan, 2019; Üzümcü, 2017).

Diyabet ve obezite gibi metabolik fonksiyon bozuklukları olan kişiler, kolaylıkla glikoza dönüşebilen yüksek yağlı gıda ürünleri ve sakkaroz tüketmeyip, sağlığa faydalı, yağ içeriği düşük ve kalorisi ayarlanmış besinleri tercih etmelidirler (Nebesny ve ark., 2005; Özhan, 2012). Bu nedenle çikolata gibi çok tercih edilen ve sevilen bir gıda ürününde sağlık yararlarını arttırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Bu kapsamda en çok

yapılan zenginleştirme çalışmaları probiyotik ekleme, polifenol miktarını artırma, kalori azaltma ve lif içeriğinin artırılması ile tüm bunların kombine olarak uygulanmasıdır (Abdul Halim ve ark., 2019; Aidoo ve ark., 2014, 2015; Akdeniz ve ark., 2021; Akgül, 2018; Bascuas ve ark., 2021; Cerit ve ark., 2016; Chetana ve ark., 2013; Denkova-Kostova ve ark., 2021; Erdem ve ark., 2014; Erginkaya ve ark., 2019; Fayaz ve ark., 2017; Gültekin-Özguven ve ark., 2016; Hosseini ve ark., 2021; Kale, 2014; Kemsawasd ve ark., 2016; Li ve ark., 2021; Lončarević ve ark., 2018; Martini ve ark., 2018; D R A Muhammad ve ark., 2021; Dimas Rahadian Aji Muhammad ve ark., 2021; Nambiar ve ark., 2018; Özat, 2018; Özer, 2019; Özgen, 2010; Özhan, 2012; Parlatır, 2019; Patel ve ark., 2008; Pirouzian ve ark., 2016; Possemiers ve ark., 2010; Prosapio & Norton, 2019; Rad ve ark., 2019; Rezende ve ark., 2015; Sarıgül, 2019; Shiehzhadeh, 2019; Silva ve ark., 2017; Toker ve ark., 2018; Üzümcü, 2017).

### **Probiyotik-Prebiyotik çikolata üretimi**

Probiyotik ve prebiyotikler, insan sağlığını iyileştirmek amacıyla vücut fonksiyonlarını olumlu yönde etkileyen, fizyolojik ve/veya psikolojik yönden olumlu katkılar yapan fonksiyonel özellikteki katkılardır (Al-Khalafah, 2018). Probiyotikler sağlığı geliştirici etkileri nedeniyle yüzyıllardır kullanılmaktadırlar (Duggan ve ark., 2002; Erdem ve ark., 2014). Yeterli miktarlarda alındığında insan sağlığı üzerine faydalı etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Duggan ve ark., 2002; Erginkaya ve ark., 2019). Gıdalarda yaygın olarak kullanılan probiyotik bakteriler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakterilerdir. Ayrıca, *Lactobacillus* açısından zengin olan *L.murinus* gibi probiyotikler, TH17 hücrelerini azaltarak yüksek tuz kaynaklı oluşan hipertansiyonu iyileştirebilmekte ve hipertansiyon hastaları için potansiyel ve yeni bir terapötik tedavi görevi görebilmektedir (Cheng ve ark., 2019). Probiyotik bakteriler ve kanser ile ilişkili çalışmalar; probiyotik bakterilerin prokarsinojen bakterileri engellediğini ortaya koymuştur. Ayrıca yapılan çalışmalarla  $\beta$ -glukoranidaz, nitroreduktaz, azoredüktaz gibi kanserojen enzimlerin aktivasyonunu azalttıkları tespit edilmiştir (Toprak, 2019). Probiyotikler bağırsak mikrobiyal dengesini sağlayarak ve geliştirerek konakçı sağlığı üzerinde faydalı etkiler sağlayan canlı mikrobiyal gıda katkı maddeleridir. Çikolataya probiyotik eklenmesi ürünün fonksiyonelliği ile birlikte tercih edilmesini daha fazla arttıracaktır. Tablo 2’de

farklı çikolata çeşitlerinde uygulanan probiyotik zenginleştirme çalışmaları yer almaktadır.

Probiyotik çikolatalı mousse denemesinde, probiyotik mikroorganizma olarak *Lactobasillus Plantarum* D2’nin serbest ve immobilize hücreleri kullanılmış, limon veya greyfurt esansiyel yağlarıyla tatlandırılan 9 farklı ürün hazırlanmıştır. Hazırlanan ürünler 20 gün boyunca buzdolabı koşullarında saklanmış ve 0,5,10,15 ve 20. günlerde canlı Lactobasil hücrelerinin konsantrasyonları, pH ve mikrobiyolojik saflık testleri uygulanmıştır. Üretilen probiyotik çikolatalı mousse’ların duyuşal değerlendirmeleri ise 0. günde gerçekleştirilmiştir. Yapılan duyuşal test sonuçlarına göre üretilen ürünlerin tüketiciler tarafından kabul gördüğü tespit edilmiştir. %1’e kadar eklenen limon veya greyfurt esansiyel yağları *L.plantarum* D2’nin gelişmesini etkilememiştir. Ayrıca depolama testleri sonucunda buzdolabı koşullarında *L. plantarum* D2 seviyesinin 20. günde bile  $10^6$ - $10^7$  arasında olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışma ile probiyotik çikolatalı mousse elde edilerek fonksiyonel bir gıda üretimi gerçekleştirilmiştir (Denkova-Kostova ve ark., 2021).

Probiyotik çikolata denemesinde prebiyotik katkılarla enkapsüle edilmiş *L.rhamnosus* bitter çikolataya eklenmiş ve farklı sıcaklıklarda (4-25°C) 60 gün boyunca depolanmıştır. Depolama boyunca üretilen ürünlerin canlı mikroorganizma sayısı ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Buna göre; mikroenkapsülasyonun mikroorganizmaların dayanımını arttırdığı, depolama sıcaklığının mikroorganizma canlılığı için önemli bir parametre olduğu tespit edilmiştir. Tüm sonuçlar ışığında probiyotik mikroorganizmalar 0-30 gün boyunca artış gösterirken, 60 günün sonunda ciddi bir düşüş göstermiştir. Duyusal test sonuçlarına bakıldığında ise geliştirilen çikolataların tat, aroma, görünüm ve renk gibi duyuşal özelliklerinde çeşitler arasında önemli bir fark olmadığı bildirilmiştir (Erginkaya ve ark., 2019).

Özer, (2019) tarafından yapılan bir araştırmada; peyniraltı suyu tozu ve pullulan kompleksi kullanılarak, serbest ve enkapsüle *Lactobasillus Rhamnosus* NRRLB-442 suşu sütlü çikolataya eklenmiş ve ürünlerin fiziksel, kimyasal, duyuşal ve tekstürel özellikleri incelenmiştir. Çikolatalara probiyotik bakteri eklenmesinin ürünlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca probiyotiklerin canlılıklarını 4°C’de daha fazla korudukları tespit edilmiştir.

**Tablo 2.** Probiyotik mikroorganizmalar ile zenginleştirilmiş çikolata çalışmaları**Table 2.** Chocolate studies enriched with probiotic microorganisms

Çikolata tipi	Çalışma Adı	Kullanılan mikroorganizma	Kaynak
Çikolatalı mousse	İmmobilize <i>Lactobacillus Plantarum</i> D2 ve Limon ( <i>Citrus Lemon</i> L.) veya Greyfurt ( <i>Citrus Paradisi</i> L.) esansiyel yağları ile tatlandırılan çikolatalı mousse'un biyokorunması	İmmobilize <i>Lactobacillus Plantarum</i> D2	(Denkova-Kostova ve ark., 2021)
Bitter çikolata	Probiyotik bitter çikolata üretiminde mikroenkapsüle <i>Lactobacillus rhamnosus</i> kullanımı	Mikroenkapsüle <i>L.rhamnosus</i>	(Erginkaya ve ark., 2019)
Sütlü Çikolata	Kaygı bozukluğunu gidermede önemli olan: gama-amino bütirik asit üreticisi probiyotik kullanılarak fonksiyonel çikolata geliştirilmesi	Mikrokapsüle <i>Lactobacillus rhamnosus</i> NRRLB-442	(Özer, 2019)
Sütlü çikolata	<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> BB-12 ve inülin içeren sinbiyotik sütlü çikolataların kalite özelliklerinin belirlenmesi	<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> BB-12 ve inülin	(Akgül, 2018)
Sütlü çikolata	Mikrokapsülenmiş <i>Lactobacillus plantarum</i> HM47 ile desteklenmiş sütlü çikolatanın geliştirilmesi ve İsviçreli bir albino fare modelinde güvenliği belirlemek	Mikroenkapsüle <i>Lactobacillus plantarum</i> HM47	(Nambiar ve ark., 2018)
Yarı tatlı bitter çikolata	Probiyotikler için bir araç olarak yarı tatlı çikolata <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3 ve <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> BLC1: In vitro simüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında çikolata stabilitesinin ve probiyotik sağkalımının değerlendirilmesi	Liyofilize <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3 ve <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> BLC1	(Silva ve ark., 2017)
Beyaz Çikolata, Sütlü Çikolata, Bitter Çikolata	Depolama sırasında ve bir in vitro gastrointestinal model ile çikolatada hareketsizleştirilmiş probiyotiklerin hayatta kalması	Dondurularak kurutulmuş <i>L.casei</i> , <i>L. acidophilus</i>	(Kemsawasd ve ark., 2016)
Sütlü Çikolata	Probiyotik çikolatada lordan elde edilen bakterilerin izolasyonu, tanımlanması ve uygulaması	<i>Lactobacillus asidofilus</i>	(Kale, 2014)
Bitter Çikolata	<i>Bacillus indicus</i> HU36, maltodekstrin ve limon lifi ile zenginleştirilmiş yeni bir sinbiyotik bitter çikolatanın geliştirilmesi: Yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyon	<i>Bacillus indicus</i> HU36,	(Erdem ve ark., 2014)
Sütlü Çikolata	Yoğurt tozu kullanılarak probiyotik çikolataların hazırlanması ve özellikleri	<i>Lactobacilli</i> içeren yoğurt tozu	(Chetana et al., 2013)
Sütlü Çikolata Bitter Çikolata	Bakteri ve çikolata: Probiyotik uygulama için başarılı bir kombinasyon	<i>Lactobacillus helveticus</i> CNCM I-1722 <i>Bifidobacterium longum</i> CNCM I-3470	(Possemiers ve ark., 2010)
Mousse Çikolata	Probiyotik ve sinbiyotik mousse çikolatanın geliştirilmesi: Fonksiyonel bir gıda	<i>Lactobacillus paracasei subsp. Inulin</i>	(Patel ve ark., 2008)

Bir başka çalışmada; probiyotik katkı olarak *Bifidobacterium* ve prebiyotik katkı olarak da inülin eklemesi yapılarak sütlü çikolata üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen ürünlere %6-10 oranında inülin ilave edilmiş ve çikolatalar 60°C'de 60 gün süreyle depolanmıştır. Yapılan araştırma sonuçlarına göre inülin ve probiyotik katkısı ile çikolataların parlaklık değerleri azalmıştır. Ürünlerdeki inülin miktarı arttıkça doymuş yağ içerikleri azalmış ayrıca protein değerleri de artmıştır.

Duyusal test sonuçları incelendiğinde ise simbiyotik çikolatalar panelistler tarafından beğeni toplamıştır (Akgül, 2018).

Nambiar ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada sütlü çikolataya anne sütünden izole edilmiş mikroenkapsüle *Lactobacillus plantarum* HM47 suşu eklenmiş ve üretilen probiyotik çikolatada kullanılan suşun farelerin gastrointestinal sisteminde hayatta kalabilirliğini ve güvenliğini araştırmışlardır. Yapılan analiz sonuçlarına göre ürünlerin 25°C'de 180 gün depolamaya uygun olduğu bildirilmiştir. Ayrıca duyusal

analiz sonuçlarına göre çikolatalara probiyotik eklenmesi ürünlerin kabul edilebilirliğini etkilememiştir. Fareler üzerinde yapılan test sonuçlarında ise kullanılan suşun hayvanların organları üzerinde herhangi bir yan etkiye neden olmadığı ve bağırsakta laktik asit bakterilerinin miktarını arttırarak enterik patojenik bakteri sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Nambiar ve ark., 2018).

Silva ve ark., (2017) tarafından yapılan başka bir çalışmada; yarı tatlı bitter çikolatalara liyofilize *Lactobacillus acidophilus* LA3 ve *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC1 eklenmiş ve çikolataların su aktivitesi, pH, yüzey morfolojisi, sertlik, mikrobiyolojik kalite, probiyotik canlılığı ve duyuşal özellikleri tespit edilmiştir. *Lactobacillus acidophilus* LA3 ve *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC1  $10^{10}$  cfu / 100g çikolata içecek şekilde eklendikten sonra çikolatalar 120 gün  $25^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır 120 günlük depolamadan sonra canlı probiyotiklerin sayısındaki azalma her iki suş için de önemsiz bulunmuştur. Ayrıca 100 panelistin katılımıyla duyuşal test sonuçlarında probiyotik çikolataların kabul edilebilirliği panelistler tarafından yüksek bulunmuştur (Silva ve ark., 2017).

Yapılan bir başka çalışmada dondurarak kurutulmuş *L. casei* ve *L. acidophilus* bakterileri sütlü, bitter ve beyaz çikolatada kullanılmıştır (Kemsawasd ve ark., 2016). Çikolatalar  $4^{\circ}\text{C}$  ve  $25^{\circ}\text{C}$ 'de 60 gün süreyle depolanmıştır. *L. casei* 01 ve *L. acidophilus* LA5 mikroorganizmalar beyaz, sütlü ve bitter çikolatalara eklendiğinde gastrointestinal sistemde ve saklama sırasında canlılıklarını koruyabilmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda en yüksek probiyotik bakteri sayısı bitter çikolatada tespit edilmiştir. *L. casei* 01 hücrelerinin, *L. acidophilus* LA5 hücrelerinden canlılığını korumada daha iyi bir mikroorganizma olduğu belirlenmiştir. Ayrıca,  $4^{\circ}\text{C}$ 'de saklama, probiyotiklerin canlılıklarını sürdürürebilmeleri için en uygun sıcaklık olarak tespit edilmiştir. Duyusal test sonuçlarına göre çikolata çeşitlerine probiyotik eklemenin herhangi bir olumsuz etkisi olmamıştır.

Kale, (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, lor peynirinden 3 koloni *Lactobacillus* türü elde edilmiş ve bu kolonilerden birinin *Lactobacillus acidophilus*'a %100 benzer olduğu bulunmuştur. *Lactobacillus acidophilus*'a %100 benzeyen koloni; gram boyama testi, hareketlilik ve katalaz testinden sonra liyofilize edilerek sütlü çikolata formülasyonuna eklenmiştir. Yapılan bu çalışma ile probiyotik çikolata üretimi gerçekleştirilmiş ve bu sayede vücuda probiyotik mikroorganizmayı tablet formunda değil çekici bir ürün olan çikolata ile almak mümkün olmuştur.

Erdem ve ark., (2014) yaptıkları bir çalışmada bitter çikolatalara probiyotik olarak *B.indicus* HU36 ve prebiyotik olarak

da farklı seviyelerde (%1.5, 3.5, 5.5) limon lifi ve maltodekstrin eklenerek simbiyotik çikolata üretimini gerçekleştirmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda lif ilavesi ve *B.indicus* HU36 arasında hiçbir olumsuz etki gözlemlenmemiş ve *B.indicus* HU36 üretilen çikolatalarda %88-91 arasında canlılığını korumuştur. Duyusal analiz sonuçlarına göre ise çikolatalara probiyotik ve prebiyotik ilavesi ürünlerin duyuşal özelliklerinde hiçbir olumsuz etki göstermemiş hatta tatlılık, sertlik ve yapışkanlığını iyileştirmiştir (Erdem ve ark., 2014).

Bir başka probiyotik çikolata üretiminde sütlü çikolatalara süt tozu yerine %50 ve %100 yoğurt tozu ilave edilmiştir. Üretilen çikolatalarda yapılan duyuşal test sonucu örneklerin duyuşal özelliklerinde kontrol grubuna kıyasla önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Sütlü çikolataları probiyotik yapmak için yapılan bu çalışmada, örneklerde probiyotik bakteri sayısı 3,58 log kob/g tespit edilmiş ve böylece geleneksel çikolata tadında probiyotik çikolata üretimi gerçekleştirilmiştir (Chetana ve ark., 2013).

Mikroenkapsüle *Lactobacillus helveticus* CNCM I-1722 ve *Bifidobacterium longum* CNCM I-3470 probiyotik karışımı, süte, sütlü çikolatalara ve bitter çikolatalara eklenmiş, kalın ve ince bağırsaklarda probiyotiklerin hayatta kalmasını değerlendirmek amacıyla simülasyon kullanılarak incelenmiştir. Yapılan çalışmalar mikroenkapsülasyon ile probiyotik mikroorganizmaların sütlü çikolatada %91, bitter çikolatada ise %80 canlılığını koruduğunu bildirmiştir. Ayrıca kullanılan sindirim sistemi simülasyonu üretilen çikolataların bağırsak kolonlarına başarıyla ulaştığını göstermiştir (Possemiers ve ark., 2010).

Patel ve ark., 2008 tarafından yapılan çalışmada çikolatalı mousse'a probiyotik ve prebiyotik içerikler eklenmiş ve tüketici sağlığı için yararlı bir ürün elde edilmeye çalışılmıştır. Probiyotik kültür olarak *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* (P) ve prebiyotik katkı olarak da inülin ile hazırlanan, probiyotik ve simbiyotik çikolatalı mousse üretilmiştir. Üretilen çikolatalar 28 gün boyunca  $4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmış ve *L. paracasei* miktarı ve toplam canlı sayımı ve duyuşal test uygulanmıştır. Depolama boyunca yapılan analiz sonuçlarına göre, probiyotiklerin canlılığını 28 gün sonra bile devam ettirdiği ve hiçbir atık bileşen üretmediği tespit edilmiştir. Çalışma sonunda *L. paracasei* ve inülin'in çikolatada başarılı bir probiyotik ve prebiyotik katkı olduğu ortaya çıkmış ve prebiyotik katkı olarak kullanılan inülin, *L. paracasei*'nin yaşayabilirliğini engellememiştir.

### Polifenol İçeriği Arttırılmış Çikolata Üretimi

Flavan-3-ol, monomerik (-) epikateşin, (+) kateşin ve bunların oligomerik ve polimerik formları kakaoda en çok bulunan flavonoidler olan prosiyanidinlerdir (di Mattia ve ark., 2014).



Kakao ve bazı çikolata ürünleri, diğer polifenol gıda kaynaklarına kıyasla en yüksek polifenol konsantrasyonuna (flavonoidler, kateşin ve epikateşin; 3,3-60,2 mg/g gallik asit eşdeğeri) sahip ürünlerdir (Shadwell ve ark., 2013). Özellikle oligomerik proantosiyanidinler, monomerik bileşiklere kıyasla kakaonun toplam antioksidan aktivitesine önemli katkı göstermektedir (Pedan ve ark., 2017). Bu bileşikler biyolojik özelliklerinden dolayı çeşitli gıda matrislerinde aktif olarak incelenmiştir. Ayrıca kardiyovasküler hastalık, kan basıncı, trombosit fonksiyonları üzerinde olumlu etkilerinin de olduğu ortaya konmuştur (di Mattia ve ark., 2014). Tablo 3'te polifenollerce zenginleştirilmiş çikolata çeşitlerine ait bazı çalışmalar yer almaktadır.

Dimas Rahadian Aji Muhammad ve ark., (2021) tarafından yapılan bir çalışmada beyaz çikolatanın sağlığı iyileştirici özelliklerini arttırmak amacıyla tarçın (*Cinnamomum burmannii*) ekstraktları nanopartiküller halinde beyaz çikolataya eklenmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, tarçın ekstraktlarının 310 mg EE'ye kadar fenoller içerdiği ve ekstraksiyon yöntemine (geleneksel ve ultrasonik) ve kullanılan çözen tipine bağlı olarak kuru ekstraktın 260 mg TAE'ye kadar antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen tarçın ekstraktlarının kateşin, epikateşin, prosiyanidin B<sub>2</sub>, kuersetin, 3,4-dihidroksibenzaldehit, prokateşik asit ve sinamik asit içerdiği tespit edilmiştir. Böylece beyaz çikolataya tarçın ekstraktı ilavesiyle bu fenoller beyaz çikolatada da tespit edilmiştir. Beyaz çikolataya tarçın ekstraktı ilavesiyle beyaz çikolatanın fenolik içeriği 47.6'dan 1060.6 µg EE/g'ye yükselmiştir.

Sürülebilir çikolatada yapılan bir çalışmada ise farklı miktarlarda keçiyoynuzu tozu, kakao tozu, tereyağı ve zeytinyağı karıştırılmış ve çikolatada meydana gelen fiziksel, kimyasal ve tekstürel değişiklikler incelenmiştir. Çikolata örnekleri toplam fenolik madde içeriği bakımından incelendiğinde en yüksek miktar palm yağı ve %100 keçiyoynuzu tozu içeren örneklerde tespit edilmiştir. Ayrıca tekstürel analiz sonuçlarına göre en iyi sürülebilir çikolata örneklerinin %50 keçiyoynuzu tozu ve %100 tereyağı ikamesine sahip olan örnek olduğu tespit edilmiştir. Duyusal değerlendirme neticesinde ise kontrol grubuna en yakın %50 keçiyoynuzu tozu ve palm yağı içeren çikolata tercih edilmiştir (Shiehzhadeh, 2019).

Yapılan bir başka çalışmaya göre; enkapsüle böğürtlen suyu beyaz çikolataya %6, %8 ve %10 oranlarında eklenmiştir. Sonuçlara göre eklenen enkapsüle böğürtlen suyu çikolatanın tatlılığını azaltıp, hoş bir meyve aroması katmıştır. Ayrıca örneklerin polifenol içeriklerini de 1.8-3.8 kat arttırmıştır (Lončarević ve ark., 2018).

Martini ve ark., 2018; Sakura yeşil çay yaprakları ve zerdeçal tozunu bitter çikolataya ilave etmişlerdir. Bitter çikolata polifenoller açısından zengin olup, Sakura yeşil çay yaprakları ve zerdeçal tozu ilavesiyle polifenol miktarı daha da artmıştır. Ayrıca bitter çikolatada 158 farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan 67'si yeni üretilen Sakura yeşil çay yaprakları ve zerdeçal tozu katkılı çikolatada tespit edilirken, 38'i bitter çikolata ve kakao çekirdeklerinde tespit edilmiştir.

Beyaz çikolatada kakao tozu bulunmadığından toplam polifenol miktarı ve antioksidan aktivitesi oldukça düşüktür. Cerit ve ark. (2016), beyaz çikolatanın polifenol miktarını arttırmak amacıyla ıspanak, kızılıcık ve polen tozu katkılı beyaz çikolata üretmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre, fenolik bileşik miktarı ve antioksidan kapasitesi en yüksek olan çeşidin polen tozu katkılı çikolata olduğu belirtilmiştir.

Özgen, 2010 yaptığı çalışmada; doğal antioksidan kaynağı olarak biberiye tozu ve üzüm çekirdeğini sütlü çikolataya %0.1, %0.5 ve %0.8 oranlarında eklemiştir. Çikolatalara eklenen biberiye tozu ve üzüm çekirdeği miktarı arttıkça ürünlerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan madde miktarının arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca çikolataların reolojik özelliklerinde bir değişim olmamıştır. Yapılan bu çalışmayla birlikte kristalleşmeyi ve reolojik özellikleri etkilemeyen, uzun raf ömürlü, yüksek toplam fenolik madde içerikli ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip yeni bir ürün elde edilmiştir.

### **Kalorisi Azaltılmış/Diyet Çikolata**

Beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerle ortaya çıkan obezite ile mücadelede kullanılan temel yaklaşımlardan biri "kalori kısıtlaması" dır. Bu amaçla son yıllarda gıda maddelerinde şeker ve doymuş yağ seviyelerinin düşürülmesine yönelik çalışmalar artmıştır. Özellikle şeker alkollerini kullanılarak sakkaroz ikamesinden kaçınılmaya çalışılmaktadır. Çikolata örneklerinde sakkaroz ikamesi için kullanılan başlıca şeker alkollerini maltitol, izomalt, laktitol, manitol, sorbitol ve ksilitoldür (Konar ve ark., 2018). Çikolata, yüksek miktarda doymuş yağ içeriği (ağırlıkça yaklaşık% 30-40) nedeniyle kalori bakımından da zengindir (yaklaşık 500 kcal/100 g). Günümüzde mevcut bazı markalar, yağ miktarı değişmeden kaldığı ve hatta arttığı için kalori içeriği hala yüksek olan şekeri azaltılmış çikolataları piyasaya sürmektedir. Bu bağlamda arzu edilen tada ve dokuya sahip az yağlı çikolatanın geliştirilmesi, düşük kalorili bir ürün sunarak şekerleme pazarındaki mevcut boşluğu doldurabilir. Bazı çalışmalar, kakao yağını ikame maddelerle değiştirerek düşük kalorili bir çikolatanın üretilmesini önermiştir (Abdul Halim ve ark., 2019; Bascuas ve ark., 2021; Fayaz ve ark., 2017; Li ve ark., 2021; Parlatır, 2019). Kalorisi azaltılmış çikolata üretimi üzerine yapılan örnek çalışmalar Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Toplam polifenol miktarı arttırılmış çikolata çalışmaları**Table 3.** Chocolate studies with increased total polyphenol content

Çikolata Tipi	Çalışma Adı	Kullanılan Maddeler	Kaynak
Beyaz Çikolata	<i>Cinnamomum burmanni</i> Blume ekstralarının fitokimyasal bileşimi, antioksidan aktivitesi ve beyaz çikolatadaki potansiyel uygulamaları	<i>Cinnamomum burmanni</i> Blume ekstraları	(Dimas Rahadian Aji Muhammad ve ark., 2021)
Sütlü Çikolata	Keçiboynuzu tozu, tereyağı ve zeytinyağının sürülebilir çikolatanın fiziksel, kimyasal ve reolojik özelliklerine etkisi	Keçiboynuzu tozu, tereyağı, zeytinyağı	(Shieh-zadeh, 2019)
Beyaz Çikolata	Beyaz çikolatanın enkapsüle böğürtlen suyu ile zenginleştirilmesi: Fiziksel özellikler, duyuşal özellikler ve polifenol içeriğı üzerindeki etki	Sprey kurutma yöntemi ile maltodekstrinlerde enkapsüle böğürtlen suyu	(Lončarević ve ark., 2018)
Bitter Çikolata	Bitter çikolatada fenolik profilin kapsamlı değerlendirmesi ve Sakura yeşil çay yaprakları veya zerdeçal tozu ile zenginleştirilmiş bitter çikolata	Sakura yeşil çay yaprakları, zerdeçal tozu	(Martini ve ark., 2018)
Beyaz Çikolata	Beyaz çikolataların fonksiyonel özelliklerinin kızılıık, ısıpanak ve polen tozları ile zenginleştirilmesi	Kızılıık, İspanak, Polen Tozları	(Cerit ve ark., 2016)
Sütlü Çikolata	Biberiye ( <i>Rosmarinus Officinalis</i> ) ve üzüm çekirdeğinin ( <i>Vitis Vinifera</i> ) çikolatanın kristalleşmesi, reolojik özellikleri, raf ömrü ve antioksidan aktiviteleri üzerine etkileri	Biberiye ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) Üzüm çekirdeğı ( <i>Vitis Vinifera</i> )	(Özgen, 2010)

**Tablo 4.** Kalorisi azaltılmış çikolata üretimine ilişkin bazı çalışmaları**Table 4.** Some studies on the production of reduced-calorie chocolate

Şeker Bazlı ya da Yağ Bazlı Kalori Azaltma	Çalışma Adı	Kaynak
Yağ Bazlı	Yağ ikamesi olarak hidrokolloid bazlı oleojeller ile sürülebilir çikolatanın yapısal ve duyuşal çalışmaları	(Bascuas ve ark., 2021)
Yağ Bazlı	Farklı jelleşme mekanizmalarına dayanan oleojeller ile hazırlanan düşük doygunkluktaki çikolatanın fiziksel ve çiçeklenme stabilitesi	(Li ve ark., 2021)
Yağ Bazlı	Hindistan cevizi yağından kakao yağı ikamesi içeren çikolatanın duyuşal tercihi ve çiçeklenme stabilitesi	(Abdul Halim ve ark., 2019)
Şeker Bazlı	Bilyalı değirmende üretilen sakkarozsuz sütlü çikolatadaki poliollerin kalite özellikleri üzerindeki etkileri	(Rad ve ark., 2019)
Yağ Bazlı	Kakao yağı içinde su emülsiyonları kullanılarak yağ azaltılmış çikolatanın geliştirilmesi	(Prosapio & Norton, 2019)
Yağ Bazlı	Çikolata üretiminde kakao yerine keçiboynuzu ununun kullanılması	(Parlatır, 2019)
Yağ Bazlı	Fonksiyonel çikolatada palm yağının kısmi ikameleri olarak monogliserid, balmumu ve propolis mumu bazlı nar çekirdeğı yağı oleojellerinin potansiyel uygulaması	(Fayaz ve ark., 2017)
Sütlü Çikolata	Belirli oranlarda yulaf ezmesi ve yaban mersini ilavesi ile üretilen sütlü çikolatanın bazı özelliklerinin belirlenmesi	(Üzümcü, 2017)
Şeker Bazlı	Farklı dolgu maddesi tatlandırılmış sakkarozsuz sütlü çikolata: fizikokimyasal ve duyuşal özellikler üzerindeki etkileri	(Pirouzian ve ark., 2016)
Şeker Bazlı	Şekersiz çikolata üretimi sırasında sukroz ikame maddeleri olarak inülin ve polidekstroz karışımlarının optimizasyonu - Reolojik, mikro yapı ve fiziksel kalite özellikleri	(Aidoo ve ark., 2014)
Şeker Bazlı	Stevia ve thaumatin özleri ile tatlandırılmış inülin / polidekstroz şişirme karışımları kullanılarak işlenen şekersiz çikolataların reolojik özellikleri, erime davranışları ve fiziksel kalite özellikleri	(Aidoo ve ark., 2015)

Bascuas ve ark., (2021) tarafından yapılan bir çalışmada sürülebilir çikolatada yağ ikamesi olarak zeytinyağı ve ayçiçek yağı, hidroksipropilmetilselüloz (HPMS) ve ksantan gam (XG) içeren oleojeller kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda %50 oranında hindistan cevizi yağı yerine kullanılan oleojellerle üretilen ürünlerin duyuşal olarak kontrol grubuna “kremsi doku”, “kremsi görünüm” ve “kakao aroması” bakımından benzer sonuçlar gösterdiği ayrıca sürülebilirlik testlerinde de kontrol grubuyla benzer sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile sürülebilir çikolatalarda oleojel kullanımı ile çikolata ürünlerinde doymuş yağın yerini alan sağlıklı fonksiyonel ürünler geliştirilebileceği ortaya koyulmuştur.

Oleojeller ile yapılan bir başka çalışmada ise düşük doymuş yağ içeriğine sahip çikolatalar üretilmiştir. Bunun için farklı jelleşme yoluyla üretilen (kristal parçacıklar, kendi kendine birleşen lifler ve polimerik iplikler) 3 oleojel (monogliserik stearat,  $\beta$  sitosterol+lesitin ve etil selüloz oleojel) %50 oranında kakao yağı ikamesi olarak kullanılmıştır. Oleojel bazlı çikolatalar izotermal (4 ve 20°C) ve dalgalı (20°C 17 saat ve 29°C 7 saat) saklama koşulları altında 60 gün boyunca depolanmıştır. Depolama esnasında ürünlerin fiziksel özellikleri, mikroyapıları, beyazlık indeksi, sertlik, termal davranış ve kristal polimorfları incelenmiştir. Yapılan analizler neticesinde oleojel bazlı çikolataların özellikle dalgalanan sıcaklıklarda çiçeklenmesinin geciktiği tespit edilmiştir. Polarize ışık mikroskopu ile gözlemlenen yağ fazının kristal morfolojisinde, oleojel bazlı çikolatalarda stabil  $\beta$  kristallerinin varlığı doğrulanmıştır. Tüm bu veriler ışığında oleojel bazlı çikolatalar hem ürünün doymuş yağ miktarını azaltmış hem de izotermal ve dalgalı depolama sırasında yüksek fiziksel özellik ve çiçeklenme stabilitesi sergileyerek daha dayanıklı ürün eldeğini mümkün kılmıştır (Li ve ark., 2021).

Bilindiği üzere kakao yağı ikamesi (CBS) ana kaynağı hindistan cevizi yağıdır. Kakao yağı ikamesi çikolataların tadını, görünümünü iyileştirip, çiçeklenmeyi önleyerek çikolatanın stabilitesini arttırmaktadır. Abdul Halim ve ark., (2019) tarafından yapılan bir çalışmada farklı oranlarda (%0, 1.5, 3 ve 4.5) hindistan cevizi yağı ikamesinin çikolatanın fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri ile çiçeklenme stabilitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Analiz sonuçlarına göre, ürünlerin TAG bileşimi değişim göstermiştir. Duyusal analiz sonuçlarına bakıldığında ise üretilen çikolataların katılımcılar tarafından kabul gördüğü, en çok beğenilen ürünün %4.5 oranında hindistan cevizi yağı ikameli çikolata olduğu ve kontrol grubuna yakın puan alarak önemli bir fark oluşmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca hindistan cevizi yağı ikamesi ile üretilen çikolataların çiçeklenme stabilitesinin içerisine katılan hindistan cevizi yağı miktarına bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir.

Geleneksel yöntemlerle sakkarozsuz çikolata üretimi çok fazla zaman ve enerji gerektirmektedir. Son zamanlarda çikolata üretimi için alternatif yöntemler araştırılmakta ve uygulanmaktadır. Rad ve ark., (2019) tarafından yapılan bir çalışmada izomaltol, ksilitol ve maltitol ile yüksek yoğunluklu tatlandırıcı (Stevia) içeren sakkarozsuz sütlü çikolatalar bilyalı değirmen kullanılarak üretilmiştir. Üretilen çikolataların genel kalite özellikleri ve duyuşal testleri yapılmıştır. Yapılan duyuşal analiz sonucuna göre ksilitol ile üretilen çikolataların genel kabul edilebilirliği yüksek çıkmıştır. Sakkaroz içermeyen çikolatalar ise daha yüksek derecede partikül aglomerasyonu göstermiştir. Yapılan çalışma ile ksilitol, izomaltol, maltitol, Stevia gibi tatlandırıcılar ile bilyalı değirmen tekniği kullanımı düşük kalorili sütlü çikolata üretimini mümkün kılmıştır.

Prosapio & Norton, (2019);çikolatanın yağını azaltmak amacıyla yağda su emülsiyonu yaparak suyun damlacık boyutu, serbest suyun termal özelliklerini ve işlem parametrelerini optimize etmişlerdir. Daha sonrasında kakao tozu, süt tozu ve şeker eklenerek karıştırma sıcaklığı hızının ürün üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Yeni üretilen çikolatanın kontrol grubuna göre benzer özellikler gösterdiği ve %40'a kadar yağ azaltılmış çikolata üretiminin mümkün olduğu ve kabul edilebilir olduğu rapor edilmiştir.

Başka bir çalışmada keçiyoynuzu tozu kakao ikamesi olarak kullanılmıştır. Farklı oranlarda (% 0-4,5) keçiyoynuzu tozu eklenmiş çikolata numuneleri 22°C, 35°C ve 60°C sıcaklıklarda 12 hafta boyunca depolanmıştır. Üretilen örneklerin fiziksel, kimyasal, tekstürel ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Ürünlere katılan keçiyoynuzu tozu miktarı arttıkça ürünlerdeki toplam yağ miktarının azaldığı öte yandan kontrol grubu ile protein ve nem içeriği açısından önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan araştırma sonuçlarına göre diyet lifi bakımından zengin olan keçiyoynuzu tozunun çikolata formülasyonunda %3'e kadar kullanılabileceği tespit edilmiştir. Bu sayede mineral içerikli, polifenoller ve diyet lif bakımından zengin yeni bir ürün geliştirilmiştir (Parlatır, 2019).

Çikolatada bulunan yağ miktarını azaltmak amacıyla yapılan bir çalışmada nar çekirdeği yağı oleojelinin çikolatada yağ ikamesi olarak kullanımı araştırılmıştır. Yapılan çalışmada nar yağına 5g/100g konsantrasyonunda monogliserid (MG), balmumu (BW) ve propolis mumu (PW) eklenmiştir. Üretilen oleojeller daha sonrasında palm yağı ile 1:1 oranında birleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre palm yağı ile karıştırılan oleojeller arasında mekanik özellikler açısından PW<BW<PW şeklinde bir sıralama belirlenmiştir. Oleojel kullanımı ürünlerde doymuş yağ asidi miktarını azaltmış olup yeni üretilen çikolataların daha sağlıklı olduğu rapor edilmiştir. Yapılan çalışma ile birlikte çikolata üretiminde oleojel kullanımının ürünlerin yapısını bozmadan yağ azaltılmış bir

ürün eldesine izin verdiği ve yeni fonksiyonel ürün geliştirme açısından olumlu sonuçlar sergilediği ortaya konmuştur (Fayaz ve ark., 2017).

Üzümücü, 2017 ise sütlü çikolataya farklı oranlarda (%0,10,20,30,40,50) yaban mersini ve yulaf karışımı ekleyerek sağlıklı, düşük kalorili ve fonksiyonel bir ürün denemesi gerçekleştirmiş ve ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerini belirlemiştir. Duyusal test sonuçlarına göre yaban mersini ve yulaf karışımı miktarı arttıkça tüketiciler tarafından tercih edilebilirliğin azaldığı ve en çok %20-%30 katkı çikolatanın kabul edilebilir olduğu tespit edilmiştir. Ekleme miktarı arttıkça örneklerin karbonhidrat miktarı artmış, protein, yağ, enerji ve kül miktarları azalmıştır.

Şekersiz çikolata üretmek amacıyla Pirouzian ve ark., (2016) şeker alkolleri (maltitol ve ksilitol) kullanılarak sakkarozsuz tatlı çikolata üretmeye çalışmışlardır. Yeni üretilen ürünlerin nem içeriği, parçacık boyutu ve sertlik gibi fiziksel özellikleri, reolojik özellikleri ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır., yüksek oranda maltitol içeren çikolata örneklerinde geleneksel olarak üretilen çikolatalara göre nem içeriği, ortalama parçacık boyutu ve duyuşal özellikler açısından önemli bir fark tespit edilememiştir. Duyusal test sonuçları incelendiğinde ise sakkaroz içermeyen çikolatalar panelistler tarafından kabul görmüştür. Yapılan bu çalışma ile maltitolün çikolata formülasyonunda uygun bir sakkaroz ikamesi olarak kullanılabilirliği ortaya konulmuş ve sakkaroz içermeyen diyabetik, düşük kalorili sütlü çikolata üretimi gerçekleştirilmiştir.

Aidoo ve ark., (2014) tarafından yapılan çalışmada şekersiz çikolata üretimi denenmiştir. Yapılan çalışmada sakkaroz yerine inülin ve polidekstroz kullanılmış ve ürünlerin reolojik özellikleri, mikro yapıları ve fiziksel özellikleri belirlenmiştir. Yapılan reolojik analiz sonuçlarına göre azalan polidekstroz ve aynı zamanda artan inülin konsantrasyonları, Casson plastik viskozitesinde tutarlı artışlara neden olmuş, bu da Casson verim stresinde düşümlere yol açmıştır. % 100 polidekstroz ile formüle edilen çikolatalar, % 100 inülin ile formüle edilmiş çikolatalara kıyasla minimum partikül boşluklarına sahip büyük kristallere sahip olmuşlardır. Ayrıca yapılan tüm analiz sonuçları incelendiğinde % 75.36 polidekstroz ve % 24.64 inülinden oluşan çikolata formülasyonu, reolojik ve fiziksel kalite özellikleri açısından kabul edilebilirliği en yüksek optimum konsantrasyonlar olarak tespit edilmiştir.

Aidoo ve ark., (2015) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise; şekersiz çikolata üretiminde sakkaroz yerine Stevia ve Thaumatin özütleri kullanılmış ve hacim arttırıcı prebiyotik özellik kazandırmak amacıyla inülin ve polidekstroz karışımları da eklenmiştir. Üretilen çikolataların reolojik özellikleri,

erime karakteristikleri ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Genel olarak şekersiz çikolatalar kontrol grubuna göre benzer reolojik özellikler ve erime özellikleri göstermiştir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında inülin ve polidekstroz karışımları stevia veya thaumatin özütleri ile tatlandırıldığında tatmin edici fizikokimyasal özelliklere sahip şekersiz çikolata üretilebileceği bildirilmiştir.

### *Diyet Lifçe Zenginleştirilmiş Çikolata*

Diyet lif, ince bağırsakta kısmen sindirilen ve kalın bağırsakta tamamen sindirilip emilen, fermantasyona dirençli, bitkilerin veya karbonhidrat benzeri maddelerin tüketilebilir kısımlarıdır (Delzenne ve ark., 2020). Diyet lif; selüloz, hemiselüloz, lignin, gum ve pektik maddeler gibi karbonhidratlardan oluşmaktadır (Ekici & Ercoşkun, 2007; Levent, 2005). Son yıllarda FAO ve WHO tarafından birçok alt gruba ayrılan diyet lifleri, çözünür diyet lifleri (pektin, gum ve müsilaşlar) ve çözünmeyen diyet lifleri (selüloz, hemiselüloz, modifiye selüloz ve lignin) olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır (Ekici & Ercoşkun, 2007). Çözünmeyen diyet lifleri kalın bağırsakta dışkı hacmini artırma, dışkı geçişini azaltma, glikoz emilimini geciktirme gibi özelliklere sahip iken çözünür diyet lifi, kandaki kolesterol seviyelerini düşürmek, kalp sağlığını olumlu yönde etkilemek, mide boşalmasını geciktirmek gibi özelliklere sahiptir (Çelik, 2018; Delzenne ve ark., 2020; Guillon ve ark., 2000). Diyet lifleri gıda endüstrisinde gıdanın fonksiyonel, ekonomik ve teknolojik özelliklerinin yanı sıra beslenme özelliklerini iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle yapı oluşturu ve yağ ikamesi olarak, unlu mamullerde ise ürünün kalori miktarını düşürmek amacıyla kullanılmaktadır. Diyet lifleri prebiyotik olarak da kabul edilmektedir. Prebiyotikler, probiyotikler gibi uygun bağırsak bakterilerinin büyümesini destekleyen kolonik gıdalardır (Erdem ve ark., 2014; Sanders, 1998). Fruktooligosakkaritler (FOS), inülin, izo-malto-oligosakkaritler (IMO), polidekstroz, laktuloz ve dirençli nişasta, ana prebiyotik bileşenler olarak bilinmektedir (Angus ve ark., 2005; Siró ve ark., 2008). İnülin gibi fruktanlar prebiyotik özellikler gösterirler ve sindirim sisteminin üst kısımlarında bulunan sindirim enzimlerinden etkilenmezler, bifidobakteriler için besin görevi görürler ve seçici olarak büyümelerini uyarıp, patojen mikroorganizmaları da azaltırlar. Prebiyotikler bağırsaklarda fermantasyona uğrar ve kalsiyum gibi minerallerin emilimi için gereklidirler (Akgül, 2018). Tablo 5'te diyet lif katkı çikolata üretimi üzerine yapılan bazı çalışmalar yer almaktadır.

**Tablo 5.** Diyet lif içeriğini arttırmak ve/veya fonksiyonellik kazandıran çalışmalar**Table 5.** Studies that increase dietary fiber content and/or provide functionality

Çalışma Tipi	Çalışma Adı	Kullanılan Maddeler	Kaynak
Diyet Lif İçeriğini Arttırmak – Sütü ve Bitter Çikolata	Süt ve bitter çikolata formülasyonunda kakao ikamesi olarak keçiyoynuzu tozu	Keçiyoynuzu tozu	(Akdeniz ve ark., 2021)
Fonksiyonellik – Sütü Çikolata	Fonksiyonel içerikle formüle edilmiş çikolatanın tüketici tarafından kabulü	Maş Fasülyesi, çemen otu tohumu, moringa yaprağı	(D R A Muhammad ve ark., 2021)
Yeni Formülasyon-Beyaz Çikolata	Soya unu, susam ezmesi ve emülgatör karışımına dayalı beyaz çikolata için yeni formülasyon sağlama: Yanıt yüzey metodu kullanan bir optimizasyon çalışması	Soya unu, susam ezmesi	(Hosseini ve ark., 2021)
Lif İlavesi – Bitter Çikolata	Kurutulmuş bergamot kabuğu tozunun bitter çikolatanın yapısal özelliklerine etkisi	Bergamot kabuğu tozu	(Sarıgül, 2019)
Omega-3 Zenginleştirilmesi – Beyaz Çikolata	Farklı EPA ve DHA formlarını birleştirerek işlevsel beyaz çikolata geliştirmek - Ürün kalitesine etkileri	EPA DHA	(Toker ve ark., 2018)
Sütü Çikolata, Beyaz Çikolata ve Bitter Çikolata	$\beta$ -glukan ilavesi ile fonksiyonel çikolata çeşitlerinin (sütü, bitter, beyaz ve sürülebilir kakaolu fındık kreması) geliştirilmesi	$\beta$ -Glukan	(Özat, 2018)
Antioksidan İlavesi ve Kalori Azaltma	Bitter çikolatanın, kitosan kaplı lipozomlarda kapsüllenmiş püskürtülerek kurutulmuş karadut ( <i>Morus nigra</i> ) atık özütü ile kuvvetlendirilmesi ve biyo-erişilebilirlik çalışmaları	Karadut Ekstraktı	(Gültekin-Özgülven ve ark., 2016)
Yağ Bazlı Kalori Azaltma ve Lif İlavesi	Sakkaroz içermeyen çikolatalarda yağın kısmen lifle değiştirilmesi için uygulanan karışım tasarımı	Inülin, $\beta$ -glukan	(Rezende et al., 2015)
Sütü Çikolata	Farklı miktarlarda prebiyotik içerikler içeren çikolataların bazı yapısal özelliklerinin tespiti	Inülin Polidekstroz	(Özhan, 2012)

Akdeniz ve ark., (2021), sütü ve bitter çikolata üretiminde kakao tozu yerine keçiyoynuzu tozu kullanmışlardır. Bu amaçla çikolata formülasyonlarının içine kakao tozu ikamesi yerine % 20-100 aralığında keçiyoynuzu tozu eklenmiş ve üretilen yeni ürünlerin fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri tespit edilmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre düşük oranlarda eklenen keçiyoynuzu tozu katkılı çikolata örneklerinin renk parametreleri, ortalama parçacık boyutu ve sertlik özellikleri kontrol grubuna göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Duyusal test sonuçları incelendiğinde ise % 40 oranında keçiyoynuzu tozu içeren sütü çikolata örnekleri kontrol grubuyla benzerlik göstermiştir. Bitter çikolata örnekleri ise tüm oranlarda kontrol grubuyla benzerlik göstermiştir. Yapılan bu çalışma ile kakao tozu yerine keçiyoynuzu tozu kullanılarak daha az kaloriye sahip ve daha yüksek lif içeriğine sahip yeni bir ürün geliştirilmiştir.

Yerel tarım ürünlerine katma değer kazandırmak ve sürdürülebilirliği arttırmak amacıyla Muhammad ve ark., (2021), çikolata formülasyonuna maş fasülyesi, çemen otu tohumu ve

moringa yaprağını ayrı ayrı % 5, % 10 ve % 15 oranında ilave etmişlerdir. Üretilen çikolatalar 60 panelistin katılımıyla duyuşal teste tabii tutulmuştur. Yapılan duyuşal test sonucunda çikolataya maş fasülyesi, çemen otu tohumu ve moringa yaprağının eklenmesi panelistler tarafından tüm parametrelerde kabulü önemli ölçüde azaltmıştır. Kontrol grubu örneği en çok beğenilen grup olmuştur onu moringa yaprağı katkılı ürünün izlediği ve en az beğenilen ürünün ise çemen otu tohumu katkılı ürün olduğu tespit edilmiştir.

Hosseini ve ark., (2021) çikolatadaki düşük protein sorununu çözmek için soya unu katkılı çikolata üretmişlerdir. Ayrıca susam ezmesi ile zenginleştirerek beyaz çikolataya besleyicilik katıp fonksiyonel yeni bir ürün geliştirmişlerdir. Bu amaçla susam ezmesi (% 15-30 w/w), soya unu (% 0-15 w/w) ve süt tozu (% 0-15 w/w) D-optimal dizaynla hesaplanarak farklı oranlarda karıştırılmıştır. Değişen miktarlarda susam ezmesi, soya unu, süt tozu ve emülgatör içeren beyaz çikolatanın tekstürel özellikleri ve termal özellikleri araştırılmıştır. Yapılan analizlerle optimum karışım oranının susam ezmesi,

süt tozu, soya unu ve emülgatör oranlarının sırasıyla % 15.5, % 7.5, % 7 ve % 0 olduğu tespit edilmiştir.

Bitter çikolatalara % 0.75, % 1 ve % 1.25 oranlarında eklenen bergamot kabuğu tozu, çikolatanın yağ içeriğini, erime noktasını ve tadını önemli ölçüde etkilemiştir. Yapısındaki lif nedeniyle bergamot kabuğu tozu miktarı arttıkça kakao kitlesinin azaldığı tespit edilmiştir. Duyusal test sonuçlarına bakıldığında ise panelistler bergamot tadının her örnekte baskın olarak hissedildiğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada düşük oranlarda bergamot kabuğu tozu kullanılması, çikolatanın erime noktasını ve yağ içeriğini etkilememiş hatta aynı zamanda aromasını güçlendirip çikolatanın sertliğini arttırmıştır (Sarigül, 2019).

Beyaz çikolata kakao içermediği için çok az işlevselliğe sahiptir. Toker ve ark., (2018) tarafından yapılan bir çalışmada; beyaz çikolatanın işlevselliğinin artırılması amacıyla eicosa-pentaenoik asit (EPA) ve docosaheksaenoik asit (DHA) olarak omega yağ asitlerince (kapsüllenmiş form, mikroalg içeren form) zenginleştirilmiştir. Kaynakların ana EPA / DHA yüzdesi, toplam yağ asidi içeriğinde sırasıyla 5.80 - 38.7 g/100g ve 8.50 - 70.5 g/100g arasında değişiklik göstermiştir. Çikolata örneklerinin EPA/DHA içerikleri sırasıyla 226.8 mg/25g ve 54.3 mg/25g çikolata olarak tespit edilmiştir. Zenginleştirme sonrasında çikolata örneklerinin tam erime özelliklerini kazanması için gerekli olan su aktivitesi, sertlik, akma gerilimi, viskozite, eğilim (tend) ve enerjileri önemli ölçüde ( $p < 0.05$ ) etkilenmiştir. Bu etkiler tolere edilebilir olsa da olumsuz duyusal özellikler enkapsülasyon ile bastırılmıştır. Bu sayede istenilen özellikte ve kalitede duyusal olarak kabul edilebilir özellikte çikolata üretimi gerçekleştirilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada ise yulaf, arpa ve ekmekek mayası olmak üzere 3 farklı kaynaktan elde edilen  $\beta$ -glukan % 5, % 10, % 15 konsantrasyonlarında sütlü, beyaz ve sürülebilir fin-dıklı çikolatalara şeker ikamesi olarak eklenmiştir. Lezzet açısından %5 oranında eklenen  $\beta$ -glukanın kontrol gruplarına yaklaştığı ve miktar arttıkça kabul edilebilirliğin azaldığı belirlenmiştir. Sürülebilir kakao ve fındık kreması örneklerinde en iyi duyusal özellikler, ekmekek mayasından elde edilen  $\beta$ -glukan konsantrasyonu içeren örneklerde sağlanmıştır.  $\beta$ -glukan çikolataların sertliğini azaltmıştır. Sürülebilir çikolatada ise sertliği ve yapışkanlığı arttırmıştır (Özat, 2018).

Karadut, flavanoidler ve antosiyaninler açısından zengin bir gıdadır ancak gıda işleme, depolama ya da gastrointestinal sistemde bu bileşenlerin sağlık için yararları azalabilmektedir. Lipozom teknolojisi ile etkin maddeler hücre yapısına benzeyen küreciklere yerleştirilmekte ve suda veya yağda çözünen biyoaktif taşıyıcı sistemler elde edilebilmektedir. Yapılan bir çalışmayla karadut özütü içeren kitosanla kaplı lipo-

zom tozları bitter çikolatalara eklenmiştir. Kitosan kaplı lipozomal tozlar, kurutulmuş özütle karşılaştırıldığında antosiyaninleri daha iyi koruduğu saptanmıştır. Yapılan bu çalışma ile karadut ekstraktı kitosan içerisinde lipozomlarla enkapsüle edilip bitter çikolatalara eklenerek biyoyararlanımı ve antosiyaninlerin biyolojik olarak erişebilirliği artmıştır (Gültekin-Özgüven ve ark., 2016).

Rezende ve ark., (2015) yaptıkları bir çalışmada, şeker içermeyen çikolatalarda kalori azaltımı için kakao yağı yerine inülin ve  $\beta$ -glukan kullanmışlardır. 50 g/100g inülin ve  $\beta$ -glukan konsantrasyonu kullanımı kaloriyi % 17-26'ya kadar azaltmıştır. 25g/100g kakao yağı ağırlığına eşdeğer inülin kullanımı şekerli çikolatanın duyusal özellikleriyle benzer sonuçlar vermiştir. 10g/100g  $\beta$ -glukan kullanımı ise ürünün reolojik ve duyusal özelliklerinde inülinli örneklerle göre daha olumsuz sonuçlar vermiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada ise çikolatalara farklı partikül büyüklüklerine sahip (0.20, 0.25 ve 0.28  $\mu$ m) farklı oranlarda (% 0, 6, 9, 12) prebiyotik bileşikler (inülin ve polidekstroz) eklenmiş ve ürünlere farklı konçlama süreleri (3.5, 4, 4.5 saat) uygulanmıştır. Daha sonra üretilen çikolataların fiziksel, kimyasal ve duyusal özellikleri belirlenmiştir. Yapılan duyusal değerlendirme sonuçları incelendiğinde en beğenilen örneğin 20  $\mu$ m partikül büyüklüğündeki 4.5 saat konçlama işlemine tabi tutulan çikolatanın olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışma ile prebiyotik özellikte olan inülin ve polidekstroz bileşenleri kullanılarak ürün üzerinde istenmeyen tekstürel ve fizyolojik etkilere neden olmayan, tüketiciler tarafından kabul gören düşük kalorili çikolata üretimi gerçekleştirilmiştir (Özhan, 2012).

## Sonuç

Çikolata ve türevleri tüm dünyada sıklıkla tüketilen gıda maddeleridir. Yaygın olarak tüketilen bir ürüne fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla yıllardır birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalar ile fonksiyonel özellikte çikolata üretimleri insan sağlığına katkı sağlayacak yeni formülasyonlarla denenmiştir. Çalışmaların ana konuları, çikolatalara prebiyotik özellikler katmak, antioksidan maddeler eklemek, kalori oranını düşürmek ve lif içeriğini artırarak prebiyotik özellikler kazandırmaktır. Fonksiyonelleştirme çalışmalarında kullanılan yöntemler ve ajanlar geniş bir yelpazeye sahiptir. Fonksiyonelleştirme çalışmalarında çikolatanın duyusal (tat, aroma, renk gibi) ve reolojik özelliklerinin (sertlik, viskozite gibi) kabul edilebilir olması beklenmektedir. Bu çalışmalar ile çikolatanın hem talebini hem de işlevselliğini arttırmak mümkündür. Bu bağlamda, farklı yağ ve şeker ikamesi, uzun süre depolamaya elverişli prebiyotik katkı çikolata üretimi ve biyoyararlanımları üzerine daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

**Etik Standart ile Uyumluluk**

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Etik izin:** Araştırma niteliği bakımından etik izne tabii değildir.

**Finansal destek:** -

**Teşekkür:** -

**Açıklama:** -

**Kaynaklar**

**Abdul Halim, H. S. adiah, Selamat, J., Mirhosseini, S. H., Hussain, N. (2019).** Sensory preference and bloom stability of chocolate containing cocoa butter substitute from coconut oil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(4), 443–448.

<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.02.005>

**Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M. (2007).** Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate - a review. *Trends in Food Science and Technology*, 18(6), 290–298.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.02.002>

**Aidoo, R.P., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2014).** Optimization of inulin and polydextrose mixtures as sucrose replacers during sugar-free chocolate manufacture - Rheological, microstructure and physical quality characteristics. *Journal of Food Engineering*, 126, 35–42.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.036>

**Aidoo, R.P., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2015).** Rheological properties, melting behaviours and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processed using inulin/polydextrose bulking mixtures sweetened with stevia and thaumatin extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 592–597.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.043>

**Akdeniz, E., Yakışık, E., Rasouli Pirouzian, H., Akın, S., Turan, B., Tipigil, E., Toker, O.S., Ozcan, O. (2021).** Carob powder as cocoa substitute in milk and dark compound chocolate formulation. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 4558-4566.

<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04943-z>

**Akgül, A. (2018).** Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 ve İnülin İçeren Sinbiyotik Sütü Çikolataların Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

**Albak, F. (2015).** Variation of flavor quality of chocolate with conching conditions and composition of raw materials. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.

**Al-Khalaifah, H.S. (2018).** Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry. *Poultry Science*, 97(11), 3807-3815.

<https://doi.org/10.3382/ps/pey160>

**Angus, F., Smart, S., Shortt, C. (2005).** Prebiotic Ingredients with Emphasis on Galacto-oligosaccharides and Fructo-oligosaccharides. In A. Tamime (Ed.), *Probiotic Dairy Products* (pp. 120–137). Blackwell Publishing Ltd. ISBN: 978-1-4051-2124-8

**Bascuas, S., Espert, M., Llorca, E., Quiles, A., Salvador, A., Hernando, I. (2021).** Structural and sensory studies on chocolate spreads with hydrocolloid-based oleogels as a fat alternative. *LWT - Food Science and Technology*, 135, 110228.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110228>

**Batista, N.N., de Andrade, D.P., Ramos, C.L., Dias, D.R., Schwan, R.F. (2016).** Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, 90, 313-319.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.028>

**Çelik, K. (2018).** Üzüm posası katkılı muffinlerin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.

**Cerit, İ., Şenkaya, S., Tulukoğlu, B., Kurtuluş, M., Seçilmişoğlu, Ü.R., Demirkol, O. (2016).** Enrichment of functional properties of white chocolates with cornelian cherry, spinach and pollen powders. *Gıda*, 41(5), 311-316.

<https://doi.org/10.15237/gida.gd16029>

**Cheng, D., Song, J., Xie, M., Song, D. (2019).** The bidirectional relationship between host physiology and microbiota

and health benefits of probiotics: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 91(March), 426-435.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.044>

**Chetana, R., Reddy, S.R.Y., Negi, P.S. (2013).** Preparation and properties of probiotic chocolates using yoghurt powder. *Food and Nutrition Sciences*, 4(3), 276-281.

<https://doi.org/10.4236/fns.2013.43037>

**Cidell, J.L., Alberts, H.C. (2006).** Constructing quality: The multinational histories of chocolate. *Geoforum*, 37(6), 999-1007.

<https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2006.02.006>

Coe, S.D., Coe, M.D. (2005). Çikolatanın Gerçek Tarihi. Ayrıntı Yayınları. ISBN: 978-9755394619

**Corti, R., Flammer, A.J., Hollenberg, N.K., Luscher, T.F. (2009).** Cocoa and cardiovascular health. *Circulation*, 119(10), 1433-1441.

<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.827022>

**Coşkun, T. (2005).** Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48(1), 69-84.

**Counet, C., Callemien, D., Ouwerx, C., Collin, S. (2002).** Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of samples before and after conching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2395-2391.

**Delzenne, N.M., Olivares, M., Neyrinck, A.M., Beaumont, M., Kjølbæk, L., Larsen, T.M., Benítez-Páez, A., Romani-Pérez, M., Garcia-Campayo, V., Bosscher, D., Sanz, Y., van der Kamp, J.W. (2020).** Nutritional interest of dietary fiber and prebiotics in obesity: Lessons from the MyNewGut consortium. *Clinical Nutrition*, 39(2), 414-424.

<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.03.002>

**Denkova-Kostova, R.S., Goranov, B.G., Teneva, D.G., Tomova, T.G., Denkova, Z.R., Shopska, V., Mihaylova-Ivanova, Y. (2021).** Bio-preservation of chocolate mousse with free and immobilized cells of *Lactobacillus plantarum* D2 and lemon (*Citrus lemon* L.) or grapefruit (*Citrus paradisi*

L.) zest essential oils [pdf]. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(1), 5-16.

<https://doi.org/10.17306/J.AFS.2021.0872>

**di Mattia, C., Martuscelli, M., Sacchetti, G., Beheydt, B., Mastrocola, D., Pittia, P. (2014).** Effect of different conching processes on procyanidin content and antioxidant properties of chocolate. *Food Research International*, 63, 367-372.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.009>

**Drewnowski, A., Gomez-Carneros, C. (2000).** Bitter Taste and Phytonutrients and Consumers. *The American Journal of Clinical Nutrition*, February, 1424-1435.

**Duggan, C., Gannon, J., Allan Walker, W. (2002).** Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75(5), 789-808.

<https://doi.org/10.1093/ajcn/75.5.789>

**Ekici, L., Ercoşkun, H. (2007).** Et ürünlerinde diyet lif kullanımını. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2007(1), 83-90.

**Eo, A. (2008).** Cocoa and chocolate consumption - Are there aphrodisiac and other benefits for human health? *South African Journal of Clinical Nutrition*, 21(3), 107-113.

**Erdem, Ö., Gültekin-Özgülven, M., Berktaş, I., Erşan, S., Tuna, H.E., Karadağ, A., Özçelik, B., Güneş, G., Cutting, S.M. (2014).** Development of a novel synbiotic dark chocolate enriched with *Bacillus indicus* HU36, maltodextrin and lemon fiber: Optimization by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 56(1), 187-193.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.020>

**Erginkaya, Z., Sarıkodal, E., Özkütük, S.T., Konuray, G., Ünal Turhan, E. (2019).** Probiyotik Bitter Çikolata Üretiminde Mikroenkapsüle *Lactobacillus Rhamnosus* Kullanımı. *Gıda/The Journal of Food*, 44(2), 238-247.

<https://doi.org/10.15237/gida.gd19021>

**Fayaz, G., Goli, S.A.H., Kadivar, M., Valoppi, F., Barba, L., Calligaris, S., Nicoli, M.C. (2017).** Potential application of pomegranate seed oil oleogels based on monoglycerides, beeswax and propolis wax as partial substitutes of palm oil in



functional chocolate spread. *LWT - Food Science and Technology*, 86, 523-529.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.036>

**Fernández-Murga, L., Tarín, J.J., García-Perez, M.A., Cano, A. (2011).** The impact of chocolate on cardiovascular health. *Maturitas*, 69(4), 312-321.

<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2011.05.011>

**Grajek, W., Olejnik, A., Sip, A. (2005).** Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*, 52(3), 665-671.

[https://doi.org/10.18388/abp.2005\\_3428](https://doi.org/10.18388/abp.2005_3428)

**Guillon, A., Champ, M., Thibault, J.F. (2000).** Dietary Fibre Functional Products. In G. R. Gibson & C. M. Williams (Eds.), *Functional Foods Concept to Product* (pp. 315–365). Woodhead Publishing Limited. ISBN: 1 85573 503 2

**Gültekin-Özgülven, M., Karadağ, A., Duman, Ş., Özkal, B., Özçelik, B. (2016).** Fortification of dark chocolate with spray dried black mulberry (*Morus nigra*) waste extract encapsulated in chitosan-coated liposomes and bioaccessibility studies. *Food Chemistry*, 201, 205-212.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.091>

**Hasler, C.M. (2000).** The Changing Face of Functional Foods. *Journal of the American College of Nutrition*, 19, 499S-506S.

<https://doi.org/10.1080/07315724.2000.10718972>

**Hosseini, A.F., Mazaheri-Tehrani, M., Yeganehzad, S., Razavi, S.M.A. (2021).** Providing new formulation for white compound chocolate based on mixture of soy flour, sesame paste, and emulsifier: An optimization study using response surface methodology. *Food Science and Nutrition*, 9, 1432-1440.

<https://doi.org/10.1002/fsn3.2111>

**Kale, P.S. (2014).** Isolation and identification of bacteria from curd and its application in probiotic chocolate. *European Journal of Experimental Biology*, 4(6), 95-97.

**Katz, D.L., Doughty, K., Ali, A. (2011).** Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15(10), 2779-2811.

<https://doi.org/10.1089/ars.2010.3697>

**Kemsawasd, V., Chaikham, P., Rattanasena, P. (2016).** Survival of immobilized probiotics in chocolate during storage and with an in vitro gastrointestinal model. *Food Bioscience*, 16(September), 37-43.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.09.001>

**Konar, N., Palabiyik, I., Toker, O.S., Polat, D.G., Kelleci, E., Pirouzian, H.R., Akcicek, A., Sagdic, O. (2018).** Conventional and sugar-free probiotic white chocolate: Effect of inulin DP on various quality properties and viability of probiotics. *Journal of Functional Foods*, 43, 206-213.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.016>

**Latham, L.S., Hensen, Z.K., Minor, D.S. (2014).** Chocolate-Guilty Pleasure or Healthy Supplement? *Journal of Clinical Hypertension*, 16(2), 101-106.

<https://doi.org/10.1111/jch.12223>

**Levent, H. (2005).** Farklı kaynaklardan elde edilen besinsel liflerin bisküvi kalitesi üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

**Li, L., Liu, G., Lin, Y. (2021).** Physical and bloom stability of low-saturation chocolates with oleogels based on different gelation mechanisms. *LWT - Food Science and Technology*, 140, 110807.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110807>

**Lončarević, I., Pajin, B., Fišteš, A., Tumbas Šaponjac, V., Petrović, J., Jovanović, P., Vulić, J., Zarić, D. (2018).** Enrichment of white chocolate with blackberry juice encapsulate: Impact on physical properties, sensory characteristics and polyphenol content. *LWT - Food Science and Technology*, 92, 458-464.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.002>

**Martín, M.A., Ramos, S. (2016).** Cocoa polyphenols in oxidative stress: Potential health implications. *Journal of Functional Foods*, 27, 570-588.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.10.008>

**Martini, S., Conte, A., Tagliazucchi, D. (2018).** Comprehensive evaluation of phenolic profile in dark chocolate and

dark chocolate enriched with Sakura green tea leaves or turmeric powder. *In Food Research International*, 112, 1-16.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.020>

**McShea, A., Ramiro-Puig, E., Munro, S.B., Casadesus, G., Castell, M., Smith, M.A. (2008).** Clinical benefit and preservation of flavonols in dark chocolate manufacturing. *Nutrition Reviews*, 66(11), 630-641.

<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2008.00114.x>

**Meral, R., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S. (2012).** Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(2), 45-50.

**Muhammad, D.R.A., Tuenter, E., Patria, G.D., Foubert, K., Pieters, L., Dewettinck, K. (2021).** Phytochemical composition and antioxidant activity of *Cinnamomum burmannii* Blume extracts and their potential application in white chocolate. *Food Chemistry*, 340, 127983.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127983>

**Muhammad, D.R.A., Zulfa, F., Purnomo, D., Widiatmoko, C., Fibri, D.L.N. (2021).** Consumer acceptance of chocolate formulated with functional ingredient. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 637, 012081.

<https://doi.org/10.1088/1755-1315/637/1/012081>

**Mursu, J., Voutilainen, S., Nurmi, T., Rissanen, T.H., Virtanen, J.K., Kaikkonen, J., Nyssönen, K., Salonen, J.T. (2004).** Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(9), 1351-1359.

<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.002>

**Nambiar, R.B., Sellamuthu, P.S., Perumal, A.B. (2018).** Development of milk chocolate supplemented with microencapsulated *Lactobacillus plantarum* HM47 and to determine the safety in a Swiss albino mice model. *Food Control*, 94, 300-306.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.024>

**Nebesny, E., Żyżelewicz, D., Motyl, I., Libudzisz, Z. (2005).** Properties of sucrose-free chocolates enriched with viable lactic acid bacteria. *European Food Research and Technology*, 220(3-4), 358-362.

<https://doi.org/10.1007/s00217-004-1069-0>

**Özat, E.T. (2018).**  $\beta$ -Glukan ilavesi ile fonksiyonel Çikolata çeşitlerinin (sütlü, bitter, beyaz ve sürülebilir kakaolu fındık kreması) geliştirilmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

**Özer, M. (2019).** Development of functional chocolate Using gamma-amino butyric acid producer probiotic: Prominent to alleviate anxiety disorder. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

**Özgen, Ö. (2010).** Biberiye (*Rosmarinus Officinalis*) ve üzüm çekirdeği (*Vitis Vinifera*)'nin çikolatanın kristalizasyonuna, reolojik özelliklerine, raf ömrüne ve antioksidan aktivitesine etkileri. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

**Özhan, B. (2012).** Farklı düzeylerde prebiyotik bileşen içeren çikolataların bazı yapısal özelliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

**Özkan, D. (2019).** Farklı çikolata çeşitlerinde şeker miktarının azaltılmasının duyuşal özelliklere etkisinin incelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

**Palacioğlu, S. (2003).** Çikolata sektör profili. İstanbul Ticaret Odası.

**Parlatır, B. (2019).** Çikolata üretiminde kakao yerine keçi-boynuzu unu kullanımı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

**Patel, P., Parekh, T., Subhash, R. (2008).** Development of Probiotic and Synbiotic Chocolate Mousse: A Functional Food. *Biotechnology*, 7(4), 769-774.

**Pedan, V., Fischer, N., Bernath, K., Hühn, T., Rohn, S. (2017).** Determination of oligomeric proanthocyanidins and their antioxidant capacity from different chocolate manufacturing stages using the NP-HPLC-online-DPPH methodology. *Food Chemistry*, 214, 523-532.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.094>

**Pirouzian, H.R., Peighambardoust, S.H., Azadmard-Damirchi, S., Hadi Peighambardoust, S. (2016).** Sucrose-free milk chocolate sweetened with different bulking agents: Effects on physicochemical and sensory properties. *Biological Forum-An International Journal*, 8(2), 340-349.

**Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., van de Wiele, T. (2010).** Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 97-103.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.008>

**Prosapio, V., Norton, I.T. (2019).** Development of fat-reduced chocolate by using water-in-cocoa butter emulsions. *Journal of Food Engineering*, 261, 165-170.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.06.018>

**Rad, A.H., Rasouli Pirouzian, H., Konar, N., Toker, O.S., Polat, D.G. (2019).** Effects of polyols on the quality characteristics of sucrose-free milk chocolate produced in a ball mill. *RSC Advances*, 9(51), 29676-29688.

<https://doi.org/10.1039/c9ra04486h>

**Rezende, N.V., Benassi, M.T., Vissotto, F.Z., Augusto, P.P. C., Grossmann, M.V.E. (2015).** Mixture design applied for the partial replacement of fat with fibre in sucrose-free chocolates. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 598-604.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.047>

**Sanders, M.E. (1998).** Overview of functional foods: Emphasis on probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 8(5-6), 341-347.

[https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00056-9)

**Sarıgül, H. (2019).** Effects of dried bergamot peel powder on the structural properties of dark chocolate. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep

**Schnermann, P., Schieberle, P. (1997).** Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass by aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3), 867-872.

<https://doi.org/10.1021/jf960670h>

**Serra Bonvehí, J., Ventura Coll, F. (1997).** Evaluation of bitterness and astringency of polyphenolic compounds in cocoa powder. *Food Chemistry*, 60(3), 365-370.

[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00353-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00353-6)

**Shadwell, N., Villalobos, F., Kern, M., Hong, M.Y. (2013).** Blooming reduces the antioxidant capacity of dark chocolate in rats without lowering its capacity to improve lipid profiles. *Nutrition Research*, 33(5), 414-421.

<https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.03.004>

**Shieh-zadeh, R. (2019).** keçiboynuzu tozu tereyağı ve zeytin-yağı kullanımının sürülebilir çikolata da fiziksel kimyasal ve reolojik özellikler Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

**Silva, M.P., Tulini, F.L., Marinho, J.F.U., Mazzocato, M.C., de Martinis, E.C.P., Luccas, V., Favaro-Trindade, C.S. (2017).** Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 640-647.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.025>

**Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008).** Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51(3), 456-467.

<https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>

**Smith, L., Grabovac, I., Jackson, S.E., Veronese, N., Shang, C., López-Sánchez, G.F., Schuch, F.B., Koyanagi, A., Jacob, L., Soysal, P., Yang, L., Zhu, X. (2020).** Chocolate Consumption and indicators of adiposity in US adults. *The American Journal of Medicine*, 133(9), 1082-1087

<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.01.020>

**Socci, V., Tempesta, D., Desideri, G., de Gennaro, L., Ferrara, M. (2017).** Enhancing Human Cognition with Cocoa Flavonoids. *Frontiers in Nutrition*, 4, 19.

<https://doi.org/10.3389/fnut.2017.00019>

**Steinberg, F.M., Bearden, M.M., Keen, C.L. (2003).** Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(2), 215-223.

<https://doi.org/10.1053/jada.2003.50028>

**Tannenbaum, G. (2004).** Chocolate: A marvelous natural product of chemistry. *Journal of Chemical Education*, 81(8), 1131–1135.

<https://doi.org/10.1021/ed081p1131>

**Terme, K.K. (2019).** Çikolatanın tarihinde isviçre ve isviçre kültür ekonomisinde çikolata. Hacettepe Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Ankara.

**Thamke, I., Dürrschmid, K., Rohm, H. (2009).** Sensory description of dark chocolates by consumers. *LWT - Food Science and Technology*, 42(2), 534-539.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.07.006>

**Toker, O.S., Konar, N., Pirouzian, H.R., Oba, S., Genc Polat, D., Palabiyik, İ., Poyrazoglu, E.S., Sagdic, O. (2018).** Developing functional white chocolate by incorporating different forms of EPA and DHA - Effects on product quality. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 177-185.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.087>

**Toprak, T. (2019).** Probiyotik Şerbet Üretimi ve Bazı Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. *American Journal of Pharmaceutical Sciences*. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

**Üzümcü, Z. (2017).** Belirli Oranlarda Yulaf Ezmesi ve Yaban Mersini İlavesi ile Üretilen Sütlü Çikolatanın Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

## Yapay et üretimi ve gelecek vizyonu

Darya FARHOOMAND<sup>1</sup>, Aybüke OKAY<sup>1,2</sup>, E. Sümer ARAS<sup>1</sup>, İlker BÜYÜK<sup>1</sup>

### Cite this article as:

Farhoomand, D., Okay, A., Aras, E.S., Büyük, İ. (2022). Yapay et üretimi ve gelecek vizyonu. *Food and Health*, 8(3), 260-272.

<https://doi.org/10.3153/FH22024>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi,  
Biyoloji Bölümü, 06560, Ankara,  
Türkiye

<sup>2</sup> Hacettepe Üniversitesi, Aşı Enstitüsü,  
Aşı Teknolojisi Anabilim Dalı, 06100,  
Ankara, Türkiye

### ORCID IDs of the authors:

D.F. 0000-0002-7731-648X

A.O. 0000-0002-6772-4316

E.S.A. 0000-0003-3474-9493

İ.B. 0000-0002-0843-8299

Submitted: 27.10.2021

Revision requested: 18.02.2022

Last revision received: 22.02.2021

Accepted: 25.02.2022

Published online: 19.06.2022

Correspondence: İlker BÜYÜK

E-mail: [buyuki@ankara.edu.tr](mailto:buyuki@ankara.edu.tr)



© 2022 The Author(s)

Available online at  
<http://jfh.sscientificwebjournals.com>

### ÖZ

Yapay et gelecekteki gıda üretiminde kullanılmak üzere bir yöntem olarak büyük umut vadetmektedir. Geleneksel etin, artan insan nüfusu ile birlikte yetersiz kalacağı ön görülmektedir. Ayrıca yapay etin geleneksel ete kıyasla çevre için sürdürülebilir olması, kontrollü yağ içeriği, antibiyotik ve hormon içermemesi gibi insan sağlığı açısından pek çok avantajı bulunmaktadır. Kültürleşmiş et olarak da bilinen yapay et, kas dokusu bazlı protein ürünleri, kök hücre kültürü ve farklılaşmasını içeren *in vitro* miyogenez, lezzet ve doku için ise olgun kas hücresi işleme yoluyla üretilmektedir. Yapay et üretimi sıralı bir süreçten oluşmaktadır. İlk olarak kök hücre toplama için kas örnekleme ve sırasıyla kas dokusu ayrışması ve kas kök hücre izolasyonu, birincil hücre kültürü, yüksek hücre kültürü, kas farklılaşması ve olgunlaşma ile son bulmaktadır. Sürecin olumlu ve olumsuz yanlarıyla birlikte derinlemesine anlaşılması, yalnızca yapay et üretimine değil, aynı zamanda gıda endüstrisi için yeni biyomalzemeler arayan iş sektörlerine de yardımcı olacaktır. Bu derleme, yapay et üretimi için kullanılan yöntemleri tartışarak hem hücresel tarımın yeni çağına hazırlanmak hem de akademi ve endüstride kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Yapay et, Kas kök hücreleri, Biyoreaktör, Biyosensör

### ABSTRACT

#### Artificial meat production and future vision

Artificial meat shows great promise as a method for use in future food production. It is predicted that traditional meat will be insufficient with the increasing human population. In addition, artificial meat has many advantages in terms of human health, such as being sustainable for the environment, controlled fat content, and absence of antibiotics and hormones compared to traditional meat. Artificial meat, also known as cultured meat, is produced through *in vitro* myogenesis, which includes muscle tissue-based protein products, stem cell culture, and differentiation, and mature muscle cell processing for flavor and texture. Artificial meat production consists of a sequential process; firstly muscle sampling for stem cell collection and followed by muscle tissue dissociation and muscle stem cell isolation, primary cell culture, high cell culture, and ending with muscle differentiation and maturation. A deep understanding of the process by considering its pros and cons will help not only artificial meat production but also the food industry in business sectors seeking new biomaterials. By explaining the methods utilized for artificial meat production, this study is created to prepare for the new era of cellular agriculture as well as for application in academia and industry.

**Keywords:** Artificial meat, Muscle stem cells, Bioreactor, Biosensor

## Giriş

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre 2050 yılına gelindiğinde mevcut gıda sistemlerinden %70 daha fazla gıda talebi olacağı ortaya konmuştur (Djissalov ve ark., 2021). Ek olarak yaşanan iklim krizi gıda yetersizliğini olumsuz yönde tetiklemektedir (Agovino ve ark., 2019). Et ise antik çağlardan beri insanlık için değerli bir tam protein kaynağı olmuştur (Pereira ve Vicente, 2013). Ancak hem gelecek yıllar için duyulan endişeler hem de küresel et tüketimi giderek artmaktadır (Steinfeld ve ark., 2006). Bu nedenle gıda ihtiyacını karşılamak üzere alternatif yollar irdelenmeye başlanmıştır. Bunların başında yapay et gelmektedir. Son yıllarda yapay et, geleneksel ete rekabetçi ve sürdürülebilir bir alternatif olarak hızla ivme kazanmıştır (Sha ve Xiong, 2020). Yapay et, çevresel yük ve hayvan refahı ile ilgili pek çok konuda geleneksel ete kıyasla avantajlar sağlamaktadır (Post, 2012). Yapay et veya 'hücre bazlı et' olarak da bilinen bu yeni et ve protein ürünleri, geleneksel et endüstrisinin karşılaştığı sorunları gidermek için tasarlanmış çığır açan teknolojilerden yararlanmaktadır (Bonny ve ark., 2015). Yapay et, geleneksel et üretimine kıyasla çok daha az sera gazı emisyonuna, su, toprak ve düşük enerji kullanımına sahiptir (Tuomisto ve Mattos, 2011, Alexander ve ark., 2017). Çünkü hayvan eti üretimi, sera gazı (GHG) emisyonu, arazi kullanımı, su ve enerji tüketiminin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Hayvansal tarımdan kaynaklanan en önemli sera gazları metan ve azot oksittir. Karbon dioksit, metan ve azot oksit olmak üzere üç ana sera gazının, çiftlik hayvanlarının

toplam emisyonlarına etkisi sırasıyla %9, %39 ve %65'tir. Ayrıca, et talebinde öngörülen önemli artışla birlikte, ekilebilir arazilerin büyük bir kısmının zaten hayvan besleme ve yönetimine ayrılmış olması insan beslenmesi açısından üretim kapasitesini hızla tüketmektedir. Kaldı ki artan dünya nüfusu ve gelişmekte olan ekonomiler doğrultusunda et tüketiminin önümüzdeki kırk yılda iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (Steinfeld ve ark., 2006). Günümüzde ise geleneksel et üretim kapasitesinin hata payları ile birlikte zaten maksimuma yakın olduğu görülmektedir (McLeod, 2011). Ek olarak geleneksel hayvancılığa dayalı et üretimi pek çok olumsuz sonuçları doğurmaktadır bu nedenle sürdürülebilir ve daha güvenli gıda üretimi yöntemlerine odaklanılması kaçınılmaz olmuştur (Sexton ve ark., 2019; Ismail ve ark., 2020; Rischer ve ark., 2020). Örneğin halihazırda devam eden SARS-CoV-2 virüsü H5N1 ve H7N9 kuş gribi gibi diğer zoonotik virüsler hayvan yetiştiriciliği açısından son derece tehlike arz etmektedir (Anomaly, 2020; Verhagen ve ark., 2021). Aynı zamanda laboratuvar ortamında yetiştirilen bir et üreticiler tarafından tamamen kontrol edilerek kesim esnasında potansiyel bir kontaminasyondan korunmuş olur. Çünkü *E. coli*, *Salmonella* ve *Campylobacter* gibi bağırsak patojenleriyle karşılaşma riskine sahip değildir (Derossi ve ark., 2021). Ayrıca özellikle son 20 yılda çiftlik hayvanlarında artan antimikrobiyal direnç (AMR) pek çok soruna yol açmaktadır (Van Boeckel ve ark., 2019). Geleneksel etin dezavantajları Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Geleneksel etin dezavantajları (Bhat ve ark., 2015; Bonny ve ark., 2015; Joshi ve Kumar, 2015; Kumar ve ark., 2017; Van Eenennaam, 2017; Gaydhane ve ark., 2018)

**Table 1.** Disadvantages of traditional meat (Bhat ve ark., 2015; Bonny ve ark., 2015; Joshi ve Kumar, 2015; Kumar ve ark., 2017; Van Eenennaam, 2017; Gaydhane ve ark., 2018)

Hayvanların kesimi	DSÖ'ye göre, 1997-1999 yılları arasında dünya genelinde kişi başına et tüketimi yılda 36,4 kg iken, 2030 yılına kadar yılda 45,3 kg'a yükselecektir (Vasileska ve Rechkoska, 2012).
Kaynak kullanımı	Arazi yüzeyinin yaklaşık %30'u hayvancılık üretimi için küresel olarak kullanılmaktadır. Tatlı su tüketiminin yaklaşık %70'i ve et ve gıda üretimi için kullanılmaktadır.
Küresel ısınma ve kirlilik	Hayvancılık sektörü, dünya çapında atmosfere verilen antropojenik sera gazı emisyonlarının %18'ine ve antropojenik metan emisyonlarının %37'sine katkıda bulunmaktadır.
Yetersiz besin dönüşümü	1 kg kümes hayvanları, domuz eti ve sığır eti sırasıyla 2, 4 ve 7 kg tahıl gerektirdiğinden, geleneksel et üretim sistemleri besin dönüşümünde verimli değildir.
Hastalıklar ve sağlık endişeleri	İnsanlar, bağışıklığı baskılanmış, kirletici maddeler içeren hayvanlardan salınan patojen tarafından riske atılır.
Dini kısıtlamalar ve sosyal tabular	Geleneksel kesim sistemi ile bazı ciddi dini uygulamaların takip edilmesi gerekmektedir.
Nesli tükenmekte olan türlerin neslinin tükenmesi	Hayvancılık ve çiftçilikten kaynaklanan ormansızlaşma nedeniyle, hayvan türlerinin çoğu doğal yaşam alanları kaybedilmekte ve nesli tükenmektedir.

Yapay et üretiminde ise son gelişmeler ile birlikte antibiyotik kullanılmadan ve serumsuz ortamlarda uygulanabilen biyoprosesler hem sağlık açısından hem de maliyet açısından olumlu bir etki olarak görülmektedir (Specht ve Scientist, 2020). Nitekim yapay et sayesinde kirleticilerin, antibiyotiklerin yokluğu, kontrollü yağ kullanımı ve özellikle gıda kaynaklı hastalıkların insidans oranlarındaki düşüşün, obezite ve kardiyovasküler hastalıkların azalması açısından gelecek yıllarda insan sağlığına olumlu katkıda bulunması beklenmektedir (Fox ve ark., 2011; Mattick, 2018). Ayrıca hayvan refahı ile ilgili artan endişeler, giderek tüketici davranışını etkilemektedir ve bu nedenle et endüstrisi bu endişeyi göz önünde bulundurarak uygulamalarını değiştirmeye yönelik sahalara araştırmaktadır. Özetle, hayvan eti üretiminin yükünü ve baskısını hafifletmek üzere alternatifleri araştırmak için çok sayıda ve acil neden vardır. Şu anda çalışmalar geleceğin gıdası olarak görülen yapay et üretiminde tedarik zincirinin tamamen güvenilir olması yönünde hızla ilerlemektedir. Bu yüzden hassas ve spesifik analitik cihazların geliştirilmesiyle birlikte gıda güvenliğinin izlenmesini sağlayacak sensörlerin kullanılması bir ihtiyaç haline gelmiştir. Tüm bu gelişmiş izleme seçenekleri çalışmaların optimize edilmesi ve dolayısıyla güvenli hale gelmesine yardımcı olacaktır (Ong ve ark., 2020). Bu işlemin temeli ise, hayvan kaslarının karmaşık yapısını birkaç hücre ile yeniden oluşturmaya dayanmaktadır. Ancak bir et alternatifinin kabul edilmesi ve sanayileşmesi için iki temel koşul yani taklit ve verimlilik göz önünde bulundurulmalıdır. Yeni bir et ikamesinin geniş çapta benimsenmesi için geleneksel ete benzeyen görsel görünüm, koku, doku ve tat gibi tüm fiziksel duyuların tam olarak taklit edilmesi yahut daha da iyisinin yeniden oluşturulması gerekmektedir (Bredahl ve ark., 1998; Verbeke ve ark., 2010). Yapay et üretimi için sayılan başlıca engeller olarak; tüketicilerin kabulü ve henüz öngörülemeyen riskler kaygısı gelmektedir. Tüketiciler tarafından tercih edilmeme sebepleri arasında ise, etik kaygılar ve doğal bir ürün olarak kabul edilmeme yapay et üretim sisteminin gelişmesini ve ticarileşmesini engelleyebilecek bazı faktörler arasındadır (Sürek ve Pınar, 2020). Bu derleme ile yapay et üretiminin mevcut durumunu, düzenlemelerini, toplumsal yönlerini, ölçeklendirme ve ticarileştirmeyi ayrıca mevcut multidisipliner yöntemleri, biyoreaktör uygulamaları ve görüntüleme tekniklerine yönelik yaklaşımları ele almaktayız.

## Yapay Et

Yapay et fikri yakın zamanda daha çok gündeme gelse de aslında ortaya çıkışı 1912'lere dayanmaktadır. Günümüze geldiğinde ise dünyada çok sayıda yapay et şirketleri kurulmuştur. Örneğin, ABD'de Memphis Meat firması hayvan hücrelerinden dana, tavuk ve ördek eti üretmeyi başarmıştır. Rus Deneysel Veterinerlik Enstitüsü ise 2017'de ilk yapay eti

üretmeyi başarmıştır. Bir ay içinde bir tüpte küçük parçalar halinde 10 g et üretilmiştir. Enstitü, yapay etin hızlı ve ucuz üretimi için 2025-2030 yılları arasında büyük biyolojik reaktörlerin dizayn edileceğini tahmin etmektedir. Yapay et, gıda amaçlı yetiştirilen bazı hayvanlardan alınan kök hücrelerinin gerekli şartlara sahip (besin öğeleri, enerji kaynakları, büyüme faktörleri vb.) bir biyoreaktörde geliştirilmeleri ve farklılaşmaları ile önce yenilebilir olgun kas hücrelerine ve devamında ise daha büyük kas dokularına dönüştürülmesi sonucu elde edilen ürüne verilen addır. Araştırma ve deneme maliyetlerinin henüz daha istenen seviyede olmaması sebebiyle yapay etin yaygınlaşma süreci oldukça yavaş seyretmektedir (Bhat ve ark., 2015; Sürek ve Pınar, 2020).

Yapay etin gelişimi temel olarak kültür eti ve bitki bazlı et alternatifleri olmak üzere iki alana odaklanmıştır (Mc Clements, 2020). Geleneksel etin alternatifi olarak birkaç et ikamesi geliştirilmiş ve geliştirilmektedir. Örneğin, tamamen bitkisel bileşenlerden oluşan et ikameleri yavaş yavaş artan küçük bir pazar payı kazanmıştır (Egbert ve Borders, 2006). Bu üretim içinse genellikle soya ve buğday bazlı proteinler seçilmiştir ve verimli protein üretimi sağlanmıştır (Hoek ve ark., 2004). Ancak bitkisel bazlı ürünlerin hissini ve tadını geliştirmek için kullanılan teknolojiler sürekli olarak gelişiyor olsa da eti sebze kökenli proteinler, şekerler ve yağlar kullanarak taklit etmek zor görünmektedir (Elzerman, 2006). Bu nedenle bitki kökenli et, ağırlıklı olarak hamburger, sosis veya diğer kıyılmış ürünler gibi işlenmiş etlerde kullanılmaktadır. Böcekler ise başka bir doğal protein kaynağıdır. Yeterli minerallere ek olarak, yüksek protein içeriğine sahiptir (De Foliart, 1992). Yüksek biyo-dönüşüm oranları, büyük ölçekli protein üretimi için uygundur ancak sindirilemeyen kitenden kurtulmak için genellikle dış iskelete sahip böceklere işlem yapılması gerekir (Verkerk ve ark., 2007). Ek olarak kıtalar bazında bir değerlendirme yapılırsa Doğu Asya ve Güney Amerika'daki popülasyonlar böcekleri ortak yiyecek olarak kabul ederken Avrupa'da, Kuzey Amerika'da ve ülkemizde kabulü pek mümkün görünmemektedir. Böcek hücreleri kültürlenerek tanınmayan bir protein kaynağı olarak kullanılırsa, bu isteksizliğin bir kısmının ortadan kalkabileceği düşünülmektedir (DeFoliart, 1992; Schabel, 2010).

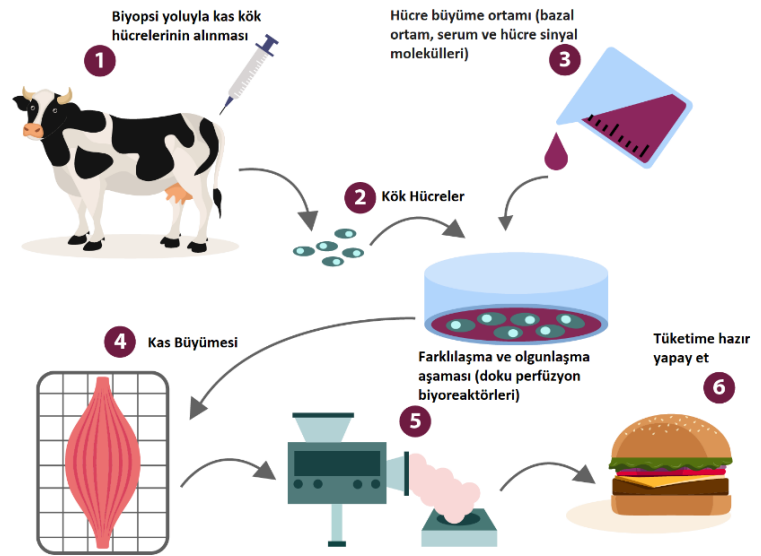
Hayvansal olmayan proteinleri et benzeri liflere dönüştürmek için mevcut üretim teknikleri ve stratejileri, pek çok araştırmacı tarafından kapsamlı bir şekilde tartışılmıştır. Örneğin iskelet kası hem kas liflerini hem de çevredeki kas içi bağ dokularını içerir bu yüzden sadece lifli bir yapı oluşturmanın hayvan etini taklit etmek için yeterli olmadığını gösterir (Listrat ve ark., 2016). Bağ dokuları ve esas olarak kollajenden oluşan hücre dışı matris, kas liflerinin etrafında ince bir tabaka oluşturur ve onları kasların içinde hiyerarşik demetler

halinde tutar (Fratzl, 2008). Anatomik olarak, tek kas genellikle bağ dokusunun en dış tabakası olan epimisyum tarafından iskelete veya kemiğe bağlanır. Bu bağ dokusu kılıfı içinde, bir grup kas lifi demeti perimisyum ile çevrilidir. Her kas lifi, miyofibrillerden oluşur ve doğrudan kas hücre zarına bağlı olan endomisyum ile ayrılır. Epimisyum, perimisyum ve endomisyum, karmaşık ağ mimarisinde hiyerarşik olarak düzenlenmekte olup, kasların morfolojisini ve hareketini destekler (Purslow, 2020). Bu nedenle, yapay etin dokusundaki kusurlar, bağ dokusu ve lifleri içeren entegre iskelet kası yapılarının eksikliğine atfedilebilir, bu da yetersiz bir destek kapasitesi ile sonuçlanır. Ayrıca, entegre iskelet kası yapıları, duyuşal deneyim ve beslenme yararları dahil olmak üzere et kalitesini önemli ölçüde etkiler.

### Kök Hücreler, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği

Yapay et, kas kök hücrelerinin *in vitro* olarak kültürü ve farklılaşması yoluyla üretilen et olarak tanımlanabilir (Şekil 1). Son altmış yılda ortaya çıkan teknolojiler ile (kök hücre izolasyonu ve tanımlaması, *ex vivo* hücre kültürü ve doku mühendisliği) iskelet kası, kemik, kıkırdak, yağ ve fibröz doku gibi diğer mezenkimal dokuların üretimi mümkündür. Bu teknolojiler ile birlikte etin *in vitro* üretimi de yeni ürünler sağlamaktadır. Örneğin, hemen hemen her kaynaktan elde edilen kök hücreler veya hücre kaynaklarının karışımları, şimdiki kadar hayal bile edilemeyen etler için bir başlangıç materyali olarak kullanılabilir (Post, 2012; Kadim ve ark., 2015; Ding ve ark., 2017; Ding ve ark., 2018; Choudhury ve ark., 2020; Fish ve ark., 2020). Bir başka deyişle yapay et üretimi için esas iskelet kas dokusu; indüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPSC'ler), mezenkimal kök hücreler (MSC'ler) veya uydu hücreler (SC'ler) yani kas kök hücreleri tarafından oluşturulmaktadır (Post, 2012). Öte yandan, etin biyokimyasal bileşimi, örneğin çoklu doymamış yağ asitlerinin içeriği artırılarak daha sağlıklı veya özel bir diyet ürünü yapmak için değiştirilebilir. Et üretimi için hücre kültüründe, süreci güvenilir ve verimli hale getirmek için binlerce değişken kontrol edilmelidir. Yapay et üretimi için uygulanan süreç iki aşamada ele alınmaktadır. Bunlardan ilki yani çoğalma aşaması başlangıç hücresinden maksimum hücre sayısını elde etmeye dayalıdır. Farklılaşma ve olgunlaşma aşaması olarak bilinen ikinci aşama ise maksimum protein elde etmeye dayalıdır. Sonrasında uydu hücrelerin kök hücre davranışını korumak için kök hücre nişini mümkün olduğunca yakın bir şekilde yeniden oluşturmak gerekmektedir (Langelaan ve ark., 2010). Ayrıca kültür yüzeyinin kollajen IV gibi bazal membranı taklit eden proteinlerle kaplanması, uydu hücrelerinin çoğalma hızı üzerinde etkiye sahiptir (Wilschut ve ark., 2010). Yeterli hücre ürettikten sonraki hedef onları iskelet kası hücrelerine ayırmak ve maksimum protein üretimine yani hipertrofiye uğratmaktır. Uydu hücreleri için bu süreç neredeyse

doğal olarak gerçekleşmektedir. Sonrasında hücreler erken evre iskelet kası belirteçlerini ifade etmeye başlayacaktır. İskelet kası hücreleri de dahil olmak üzere çoğu mezenkimal hücre, bir kolajen veya kolajen/matrigel jeli ile sıkı bir lif içinde gerilim oluşturacaktır (Grinnell, 2000). Oluşan statik gerilim, biyo-yapay kas denilen kasın protein üretimini muazzam bir şekilde arttırmaktadır (Vandenburgh ve ark., 1999). Kas dokusunun protein içeriği ve kalitesinin büyük kısmını kasılma proteinleri oluştursa da rengi ve tadı için önemli olan başka proteinler de vardır. Özellikle miyogloblin etin pembe renginden kısmen sorumludur ve demirin önemli bir taşıyıcısı olduğu için tadı da belirlemektedir. Miyogloblinin transkripsiyonel regülasyonu oldukça iyi anlaşılmış olup, MEF2 ve NFAT/kalsinörin transkripsiyonel aktivatörlerini içermektedir (Kanatous ve Mammen, 2010). Kısacası, etkili bir iskelet kası hücre kültürü ve mevcut teknoloji ile mümkündür. Ürünü optimize etmek ve endüstriyel üretimi sağlamak için biyoreaktörler ve uygun tasarıma ihtiyaç vardır ve bugüne dek kaydedilen gelişmeler kabul edilebilir bir et dokusunun taklit edilerek yapay etin üretilebileceğini göstermektedir. Dikkate alınması gereken önemli konular üretim sürecinin ölçeklenebilirliği, memeli hücre/doku kültürlerinin kalite kontrolü, kültürde sterilitenin korunması, kontaminasyon veya hastalığın önlenmesi ve kök hücre donör hayvanlarının kontrollü yetiştirilmesidir. Bu teknik sorunların bir noktada çözülmesi ise muhtemeldir.



Şekil 1. Yapay et üretim süreci (Anonim'den modifiye edilmiştir.)

Figure 1. The production process of artificial meat (Modified from Anonymous source)



Hücresel tarım, hayvan kurban etmeden kök hücre ve doku mühendisliği kullanarak tarımsal ürünler ve yan ürünler üretmeyi amaçlayan agribiyoteknolojinin gelişmekte olan bir araştırma alanıdır (Post ve ark., 2020). Günümüzde, *in vitro* çiftlik hayvanları miyogenezi için kas kök hücrelerinin kültürü, pluripotent kök hücrelerin yönlendirilmiş farklılaşması ve transgenezi kullanarak doğrudan yeniden programlama üzere üç farklı yaklaşım mevcuttur (Ding ve ark., 2017; Bogliotti ve ark., 2018; Choi ve ark., 2019). Şu ana kadar çoğu kültürlü et üretim süreci öncelikle *in vitro* kültüre ve kas kök hücrelerinin farklılaşmasına odaklanmıştır (Kadim ve ark., 2015). Kas kök hücreleri (uydu hücreleri), hareketsiz kök hücreler, miyoblastlar ve soyları dahil olmak üzere kas dokusunun yenilenmesinden sorumludurlar (Kuang ve ark., 2007). Kas dokusu, fetal gelişim sırasında paraksiyal mezodermal progenitör hücrelerden oluşur. Paraksiyal mezoderm, birkaç büyüme faktörü tarafından düzenlenen sıralı gelişim süreci yoluyla miyoblastlara farklılaşır. Miyoblastlar hücreden hücreye füzyon yoluyla kas dokusu oluşturur ve bunların bir kısmı miyofiber bazal laminanın altında bulunur ve doğum sonrası dönemde sessiz uydu hücrelere dönüşür (Chal ve Pourquié, 2017). Kas yaralanması üzerine, hareketsiz uydu hücreleri aktive olur, miyoblastlara farklılaşır ve kas yenilenmesine katkıda bulunur. Hücrelerin farklılaşması, çoğalması ve uyarılmasında pek çok genin ifadesi önemli bir rol üstlenmektedir. Bu genlerin dışında çeşitli vasküler ve nöral hücre adezyon molekülleri, integrinler de görev almaktadır (Asakura ve ark., 2007; Gayraud-Morel ve ark., 2007; Kuang ve ark., 2007; Wang ve ark., 2014). Başka bir deyişle, dışsal ve içsel regülasyonların uyumu, kas kök hücrelerinin kaderini düzenlemektedir. Bu nedenle, *in vitro* olarak kas kök hücrelerini korumak, kas kök hücrelerinin destekleyici fizyolojik özellikleri *in vivo* taklit etmekle mümkündür. Burada da hücre dışı matris (ECM) ve parakrin faktörleri dahil olmak üzere pek çok faktör devreye girmektedir. Ayrıca, güvenilir bir *in vitro* et üretimi için kas kök hücre fizyolojisinin derinlemesine anlaşılması gerekir. Kas kök hücreleri, kas biyopsisi yoluyla ve kesilen hayvanlardan izole edilebilir. İzole kas kök hücrelerinin verimi, donör hayvanların koşulları tarafından değiştirildiğinden, donör hayvan seçiminden önce daha verimli bir uydu hücre izolasyonu için çeşitli faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin, hayvanların yaşının ve kasların yerleşiminin elde edilen kas kök hücrelerinin sayısını etkilediği çeşitli türlerde kanıtlanmıştır (Gibson ve Schultz, 1983; Keefe ve ark., 2015). Ayrıca, farklı kaslardan izole edilen uydu hücreleri, çeşitli farklılaşma potansiyeli ve çoğalma özellikleri göstermektedir (Redshaw ve ark., 2010). Ek olarak hayvanların cinsiyeti, kas kök hücre büyümesinde rol oynayan başka bir faktördür. Östrojen ve testosteron gibi hormonlar ise kas kök hücre büyümesini etkilemektedir (Day ve ark., 2010; Abdollahi ve ark., 2011). İskelet kası, çeşitli kök

hücre popülasyonlarının yanı sıra kas lifleri, bağ dokuları ve stromal hücrelerden oluşur. Kas kök hücreleri kas lifleri üzerinde yer aldığından, bu hücrelerin başarılı izolasyonları için kas dokusundan verimli bir şekilde ayrılmalrı çok önemlidir. Genel olarak tripsin, pronaz, dispaz ve kollajenaz gibi proteazlar, makas ve et kıyma makinesi ile fiziksel ayrışmayı takiben kas kök hücrelerinin saflaştırılması için kullanılmaktadır. Enzimatik ayrışmadan sonra ise, lif parçaları, doku artıkları ve bağ dokuları, daha sonraki işlemler için kas kök hücre içeren hücrelerden ayrılmalıdır. Boyut ve ağırlıktaki farklılıklara dayalı olarak, filtreleme ve diferansiyel santrifüjleme, kas kök hücrelerini içeren tek çekirdekli hücre popülasyonunu izole etmek için standart yaklaşımlardır. Genel olarak, ayrılmış dokular bir hücre süzgecinden veya 20 ila 40 um gözeneklere sahip naylon ağdan süzülür, daha sonra kalıntıları çıkarmak için yaklaşık 300 g'lık düşük bir g-kuvvetinde santrifüjlenir (Choi ve ark., 2021). Diferansiyel santrifüjlemenin ortaya çıkan süpernatantı somatik hücreler, kan hücreleri, stromal hücreler ve kas kök hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerini içerir. Bu nedenle, yüksek oranda saflaştırılmış bir kas kök hücre popülasyonu elde etmek için ayrışma adımını takiben hücre sınıflandırması yapmak esastır (Bischoff 1997; Mau ve ark., 2008). Farklı hücre türlerinin hücre kültürü plakasına yapışması farklı zaman aldığından, bu biyolojik özelliklere dayalı olarak hücre zenginleştirme de gerçekleştirilebilir. Ayrılmış kas dokusunun çeşitli hücre tipleri arasında, kas kök hücrelerinin hücre kültürü plakasına yapışması fibroblastlara ve epitel hücrelerine göre daha uzun sürer. Kültür plakasına ekimden 40 ila 60 dakika sonra, süpernatant hasat edilerek yüksek oranda saflaştırılmış bir kök hücre popülasyonu elde edilebilir, çünkü çoğu fibroblast ve epitel hücreler zaten kültür plakasına eklenmiş durumdadır (Richler ve Yaffe, 1970).

*In vitro* kas kök hücre kültürleri, ECM, sinyal molekülleri (hormonlar ve sitokinler), metabolitler ve fiziksel ortamlar (sıcaklık, pH ve nem) dahil olmak üzere *in vivo* kök hücre nişlerini taklit ederek elde edilebilir. *In vivo* olarak kas kök hücrelerini çevreleyen bu bileşenler, sentetik kimyasallar ve yapay cihazlar kullanılarak *in vitro* olarak özetlenmiştir. *In vitro* kültür ortamı büyüme ortamı, hücre substratları ve kuçka içermektedir. Hücre substratlarının temel rolü, kök hücrelerde integrin reseptörü aracılı çoğalma, canlılık ve hücre-sel yaşlanmayı etkileyen hücreler için yapışık bir yüzey sağlamaktır (Guilak ve ark., 2009). Kas kök hücreleri için, fibronektin, laminin ve kollajen gibi çeşitli ECM proteinleri, *in vitro* hücre kültürleri için de uygulanan *in vivo* fiziksel ortamı sağlamaktadır (Yin ve ark., 2013). Hücre büyüme ortamı genellikle bazal ortam, serum ve hücre sinyal moleküllerini içerir. Besinler (amino asitler, karbonhidratlar ve lipitler), vitaminler, inorganik tuzlar ve eser mineraller gibi temel

elementlerden oluşan bazal ortam, hücreler için *in vitro* çözü- nür bir mikro çevre sağlar. Bazal ortam, tıpkı *in vivo* vücut sıvıları gibi, pH ve ozmotik basıncın tamponlanmasında ve ayrıca hücrelerin *in vitro* olarak beslenmesinde rol alır (Ham 1965; Guilbert ve Iscove, 1976). Serum, pıhtılaşmadan sonra kalan ve çeşitli protein kaynakları, besinler ve büyüme fak- törleri içeren kanın sıvı bileşenidir. Bu nedenle, bir hücre kül- türü ortamı takviyesi olarak yaygın olarak kullanılmakta- dır. Kas kök hücre kültürlerinde fetal bovine serum (FBS) ve at serumu (HS) yaygın olarak uygulanmaktadır. Yüksek se- rum konsantrasyonunda kültürlendiğinde kas kök hücre bü- yümesinin kolaylaştırıldığı ve spontan miyojenik farklılaş- manın baskılandığı kanıtlanmıştır (Doumit ve Merkel 1992; Wang ve ark., 2014; Shahini ve ark., 2018). Hormonlar ve büyüme faktörlerinin yanı sıra besinler de hücre büyümesi ve bakımı için gereklidir. Bu nedenle, yukarıda belirtilen bile- şenleri çeşitli kombinasyonlarda kullanarak *in vitro* kültürle- rin fizyolojik özelliklerini düzenlemek mümkündür (Machida ve ark., 2004). *In vitro* hücre kültürleri için vücuda benzer bir fiziksel ortam oluşturmak temel bir kriterdir. İnkü- batörler genellikle hücresel homeostaz için sabit bir sıcaklık, nem, CO<sub>2</sub> ve pH'ı korumak için kullanılmaktadır. Kas kök hücrelerini kültürlenmek için genel inkübatör ayarları vücut sı- caklığına benzetilmektedir (Abdollahi ve ark., 2011; Urbani ve ark., 2012).

### **Hücrelerin Farklılaşma ve Olgunlaşma Aşaması**

Yapay et üretim prosesinin birinci aşaması (çoğalma) hücre kültürü kapları ve şişelerinde gerçekleştirildikten sonra ürün hücrenin çoğalmasına bağlı olarak verimi arttırmak ve kontrollü koşullar sağlamak üzere biyoreaktörlere aktarılma- lıdır (Nienow, 2006). Ayrıca farklılaşma ve olgunlaşma aşı- masında 3 boyutlu doku yapıları (hücre yüklü yapı iskeleleri) yer aldığından, doku perfüzyon biyoreaktörlerinin kullanıl- ması önerilmektedir. Bu tür biyoreaktörler, ortamı ya sürekli ya da sürekli olmayan bir şekilde iskele boyunca perfüze et- mek için bir pompalama sistemi kullanmaktadır (Gaspar ve ark., 2012). Tam *in vitro* kas dokusu oluşum süreci için ge- rekli olan yapı iskelesi malzemesi türü canlı hücrelerin *in vivo* ortamını taklit eden üç boyutlu (3B) bir yapıdır - hücre dışı matris (ECM). Bu malzeme mekanik destek sağlar ve hatta doku yapısının potansiyel vaskülarizasyonunu sağlayabilir. Bu nedenle iskele, hücresel tarımın temel bileşenlerinden bi- rini temsil eder. İskele malzemeleri, hücre bağlanması ve bü- yümesi için bir yüzey oluşturarak hücre genişlemesini ve farklılaşmasını destekleyen entegre bir ağ sağlar. Bu göze- nekli ağ, hücre metabolik fonksiyonlarını sürdürmek ve nek- rozu önlemek için oksijen ve besinlerin akışının yanı sıra atıkların uzaklaştırılmasına izin vererek orta difüzyonu en üst düzeye çıkarır. Yapay et için 3D biyobaskı teknolojisi ise uy- gun bir biyomateryal olup aynı anda basılabilir ve basılan

hücreler için iskele görevi görür (Tuomisto ve Mattos, 2011; Handral ve ark., 2020).

Ayrıca yapay et üretimini izlemek için sensör sistemlerinin uygulanması, kontrol ve kültürlenme sürecinin optimize edil- mesine, ortam kullanımından tasarruf edilmesine ve bütün için genel maliyet azalmasına olanak sağlayabileceğinden, bu biyolojik süreç üretim ölçeğinde son derece faydalı olabilir. Çevre parametrelerini, sıcaklık, basınç, akış hızı, viskozite ve benzeri bileşenler oluşturmaktadır. Ayrıca biyolojik ve kim- yasal özellikler de (büyüme oranı, biyokütle, hücre hücrelerin ve ortamın morfolojisi, canlılığı, besin maddelerinin ve me- tabolitlerin konsantrasyonu) bu şekilde takip edilebilmekte- dir. Örneğin ortamın pH'sı takip edilerek hücre büyüme hızı ve metabolizması ile ilgili bilgiler edinilebilir. Çünkü hayvan hücre kültürü için en uygun pH ~7,4'tür. Optimumdan 0,1 pH birimindeki küçük bir değişiklik bile hücre canlılığı ve bü- yüme hızı üzerinde aşırı bir etkiye sahip olabilir. Biyoreakt- örlerde pH tipik olarak elektrokimyasal ve optik sensörler kullanılarak izlenir (Beutel ve Henkel 2011; O'Mara ve ark., 2018). pH'ın yanı sıra O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub>'de yukarıda belirtildiği gibi tüm hücre kültürü prosesleri için çok önemli parametreler ol- duğundan biyoreaktörler içine entegre edilmektedir (Potyriailo ve ark., 2011). Geleneksel et endüstrisi, farklı et türlerinin ka- lite ve güvenlik değerlendirmesi için çeşitli sensör teknikleri uygulamaktadır. Bundan dolayı sensörlerin düzenli bakımı, yüzeylerinin sterilizasyonu büyük önem taşımaktadır.

Görüntüleme sisteminin kullanılması ise, hücre kültürü hak- kında canlılık, canlı hücre yoğunluğu, toplam hücre yoğun- luğu, hücre sağlığı ve hücre fenotip (morfoloji ile ilgili) gibi çok çeşitli verilerin toplanmasını sağlar (Jensen 2013; Cole 2014; Shen ve ark., 2018).

### **Yapay Etin Pazar Kabul Edilebilirliği, Uygulanan Yönetmelikler ve Geleceği**

Yapay etin farklı biçimleri, doğası ve uygulanan teknolojiler ticari uygulamaları açısından hem engeller hem de avantajlar içermektedir. Avantajlar ve dezavantajları Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir. Genel itibarıyla avantajları ve dezavantajları konusunda bilim camiasında fikir birliği oluşmamıştır (Fer- nandes ve ark., 2021). Üreticiler açısından ise ürünler, seri üretim ve pazarın önemli bir bölümünü tedarik edebilecek ka- pasiteye sahip olmalıdır. Çünkü her ürün ideal olarak, kuru- lum maliyetlerini ve sektör için ilk riski azaltacak şekilde ha- reket eden mevcut altyapıda sınırlı değişikliklerle üretilebilir. Tüketicilerin, aşına oldukları mevcut bir ürüne benzer bir ürünü satın alma olasılıkları daha yüksektir. Bu nedenle, sa- tışa sunulmuş bir yapay etin geleneksel et ile rekabet edebil- mesi açısından görünüm ve tat başta olmak üzere tüketicilerin zihnindeki konumu yakından taklit etmesi veya yeniden oluş-

turması gerekir (Verbeke ve ark., 2010). Bundan dolayı yapay et için en önemli engel tüketici tarafından kabul edilebilirliktir. Kullanılan hücre kültürü yaklaşımları *in vitro* et geliştirmenin ilk aşamalarındadır ve teknolojinin ticari olarak sunulması en az 10-20 yıl uzaktadır (Mattick ve Allenby, 2013). Bu teknolojinin gerçekleştirilmesi için hükümet ve sanayi iş birlikleri tarafından önemli taahhütler ve yatırımlar gerekmektedir. Çünkü örneğin, insan tüketimi için yapılan ilk *in vitro* burgerin üretim maliyeti 335 000 USD'dir. Ek olarak, *in vitro* et işletmesi, bir dizi test edilmemiş teknolojiye sahip tamamen yeni tip bir üretim tesisinin inşasını gerektirecektir.

Bu, ticari kuruluşlar için önemli bir risk teşkil etmektedir ancak *in vitro* etin piyasaya çıkması durumunda tüketici tepkilerinin olumlu olduğu ve ürüne ilgi duyulduğu anlaşılmıştır (Goodwin ve Shoulders, 2013). Bir başka konu ise klonlanmış hayvanlardan elde edilen gıda ürünleri, ABD'de insan tüketimi için güvenli kabul edilirken, Avrupa Birliği'nde yasaklanmıştır. Ayrıca klonlama işlemi hala nispeten pahalıdır (Verzijden ve Lawyers, 2012).

**Tablo 2.** Yapay etin avantajları (Bhat ve ark., 2015; Bonny ve ark., 2015; Joshi ve Kumar 2015; Kumar ve ark., 2017; Van Eenennaam, 2017; Gaydhane ve ark., 2018)

**Table 2.** The advantages of artificial meat (Bhat ve ark., 2015; Bonny ve ark., 2015; Joshi ve Kumar 2015; Kumar ve ark., 2017; Van Eenennaam, 2017; Gaydhane ve ark., 2018)

<b>Tasarımı sağlıklıdır</b>	Yapay eti sağlıklı hale getirmek için kültür ortamı, yağ asidi ve besinlerin bileşimi değiştirilebilir. Örneğin, zararlı yağları omega-3 gibi sağlıklı yağlarla değiştirmek kardiyovasküler hastalıkları önleyebilir.
<b>Hızlı üretim</b>	Yapay etin kültürlenmesi sadece birkaç hafta sürer.
<b>Kaynak kullanımında azalma, çevre dostu</b>	Yapay et üretimi sera gazı emisyonunu, enerji kullanımını, toprak ve su kullanımını azaltabilir.
<b>Ağaçlandırma ve vahşi yaşam</b>	Arazi kullanımındaki azalma, arazinin yeniden ağaçlandırılması ve nesli tükenmekte olan türlerin restorasyonunu sağlar.
<b>Egzotik etin mevcudiyeti</b>	Yapay et üretimi için hayvanın kök hücrelerine ihtiyaç duyulduğundan, nesli tükenmekte olan hayvanlardan alınan hücreler veya hatta soyu tükenmiş hayvan hücresi örnekleri egzotik et üretmek için kullanılabilir.
<b>Vegan et</b>	Ahlaki ve sağlık sorunları nedeniyle vejeteryen olan insanlar, hayvanlar ölürülmeden üretilmediği için yapay et yiyebilirler.

**Tablo 3.** Yapay etin dezavantajları (Aydın, 2021)

**Table 3.** The disadvantages of artificial meat (Aydın, 2021)

<b>Kişisel endişeler</b>	Büyük ölçüde doğal olmama ve doğal lezzetin elde edilemeyeceği endişesi.
<b>Üretim sürecinin kontrolü</b>	Geleneksel et anatomik olarak çeşitli kasları içermektedir, bu bağlamda kök hücreler veya kas hücreleri ile kas liflerini yeniden üretmek oldukça titizlik gerektirmektedir.
<b>Obezite sorunu</b>	Üretilen etin geleneksel etten daha ucuz ve seri üretilmesinin daha kolay olduğu kanıtlandığı takdirde bazı araştırmacılar bunun aşırı tüketimi teşvik edebileceğini ve obezite ilgili sorunları artırabileceğini düşünmektedir.
<b>Toplumsal sorunlar</b>	Geçim kaynaklarına yönelik potansiyel bir tehdit olabileceği düşünülmektedir.
<b>Çevresel problemler</b>	Ekolojik dengenin bozulabileceği gibi varsayımlar söz konusudur.
<b>Etik kaygılar</b>	Hücre kültürü çalışmalarında hayvanlardan elde edilen serumların tercih edilmesi tüketim esnasında beslenme seçimine göre kişisel bir seçim olmakla birlikte serumların elde edilmesinde seri üretim ile birlikte daha çok hayvana zarar verilme ihtimalinin oluşması.

Geleneksel et ve yapay etin mevcut düzenleme çerçeveleri karşılaştırıldığında ise dikkate değer benzerlikler olduğu gözlemlenebilmektedir. Bunların başında hem hazırlık hem de paketleme aşamalarında (yapay et için paketleme aşaması henüz gerçekleşmemiş olsa da) her iki kategori için de gıda güvenliği kriterleri ve hijyen kurallarının yerine getirilmesi gerekmektedir. Ayrıca ülkeler ve kıtalar bazında gıda üzerine düzenleyici farklılıklar görülmektedir. Özellikle gelişmiş ülkelerde tüketiciler, herhangi bir hayvanın insan gıdası üretiminde kullanılması konusuna karşı durumdadır (Croney ve ark., 2012). Ayrıca artan insan nüfusu ile birlikte et talebi giderek artmakta, mevcut kaynaklar yaşanan iklim krizinin etkisi ile hızla azalmakta ve düzenleyici ortam daha karmaşık hale gelmektedir. Tüm bu koşullar altında geleneksel et üretiminin daha yüksek maliyetlere maruz kalması yani etin daha pahalı hale gelmesi muhtemeldir. Geleneksel etin fiyatı arttıkça ucuz alternatiflere olan talebin artacağı öngörülmektedir. *In vitro* kültürlenmiş etler pazara girmeden önce aşılması gereken hâlâ önemli teknolojik ve/veya düzenleyici engellere sahiptir. Bazı bilim adamları, ürünün asla ticarileşmeyeceğini iddia ederken, diğerleri et endüstrisinde devrim yaratacağını iddia etmektedir (Chiles, 2013). Ayrıca gelecek yıllarda geleneksel et üretiminin kalitesi, hayvan refahı ve sürdürülebilirlik üzerine iyileştirmeler yapılması ya da agroekolojik ürünlere ilgi duyan tüketicilerin, bu sistemlerin çıktılarına ilgi duyarak et tüketimini azaltmaları ve alternatif protein kaynakları alımlarını artırmaları da muhtemeldir. Tüm bu olasılıklar ve tekniklerin ortaya çıkması ve iyileştirilmesi halinde farklı sektörlerle hitap eden, rekabet ortamının arttığı farklı ürün ve ürün gruplarından oluşan karmaşık bir pazarın ortaya çıkacağı öngörülmektedir (Bonny ve ark., 2015).

## Sonuç

Sonuç olarak geleneksel et endüstrisi değişen bir pazarla karşı karşıyadır. Farklı tüketici grupları, mevcut et üretim uygulamalarında çeşitli değişiklikler talep etmektedir ve bu baskılardan herhangi birinin göz ardı edilmesinin sektör için zararlı olacağı düşünülmektedir. Yapay et teknolojileri, canlı bir hayvandan biyopsi alınarak ve bu kas parçasının, çoğalma yeteneğine sahip olan, dönüştürebilen kök hücreler aracılığıyla besin ve büyüme faktörlerinin sağlandığı uygun bir kültür ortamında üretilmektedir. Bu süreç boyunca hücreler, laboratuvarlarda yetiştirilen etin gelişimini sağlamak için uygun koşullarda tutulmaktadır. Dolayısıyla tüketicilerin çevresel sürdürülebilirlik, sağlık sorunları ve hayvan refahı gibi değişen taleplerini karşılamak için çığır açan teknikler ve teknolojiler kullanılmaktadır. Yine de bu ürünlerin pazara geniş ölçekte girebilmesi için aşılması gereken bazı engeller mevcuttur. Gelecekte pazara en uygun ürünler diğer ürünleri geride bırakacak ve et endüstrisinin geleceğini belirleyecektir. Hayvanla-

rın kullanıldığı geleneksel et üretiminin ise yapay etin getirildiği bazı endişeler ve dezavantajlar sebebiyle tamamen ortadan kaldırılmasının pek olası olmadığı düşünülmektedir. Ancak piyasanın iyileştirmeye gitmesi ise kaçınılmazdır.

## Etik Standart ile Uyumluluk

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Etik izin:** Araştırma niteliği bakımından etik izne tabii değildir.

**Finansal destek:** -

**Teşekkür:** -

**Açıklama:** -

## Kaynaklar

**Abdollahi, H., Harris, L.J., Zhang, P., McIlhenny, S., Srinivas, V., Tulenko, T., DiMuzio, P.J. (2011).** The role of hypoxia in stem cell differentiation and therapeutics. *Journal of Surgical Research*, 165(1), 112-117. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2009.09.057>

**Agovino, M., Casaccia, M., Ciommi, M., Ferrara, M., Marchesano, K. (2019).** Agriculture, climate change and sustainability: The case of EU-28. *Ecological Indicators*, 105, 525-543. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.064>

**Alexander, P., Brown, C., Arneith, A., Dias, C., Finnigan, J., Moran, D., Rounsevell, M.D. (2017).** Could consumption of insects, cultured meat or imitation meat reduce global agricultural land use? *Global Food Security*, 15, 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.04.001>

**Anomaly, J. (2020).** Cultured meat could prevent the next pandemic. *Animal Sentience*, 5(30), 5. <https://doi.org/10.51291/2377-7478.1633>

**Anonim (2021).** <https://www.alamy.com/infographic-explaining-the-process-of-producing-artificial-meat-without-killing-animals-image389151727.html> Contributor: Wirestock, Inc./Alamy Stock Photo.

**Asakura, A., Hirai, H., Kablar, B., Morita, S., Ishibashi, J., Piras, B.A., Rudnicki, M.A. (2007).** Increased survival of muscle stem cells lacking the MyoD gene after transplantation into regenerating skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(42), 16552-16557.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0708145104>

**Aydın, F. (2021).** Preservice science teachers perceptions of artificial meat in the context of socio-scientific issue. *International e-Journal of Educational Studies*, 5, 118-32. <https://doi.org/10.31458/iejcs.927717>

**Beutel, S., Henkel, S. (2011).** In situ sensor techniques in modern bioprocess monitoring. *Applied microbiology and biotechnology*, 91(6), 1493-1505. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3470-5>

**Bhat, Z.F., Kumar, S., Fayaz, H. (2015).** In vitro meat production: Challenges and benefits over conventional meat production. *Journal of integrative agriculture*, 14(2), 241-248. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60887-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60887-X)

**Bischoff, R. (1997).** Chemotaxis of skeletal muscle satellite cells. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 208(4), 505-515. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0177\(199704\)208:4<505::AID-AJA6>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0177(199704)208:4<505::AID-AJA6>3.0.CO;2-M)

**Bogliotti, Y.S., Wu, J., Vilarino, M., Okamura, D., Soto, D. A., Zhong, C., Belmonte, J.C.I. (2018).** Efficient derivation of stable primed pluripotent embryonic stem cells from bovine blastocysts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(9), 2090-2095. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716161115>

**Bonny, S.P., Gardner, G.E., Pethick, D.W., Hocquette, J.F. (2015).** What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry? *Journal of Integrative Agriculture*, 14(2), 255-263. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60888-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60888-1)

**Bredahl, L., Grunert, K.G., Fertin, C. (1998).** Relating consumer perceptions of pork quality to physical product characteristics. *Food Quality and Preference*, 9(4), 273-281. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(98\)00007-X](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(98)00007-X)

**Chal, J., Pourquié, O. (2017).** Making muscle: skeletal myogenesis in vivo and in vitro. *Development*, 144(12), 2104-2122. <https://doi.org/10.1242/dev.151035>

**Chiles, R.M. (2013).** If they come, we will build it: in vitro meat and the discursive struggle over future agrofood expectations. *Agriculture and Human Values*, 30(4), 511-523.

<https://doi.org/10.1007/s10460-013-9427-9>

**Choi, K.H., Lee, D.K., Kim, S.W., Woo, S.H., Kim, D.Y., Lee, C.K. (2019).** Chemically defined media can maintain pig pluripotency network in vitro. *Stem Cell Reports*, 13(1), 221-234. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.05.028>

**Choi, K.H., Yoon, J.W., Kim, M., Lee, H.J., Jeong, J., Ryu, M., Lee, C.K. (2021).** Muscle stem cell isolation and in vitro culture for meat production: A methodological review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 429-457. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12661>

**Choudhury, D., Tseng, T. W., Swartz, E. (2020).** The business of cultured meat. *Trends in Biotechnology*, 38(6), 573-577. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.02.012>

**Cole, R. (2014).** Live-cell imaging: The cell's perspective. *Cell Adhesion & Migration*, 8(5), 452-459. <https://doi.org/10.4161/cam.28348>

**Croney, C., Apley, M., Capper, J., Mench, J., Priest, S. (2012).** Bioethics Symposium: The ethical food movement: What does it mean for the role of science and scientists in current debates about animal agriculture? *Journal of Animal Science*, 90(5), 1570-1582. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4702>

**Day, K., Shefer, G., Shearer, A., Yablonka-Reuveni, Z. (2010).** The depletion of skeletal muscle satellite cells with age is concomitant with reduced capacity of single progenitors to produce reserve progeny. *Developmental biology*, 340(2), 330-343. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.01.006>

**DeFoliart, G.R. (1992).** Insects as human food: Gene DeFoliart discusses some nutritional and economic aspects. *Crop Protection*, 11(5), 395-399. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(92\)90020-6](https://doi.org/10.1016/0261-2194(92)90020-6)

**Derossi, A., Bhandari, B., van Bommel, K., Noort, M., Severini, C. (2021).** Could 3D food printing help to improve the food supply chain resilience against disruptions such as caused by pandemic crises?. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(9), 4338-4355.

**Ding, S., Swennen, G.M., Messmer, T., Gagliardi, M., Molin, D.G., Li, C., Post, M.J. (2018).** Maintaining bovine

satellite cells stemness through p38 pathway. *Scientific Reports*, 8(1), 1-12.

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-28746-7>

**Ding, S., Wang, F., Liu, Y., Li, S., Zhou, G., Hu, P. (2017).** Characterization and isolation of highly purified porcine satellite cells. *Cell Death Discovery*, 3(1), 1-11.

<https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.3>

**Djialov, M., Knežić, T., Podunavac, I., Živojević, K., Radonic, V., Knežević, N.Ž., Gadjanski, I. (2021).** Cultivating Multidisciplinary: Manufacturing and Sensing Challenges in Cultured Meat Production. *Biology*, 10(3), 204.

<https://doi.org/10.3390/biology10030204>

**Doumit, M.E., Merkel, R.A. (1992).** Conditions for isolation and culture of porcine myogenic satellite cells. *Tissue and Cell*, 24(2), 253-262.

[https://doi.org/10.1016/0040-8166\(92\)90098-R](https://doi.org/10.1016/0040-8166(92)90098-R)

**Egbert, R., Borders, C. (2006).** Achieving success with meat analogs. *Food Technology (Chicago)*, 60(1), 28-34.

**Elzerman, H. (2006).** Substitution of meat by NPFs: Sensory properties and contextual factors. *Environment and Policy*, 45, 116.

**Fernandes, A.M., Teixeira, O.S., Revillion, J.P., Souza, A. (2021).** Panorama and ambiguities of cultured meat: an integrative approach. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-11.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1885006>

**Fish, K.D., Rubio, N.R., Stout, A.J., Yuen, J.S., Kaplan, D.L. (2020).** Prospects and challenges for cell-cultured fat as a novel food ingredient. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 53-67.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.005>

**Fox, E.M., Leonard, N., Jordan, K. (2011).** Molecular diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from Irish dairy farms. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(5), 635-641.

<https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0806>

**Fratzl, P. (2008).** Collagen: Structure and mechanics, an introduction. In *Collagen* (pp. 1-13): Springer. ISBN: 978-0-387-73906-9

[https://doi.org/10.1007/978-0-387-73906-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-0-387-73906-9_1)

**Gaspar, D.A., Gomide, V., Monteiro, F.J. (2012).** The role of perfusion bioreactors in bone tissue engineering. *Biomatter*, 2(4), 167-175.

<https://doi.org/10.4161/biom.22170>

**Gaydhane, M.K., Mahanta, U., Sharma, C.S., Khandelwal, M., Ramakrishna, S. (2018).** Cultured meat: state of the art and future. *Biomanufacturing Reviews*, 3(1), 1-10.

<https://doi.org/10.1007/s40898-018-0005-1>

**Gayraud-Morel, B., Chrétien, F., Flamant, P., Gomès, D., Zammit, P.S., Tajbakhsh, S. (2007).** A role for the myogenic determination gene *Myf5* in adult regenerative myogenesis. *Developmental Biology*, 312(1), 13-28.

<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.08.059>

**Gibson, M.C., Schultz, E. (1983).** Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, 6(8), 574-580.

<https://doi.org/10.1002/mus.880060807>

**Goodwin, J. N., Shoulders, C.W. (2013).** The future of meat: A qualitative analysis of cultured meat media coverage. *Meat Science*, 95(3), 445-450.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.027>

**Grinnell, F. (2000).** Fibroblast–collagen–matrix contraction: growth-factor signalling and mechanical loading. *Trends in Cell Biology*, 10(9), 362-365.

[https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(00\)01802-X](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(00)01802-X)

**Guilak, F., Cohen, D.M., Estes, B.T., Gimble, J.M., Liedtke, W., Chen, C.S. (2009).** Control of stem cell fate by physical interactions with the extracellular matrix. *Cell Stem Cell*, 5(1), 17-26.

<https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.06.016>

**Guilbert, L., Iscove, N. (1976).** Partial replacement of serum by selenite, transferrin, albumin and lecithin in haemopoietic cell cultures. *Nature*, 263(5578), 594-595.

<https://doi.org/10.1038/263594a0>

**Ham, R.G. (1965).** Clonal growth of mammalian cells in a chemically defined, synthetic medium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 53(2), 288.

<https://doi.org/10.1073/pnas.53.2.288>

- Hoek, A.C., Luning, P.A., Stafleu, A., de Graaf, C. (2004).** Food-related lifestyle and health attitudes of Dutch vegetarians, non-vegetarian consumers of meat substitutes, and meat consumers. *Appetite*, 42(3), 265-272. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2003.12.003>
- Ismail, B.P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., Brackenridge, A. (2020).** Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers*, 10(4), 53-63. <https://doi.org/10.1093/af/vfaa040>
- Jensen, E.C. (2013).** Overview of live-cell imaging: requirements and methods used. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 296(1), 1-8. <https://doi.org/10.1002/ar.22554>
- Joshi, V., Kumar, S. (2015).** Meat Analogues: Plant based alternatives to meat products-A review. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 5(2), 107-119. <https://doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00001.5>
- Handral, H.K., Tay, S.H., Chan, W.W., Choudhury, D. (2020).** 3D Printing of cultured meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(1), 272-281.
- Kadim, I.T., Mahgoub, O., Baqir, S., Faye, B., Purchas, R. (2015).** Cultured meat from muscle stem cells: A review of challenges and prospects. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(2), 222-233. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60881-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60881-9)
- Kanatous, S.B., Mammen, P.P. (2010).** Regulation of myoglobin expression. *Journal of Experimental Biology*, 213(16), 2741-2747. <https://doi.org/10.1242/jeb.041442>
- Keefe, A.C., Lawson, J.A., Flygare, S.D., Fox, Z.D., Colasanto, M.P., Mathew, S.J., Kardon, G. (2015).** Muscle stem cells contribute to myofibres in sedentary adult mice. *Nature Communications*, 6(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/ncomms8087>
- Kuang, S., Kuroda, K., Le Grand, F., Rudnicki, M.A. (2007).** Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell*, 129(5), 999-1010. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.044>
- Kumar, P., Chatli, M., Mehta, N., Singh, P., Malav, O., Verma, A.K. (2017).** Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5), 923-932. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.939739>
- Langelaan, M.L., Boonen, K.J., Polak, R.B., Baaijens, F.P., Post, M.J., van der Schaft, D.W. (2010).** Meet the new meat: tissue engineered skeletal muscle. *Trends in Food Science & Technology*, 21(2), 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.11.001>
- Listrat, A., Leuret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Bugeon, J. (2016).** How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal*, 2016, 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
- Machida, S., Spangenburg, E., Booth, F. (2004).** Primary rat muscle progenitor cells have decreased proliferation and myotube formation during passages. *Cell Proliferation*, 37(4), 267-277. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2004.00311.x>
- Mattick, C., Allenby, B. (2013).** The future of meat. *Issues in Science and Technology*, 30(1), 64-70.
- Mattick, C.S. (2018).** Cellular agriculture: The coming revolution in food production. *Bulletin of the Atomic Scientists*, 74(1), 32-35. <https://doi.org/10.1080/00963402.2017.1413059>
- Mau, M., Oksbjerg, N., Rehfeldt, C. (2008).** Establishment and conditions for growth and differentiation of a myoblast cell line derived from the semimembranosus muscle of newborn piglets. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 44(1-2), 1-5. <https://doi.org/10.1007/s11626-007-9069-6>
- Mc Clements, D.J. (2020).** Future foods: How modern science is transforming the way we eat. *Food & Function* 11(3) 1933-1945. <https://doi.org/10.1039/C9FO02076D>
- Mc Leod, A. (2011).** World livestock 2011-livestock in food security. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*. <http://www.fao.org/3/i2373e/i2373e.pdf>
- Nienow, A.W. (2006).** Reactor engineering in large scale animal cell culture. *Cytotechnology*, 50(1-3), 9. <https://doi.org/10.1007/s10616-006-9005-8>

- O'Mara, P., Farrell, A., Bones, J., Twomey, K. (2018). Staying alive! Sensors used for monitoring cell health in bioreactors. *Talanta*, 176, 130-139.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.07.088>
- Ong, S., Choudhury, D., Naing, M.W. (2020). Cell-based meat: current ambiguities with nomenclature. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 223-231.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.010>
- Pereira, P.M.d.C.C., Vicente, A.F.d.R.B. (2013). Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*, 93(3), 586-592.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.018>
- Post, M.J. (2012). Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects. *Meat Science*, 92(3), 297-301.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.008>
- Post, M.J., Levenberg, S., Kaplan, D.L., Genovese, N., Fu, J., Bryant, C.J., Moutsatsou, P. (2020). Scientific, sustainability and regulatory challenges of cultured meat. *Nature Food*, 1(7), 403-415.  
<https://doi.org/10.1038/s43016-020-0112-z>
- Potyrailo, R.A., Surman, C., Monk, D., Morris, W.G., Wortley, T., Vincent, M., Gach, G. (2011). RFID sensors as the common sensing platform for single-use biopharmaceutical manufacturing. *Measurement Science and Technology*, 22(8), 082001.  
<https://doi.org/10.1088/0957-0233/22/8/082001>
- Purslow, P.P. (2020). The structure and role of intramuscular connective tissue in muscle function. *Frontiers in Physiology*, 11, 495.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00495>
- Redshaw, Z., McOrist, S., Loughna, P. (2010). Muscle origin of porcine satellite cells affects in vitro differentiation potential. *Cell Biochemistry and Function*, 28(5), 403-411.  
<https://doi.org/10.1002/cbf.1670>
- Richler, C., Yaffe, D. (1970). The in vitro cultivation and differentiation capacities of myogenic cell lines. *Developmental Biology*, 23(1), 1-22.  
[https://doi.org/10.1016/S0012-1606\(70\)80004-5](https://doi.org/10.1016/S0012-1606(70)80004-5)
- Rischer, H., Szilvay, G.R., Oksman-Caldentey, K.-M. (2020). Cellular agriculture—industrial biotechnology for food and materials. *Current opinion in biotechnology*, 61, 128-134.  
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.12.003>
- Schabel, H.G. (2010). Forest insects as food: A global review. *Forest insects as food: Humans Bite Back*, Food & Agriculture Org. ISBN: 978-92-5-106488-7.
- Sexton, A.E., Garnett, T., Lorimer, J. (2019). Framing the future of food: The contested promises of alternative proteins. *Environment and Planning E: Nature and Space*, 2(1), 47-72.  
<https://doi.org/10.1177/2514848619827009>
- Sha, L., Xiong, Y.L. (2020). Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 51-61.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.022>
- Shahini, A., Vydiam, K., Choudhury, D., Rajabian, N., Nguyen, T., Lei, P., Andreadis, S.T. (2018). Efficient and high yield isolation of myoblasts from skeletal muscle. *Stem Cell Research*, 30, 122-129.  
<https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.05.017>
- Shen, N., Riedl, J.A., Berrio, D.A.C., Davis, Z., Monaghan, M.G., Layland, S.L., Schenke-Layland, K. (2018). A flow bioreactor system compatible with real-time two-photon fluorescence lifetime imaging microscopy. *Biomedical Materials*, 13(2), 024101.  
<https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa9b3c>
- Specht, L., Scientist, S. (2020). An analysis of culture medium costs and production volumes for cultivated meat. *The Good Food Institute: Washington, DC, USA*.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., Rosales, M., de Haan, C. (2006). *Livestock's long shadow: environmental issues and options*: Food & Agriculture Org. ISBN: 978-92-5-106488-7
- Sürek, E., Pinar, U. (2020). Geleceğin alternatif protein kaynağı: Yapay et. *Akademik Gıda*, 18(2), 209-216.  
<https://doi.org/10.24323/akademik-gida.758840>
- Tuomisto, H.L., Teixeira de Mattos, M.J. (2011). Environmental impacts of cultured meat production. *Environmental Science & Technology*, 45(14), 6117-6123.  
<https://doi.org/10.1021/es200130u>
- Urbani, L., Piccoli, M., Franzin, C., Pozzobon, M., De Coppi, P. (2012). Hypoxia increases mouse satellite cell clone proliferation maintaining both in vitro and in vivo heterogeneity and myogenic potential. *PLoS ONE*, 7(11), e49860.



<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049860>

**Van Boeckel, T.P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., Criscuolo, N.G., Laxminarayan, R. (2019).** Global trends in antimicrobial resistance in animals in low-and middle-income countries. *Science*, 365(6459).

<https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>

**Van Eenennaam, A.L. (2017).** Genetic modification of food animals. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 27-34.

<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.10.007>

**Vandeburgh, H., Shansky, J., Del Tatto, M., Chromiak, J. (1999).** Organogenesis of skeletal muscle in tissue culture. In *Tissue Engineering Methods and Protocols* (pp. 217-225): Springer. ISBN: 978-1-59259-602-7

<https://doi.org/10.1385/0-89603-516-6:217>

**Vasileska, A., Rechkoska, G. (2012).** Global and regional food consumption patterns and trends. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 44, 363-369.

<https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2012.05.040>

**Verbeke, W., Pérez-Cueto, F.J., de Barcellos, M.D., Krystallis, A., Grunert, K.G. (2010).** European citizen and consumer attitudes and preferences regarding beef and pork. *Meat Science*, 84(2), 284-292.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.05.001>

**Verbeke, W., Van Wezemael, L., de Barcellos, M.D., Kügler, J.O., Hocquette, J.-F., Ueland, Ø., Grunert, K.G.**

**(2010).** European beef consumers' interest in a beef eating-quality guarantee: insights from a qualitative study in four EU countries. *Appetite*, 54(2), 289-296.

<https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.11.013>

**Verhagen, J.H., Fouchier, R.A., Lewis, N. (2021).** Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses at the Wild-Domestic Bird Interface in Europe: Future Directions for Research and Surveillance. *Viruses*, 13(2), 212.

<https://doi.org/10.3390/v13020212>

**Verkerk, M., Tramper, J., Van Trijp, J., Martens, D. (2007).** Insect cells for human food. *Biotechnology Advances*, 25(2), 198-202.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.004>

**Verzijden, K., Lawyers, A. (2012).** Update on cloning in relation to foot production. *EFSA Journal* 10(7), 2794.

**Wang, Y.X., Dumont, N.A., Rudnicki, M.A. (2014).** Muscle stem cells at a glance. *Journal of Cell Science*, 127(21), 4543-4548.

<https://doi.org/10.1242/jcs.151209>

**Wilschut, K.J., Haagsman, H.P., Roelen, B.A. (2010).** Extracellular matrix components direct porcine muscle stem cell behavior. *Experimental Cell Research*, 316(3), 341-352.

<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.10.014>

**Yin, H., Price, F., Rudnicki, M.A. (2013).** Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiological Reviews*, 93(1), 23-67.

# FOOD and HEALTH

Protein Carbohydrate EPA+DHA  
Vegetables Seafood Temperature  
Toxins Quality Additives  
Moisture Life Antioxidant  
Vitamin  
Chemistry  
Antibiotic  
Food  
Health  
Nutrition  
Science  
Sensory  
Milk Safety  
Milk  
Antimicrobial  
Grain  
Onion  
Bread  
Supplement  
Meat Omega-3  
Control Spoilage  
Dietary Microbiology  
Packaging  
Processing  
Viral  
HACCP  
Sugar  
Pasture  
Fruit  
Antimicrobial  
Bread  
Supplement

FOOD  
and  
HEALTH  
E-ISSN 2602-2834

## Instructions to Authors

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE), the European Association of Science Editors (EASE), the International Council of Medical Journal Editors (ICMJE), and the National Information Standards Organization (NISO). The journal conforms to the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (<https://doaj.org/bestpractice>).

Originality, high scientific quality, and citation potential are the most important criteria for a manuscript to be accepted for publication. Manuscripts submitted for evaluation should not have been previously presented or already published in an electronic or printed medium. The journal should be informed of manuscripts that have been submitted to another journal for evaluation and rejected for publication. The submission of previous reviewer reports will expedite the evaluation process. Manuscripts that have been presented in a meeting should be submitted with detailed information on the organization, including the name, date, and location of the organization.

Manuscripts submitted to “**Food and Health**” will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all submissions.

An approval of research protocols by the Ethics Committee in accordance with international agreements (World Medical Association Declaration of Helsinki “Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects,” amended in October 2013, [www.wma.net](http://www.wma.net)) is required for experimental, clinical, and drug studies. If required, ethics committee reports or an equivalent official document will be requested from the authors.

For manuscripts concerning experimental research on humans, a statement should be included that shows the written informed consent of patients and volunteers was obtained following a detailed explanation of the procedures that they may undergo. Information on patient consent, the name of the ethics committee, and the ethics committee approval number should also be stated in the Materials and Methods section of the manuscript. It is the authors’ responsibility to carefully protect the patients’ anonymity. For photographs that may reveal the identity of the patients, signed releases of the patient or of their legal representative should be enclosed.

“**Food and Health**” journal requires experimental research studies on vertebrates or any regulated invertebrates to comply with relevant institutional, national and/or international guidelines. The journal supports the principles of Basel Declaration (<https://www.basel-declaration.org/>) and the guidelines published

by the International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) (<http://iclas.org/>). Authors are advised to clearly state their compliance with relevant guidelines.

“**Food and Health**” journal advises authors to comply with the IUCN Policy Statement on Research Involving Species at Risk of Extinction and the Convention on the Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora for research involving plants.

All submissions are screened by similarity detection software.

In the event of alleged or suspected research misconduct, e.g., plagiarism, citation manipulation, and data falsification/fabrication, the Editorial Board will follow and act in accordance with COPE guidelines.

Each individual listed as an author should fulfill the authorship criteria recommended by the ICMJE. The ICMJE recommends that authorship be based on the following 4 criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
3. Final approval of the version to be published; AND
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of the work he/she has done, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific other parts of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. Those who do not meet all four criteria should be acknowledged on the title page of the manuscript.

“**Food and Health**” journal requires corresponding authors to submit a signed and scanned version of the authorship contribution form (available for download through <https://dergipark.org.tr/tr/download/journal-file/19582>) during the initial submission process in order to act appropriately on authorship rights and to prevent ghost or honorary authorship. If the editorial board suspects a case of “gift authorship,” the submission will be rejected without further review. As part of the submission of the manuscript, the corresponding author should also send a short statement declaring that he/she accepts to undertake all the responsibility for authorship during the submission and review stages of the manuscript.

“**Food and Health**” journal requires and encourages the authors

# FOOD and HEALTH



FOOD  
and  
HEALTH  
E-ISSN 2602-2834

and the individuals involved in the evaluation process of submitted manuscripts to disclose any existing or potential conflicts of interests, including financial, consultant, and institutional, that might lead to potential bias or a conflict of interest. Any financial grants or other support received for a submitted study from individuals or institutions should be disclosed to the Editorial Board. To disclose a potential conflict of interest, the ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form should be filled in and submitted by all contributing authors. Cases of a potential conflict of interest of the editors, authors, or reviewers are resolved by the journal's Editorial Board within the scope of COPE and ICMJE guidelines.

The Editorial Board of the journal handles all appeal and complaint cases within the scope of COPE guidelines. In such cases, authors should get in direct contact with the editorial office regarding their appeals and complaints. When needed, an ombudsperson may be assigned to resolve cases that cannot be resolved internally. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all appeals and complaints.

"Food and Health" journal require each submission to be accompanied by a Copyright Transfer Form (available for download at <https://dergipark.org.tr/tr/download/journal-file/19582>). When using previously published content, including figures, tables, or any other material in both print and electronic formats, authors must obtain permission from the copyright holder. Legal, financial and criminal liabilities in this regard belong to the author(s).

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in "Food and Health" journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, the editorial board, or the publisher; the editors, the editorial board, and the publisher disclaim any responsibility or liability for such materials. The final responsibility in regard to the published content rests with the authors.

## MANUSCRIPT PREPARATION

The manuscripts should be prepared in accordance with ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2017 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>). Authors are required to prepare manuscripts in accordance with the CONSORT guidelines for randomized research studies, STROBE guidelines for observational studies, STARD guidelines for studies on diagnostic accuracy, PRISMA guidelines for systematic reviews and meta-analysis, ARRIVE guidelines for experimental animal studies, TREND guidelines for non-randomized studies, and COREQ guidelines for qualitative studies.

Manuscripts can only be submitted through the journal's online manuscript submission and evaluation system, available at <http://dergipark.gov.tr/journal/1646/submission/start>.

Manuscripts submitted to the journal will first go through a technical evaluation process where the editorial office staff will ensure that the manuscript has been prepared and submitted in accordance with the journal's guidelines. Submissions that do not conform to the journal's guidelines will be returned to the submitting author with technical correction requests.

Authors are required to submit the following forms during the initial submission.

- Copyright Transfer Form,
- Author Contributions Form (one form for copyright and contributions available in <https://dergipark.org.tr/tr/download/journal-file/19582>)
- ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form (should be filled in by all contributing authors) Download this form from <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/> and save. Send this to the journal with your other files.

## Preparation of the Manuscript

Manuscripts prepared in Microsoft Word must be converted into a single file before submission. Please start with the title page and insert your graphics (schemes, figures, etc.), tables in the main text.

Title (should be clear, descriptive, and not too long)

Full Name(s) and Surname (s) of author(s)

ORCID ID for all author (s) (<http://orcid.org/>)

Address (es) of affiliations and e-mail (s)

Complete correspondence address and e-mail

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items

Introduction

Material and Methods

Results and Discussion

Conclusion

Compliance with Ethical Standard

**Conflict of interests:** When you (or your employer or sponsor) have a financial, commercial, legal or professional relationship with other organizations or people working with them, a conflict of interest may arise that may affect your research. A full description is required when you submit your article to a journal.

**Ethics committee approval:** Ethical committee approval is routinely requested from every research article based on experiments on living organisms and humans. Sometimes, studies from different countries may not have the approval of the ethics committee, and the authors may argue that they do not need the approval of their work. In such situations, we consult COPE's "Guidance for Editors: Research,

# FOOD and HEALTH



**FOOD  
and  
HEALTH**  
E-ISSN 2602-2834

Audit and Service Evaluations” document and evaluate the study at the editorial board and decide whether or not it needs approval.

**Funding:** If there is any, the institutions that support the research and the agreements with them should be given here.

**Acknowledgment:** Acknowledgments allow you to thank people and institutions who assist in conducting the research.

**Disclosure:** Explanations about your scientific / article work that you consider ethically important.

## References

**Tables (all tables given in the main text)**

**Figures (all figures/photos given in the main text)**

## Manuscript Types

**Original Articles:** This is the most important type of article since it provides new information based on original research. **The main text should contain “Introduction”, “Materials and Methods”, “Results and Discussion” and “Conclusion” sections.**

Statistical analysis to support conclusions is usually necessary. Statistical analyses must be conducted in accordance with international statistical reporting standards. Information on statistical analyses should be provided with a separate subheading under the Materials and Methods section and the statistical software that was used during the process must be specified.

Units should be prepared in accordance with the International System of Units (SI).

**Review Articles:** Reviews prepared by authors who have extensive knowledge on a particular field and whose scientific background has been translated into a high volume of publications with a high citation potential are welcomed. These authors may even be invited by the journal. Reviews should describe, discuss, and evaluate the current level of knowledge of a topic in researches and should guide future studies. The main text should start with Introduction and end with Conclusion sections. Authors may choose to use any subheading in between those sections.

**Short Communication:** This type of manuscript discusses important parts, overlooked aspects, or lacking parts of a previously published article. Articles on subjects within the scope of the journal that might attract the readers’ attention, particularly educative cases, may also be submitted in the form of a “Short Communication” Readers can also present their comments on the published manuscripts in the form of a “Short Communication”. **The main text should contain “Introduction”, “Materials and Methods”, “Results and Discussion” and “Conclusion” sections.**

**Table 1.** Limitations for each manuscript type

Type of manuscript	Page	Abstract word limit	Reference limit
Original Article	≤25	180	40
Review Article	no limits	180	60
Short Communication	≤5	150	20

## Tables

Tables should be included in the main document, presented after the reference list, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations used in the tables should be defined below the tables by footnotes (even if they are defined within the main text). Tables should be created using the “insert table” command of the word processing software and they should be arranged clearly to provide easy reading. Data presented in the tables should not be a repetition of the data presented within the main text but should be supporting the main text.

## Figures and Figure Legends

Figures, graphics, and photographs should be submitted in main document WORD files (in JPEG or PNG format) through the submission system. Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blinded. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. To prevent delays in the evaluation process, all submitted figures should be clear in resolution and large (minimum dimensions: 100 × 100 mm). Figure legends should be listed at the end of the main document.

All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition.

When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company (including the state if in USA), should be provided in parentheses in the following format: “Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)”

All references, tables, and figures should be referred to within the main text, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text.

Limitations, drawbacks, and the shortcomings of original articles should be mentioned in the Discussion section before the conclusion paragraph.

# FOOD and HEALTH



**FOOD  
and  
HEALTH**  
E-ISSN 2602-2834

## References

Reference System is APA 6<sup>th</sup> Edition

### In-text Citation with APA

The APA style calls for three kinds of information to be included in in-text citations. The **author's last name** and the work's **date of publication** must always appear, and these items must match exactly the corresponding entry in the references list. The third kind of information, the page number, appears only in a citation to a direct quotation.

....(Crockatt, 1995).

### Direct quote from the text

"The potentially contradictory nature of Moscow's priorities surfaced first in its policies towards East Germany and Yugoslavia," (Crockatt, 1995, p. 1).

### Major Citations for a Reference List in Table 2.

Note: All second and third lines in the APA Bibliography should be indented.

## REVISIONS

When submitting a revised version of a paper, the author must submit a detailed "Response to the reviewers" that states point by point how each issue raised by the reviewers has been covered and where it can be found (each reviewer's comment, followed by the author's reply and line numbers where the changes have been made) as well as an annotated copy of the main document. Revised manuscripts must be submitted within 30 days from the date of the decision letter. If the revised version of the manuscript is not submitted within the allocated time, the revision option may be canceled. If the submitting author(s) believe that additional time is required, they should request this extension before the initial 30-day period is over.

Accepted manuscripts are copy-edited for grammar, punctuation, and format. Once the publication process of a manuscript is completed, it is published online on the journal's webpage as an ahead-of-print publication before it is included in its scheduled issue. A PDF proof of the accepted manuscript is sent to the corresponding author and their publication approval is requested within 2 days of their receipt of the proof.

Table 2.

Material Type	Reference List/Bibliography
A book in print	Baxter, C. (1997). <i>Race equality in health care and education</i> . Philadelphia: Ballière Tindall, p. 110-115, ISBN 4546465465
A book chapter, print version	Haybron, D.M. (2008). Philosophy and the science of subjective well-being. In M. Eid & R. J. Larsen (Eds.), <i>The science of subjective well-being</i> (p. 17-43). New York, NY: Guilford Press. ISBN 4546469999
An eBook	Millbower, L. (2003). <i>Show biz training: Fun and effective business training techniques from the worlds of stage, screen, and song</i> . p. 92-90. Retrieved from <a href="http://www.amacombooks.org/">http://www.amacombooks.org/</a> (accessed 10.10.2015).
An article in a print journal	Carter, S., Dunbar-Odom, D. (2009). The converging literacies center: An integrated model for writing programs. <i>Kairos: A Journal of Rhetoric, Technology, and Pedagogy</i> , 14(1), 38-48.
Preview article in a journal with DOI	Gaudio, J.L., Snowden, C.T. (2008). Spatial cues more salient than color cues in cotton-top tamarins ( <i>Saguinus oedipus</i> ) reversal learning. <i>Journal of Comparative Psychology</i> , <a href="https://doi.org/10.1037/0735-7036.122.4.441">https://doi.org/10.1037/0735-7036.122.4.441</a>
Websites - professional or personal sites	<i>The World Famous Hot Dog Site</i> . (1999, July 7). Retrieved January 5, 2008, from <a href="http://www.xroads.com/~tcs/hotdog/hotdog.html">http://www.xroads.com/~tcs/hotdog/hotdog.html</a> (accessed 10.10.2015).
Websites - online government publications	U.S. Department of Justice. (2006, September 10). Trends in violent victimization by age, 1973-2005. Retrieved from <a href="http://www.ojp.usdoj.gov/bjs/glance/vage.htm">http://www.ojp.usdoj.gov/bjs/glance/vage.htm</a> (accessed 10.10.2015).
Photograph (from book, magazine or webpage)	Close, C. (2002). <i>Ronald</i> . [photograph]. Museum of Modern Art, New York, NY. Retrieved from <a href="http://www.moma.org/collection/object.php?object_id=108890">http://www.moma.org/collection/object.php?object_id=108890</a> (accessed 10.10.2015).
Artwork - from library database	Clark, L. (c.a. 1960's). <i>Man with Baby</i> . [photograph]. George Eastman House, Rochester, NY. Retrieved from ARTstor.
Artwork - from website	Close, C. (2002). <i>Ronald</i> . [photograph]. Museum of Modern Art, New York. Retrieved from <a href="http://www.moma.org/collection/browse_results.php?object_id=108890">http://www.moma.org/collection/browse_results.php?object_id=108890</a> (accessed 10.10.2015).