

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 47

SAYI / NUMBER : 3

YIL / YEAR : 2022

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör/ Editor-in Chief	Danışma Kurulu / Advisory Board
ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey	Akköse, Ahmet; <i>Atatürk University, Turkey</i> Ank, Gökşen G.; <i>Balıkesir University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Baysal, A. Handan; <i>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey</i> Bezirtzoğlu, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Bozkır, Hamza; <i>Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey</i> Çilak, Gizem Ö.; <i>Hittit University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> El Soda, <i>Morsi University of Alexandria, Egypt</i> Erbay, Zafer; <i>Adana Bilim ve Teknik University, Turkey</i> Evren, Mustafa; <i>Ondokuz Mayıs University, Turkey</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Gerçekaslan, K. Emre; <i>Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Güneşer, Onur; <i>Uşak University, Turkey</i> Güven, Esra Ç.; <i>İstanbul Teknik University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Hoşoğlu, Müge I.; <i>Gebze Teknik University, Turkey</i> Hüner, İrem D.; <i>Trakya University, Turkey</i> Kahraman, Kevser; <i>Abdullah Gül University, Turkey</i> Karaca, Hakan; <i>Pamukkale University, Turkey</i> Koçan, Deniz; <i>Aksaray University, Turkey</i> Konuşkan, Dilşat B.; <i>Mustafa Kemal University, Turkey</i> Kuleaşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Meral, Raciye; <i>Yüzüncü Yıl University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muştaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Mutlu, Türkan K.; <i>Çukurova University, Turkey</i> Öztürk, Fatma; <i>Kâtip Çelebi University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> San, Ferda; <i>Cumburiyet University, Turkey</i> Şengün, İlkin Y.; <i>Ege University, Turkey</i> Soyer, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Toğay, Sine Ö.; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Gökçe P.; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yolaçaner, Elif; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Zorba, Murat; <i>Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey</i>
Editörler / Editors AVCI, Ayşe; <i>Sakarya University, Turkey</i> ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> DEMİRKESEN, Mert; <i>İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey</i> DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> EYİLER, Esen; <i>Akdeniz University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i> TORUN, Mehmet; <i>Akdeniz University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>İstanbul University, Turkey</i> YILMAZ, Merve Silanır; <i>Bitlis Eren University, Turkey</i>	
Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org	
Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli	
Hazırlayan / Prepared Sim Ajans 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
Yayın Tarihi / Publication Date 15 06 2022	

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Aktaş, H., Çetin, B. *Investigation of starter culture properties and antifungal activities of pickle-derived lactic acid bacteria / Turşu kökenli laktik asit bakterilerinin starter kültür özellikleri ve antifungal aktivitelerinin incelenmesi* **387-398**

Uzun, P., Özünal, A. E., Başkaya, H., Doğan, N., Gülay, S. M., Hantal, B., Üner, M., Barla Demirköz A. B. *Investigation of flavour permanence of strawberry and watermelon flavoured chewing gums by using retronasal aroma trapping device and sensory analysis techniques / Çilek ve karpuz aromalı sakızlarda aroma kalıcılığının retronazal aroma-yakalama cihazı ve duyuşsal analiz teknikleri kullanılarak araştırılması* **408-419**

Bıyık, Ş., Turhan, S. *Evaluation of quality and storage stability of beef patties containing different levels of peanut (Arachis hypogaea L.) skin / Farklı düzeylerde yer fıstığı (Arachis hypogaea L.) zarı içeren sığır köftelerinin kalite ve depolama stabilitesinin değerlendirilmesi* **420-433**

Balkır, P. *Functional, rheological and microstructural properties of freeze-dried yoghurt powder / Dondurarak kurutma ile elde edilmiş yoğurt tozunun fonksiyonel, reolojik ve mikroyapısal özellikleri* **457-467**

Dündar-Kırt, B., Akyıldız, A. *Investigation of thermosonicated strawberry nectar quality during storage and kinetic modelling / Depolama boyunca termosonikasyon uygulanan çilek nektarı kalite özelliklerinin araştırılması ve kinetik modelleme* . . . **481-492**

Aydın, E. *Characterization of the physico-chemical composition, phyto-chemical properties, cooking characteristics and bioactive compounds of konuralp rice / Konuralp pirincinin fizikokimyasal bileşeni, fitokimyasal özellikleri, pişme karakteristikleri ve biyoaktif bileşenleri* **518-530**

Kürekcı, C., Beyazıt, N. *Chemical composition and antibacterial activity of mentha piperita var. Citrata extracts obtained by different extraction solvents / Mentha piperita var. citrata'nın farklı solventler kullanılarak hazırlanan ekstraktlarının kimyasal kompozisyonları ve antimikrobiyal aktiviteleri* **531-538**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Yıldırım, N., Özden Tuncer, B. *Antimikrobiyel aktiviteye sahip Pediococcus acidilactici ve Pediococcus pentosaceus suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi / Determination of probiotic properties of Pediococcus acidilactici and Pediococcus pentosaceus strains with antimicrobial activity* **434-446**

Rüzgâr, H., Yazıcı, Ş. (2022). *Alıç meyvesinden sanayiye uygun alıç püresi üretimi / Production of hawthorn puree for industry from hawthorn fruit* **447-456**

Aksu, M. İ., Derman, H. *Sığır kıymasının bazı kalite özellikleri ve raf ömrü üzerine Trachystemon Orientalis L. su, metanol ve petrol eter ekstraktlarının etkileri / The effects of water, methanol and petroleum ether extracts of Trachystemon Orientalis L. on some quality properties and shelf life of ground beef* **468-480**

Tokgöz, H., Çınar, O., Gölükücü, M., Uysal-Bayar, F. *Biberiyenin (Rosmarinus officinalis) karnosik asit ve karnosol içeriğinin hasat zamanı ve lokasyona göre değişimi / Carnosol and carnosic acid content of rosemary (Rosmarinus officinalis) with respect to location and harvesting time* **493-501**

Gümüş-Bonacina, C.E. *Yeşil çay ekstraktının ayçiçek, soya ve fındık yağında doğal antioksidan olarak kullanımının oksidatif stabilite üzerine etkisinin kinetik ve termodinamik çalışmalarla değerlendirilmesi / Evaluation of the effect of green tea extract utilization as a natural antioxidant in sunflower, soybean and hazelnut oil on oxidative stability by kinetic and thermodynamic studies* **502-517**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Başkan, S., Kılıç Kanak, E., Öztürk Yılmaz, S. *Boron antimikrobiyel etkileri ve gıdalarda koruyucu olarak kullanım olanaklarının değerlendirilmesi / Antimicrobial effects of boron and evaluation of usage opportunities as a preservative in foods* **399-407**

INVESTIGATION OF STARTER CULTURE PROPERTIES AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF PICKLE-DERIVED LACTIC ACID BACTERIA

Haktan Aktaş*, Bülent Çetin

Department of Food Engineering, Ataturk University, Erzurum, Turkey

Received / Geliş: 04.01.2022; Accepted / Kabul: 23.03.2022; Published online / Online baskı: 01.04.2022

Aktaş, H., Çetin, B. (2022). Investigation of starter culture properties and antifungal activities of pickle-derived lactic acid bacteria. GIDA (2022) 47 (3) 387-398 doi: 10.15237/gida.GD22011

Aktaş, H., Çetin, B. (2022). Turşu kökenli laktik asit bakterilerinin starter kültür özellikleri ve antifungal aktivitelerinin incelenmesi. GIDA (2022) 47 (3) 387-398 doi: 10.15237/gida.GD22011

ABSTRACT

Fermented foods, which are widely consumed around the world, are of great importance for human health. Standard production should be carried out in order to extend the shelf life of fermented products and increase their positive effects on human health. Therefore, there is a need for starter cultures that can be used in the production of fermented products. In this study, antifungal activity on 9 yeast isolates, antibiotic resistance, growth at different temperatures, pH and salt concentrations, arginine hydrolysis and gas production from glucose of 5 lactic acid bacteria (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Pediococcus parvulus*, *Leuconostoc holzapfel*) were investigated. The lactic acid bacteria have antifungal effects on all yeasts except *Hanseniaspora opuntiae*, *Kazachstania exigua* and *Pichia fermentans*, and they grow at 10 and 25 °C, 3.9 and 5 pH and 4% salt concentration. In addition, all of the isolates showed resistance to vancomycin. The results indicated that *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. paracasei* strains can be used as starter cultures in term of standart pickle production and antifungal effect.

Keywords: Lactic acid bacteria, antifungal activity, starter culture, pickles

TURŞU KÖKENLİ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN STARTER KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

ÖZ

Dünyada yaygın olarak tüketilen fermente gıdalar insan sağlığı için büyük öneme sahiptir. Fermente ürünlerin raf ömürlerinin uzatılması ve insan sağlığına olumlu etkilerinin artırılması için standart üretimlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple, fermente ürünlerin üretiminde kullanılabilecek starter kültürlerle duyulan ihtiyaç giderek artmaktadır. Bu çalışmada, 5 laktik asit bakterisinin (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Pediococcus parvulus* ve *Leuconostoc holzapfel*) 9 maya izolatu üzerinde antifungal aktivitesi, antibiyotik dirençleri, farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonlarında gelişim, arginin hidrolizi etme ve glukozdan gaz oluşturma yetenekleri incelenmiştir. Laktik asit bakterilerinin *Hanseniaspora opuntiae*, *Kazachstania exigua* ve *Pichia fermentans* hariç tüm mayalar üzerinde antifungal etkiye sahip olduğu, 10 ve 25 °C'de, 3.9 ve 5 pH'da ve %4 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdikleri tespit edilmiştir. Bunun yanında, izolatların tamamı vankomisine direnç göstermiştir. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. paracasei* suşlarının standart turşu üretimi ve antifungal etki açısından starter kültür olarak kullanılabileceği görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterisi, antifungal aktivite, starter kültür, turşu

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: haktan.aktas@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 2482

☎: (+90) 442 231 5878

Haktan Aktaş; ORCID no: 0000-0002-1067-061X

Bülent Çetin; ORCID no: 0000-0002-4679-2555

INTRODUCTION

Fermentation is one of the oldest food processing methods used to preserve foods and improve their flavor. With fermentation, new properties can be added to foods, such as increasing the nutritional value of foods, reducing toxic and spoilage factors, and improving shelf life. The production of traditional fermented foods is mostly uncontrolled and spontaneous. This event can cause quality losses in fermented foods from time to time (Misihairabgwi and Cheikhoussef, 2017; Chang, 2018). Therefore, it is important to develop starter cultures that can be used in traditional production.

Fermented foods have important effects on human health, such as regulating and protecting the intestinal microbiota, preventing colon cancer, reducing or stabilizing the cholesterol level in the blood, increasing the absorption of minerals such as Fe, Mg and Ca, increasing the bioavailability of nutrients, and treating diarrhea cases (especially products containing probiotic microorganisms) (Demirgul and Sagdic, 2018; Akdeniz Oktay and Özbaş, 2020).

The production of pickles, which is an important traditional fermented food, dates back to ancient times. Today, pickle production is carried out spontaneously both at home and industry. In particular, lactic acid bacteria (LAB) such as *L. plantarum*, *L. brevis*, *Leu. mesenteroides* and *P. pentocaceus* play a role in pickle fermentation by contributing to the taste, flavor and texture (Aktan et al., 2003). Pickles have properties such as anticarcinogenic (Lee et al., 2016), antiobesity (Kim et al., 2011), antioxidant (Lee et al., 2004), anti-aging (Kim et al., 2011) and antidiabetic (Islam and Choi, 2009; Kaur et al., 2017; Tang et al., 2019). Pickles have many bioactive functions, including preventing constipation, lowering serum cholesterol, enhancing immunity and fibrinolytic activity (Xia et al., 2017). In addition to the positive effects of pickles on health, LABs can inhibit some microorganisms by producing lactic acid, bacteriocin, ethanol, aroma compounds, exopolysaccharides, enzymes and other antagonistic substances (Çetin, 2011; Elmaci et al., 2015; Chen and Ying, 2017).

Yeasts are the oldest unicellular fungi used in food fermentation. While it is difficult to determine when they were first used, there is evidence that yeasts were used in the production of bread and fermented beverages in Neolithic Age in 7000 BC. Today, yeasts are used in the production of many foods, especially alcoholic beverages and bread (Hernández et al., 2018; Hittinger et al., 2018). Yeasts can also cause spoilage in foods with high acidity and/or sugar content. As a result of the spoilage, some properties and shelf life of the product are adversely affected. (Hernández et al., 2018). In addition to the fact that yeasts in fermented foods can cause spoilage, if there are opportunistic yeasts in the product and they are taken into the body through food, they can also cause negative effects on human health. Yeasts that may have negative effects on consumption quality or human health should be kept under control during production and storage (Karasu Yalçın et al., 2010). In order to ensure this control, it is necessary to pay attention to parameters such as raw material quality, hygiene during production, conditions of the storage environment. In addition, the most important method for controlling the yeast content of fermented foods is the use of starter cultures, which have the ability to inhibit yeasts that may occur in the product (Erdem Buyukkiraz et al., 2020). However, for microorganisms to be used as starter culture in fermented food production, it is not enough only to have an antifungal effect. Besides, they must have some properties. These features can be listed as ability to compete well with other microorganisms in the food matrix (antagonistic activity), lack of resistance to any antibiotic, rapid and good acid formation ability, development at different pH, salt and temperature degrees (may vary according to the product), not forming biogenic amines, being homofermentative etc. (Lee et al., 2015).

In this study, seven starter culture tests were performed on LABs isolated from pickles in previous studies. Thus, it is aimed to understand how effective the LABs isolated from the pickle can be on the fermentation and the quality of the product. For this purpose, the antifungal effect and its source on yeasts, antibiotic resistance,

growth at different temperatures, pH and salt values, ability to hydrolyze arginine and gas production from glucose of LABs were investigated.

MATERIAL AND METHOD

Material

Five LAB and 9 yeast strains which isolated from previous studies on pickle and stored in the Microbiology Laboratory of the Atatürk University Food Engineering Department were used in the study (Gözütok, 2013; Dündar, 2017; Çetin et al., 2017). The strains had been enumerated, isolated and identified according to Tournas et al. (1998), Speck (1984), Pichhardt (2004), Tamang et al. (2005), and Vasdinyei and Dea'k (2003). For this aim, MRS, M17 and PDA media were used for enumeration and isolation. Obtained isolates were genetically grouped by using (GTG)₅ and M13 RAPD PCR. Representative isolate of each group was identified with 16S and 26S rRNA sequencing analysis. The strains used in the study are shown in Table 1.

Method

Investigation of the source of the antifungal effect by LABs

Yeast isolates kept in 40% glycerol solution at –80 °C were revived on Sabouraud-2% Dextrose Agar and incubated at 25 °C for 3-5 days. At the end of the incubation, the yeast isolates were adjusted to a concentration of 10⁴ CFU/mL in 0.85% physiological saline (FIS). For each yeast isolate, 0.1 mL of these suspensions was spread on Sabouraud-2% Dextrose Agar and 7 (5 LAB, 1 negative control and 1 positive control) wells were drilled into the solidified petri dishes (Magaldi et al., 2004).

LABs stored in 40% glycerol solution at –80 °C were revived on MRS (de man, Rogosa, Sharpe Agar) Agar and incubated at 30 °C for 2-3 days. Then, the colonies were inoculated into MRS broth and incubated at 30 °C for 24 h. At the end of this period, the growing LABs in MRS broths were centrifuged at 10000 g for 5 min. Thus, cell-free supernatants (CFS) were obtained. Neutralization, enzyme application and heat treatment were performed on the CFS for

determining the source of the antifungal effect. For the neutralization process, pH of the CFS was adjusted about 7±0.1 by 1 N NaOH in order to eliminate the probable inhibitory effect of acids produced by LABs on yeasts. Proteinase K, pepsin and trypsin enzymes were added into the CFS to investigate the effect of proteins by LABs. In addition, to determine the inhibitory properties of molecules (such as heat sensitive proteolytic enzymes and hydrogen peroxide), CFS were subjected to heat treatment at 80 °C for 10 min (Barbosa et al., 2016; Gutiérrez-Cortés et al., 2018; Khodaei and Soltani Nezhad, 2018).

100 µl of the CFS was added into the wells on Sabouraud-2% Dextrose Agar and incubated at 25 °C for 18 h. Sterile MRS broth was used as negative control and Amphotericin-B was used as positive control. At the end of the incubation, the antifungal effects of LABs on yeasts were determined by measuring the diameters of the clear zones formed around the wells (Balouiri et al., 2016). The Analysis was performed at two duplicates for two independent experiments.

Determination of antibiotic resistance of LABs

To determine the antibiotic resistance of the LABs, disc diffusion method was used. 9 different antibiotics (ampicillin, vancomycin, gentamicin, kanamycin, streptomycin, erythromycin, clindamycin, tetracycline, and chloramphenicol) recommended by European Food Safety Authority (EFSA) were used. Fresh culture was suspended in FIS and adjusted at 0.5 McFarland (1.5x10⁸ CFU/mL) by Biosan DEN-1 McFarland Densitometer. This suspension was spread homogeneously on MRS agar using a cotton swab. Then, the antibiotic discs were placed on the media. After the petri dishes were incubated at 30 °C for 24 h, the diameters of the clear zones around the discs were measured (EUCAST, 2021). This analysis was carried out duplicately.

Determination of growth abilities of LABs at different temperatures, pH and salt concentrations

In this study, the growth abilities of LABs at different temperatures (at 10, 25 and 45 °C for 7

days) were investigated. Readings were carried out by a plate reader (Epoch, BioTek) at 600 nm. The absorbance values obtained from LABs were determined by comparing with the data obtained from the negative control (sterile MRS broth). LABs with the same absorbance as the negative control were expressed as “–”, and LABs with higher absorbance compared to the negative control were expressed as “+” (Şimşek et al., 2006).

In order to determine the growth abilities of LABs at different pH levels, the pH values of MRS broth were adjusted to 2.5, 3.9, 5.0, 8.5 and 9.6 with HCl or NaOH. At end of the incubation (at 30 °C for 48 h) in 96-well plates, readings were performed at 600 nm in a plate reader (Epoch, BioTek). The growth of LABs was investigated by comparing the absorbances obtained from the negative (pH-adjusted sterile MRS broth) and positive control (LAB isolate inoculated into not pH-adjusted MRS broth). As a result of this comparison, growing isolates were expressed as “+” and those not growing were expressed as “–” (Kask et al., 2003; Papamanoli et al., 2003; Terzic-Vidojevic et al., 2009).

To determine the growth abilities of LABs at different salt concentrations, MRS broth containing 4, 6.5 and 10% NaCl was used. The absorbance of the LABs incubated at 30 °C for 48 h in the media in 96-well plate was determined at 600 nm with a plate reader (Epoch, BioTek). The absorbance values were compared with negative (MRS broth containing 4, 6.5 or 10% NaCl) and positive control (LAB isolate inoculated into MRS broth without NaCl), and the LABs that showed growth were expressed as “+” and those not growing as “–” (Papamanoli et al., 2003).

Investigation of arginine hydrolysis of LABs

In order to determine the arginine hydrolysis of the LABs, modified MRS broth recommended by Drosinos et al. (2007) was used. LABs were inoculated into the modified MRS broth and incubated at 30 °C for 3 days. Then, Nessler reagent (Merck, Darmstadt, Germany) was used to determine the hydrolysis of arginine. The transformation of color to orange-brown has been accepted as positive.

Gas formation from glucose by LABs

LABs were inoculated into modified MRS broth recommended by Yildiz (2019) and incubated at 30 °C for 24 h. At the end of the incubation, the gas formation ability of the LABs from glucose was determined in the durham tubes. The gas-forming LABs were heterofermentative (creating CO₂ from glucose), and the non-gas-forming bacteria were homofermentative (not creating CO₂ from glucose) (Yildiz, 2019).

Statistical analysis

Statistical analyzes were performed by using SPSS version 17.0 package program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The results were evaluated by using the Duncan multiple comparison test. Analyzes in the study were carried out as 2 duplications, and $P < 0.05$ were considered significantly different.

RESULTS AND DISCUSSION

Antifungal effect of LABs on yeasts and determination of its source

The antifungal effects of the LABs on yeasts are given in Table 1. The LABs used in the study had antifungal effect on all yeasts, except *Hanseniaspora opuntiae*, *Kazachstania exigua*, *Pichia fermentans*. Some studies shown that *L. paracasei* strains isolated from fermented dairy products have an inhibitory effect on yeasts (Shehata et al., 2018). In this study, the isolate was effective on 6 of 9 yeast isolates. In addition, *L. paracasei* strains isolated from dairy products had antifungal effect on *Candida* spp., the same effect was found in the previous studies (Crowley et al., 2013; Ribes et al., 2018). Abouloifaa et al. (2021) investigated the antifungal activity of *L. plantarum*, *L. pentosus* and *L. brevis* species isolated from green olive brine, and reported the inhibitory effect of LABs on *Candida* sp. Similar result was found in this study, i.e. the inhibitory effect of *L. plantarum* and *L. brevis* on *Candida sorboxylosa*. Bulgasem et al. (2016) investigated the inhibitory effect of LABs (*L. plantarum*, *L. curvatus*, *P. acidilactici* and *P. pentosaceus*) isolated from honey on *Candida* spp. According to the results, as in the study, the inhibitory effect of *L. plantarum* isolate on *Candida* spp. was reported.

Starter culture properties and antifungal activities of lactic acid bacteria

Table 1. The inhibition effect of LABs on the yeast isolates (inhibition zone, mm)

		<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	<i>Candida sorboxylosa</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>	<i>Pichia khuyeri</i>	<i>Pichia khuyeri</i> var. <i>khuyeri</i>	<i>Kazachstania exigua</i>	<i>Pichia fermentans</i>	<i>Pichia barkeri</i>	<i>Pichia membranifaciens</i>
<i>L. brevis</i>	P	ND	14.0±2.8 ^{aAB}	13.0±2.8 ^{aABC}	9.5±0.7 ^{aC}	10.5±0.7 ^{aBC}	ND	ND	15.5±0.7 ^{aA}	11.0±2.8 ^{aBC}
	E	ND	12.5±3.5 ^{aAB}	12.0±0.0 ^{aAB}	15.0±2.8 ^{aA}	10.0±0.0 ^{aB}	ND	ND	14.5±2.1 ^{aA}	8.5±2.1 ^{aB}
	S	ND	14.0±1.4 ^{aA}	14.5±2.1 ^{aA}	13.0±1.4 ^{aA}	12.0±2.8 ^{aA}	ND	ND	15.0±0.0 ^{aA}	14.0±2.8 ^{aA}
<i>L. plantarum</i>	P	ND	10.5±3.5 ^{aAB}	12.5±3.5 ^{aAB}	12.5±3.5 ^{aAB}	12.5±0.7 ^{aAB}	ND	ND	15.5±0.7 ^{aA}	9.5±2.1 ^{aB}
	E	ND	11.0±2.8 ^{aAB}	11.0±0.0 ^{aAB}	13.5±0.7 ^{aA}	10.5±2.1 ^{aAB}	ND	ND	13.0±1.4 ^{aA}	9.0±1.4 ^{aB}
	S	ND	12.0±1.4 ^{aA}	10.0±0.0 ^{aA}	11.5±3.5 ^{aA}	10.5±3.5 ^{aA}	ND	ND	14.5±2.1 ^{aA}	10.0±0.0 ^{aA}
<i>L. paracasei</i>	P	ND	12.0±0.0 ^{aA}	13.5±0.7 ^{aA}	10.5±3.5 ^{aA}	12.5±2.1 ^{aA}	ND	ND	14.5±0.7 ^{aA}	10.0±4.2 ^{aA}
	E	ND	13.5±2.1 ^{aAB}	11.0±1.4 ^{aABC}	12.5±2.1 ^{aAB}	10.0±2.8 ^{aBC}	ND	ND	14.0±1.4 ^{aA}	8.5±0.7 ^{aC}
	S	ND	12.5±0.7 ^{aAB}	10.5±0.7 ^{aB}	12.0±4.2 ^{aAB}	10.5±0.7 ^{aB}	ND	ND	15.0±0.0 ^{aA}	10.5±0.7 ^{aB}
<i>P. parvulus</i>	P	ND	14.0±0.0 ^{aAB}	17.0±1.4 ^{aA}	8.0±0.0 ^{aC}	12.0±1.4 ^{aB}	ND	ND	16.5±0.7 ^{aA}	14.0±4.2 ^{aAB}
	E	ND	12.5±0.7 ^{aABC}	17.0±2.8 ^{aA}	8.0±0.0 ^{aC}	9.5±2.1 ^{aBC}	ND	ND	16.0±1.4 ^{aA}	14.5±6.4 ^{aAB}
	S	ND	13.0±0.0 ^{aABC}	13.0±0.0 ^{aBC}	10.0±2.8 ^{aC}	10.0±2.8 ^{aC}	ND	ND	17.0±0.0 ^{aA}	14.5±2.1 ^{aAB}
<i>Leu. holzappel</i>	P	ND	10.0±0.0 ^{abB}	13.0±2.8 ^{aAB}	11.0±1.4 ^{aB}	10.5±2.1 ^{aB}	ND	ND	16.0±1.4 ^{aA}	11.5±2.1 ^{aB}
	E	ND	9.5±0.7 ^{bb}	12.0±1.4 ^{aAB}	9.5±2.1 ^{aB}	12.0±2.8 ^{aAB}	ND	ND	14.5±0.7 ^{aA}	9.5±2.1 ^{aB}
	S	ND	11.5±0.7 ^{aB}	12.0±1.4 ^{aAB}	11.5±0.7 ^{aB}	10.0±0.0 ^{aB}	ND	ND	14.0±1.4 ^{aA}	14.0±1.4 ^{aA}

The diameter of the wells used in the analysis was 6 mm; ND: not determined, P: pH neutralization, E: Enzyme application, S: Heat treatment

Different letters in the same column (series “a and b”) and in the same row (series “A-D”) indicate significant differences ($P < 0.05$).

The source of the antifungal effect of LABs was investigated. Neutralization, enzyme application and heat treatment were applied on the CFSs. It was determined that the antifungal effect of any isolate did not change statistically with these applications ($P > 0.05$), except for the antifungal effect of *P. parvulus* and *Leu. holzappel* on *Candida sorboxylosa* ($P < 0.05$). For *P. parvulus*, the neutralized CFSs showed the highest antifungal activity, while the enzyme-applied CFSs showed the lowest effect ($P < 0.05$). Besides, for CFS of *Leu. holzappel*, heat treatment had the highest antifungal activity, while enzyme application had lowest ($P < 0.05$). According to these results, the proteins produced by LABs have a significant effect on the growth of yeasts. In this study, proteinase K, pepsin and trypsin enzymes were used to reduce or eliminate the effect of these proteins. It was observed that antifungal effect of the LABs on yeasts decreased significantly with the addition of these enzymes ($P < 0.05$). In addition, these proteins, which have antifungal effect, may differ in their resistance to

temperature and pH changes due to their configurational differences. Therefore, neutralized and heat-treated CFS of *P. parvulus* and *Leu. holzappel* may have exhibited different antifungal effects among themselves. In the study by Barbosa et al. (2016), the sensitivity of compounds produced by LABs to enzyme and pH applications were investigated. According to the results, the antimicrobial effect of these compounds decreased when exposed to enzymes such as proteinase K, trypsin and pepsin, but they remained stable at pH 6. Gutiérrez-Cortés et al. (2018) tested whether the activities of antimicrobial substances from *Pediococcus* sp. decreased with neutralization, enzyme application and heat treatment. The results showed that the application of proteinase K and pepsin enzymes reduced the antifungal effect by 53-95%, pH 6 by 0-15%, and heat treatment at 80 °C by 21-32%. The results obtained from this study are in accordance with the above study.

The zone was not observed in the negative controls. The sensitivity of *Hanseniaspora opuntiae*, *Candida sorboxylosa*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri*, *Pichia kluyveri* var. *kluyveri*, *Kazachstania exigua*, *Pichia fermentans*, *Pichia barkeri* and *Pichia membranifaciens* to amphotericin-B was determined as 21.0, 23.0, 17.5, 21.5, 16.5, 15.0, 18.0, 16.0 and 20.5 mm, respectively.

Determination of antibiotic resistance of LABs

The resistance of the LABs to antibiotics (ampicillin, vancomycin, gentamicin, kanamycin,

streptomycin, erythromycin, clindamycin, tetracycline and chloramphenicol) was investigated (Table 2). All of the LABs were found to be sensitive to all antibiotics, except vancomycin for all LABs, gentamicin for *L. paracasei*, kanamycin and streptomycin for *P. parvulus*. It is known that LABs are naturally resistant to some antibiotics (Meral and Korukluoglu, 2014). The resistance of the above-mentioned LABs to antibiotics vancomycin, gentamicin, kanamycin and streptomycin may be due to natural resistance.

Table 2. Resistance of LABs against antibiotics (inhibition zone, mm)

	Antibiotics								
	AMP	VA	CN	K	S	E	DA	TE	C
<i>L. brevis</i>	28.0±0.0	ND	18.5±0.5	16.5±0.5	19.0±0.0	38.0±0.0	16.5±0.5	26.5±0.5	27.0±1.0
<i>L. plantarum</i>	41.5±0.5	ND	24.0±0.0	21.0±1.0	21.0±1.0	41.0±1.0	37.0±1.0	39.0±1.0	51.0±1.0
<i>L. paracasei</i>	32.0±0.0	ND	ND	15.0±1.0	23.0±1.0	45.0±1.0	47.0±1.0	33.0±1.0	34.5±0.5
<i>P. parvulus</i>	40.0±1.0	ND	21.0±1.0	ND	ND	37.0±1.0	42.0±0.0	33.0±1.0	35.0±1.0
<i>Leu. holzapfel</i>	27.5±0.5	ND	13.5±0.5	10.0±0.0	11.0±0.0	27.5±0.5	36.0±0.0	33.5±0.5	27.5±0.5

Abbreviations: AMP: ampicillin (2 µg), VA: vancomycin (5 µg), CN: gentamicin (10 µg), K: kanamycin (30 µg), S: streptomycin (25 µg), E: erythromycin (15 µg), DA: clindamycin (2 µg), TE: tetracycline (10 µg), C: chloramphenicol (10 µg), ND: not determined

In the study by Zeng et al. (2020), the antibiotic resistance of *L. plantarum* isolated from homemade Chinese pickles was investigated. As a result of the study, *L. plantarum* isolates were sensitive to all antibiotics, except vancomycin. Similar results were reported by Guo et al. (2017). The obtained results in this study are in accordance with the above studies.

In the study conducted by Wu et al. (2021), antibiotic resistance analysis was applied to 17 LABs isolated from local pickled leaf mustard from Wuwei. The LABs were sensitive to chloramphenicol, tetracycline and erythromycin, while they were resistant to streptomycin, kanamycin, gentamicin, and vancomycin. The obtained results in this study are consistent with the study.

Determination of growth abilities of LABs at different temperatures, pH and salt concentrations

The growth abilities of 5 pickle-derived LABs at different temperatures, pH and salt concentrations were investigated. The results

obtained from these analyzes are given in Table 3. The LABs grew at 10 °C, except for *L. plantarum* and *Leu. holzapfel* (weak growth). On the other hand, all isolates grew at 25 °C. The growth abilities of the bacteria at 45 °C were weak, except for *L. plantarum* (no growth). In the studies of Yildiz (2011) and Bayrak (2019), LABs isolated from pickles can grow at moderate temperatures (10 and 15 °C). In addition, their development was weak at 45 °C. In this respect, the results obtained from the study are in agreement with these literatures. In addition, since pickle fermentation is carried out at room temperatures, it is an expected result that all strains will develop at 25 °C (Diker et al., 2021; Gezginc and Inanc, 2021). In the study of Basdogan (2020), all of 114 LABs isolated from pickles showed growth at 25 °C.

The growth abilities of the LABs at different pH values (2.5, 3.9, 5.0, 8.5 and 9.6) were investigated. None of the isolates could grow at pH values of 2.5 and 9.6. All of the LABs grew at pH 3.9 and 5.0. On the contrary, *L. plantarum*, *L. paracasei* and *Leu. holzapfel* showed better growth at pH 8.5,

Starter culture properties and antifungal activities of lactic acid bacteria

while *L. brevis* and *P. parvulus* failed to grow. In the study conducted by Saez et al. (2018), the growth abilities of *L. plantarum* isolated from pickle samples at different pH were investigated. This isolate showed growth at pH 4 and 5. Tokatli (2013) determined that pickle-derived *L. plantarum*

isolates showed good resistance to high pH, while *P. parvulus* and *L. brevis* strains were found to be more sensitive to that. The results obtained from this study are in accordance with the above studies.

Table 3. Growth abilities of LABs at different temperatures, pH and salt concentrations

	Temperature (°C)			pH					Salt concentration (%)		
	10	25	45	2.5	3.9	5.0	8.5	9.6	4	6.5	10
<i>L. brevis</i>	++	+++	+	-	++	++	-	-	++	+	-
<i>L. plantarum</i>	+	+++	-	-	++	+++	+++	-	+++	+++	-
<i>L. paracasei</i>	++	+++	+	-	++	++	++	-	+++	++	-
<i>P. parvulus</i>	++	+++	+	-	+	++	-	-	++	-	-
<i>Leu. holzappel</i>	+	+++	+	-	+	+++	+++	-	++	-	-

-: No growth; +: absorbance close to negative control, weak growth; ++: good growth; +++: absorbance close to positive control, very good growth

The growth abilities of the LABs at 4, 6.5 and 10% salt concentrations were investigated. None of the isolates could grow at 10% salt concentration. On the other hand, *L. plantarum* and *L. paracasei* showed better growth at 4% salt concentration than *L. brevis*, *P. parvulus* and *Leu. holzappel*. In addition, *L. brevis*, *L. plantarum* and *L. paracasei* showed growth at 6.5% salt concentration while *P. parvulus* and *Leu. holzappel* did not (Table 3). It is known that LABs isolated from pickles show a decrease in their growth abilities with the increase of salt content in the medium. It is also available in the literature that these isolates can tolerate 4% salt concentration (Tokatli, 2013; Saez et al., 2018). As above-mentioned, in this study, the growth decreased with the increasing salt content in the medium and all of the isolates tolerated 4% salt concentration. Considering the ability of the LABs to grow at different salt concentrations, growth performance of *L. plantarum* in medium containing 6.5% salt draws attention. In the study conducted by Karasu et al. (2010), 11 of 12 pickle-

derived *L. plantarum* isolates could tolerate 8% salt content.

Investigation of arginine hydrolysis of LABs

The ability of the LABs used in the study to form ammonia from arginine was investigated (Table 4). According to the results obtained, none of the LABs hydrolyzed to arginine. Arginine hydrolysis is an important criteria for the selection of starter cultures. Because, ammonia from arginine has toxic effect and plays an important role in the formation of biogenic amines (Özogul and Özogul 2007). In the study by Tokatli (2013), 87 of 142 LABs isolated from pickle samples did not hydrolyze arginine. Sanchez et al. (2000) reported that 96 of 149 LABs isolated from Almagro eggplants, a fermented vegetable, did not hydrolyze arginine. According to the studies above-mentioned, the majority of LABs do not hydrolyze arginine. Therefore, the data obtained from our study are similar to these studies, since none of the 5 LABs obtained from pickles, which constitute the dominant flora, did not hydrolyze arginine.

Table 4. Ability of forming gas from glucose and arginine hydrolysis of LABs

	<i>L. brevis</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. paracasei</i>	<i>P. parvulus</i>	<i>Leu. holzappel</i>
Arginine hydrolysis	-	-	-	-	-
Gas from glucose	+	-	-	-	+

Gas formation from glucose by LABs

The results of the gas formation test from glucose of the LABs are given in Table 4. According to the results, *L. brevis* and *Leu. holzapfel* formed gas from glucose. These isolates were evaluated as heterofermentative. It is known that *Leuconostoc* spp. originating from pickles is heterofermentative (Dallal et al., 2017). In addition, in the study conducted by Tokatli (2013), the technological properties of LABs isolated from pickle samples were investigated. He reported that most of *L. brevis* strains produced gas from glucose, that is, they were heterofermentative. The results obtained from this study are in accordance with the above study.

CONCLUSION

Fermentation is a widely used method for food preservation. In addition to increasing the shelf life of foods with fermentation, it is possible to produce more desired products by the consumer and to take compounds that have positive effects on human and public health. However, the spontaneous production of pickles, which is an important fermented product, may cause the standard product not to be obtained in every production. In order to obtain standard fermented products, the use of starter cultures should be encouraged and the use of microorganisms, which are safety and healthy, should be increased in traditional productions. In order for a microorganism to be used as a starter culture, it should show good growth in fermentation conditions and product matrix, should not have negative effects on health, should not cause undesirable changes in the product, and should compete with spoiling microorganisms. All LABs used in the study were found to have antifungal effects on all yeasts, except for *Hanseniaspora opuntiae*, *Kazachstania exigua*, *Pichia fermentans*, and these isolates developed at 25 °C, which is the pickle fermentation temperature. On the other hand, *L. brevis*, *L. plantarum* and *L. paracasei* showed growth at pH 3.9 and 6.5% salt concentration. Considering the pickle environment, it is thought that these isolates can be used as starter cultures in pickle production.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

All authors contributed significantly to different processes in the article.

REFERENCES

- Abouloifaa, H., Gaamouchea, S., Roknia, Y., Hasnaouia, I., Bellaouchia, R., Ghabboura, N., Karbouneb, S., Brascac, M., D'Hallewind, G., Ben Salahe, R., Saalaouia, E., Asehroua, A. (2021). Antifungal activity of probiotic *Lactobacillus* strains isolated from natural fermented green olives and their application as food bio-preservative. *Biological Control*, 152, 104450. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104450>.
- Akdeniz Oktay, B., Özbaş, Z.Y. (2020). The effects of fermented foods on human health. *The Journal of Food*, 45(6), 1215-1226. <https://doi.org/10.15237/gida.GD20105>.
- Aktan, N., Yücel, U., Kalkan, H. (2003). *Pickle Technology*. Ege University Printing Office, İzmir, Turkey, 138p.
- Balouiri, M., Sadiki, M., iIbnsouda, S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
- Barbosa, M.S., Todorov, S.D., Ivanova, I.V., Belguesmia, Y., Choiset, Y., Rabesona, H., Chobert, J.M., Haertlé, T., Franco, B.D.G.M. (2016). Characterization of a two-peptide plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* MBSa4 isolated from Brazilian salami. *Food Control*, 60, 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.029>
- Basdogan, M.G. (2020). Determination of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from pickles produced traditionally. MSc Thesis, Ege University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, İzmir, Turkey, 98p.
- Bayrak, N. (2019). Investigation of some probiotic properties of lactic acid bacteria obtained from pickle. MSc Thesis, Atatürk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Erzurum, Turkey, 73p.
- Bulgasem, Y.B. Mohd, N.L., Zaiton, H., Wan Mohtar, W.Y., Sumaya, G.F. (2016). Antifungal

- activity of lactic acid bacteria strains isolated from natural honey against pathogenic candida species. *Mycobiology*, 44(4), 302-309. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2016.44.4.302>.
- Cetin, B. (2011). Production of probiotic mixed pickles (tursu) and microbiological properties. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 14926-14931. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2621>.
- Chang, H.C. (2018). Healthy and safe Korean traditional fermented foods: Kimchi and chongkukjang. *Journal of Ethnic Foods*, 5(3), 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.jef.2018.08.003>.
- Chen, Y., Ying, T.J. (2017). Isolation and identification of lactic acid bacteria from xiaoshan pickle radish, a traditional fermented vegetable. *Food Science and Technology Research*, 23(1), 129-136. <https://doi.org/10.3136/fstr.23.129>.
- Crowley, S., Mahony, J., Sinderen, D. (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 33(2), 93-109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.004>.
- Çetin, B., Çakmakçı, S., Yıldız, H. (2017). Determination of lactic acid bacteria to be used in Turşu production and selection of suitable strains for the production of probiotic pickle (*in Turkish*). TUBITAK Project Number: 214O719, The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK), Tunus Street No:80 Ankara, TURKEY.
- Dallal, M.M.S., Zamaniahari, S., Davoodabadi, A., Hosseini, M., Rajabi, Z. (2017). Identification and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional persian pickled vegetables. *GMS Hygiene and Infection Control*, 12, Article Number: Doc15. <https://doi.org/10.3205/dgkh000300>.
- Demirgul, F., Sagdic, O. (2018). The effect of fermented milk products on human health. *European Journal of Science and Technology*, 13, 45-53. <https://doi.org/10.31590/ejosat.377798>.
- Diker, A., Akar, E., Akgun, R., Tarhan, Ö. (2021). Investigation of some quality parameters in cucumber pickles prepared by different types of vinegars. *Journal of Food and Feed Science – Technology*, 26, 30-39.
- Drosinos, E.H., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I., Metaxopoulos, I. (2007). Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*, 24, 260-270. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.05.001>.
- Dündar, R. (2017). Isolation and identification of lactic acid bacteria from traditionally produced home-type pickle. MSc Thesis, Atatürk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Erzurum, Turkey, 65 p.
- Elmaci, S.B., Tokatli, M., Dursun, D., Ozcelik, F., Sanlibaba, P. (2015). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles of the Cubuk region in Turkey. *Folia Microbiologica*, 60(3), 241-251. <https://doi.org/10.1007/s12223-014-0363-x>.
- Erdem Buyukkiraz, M., Avci, E., Kahraman, N., Kesmen, Z. (2020). Identification of spoilage yeasts isolated from some foods. *Çukurova Journal of Agricultural and Food Science*, 35(1), 15-28. <https://doi.org/10.36846/CJAFS.2020.14>.
- EUCAST, 2021. European committee on antimicrobial susceptibility testing, Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing, Version 9.0. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2022_manuals/Manual_v_10.0_EUCAST_Disk_Test_2022.pdf (Accessed: 1 January, 2022).
- Gezginc, Y., Inanc, O. (2021). Chemical, microbiological and sensory properties of acur (cucumis melo var. flexuosus) pickles produced using salt and vinegar at different concentrations. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, 5(3), 290-302. <https://doi.org/10.29329/ijiaar.2021.378.4>.
- Gözütok, E. (2013). Determination of yeast microflora in traditional and industrial produced turşu samples. MSc Thesis, Atatürk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Erzurum, Turkey, 64 p.

- Guo, H., Pan, L., Li, L., Lu, J., Kwok, L., Menghe, B., Zhang, H., Zhang, W. (2017). Characterization of antibiotic resistance genes from *Lactobacillus* isolated from traditional dairy products. *Journal of Food Science*, 82(3), 724-730. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13645>.
- Gutiérrez-Cortés, C., Suarez, H., Buitrago, G., Nero, L.A., Todorov, S.D. (2018). Characterization of bacteriocins produced by strains of *Pediococcus pentosaceus* isolated from Minas cheese. *Annals of Microbiology*, 68(6), 383-398. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1345-z>.
- Hernández, A., Pérez-Navado, F., Ruiz-Moyano, S., Serradilla, M.J., Villalobos, M.C., Martín, A., Córdoba, M.G. (2018). Spoilage yeasts: What are the sources of contamination of foods and beverages? *International Journal of Food Microbiology*, 286, 98-110. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.031>.
- Hittinger, C.T., Steele, J.L., Ryder, D.S. (2018). Diverse yeasts for diverse fermented beverages and foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 199-206. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.10.004>.
- Islam, M.S., Choi, H. (2009). Antidiabetic effect of Korean traditional Baechu (Chinese cabbage) kimchi in a type 2 diabetes model of rats. *Journal of Medicinal Food*, 12, 292-297. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0181>.
- Karasu, N., Şimşek, Ö., Çon, A.H. (2010). Technological and probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables. *Annals of Microbiology*, 60, 227-234. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0031-6>.
- Karasu Yalçın, S., Şenses Ergül, Ş., Özbaş, Y. (2010). Use of molecular based methods for identification of foodborne yeasts. *The Journal of Food*, 35(5), 379-386.
- Kask, S., Adamberk, K., Orłowski, A., Vogensen, F.K., Møller, P.L., Ardo, Y., Paalme, T. (2003). Physiological properties of *Lactobacillus paracasei*, *L. danicus* and *L. curvatus* strains isolated from Estonian semi-hard cheese. *Food Research International*, 36, 1037-1046. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.08.002>.
- Kaur, M., Singh, H., Jangra, M., Kaur, L., Jaswal, P., Dureja, C., Pinnaka, A.K. (2017). Lactic acid bacteria isolated from yak milk show probiotic potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(20), 7635-7652. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8473-4>.
- Khodaei, M., Soltani Nezhad, S. (2018). Isolation and molecular identification of bacteriocin producing enterococci with broad antibacterial activity from traditional dairy products in Kerman province of Iran. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(1), 172-179. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.38.1.172>.
- Kim, B., Park, K.Y., Kim, H.Y., Ahn, S.C., Cho, E.J. (2011). Antiaging effects and mechanisms of kimchi during fermentation under stress-induced premature senescence cellular system. *Food Science and Biotechnology*, 20, 643-649. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0091-9>.
- Kim, E.K., An, S.Y., Lee, M.S., Kim, T.H., Lee, H.K., Hwang, W.S., Lee, K.W. (2011). Fermented kimchi reduces body weight and improves metabolic parameters in overweight and obese patients. *Nutrition Research*, 31, 436-443. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2011.05.011>.
- Lee, H.A., Kim, H., Lee, K.W., Park, K.Y. (2016). Dietary nanosized *Lactobacillus plantarum* enhances the anticancer effect of kimchi on azoxymethane and dextran sulfate sodium-induced colon cancer in C57BL/6J mice. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 35(2), 147-159. <https://doi.org/10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2016015633>.
- Lee, M.E., Jang, J.Y., Lee, J.H., Park, H.W., Choi, H.J., Kim, T.W. (2015). Starter cultures for kimchi fermentation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(5), 559-568. <https://doi.org/10.4014/jmb.1501.01019>.
- Lee, Y.M., Kwan, M.J., Kim, J.K., Suh, H.S., Choi, J.S., Song, Y.O. (2004). Isolation and identification of active principle in Chinese cabbage kimchi responsible for antioxidant effect. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 36, 129-133.

- Magaldi, S., Mata-Essayag, S., de Caprilesa, C.H., Perez, C., Colella, M.T., Olaizola, C., Ontiveros, Y. (2004). Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*, 8(1), 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2003.03.002>.
- Meral, H., Korukluoglu, M. (2014). Antibiotic resistance mechanisms of lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 28(2), 71-82.
- Misihairabgwi, J., Cheikhyoussef, A. (2017). Traditional fermented foods and beverages of Namibia. *Journal of Ethnic Foods*, 4(3), 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.jef.2017.08.001>.
- Özogul, F., Özogul, Y. (2007). The ability of biogenic amines and ammonia production by single bacterial cultures. *European Food Research and Technology*, 225(3-4), 385-394. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0429-3>.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65, 859-867. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00292-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00292-9).
- Pichhardt, K. (2004). *Food Microbiology: Basic Principles and Applications for the Food Industry* (Gıda Mikrobiyolojisi: Gıda Endüstrisi için Temel Esaslar ve Uygulamalar, Translated by Sekin, Y., Karagözlü, N.), Literatür Publishing, İstanbul, Turkey, 358p.
- Ribes, S., Fuentes, A., Talens, P., Barat, J.M. (2018). Prevention of fungal spoilage in food products using natural compounds: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(12), 2002-2016. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1295017>.
- Saez, G.D., Flomenbaum, L., Zarate, G. (2018). Lactic acid bacteria from Argentinean fermented foods: isolation and characterization for their potential use as starters for fermentation of vegetables. *Food Technology and Biotechnology*, 56(3), 398-410. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5631>.
- Sanchez, I., Palop, L., Ballesteros, C. (2000). Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of 'Almagro' eggplants. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 9-17. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00256-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00256-7).
- Shehata, M.G., Badr, A.N., El Sohaimy, S.A. (2018). Novel antifungal bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* KC39 with antimycotoxigenic properties. *Bioscience Research*, 15(4), 4171-4183.
- Speck, M.L. (1984). *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association, Washington, DC, USA, 914p.
- Şimşek, Ö., Çon, A.H., Tulumoğlu, Ş. (2006). Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control*, 17, 263-270. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.011>.
- Tamang, J.P., Tamang, B., Schillinger, U., Franz, C.M.A.P., Gores, M., Holzapfel, W.H. (2005). Identification of predominant lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented vegetable products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 105, 347-356. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.04.024>.
- Tang, Y.Y., Zhou, X.R., Huang, S.L., Li, Y.Z., Long, M., Zhao, X., Du, M.Y. (2019). Microbial community analysis of different qualities of pickled radishes by Illumina MiSeq sequencing. *Journal of Food Safety*, 39(2), 1-8. <https://doi.org/10.1111/jfs.12596>.
- Terzic-Vidojevic, A., Tolinacki, M., Nikolic, M., Lozo, J., Begovic, J., Gurban oglu Gulahmadov, S., Kuliev, A.A., Dalgalarondo, M., Chobert, J.M., Haertlé, T., Topisirovic, L. (2009). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Azerbaijani traditional dairy products. *African Journal of Biotechnology*, 8, 2576-2588.
- Tokatlı, M. (2013). Identification of lactic acid bacteria isolated from pickles in Ankara Çubuk region, determination of their technological and functional properties and their potential for using

- as a starter culture. Ph.D. Dissertation, Ankara University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ankara, Turkey, 183p.
- Tournas, V., Stack, M.E., Mislivec, P.B., Koch, H.A., Bandler, L. (1998). Yeasts, molds and mycotoxins. In: *Bacteriological Analytical Manual*, Food and Drug Administration, Gaithersburg, MD, USA, pp.227-234.
- Vasdinyei, R., Deák, T. (2003). Characterization of yeast isolates originating from Hungarian dairy products using traditional and molecular identification techniques. *International Journal of Food Microbiology*, 86(1-2), 123-130. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00251-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00251-4).
- Wu, C.J., Lin, X.P., Tong, L., Dai, C.W., Lv, H., Zhou, X.H., Zhang, J. (2021). *In vitro* evaluation of lactic acid bacteria with probiotic activity isolated from local pickled leaf mustard from Wuwei in Anhui as substitutes for chemical synthetic additives. *Open Chemistry*, 19(1), 755-771. <https://doi.org/10.1515/chem-2021-0054>.
- Xia, Y., Liu, X., Wang, G., Zhang, H., Xiong, Z., Sun, Y., Ai, L. (2017). Characterization and selection of *Lactobacillus brevis* starter for nitrite degradation of Chinese pickle. *Food Control*, 78, 126-131. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.046>.
- Yıldız, H. (2011). Isolation-identification of lactic acid bacteria and yeasts from pickle and olive and determination of some properties of isolates. Ph.D. Dissertation, Atatürk University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Erzurum, Turkey, 134p.
- Yıldız, S. (2019). Investigation of starter culture and exopolysaccharide production characteristics of yoghurt derived lactic acid bacteria. MSc Thesis, Atatürk University, Graduate School of Naturel and Applied Sciences, Erzurum, Turkey, 70p.
- Zeng, Y., Li, Y., Wu, Q.P., Zhang, J.M., Xie, X.Q., Ding, Y., Cai, S.Z., Ye, Q.H., Chen, M.T., Xue, L., Wu, S., Zeng, H.Y., Yang, X.J., Wang, J. (2020). Evaluation of the antibacterial activity and probiotic potential of lactobacillus plantarum isolated from chinese homemade pickles. *Canadian Journal of Infections Diseases & Medical Microbiology*, Article ID 8818989. <https://doi.org/10.1155/2020/8818989>.



BORUN ANTİMİKROBİYEL ETKİLERİ VE GIDALARDA KORUYUCU OLARAK KULLANIM OLANAKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Sibel Başkan, Eda Kılıç Kanak*, Suzan Öztürk Yılmaz

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

Geliş / Received: 03.09.2021; Kabul / Accepted: 03.04.2022; Online baskı / Published online: 07.04.2022

Başkan, S., Kılıç Kanak, E., Öztürk Yılmaz, S. (2022). Borun antimikrobiyel etkileri ve gıdalarda koruyucu olarak kullanım olanaklarının değerlendirilmesi. GIDA (2022) 47 (3) 399-407 doi: 10.15237/gida. GD21120

Başkan, S., Kılıç Kanak, E., Öztürk Yılmaz, S. (2022). Antimicrobial effects of boron and evaluation of usage opportunities as a preservative in foods. GIDA (2022) 47 (3) 399-407 doi: 10.15237/gida.GD21120

ÖZ

Canlılar için esansiyel bir element olan bor madeninin dünya üzerindeki en zengin rezerv potansiyeli Türkiye’de bulunmaktadır. Bor minerali, endüstri ve tarım başta olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Doğada çeşitli formlarda bulunan, topraktan bitkilere ve içme sularına transfer olan bor, insan vücuduna beslenme, solunum ve deri ile temas yollarıyla geçmektedir. Bor bileşiklerinin sağlık üzerindeki biyokimyasal ve metabolik etkileri oldukça fazladır. Bu çalışma borun insanlar, hayvanlar ve mikroorganizmalar üzerindeki olası etkilerinden yola çıkılarak gıda sanayisinde kullanımının araştırılmasını kapsamaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığında bor, gıda sanayisinde, gıdaların mikrobiyel bozulmalarının önlenmesi, besin ögesi açısından zenginleştirilmesi, tekstürel özelliklerinin geliştirilmesi, raf ömrünün arttırılması ve duyu özelliklerinin korunmasında kullanılmıştır. Ancak bununla ilgili daha kapsamlı çalışmaların ülkemizde yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Bor, gıda, sağlık.

ANTIMICROBIAL EFFECTS OF BORON AND EVALUATION OF USAGE OPPORTUNITIES AS A PRESERVATIVE IN FOODS

ABSTRACT

The world's richest resources of boron, an essential element for living things, are found in Turkey. Boron mineral is used in many fields, especially in industry and agriculture. Boron, which is found in various forms in nature and transferred from soil to plants and drinking water, enters human life through nutrition, breathing and skin. The biochemical and metabolic effects of boron compounds on health are quite high. This study covers the investigation of the use of boron in the food industry based on its possible effects on humans, animals and microorganisms. When we look at the studies, boron has been used in the food industry to prevent microbial spoilage of foods, to enrich them in terms of nutrients, to improve their textural properties, to increase shelf life and to protect their sensory properties. However, there is a need for more comprehensive studies on this subject in our country.

Keywords: Boron, food, health.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: edakalic@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 7441

☎: (+90) 264 295 5601

Sibel Başkan; ORCID no: 0000-0002-0344-2416

Eda Kılıç Kanak; ORCID no: 0000-0002-5880-8454

Suzan Öztürk Yılmaz; ORCID no: 0000-0001-5952-8385

GİRİŞ

Periyodik cetvelin 3 A grubu elementi olan Bor (B), yarı iletken ve yarı metal özelliğe sahiptir. Atom numarası 5 olan bor, oksijen ile bağ reaksiyona girmeye yatkın bir element olduğundan dolayı doğada serbest halde bulunmak yerine farklı elementlerin oksitleri halinde, farklı bileşikler olarak bulunmaktadır (Aydın vd., 2018; Kılıçarslan, 2020). Bu bileşiklerden en önemli olanlar Kolemanit, Uleksit, Tinkal gibi sodyum veya kalsiyum boratlar olmakla birlikte, tabiatta yaklaşık 250 çeşit bor minerali olduğu bilinmektedir (Demirtaş, 2010). Toz ve kristal granüler halde bulunmasına karşın suda çok çabuk eriyebilirler. Bu bileşikler doğal bor ürünleri olarak sınıflandırılmaktadır ve birinci grubu oluşturmaktadır. Bunun yanında ikinci grup ise bor cevherinin ham veya konsantre hallerde hammadde olarak kullanılmasıyla; kurutma, çözme, kristalizasyon, filtrasyon gibi kimyasal işlemlerden geçirilmesi sonucu üretilen ürünler olan rafine bor ürünleridir. Borik asit, boraks pentahidrat, susuz boraks, bor oksit, boraks dekahidrat, sodyum oktaborat tetrahidrat (DOT) ve sodyum perborat bileşikleri bu grupta bulunmaktadır. Bu ürünler dünyada en çok üretilen ve tüketilen bor bileşikleri olmakla birlikte, birçok endüstride hammadde olarak kullanılmaktadır (Yakıncı ve Kök, 2016). Üçüncü grupta genellikle bor oksit veya borik asidin hammadde olarak kullanılmasıyla üretilen ürünler olan özel bor kimyasalları bulunmaktadır. Bu grupta en yaygın üretilen kimyasallar ferrobora, bor karbür, çinko borat, özel sodyum boratlar, bor nitrit, inorganik boratlar, elementer bor, bor hidrür, trimetil borat, bor halojenürler, bor azot bileşikleri, borik asit esterleri, organobor bileşikleri, fluoroborik asit ve fluoroboratlar olarak bilinmektedir (TMMOB, 2016).

Dünyada bor kaynaklarının dağılımına bakıldığında %73.8'lik bir paya sahip olan Türkiye birinci sıradadır (Emir, 2017; Kılıçarslan, 2020). Ülkemizdeki bor yatakları Balıkesir, Bursa, Eskişehir ve Kütahya'da bulunmaktadır (Mermer, 2018). Türkiye'de bor rezervleri işletilmek yerine genellikle ham madde olarak başka ülkelere ihraç edilmektedir. Bundan dolayı bor, ülkemizden

ihraç edilen maden ürünleri arasında ilk sıradadır (Deliboran, 2020).

Zamanla değişen ve gelişen Ar-Ge sistemi, bor rezervlerini diğer ülkelere satmak yerine katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülerek satılmasını daha mantıklı hale getirmiştir. Bu düşünce doğrultusunda yapılacak çalışmaların daha etkin değerlendirilebilmesi amacıyla 2003 yılında Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü (BOREN) kurulmuştur. Bu tarihten itibaren ülkemizde bor ile ilgili yapılan çalışmalar TÜBİTAK ve BOREN tarafından etkin olarak desteklenmektedir (Özaslan, 2017).

Ülkemizde ve dünyada sürekli olarak yaşam standartlarının yükselmesi ve teknolojinin gelişmesi, bor bileşiklerine olan ihtiyacı ve dolayısıyla talebi arttırmıştır. Teknolojik gelişmeler sonucu bor madeni için farklı kullanım alanları meydana gelmekte ve bu ürünlerin üretimi söz konusu olmaktadır. Bor bileşikleri, normal şartlarda canlıların sağlığı ve çevre güvenliği açısından risk oluşturmaması, bazı kullanım alanlarında ikamesinin olmaması veya bazı durumlarda farklı ikamesine kıyasla daha avantajlı olması sebebiyle dünyadaki birçok doğal kaynağa göre daha fazla öneme sahiptir (TMMOB 2016; Özaslan, 2017).

Çeşitli bor bileşikleri; makine sanayisi, otomobil sanayisi, askeri alan ve zırhlı araçların üretimi, uzay ve havacılık sanayisi, elektronik ve bilgisayar sanayisi, nükleer sanayisi, enerji sektörü, kimya, kozmetik ve ilaç sanayisi, plastik, kağıt ve kauçuk sanayisi, metalurji sanayisi, cam ve seramik sanayisi, tekstil sektörü, tarım sektörü, tıp alanlarında başarıyla kullanılmaktadır. Borun kullanım alanlarının çok çeşitli olması ve ülkemizin bor rezervi bakımından dünyada ilk sırada yer alması, Türkiye için ulusal ve uluslararası alanlarda etkin olarak değerlendirilmesi gereken bir fırsat niteliği taşımaktadır (TMMOB, 2016; Kılıçarslan, 2020).

DOĞADA BULUNMA KAYNAKLARI VE VÜCUDA ALIM YOLLARI

Bor havada ortalama 20 ng/m³, deniz suyunda 4.6 mg/L, toprakta olarak 5-150 mg/kg ve yer kabuğunda 10 mg/kg miktarında bulunur (Uçkun, 2013). Bor toprak ve sudan bitkilere, bu

vasıtalarda da insan ve hayvanlara geçer (Yakıncı ve Kök, 2016). İnsan vücuduna ağız, solunum ve deri yoluyla girebilmektedir. Vücuda alınan bor miktarının yaş ve cinsiyete göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, besinlerle alınan borun erkeklerde bayanlara göre daha fazla olduğu ve yaş ilerledikçe bor alımının daha fazla olduğu belirtilmiştir (Özaslan, 2017).

Araştırmalara göre vücuda alınan günlük bor miktarı, diyetle yer alan gıdaların bor içeriğiyle doğru orantılıdır. Sağlık açısından borun ana kaynağını bitkisel ürünler oluşturur (Yakıncı ve Kök, 2016).

Literatüre göre, borca zengin olan gıdalar arasında yeşil yapraklı sebzeler (1-6 ppm), bazı meyveler, kuru baklagiller (10-45 ppm) ve kabuklu yemişler yer almaktadır. Balık, et ve süt ürünleri ise bor bakımından fakir olmasına rağmen süt ve ürünleri beslenme düzenimizde daha fazla yer aldıkları için günlük diyetle bor alınmasına büyük ölçüde katkı sağlaması mümkündür (Kuru vd., 2019; Demircan ve Velioglu, 2020). Gıda ürünlerinde ve içme sularında çok az miktarda bor bulunmaktadır. Yetişkin bir insanın günde 1-13 mg bor almasında bir sakınca görülmediği gibi, günlük 3 mg bor alımı yeterli görülmüştür (Mermer, 2018). Günlük diyetle bu dozu alamayan kişilerin yeterli ve dengeli beslenme amacıyla günde 3 mg elementel boru gıda takviyesi olarak almaları önerilmiştir. Borun metabolizmaya alınmasında en fazla kullanılan formları bor sitrat, bor glisinat, sodyum borat ve bor aspartat olarak belirtilmiştir (Alan, 2017; Demir ve Cicioğlu, 2019; Aslan ve Ayaz, 2019; Özenoğlu vd., 2021).

BOR METABOLİZMASI

Yetişkinler için günlük ortalama bor alımları erkeklerde, kadınlarda, vejeteryen erkek ve kadınlarda sırasıyla 1.17, 0.96, 1.47 ve 1.29 mg/gün olarak belirtilmiştir (Demircan ve Velioglu, 2020). Bor bileşikleri beslenme yoluyla vücuda alındığında, sindirim sistemimizde hızlı bir biçimde parçalanarak borik asit formuna dönüştürülür ve biyolojik formları su, kan ve tükürük gibi fizyolojik sıvılarda çözünerek kan aracılığı ile dokulara dağılır. Günlük diyet ile veya gıda takviyesi olarak vücuda aldığımız bor bileşiklerinin %84-95'inin vücuttan atılması idrar

ile olmaktadır. Geri kalan kısmı vücut tarafından emilir ve emilen bor bileşiklerinin saç, kıl, kemik, diş, tırnak, dalak ve karaciğer gibi organlarda biriktiği bilinmektedir (Parlatan, 2018; Deliboran, 2020).

BOR VE SAĞLIK

İnsanların yaşamlarını sağlıklı bir şekilde sürdürmesi için gereken fiziksel aktiviteyi sağlaması, düzen alışkanlığı geliştirilmesi ve sağlıklı beslenmeyi alışkanlık haline getirmesi gereklidir. Sağlıklı beslenmedeki hedef; yeterli ve dengeli beslenmenin sağlanmasıdır (Aslan ve Ayaz, 2019).

Bor bileşiklerinin 1980'li yıllara kadar yalnızca bitkiler için önemli olduğu düşünülmekteydi. Ancak sonralarda yapılan araştırmalar, borun aslında insan sağlığı açısından da çok yararlı bir element olduğunu ortaya koymuştur (Demirtaş, 2010).

Öncelikle hücresel düzeyde bakılacak olursa, borun yaptığı görevler; metabolik aktivitelerin desteklenmesi, hücre membranı işlevlerine yardımcı olunması ve hücre duvarına sahip canlılarda duvar yapısının desteklenmesi olacak şekilde 3 ana başlıkta toplanabilir (Güneş vd., 2017; Parlatan, 2018).

Borun vücutta vitamin D ve kalsiyum minerallerinin düzenlenmesinde rol oynadığı dikkat çekmektedir. Magnezyum ve Kalsiyumun vücuttan kaybını ve azalmasını önlemek yoluyla, diş ve kemiklerin yapısını koruduğu ve artrit ağrılarını azalttığı belirlenmiştir (Yin vd., 2018, Söğüt ve Acar, 2020).

Bor, hücrelerdeki indirgenmiş glutatyon miktarını arttırarak oksidatif stresi ve bunun sonucunda oluşabilecek oksidatif hasarı azaltmaktadır (Söğüt ve Acar, 2020). Yara iyileşmesi, iltihabın giderilmesi ve bağışıklık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. Gentamisin tedavisi sırasında kanda hemoglobinin düzeyinin azalmasını önlediği tespit edilmiştir (Kuru ve Yarat, 2017; Durmuş vd., 2018; Acaroz vd., 2019). Göz iltihaplanmalarında sterilizasyon aracı olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Yakıncı ve Kök, 2016).

Birçok çalışma borun östrojen, tiroid hormonu, insülin, progesteron, steroid ve testosteron seviyelerini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Aynı zamanda ataroskleroza karşı koruyucu rol oynadığı bilinmektedir. Bor bileşiklerinin kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği ve bazı kanser türlerinin gelişmesine karşı koruyucu olduğu yönünde bulgulara rastlanmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, artan bor alımı ile beraber akciğer kanseri, prostat kanseri ve anormal servikal sitopatoloji riskinin azaldığı tespit edilmiştir (Kuru ve Yarat, 2017; Aydın vd., 2018; Çelik vd., 2020; Söğüt ve Acar, 2020; Ersöz, 2021).

Bor bileşiklerinin zihinsel performans ve beyin fonksiyonları üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Günlük diyetle yeterli düzeyde bor alınmadığı durumlarda insanların el-göz koordinasyonunun bozulduğu, dikkat ve algılamının azaldığı, ayrıca uzun ve kısa süreli hafızanın önemli düzeyde bozulduğu görülebilmektedir (Aydın vd., 2018). Takviye edici gıda şeklinde bor alındığında küçük yaşta çocuklarda okul becerileri ve öğrenme yeteneklerinin arttığı, sportif performansın ve atletik vücut yapısının geliştiği gözlenmiştir. Riboflavin (Vitamin B2), Magnezyum ve Kalsiyum içerecek şekilde, mineral ve vitaminler ile dengeli şekilde alındığında borun olumlu etkisinin daha fazla olacağı belirtilmiştir (Demirtaş, 2010).

Ayrıca borun antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı ve kollajen enzimlerini etkileyerek erken yaşlanmayı önleyici etkileri bulunmaktadır (TMMOB, 2016). Bor bileşikleri eklem iltihabı, osteoporoz, halsizlik, bazı sinir hastalıkları ve depresyon gibi rahatsızlıkların tedavisi için de kullanılmaktadır (Acaröz, 2017). Sağlık alanında borun kanser tedavisinden obeziteye kadar çok önemli bir yere sahip olduğu ifade edilmektedir (Yakıncı ve Kök, 2016).

ZARARLI ETKİLERİ VE TOKSİSİTESİ

Literatüre bakıldığında, bor bileşiklerinin insanlar üzerindeki zararlı ve toksik etkilerini belirlemek için yapılmış çok fazla çalışma olmamasına rağmen, yapılmış olan çalışmalar yiyecekler ve

içme suyu ile alınan normal düzeylerde borun sağlığı olumsuz etkilemediğini göstermiştir.

Yapılan araştırmalar sonucunda borun toksik etkisinin çok düşük olduğu belirtilmiştir. Borik asit için belirlenen en düşük letal doz insanlarda oral yolla alımda 640 mg/kg, deriden emilim yoluyla alımda 8600 mg/kg ve enjeksiyon ile alımda 29 mg/kg olarak kabul edilmiştir (Özaslan, 2017). 15-30 g boraks veya 2-5 g borik asit doğrudan alındığında akut etkileri meydana gelmektedir. Günlük 5-10 g boraks alımının olması durumunda, kronik olarak protein mekanizmasının etkilendiği ve idrardaki azot miktarının arttığı görülmüştür.

Bor bileşiklerinin vücuda fazla alınması durumunda olası toksik etkileri yetişkin bireylerde, kusma, ishal, baş ağrısı, heyecan veya depresyon; çocuklarda ise havale, koma gibi beyin zarı tahribatı gibi etkiler görülür. Ancak normal beslenme düzeninde yiyecekler ve içme suyu ile alınan bor miktarının, belirtilen limitleri aşması mümkün olmamaktadır (Özaslan, 2017; Demirtaş, 2010; Topal vd., 2017).

ANTİMİKROBİYEL ETKİLERİ VE BOR İÇEREN BİYOAKTİF BİLEŞİKLER

Bor bileşiklerinin antimikrobiyel etkilerinin araştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda bazı bor bileşiklerinin antibakteriyel, bazılarının antifungal etkilerinin olduğu tespit edilmiş olup, bu özelliklerinden dolayı ilaç endüstrisinin ilgi alanı haline gelmiştir (Acaröz, 2017). Aşağıdaki çizelgede borun antimikrobiyel özelliklerine dair bazı çalışmaların sonuçları özetlenmiştir.

GIDA ÜRÜNLERİNE KATILMA OLANAKLARI

Beslenme, kişinin hayatı boyunca yaşamsal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi, sağlıklı ve üretken olarak yaşayabilmesi, büyüme ve gelişmesi için gerekli olan besinleri vücuduna alıp kullanmasıdır. Vücudun gereksinim duyduğu bütün besin maddelerinden dengeli ve yeterli miktarlarda olacak şekilde ve uygun zamanda tüketilmesi sağlıklı beslenme olarak tanımlanır (Özenoğlu vd., 2021). Gıdaların vücuda besin ve enerji sağlama fonksiyonlarına ek olarak, fizyolojik süreçlere olumlu etki ederek, sağlığa katkı sağlayabilen ve bu özellikteki biyoaktif

kimyasalları yapısında bulunduran besinler fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir (Aslan ve Ayaz, 2019).

Çizelge 1. Bor bileşiklerinin mikroorganizmalar üzerindeki etkileri

Bileşik	Mikroorganizma	Etki	Kaynak
Borik asit	<i>Enterococcus faecalis</i>	Antibakteriyel	(Zan vd., 2013)
Potasyum tetraborat	<i>Botrytis cinerea</i>	Antifungal	(Qin vd., 2010)
Etidot-67 ve boraks dekahidrat	<i>Penicillium expansum</i>	Antifungal	(Erper vd., 2019)
Borik asit	<i>Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus</i>	Antibakteriyel	(İlhan vd., 2019)
Borik asit	İdrarda bulunan tüm bakteri ve funguslar	Antibakteriyel, antifungal	(Meers ve Chow, 1990)
Borik asit ve kalsiyum askorbatoborat esterleri	<i>Staphylococcus aureus</i>	Antibakteriyel	(Tutulescu vd., 2018)
Borik asit ve asetik asit karışımı	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	Antibakteriyel	(Haesebrouck vd., 2009)
Sodyum tetrafloroborat ve Potasyum tetrafloroborat	<i>Xanthomonas axonopodis pv. Phaseoli</i>	Antibakteriyel	(Gedük vd., 2020)
Dioksaborepin	<i>Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa</i>	Antibakteriyel	(Pir, 2021)
	<i>Enterococcus faecalis, Escherichia coli</i>	Antibakteriyel	
Amoksisilin + Bor katkılı Hidroksiapetit	<i>Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae</i>	Antibakteriyel	(Çakır, 2018)
Boromisin	Bazı mantar ve protozoa türleri ve gram (+) bakteriler	Öldürücü etki	(Sağlam vd., 2013; Söğüt ve Acar, 2020)
Orgonabor	<i>C. albicans</i> ve <i>Candida glabrata</i>	Öldürücü etki	(Larsen vd., 2018)
Borik asit kinolin esterleri	<i>Prevotella intermedia, Porphyromonas gingivalis, Eubacterium nodatum</i> ve <i>Treponema denticola</i>	Öldürücü etki	(Dibek vd., 2020; Sağlam vd., 2013; Luan vd., 2008)
Aplasmomisin	Gram (+) bakteriler	Antibakteriyel	
Boromisin	HIV, protozoalar ve Gram (+) bakteriler	Antiviral, antifungal ve antibakteriyel	
Tartrolon	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bakterisidal	
Tartrolon E	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Antibakteriyel	(Dibek vd., 2020)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Antibakteriyel	
Borteozomib		Antikarsinojen	
Tavaborole	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Antifungal	
Vaborbaktam	<i>Enterobacteriaceae</i>	Antibakteriyel,	
Benzoksaborol	<i>Trichophyton rubrum, T. mentagrophytes</i> ve <i>Epidermophyton floccosum</i>	Antifungal	
Akoziborol	<i>Trypanosoma brucei</i>	Antiprotozoal	
Borik asit	<i>Candida albicans</i>	Antifungal	(Larsen vd., 2018)
Borik asit Sodyum pentaborat Disodyum oktaborat	<i>Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa,</i>	Antibakteriyel	
Borik asit Sodyum pentaborat Disodyum oktaborat	<i>C. albicans, Aspergillus niger</i>	Antifungal	(Argın vd., 2019)

Bor gıda sanayisinde, gıdaların mikrobiyel bozulmalarının önlenmesi, besin ögesi açısından zenginleştirilmesi, tekstürel özelliklerinin geliştirilmesi, raf ömrünün arttırılması ve duyuşal özelliklerinin korunmasında başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Gıda sanayisinde bor kullanılırken gıdanın içeriği ve yapısı, borun formu ve kullanım düzeyine (0.16 mg boron/kg) dikkat edilmelidir. Ayrıca borun gıdada parçalanmasında açığa çıkan bileşenlerin insan sağlığı açısından önemi dikkate alınmalı buna göre katkı maddesinin yasal spesifikasyonları oluşturulmalıdır (Güney ve Gökmen, 2019).

Bunu düzenlemek amacıyla bazı gıdalarda borik asidin kullanımıyla ilgili mevzuat ve sınırlamalar mevcuttur. Örneğin Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde borik asidin mersin balığı yumurtasında 4000 ppm kadar kullanımına müsaade edilmiştir (Anonymous, 2013). Avrupa'da ise su ürünlerinde Codex Alimentarius Commission (CAC) 2014'e göre bor kullanılması yasaklanmıştır (CAC, 2014). Bu katkı maddelerinin kullanımında tüketici sağlığı ve insanların günlük alım düzeyleri (ADI) mutlaka dikkate alınması gerekir (EFSA, 2013; FAO, 2019).

1870 yıllarında borik asit ve boraks bileşiklerinin gıdalarda mikrobiyolojik bozulmaları engellemek için kullanılabileceği keşfedilmiştir. Borat kullanımı, et ve süt ürünleri ile balığın mikrobiyolojik olarak korunması için en iyi yöntemlerden biri olarak görülmüştür (Demircan ve Velioğlu, 2020).

Ülkemizde borik asidin et ve süt ürünlerinde kullanımıyla ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Yapılan bu çalışmalarda özellikle bazı et ve süt ürünlerinin raf ömrünün %25 uzadığı tespit edilmiş, ayrıca aynı çalışmada borun insan sağlığı açısından da önemli olduğu ve özellikle kanser vakaları gibi önemli hastalıkların önlenmesinde umut verici olduğu vurgulanmıştır (Shuler vd., 1990; Hunt vd., 1991; Demirtaş, 2010).

Borik asit turuncgillerde antifungal, meyvelerde küf önleyici olarak kullanılmıştır (Güney ve

Gökmen, 2019). Yetiştirme süresince çileklerde Kalsiyum+Bor uygulamasının raf ömrü boyunca meyve eti sertliğinin ve rengin korunmasında ve fitokimyasal değişimleri üzerine olumlu yönde katkı sağladığı tespit edilmiştir (Özkaya vd., 2017).

Son yıllarda bor bileşiklerinin, yenilebilir jelatin film ambalajların üretiminde antimikrobiyel ajan olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceği tespit edilmiştir (Argın vd., 2019)

Amerika Gıda Takviyesi Veri Tabanı (The Dietary Supplement Label Database) verilerine göre, 2357 gıda takviyesi üründe bor bulunduğu bilinmektedir. Gıda endüstrisinde borun kullanım formlarından bazıları, bor sitrat, kalsiyum fruktoborat, bor glisinat şelatları, bor askorbat, bor aspartat ve sodyum borat şeklindedir (Kuru ve Yarat, 2017).

SONUÇ

Bor, sağlık sektöründen kimya alanına kadar oldukça fazla alanda kullanılan bir elementtir. Buna rağmen bor hakkında yapılan çalışmalar ve edinilen bilgiler, diğer elementlere göre nispeten sınırlıdır. Bunun yanında borun canlılar için esansiyel bir element olması ve birçok önemli fonksiyonu üstlenmesi sebebiyle, bor içeren bileşikleri üzerine yapılan çalışmalar da merak uyandırmaktadır.

Araştırmalarda, bor bileşiklerinin bazı bakteri ve maya türlerinde antimikrobiyel etkilerinin olduğu görülmektedir. Bununla birlikte bazı bakteri türlerinin ürettiği biyoaktif bileşikler antifungal ve antiprotozoal etkiler göstermektedir. Bor bileşiklerinin bazı kullanımalarında ise gıdalarda meydana gelebilecek fizikokimyasal deformasyonu önleyebildiği ve bor içeriği arttırılmış bitkisel ürünlerde raf ömrünün arttırıldığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, bor bileşiklerinin gıdalarda meydana gelebilen mikrobiyolojik ve fizikokimyasal bozulmaları önleyerek gıdaların raf ömrünü uzatması hususunda umut vadetmektedir.

Borun insan sağlığına çok sayıda katkısının bulunduğu ve hayvansal ürünlerde bitkisel ürünlere nazaran çok düşük düzeylerde bor

bulunduğu göz önüne alındığında, borla zenginleştirilmiş ürünler hem gıda güvenliğini garanti edecek hem de bor içeriği bakımından fakir gıda ürünlerinin verimliliğini arttıracaktır. Böylece katma değeri daha yüksek gıda ürünleri elde edilebilecektir.

Halihazırda denemesi yapılan bazı örnekler olmakla birlikte, bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ülkemizde yapılan akademik çalışmalarda, bor elementinin bu açılardan da derinlemesine irdelenmesi gerektiği ve daha detaylı mekanizma çalışmalarının yapılması sonucu, önemli kazanımlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Sibel Başkan taslak metni oluşturmuştur. Eda Kılıç Kanak ve Suzan Öztürk Yılmaz metnin değerlendirilmesinde ve taslağın kontrolünde/düzenlenmesinde görev almışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Acaroz U., Kara R., Gurler Z., Ince S., Demirel H. H., Acaroz D. A., Kucukkurt I., Eryavuz A., Varol N., Zhu K. (2019). Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: protective role of boron. *Toxicological Research*, 8,262. DOI: 10.1039/c8tx00312b.

Acaröz D. A. (2017). Formaldehit kullanılarak deneysel oksidatif stres oluşturulan A549 akciğer epitel hücrelerine farklı dozlarda uygulanan borun koruyucu etkinliğinin biyokimyasal ve moleküler biyoloji teknikleri ile araştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Doktora tezi, İstanbul, Türkiye, 15-16 s.

Alan M. (2017). Bor madenlerine yakın bölgelerdeki bazı elementlerin fraksiyonlanması ve biyoerişilebilirlik seviyelerinin belirlenmesi.

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi, 7-11 s.

Anonymous (2013). Türk Gıda Kodeksi gıda katkı maddeleri yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 30 Haziran 2013 tarih ve 28693 sayılı resmi gazete, Ankara.

Argın S., Gülerim M., Şahin F. (2019). Development of antimicrobial gelatin films with boron derivatives. *Turkish Journal of Biology*, (2019) 43: 47-57. doi:10.3906/biy-1807-181.

Aslan R., Ayaz K. (2019). Fonksiyonel gıda: besinler ilacımız olabilir mi? *Ayrıntı Dergisi* 7 (77).

Aydın T., Gönen B., Eseceli H. (2018). Bor'un insan sağlığı ve beslenme üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (2), doi:10.22312/sdusbed.409170.

CAC (2014). Codex Alimentarius Commission. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/news-and-events/news-details/ru/c/1187310/> (Accessed: 14 December 2021).

Çakır D. (2018). Beta laktam antibiyotiklerle sinerjik etkiye sahip bor katkılı doku iskelelerinin geliştirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 95-96 s.

Çelik B., Ersöz E., Korkmaz M. (2020). Boraks pentahidrat'ın glioblastoma multiforme hücre hattındaki tedavi potansiyelinin araştırılması, *BORON* 5 (1), 56-61. doi: 10.30728/boron.589644.

Deliboran A. (2020). Neden bor? Borun Çevre ile insan, hayvan ve bitki sağlığı açısından önemi, *Bahçe* 49(2): 127-141, ISSN 1300-8943.

Demircan B., Velioglu Yakup S. (2020). Gıda ve çevreden alınan bor bileşiklerinin toksikolojik değerlendirmesi, *Akademik Gıda*, 18(3), 312-322.

Demir G. T., Cicioğlu H. İ. (2019). Sağlıklı beslenmeye ilişkin tutum ölçeği: geçerlik ve güvenilirlik çalışması. *Gaziantepe Üniversitesi Spor Bilimleri Dergisi*, 4 (2): doi: 10.31680/gaunjss.559462.

- Demirtaş A. (2010). Bor'un insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (1), 75-80.
- Dibek E., Babayeva A., Kürkçü Merve S., Çöl Akgüç N., Çöl B. (2020). Bor içeren bazı biyoaktif bileşikler. *Bor Dergisi*, 5 (1), 29-39, doi: 10.30728/boron.604069.
- Durmuş İ., İnce S., Salim M. N., Eryavuz A., Küçük Kurt İ. (2018). Gentamisin verilen sıçanlara bor uygulamasının hematolojik parametre düzeylerine etkileri. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 11(2): 140-147, doi: 10.30607/kvj.394370.
- Emir C. (2017). Bor gübrelemesinin kereviz (*Apium graveolens* L.) ve turp (*Raphanus sativus* L.) bitkilerinin verim ve bazı bitki özelliklerine etkisi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Malatya, Türkiye, 2 s.
- Erper İ., Kalkan Ç., Kaçar G., Türkkan M. (2019). Elmada mavi küfe neden olan *Penicillium expansum*'a karşı bazı bor tuzlarının antifungal etkisi. *Anadolu Tarım Bilim Dergisi*, 34, Doi: 10.7161/515031.
- Ersöz M. (2021). Borik asidin 8305C anaplastik tiroit kanseri hücrelerinde antioksidan ve anti-kanser aktivitesi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 10(2): 213-221.
- European Food Safety Authority (2013). Scientific Opinion on the re-evaluation of boric acid (E 284) and sodium tetraborate (borax) (E 285) as food additives, EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). *EFSA Journal*, 11(10):3407.
- FAO (2019). Protecting health, facilitating trade. 2019 [cited 2019 11.11]; Available from: <http://www.fao.org/fao-whocodexalimentarius/en/>.
- Gegük A., Baştaş K. K., Kordali Ş., Yılmaz F. (2020). Effects of different boron compounds to bean common bacterial blight disease. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(sp1): 226-233, doi: /10.24925/turjaf.v8isp1.226-233.3924.
- Güneş A., Gezgin S., Kalınbacak K., Özcan H., Çakmak I. (2017). Bor elementinin bitkiler için önemi. *Bor Dergisi*, 2 (3), 168-174.
- Güney B., Gökmen s. (2019). Gıda sanayinde borun kullanım imkanları ile ilgili bir araştırma, IV. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi-Mühendislik, Ankara, Türkiye, 499-503 s.
- Haesebrouck F., Baele M., Keyser H. D., Hermans K., Pasmans F. (2009). Antimicrobial activity of an acetic and boric acid solution against *Staphylococcus pseudintermedius*, *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 78, 89.
- Hunt C. D., Shuler T.R., Mullen L. M. (1991). Concentration of boron and other elements in human foods and personal care products, *Journal of the American Dietetic Association*, 91(5): 558-568.
- İlhan Z., Ekin İ. H., Gülaydın Ö. (2019). Antimicrobial activity of boric acid solution against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Van Veterinary Journal*, 30 (3): 163-166.
- Kılıçarslan C. (2020). Borun stratejik ve ekonomik önemi. *Kostarika Universidad Empresarial de Costa Rica (UNEM)*. İstanbul, Türkiye.
- Kuru R, Yarat A. (2017) Bor ve sağlığımıza olan etkilerine güncel bir bakış. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 7:107-14, doi: 10.5152/clinexphealthsci.2017.314.
- Kuru R., Yılmaz S., Taslı P. N., Yarat A., Sahin F. (2019). Boron content of some foods consumed in Istanbul, Turkey. *Biological Trace Element Research*, 187: 1-8.
- Larsen B, Petrovic M, De Seta F. (2018). Boric acid and commercial organoboron products as inhibitors of drug-resistant *Candida albicans*. *Mycopathologia*, 183(2): 349-57.
- Luan Q., Desta T., Chehab L., Sanders V. J., Plattner J., Graves D. T. (2008). Inhibition of experimental periodontitis by a topical boron-based antimicrobial. *Journal of Dental Research*, 87: 148, doi: 10.1177/154405910808700208.
- Meers P. D., Chow C. K. (1990). Bacteriostatic and bactericidal actions of boric acid against

- bacteria and fungi commonly found in Urine, *Journal of Clinical Pathology*, 43: 484-487.
- Mermer C., (2018). Bor minerali kritiğinin dinamik Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 18 s.
- Özaslan İ. (2017). Yeni bor türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve spektroskopik özellikleri. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 10 s.
- Özenoğlu A., Gün B., Karadeniz B., Koç F., Bilgin V., Bembeyaz Z., Saha B. S. (2021). Yetişkinlerde beslenme okuryazarlığın sağlıklı beslenmeye ilişkin tutumlar ve beden kütle indeksi ile ilişkisi, *Life Sciences*, 16(1):1-18.
- Özkaya O., DüNDAR Ö., Kargı S. P., Özkaya A., Demircioğlu H., Yavuz N., Sarıdaş M. A. (2017). Çilekte yaprakattan kalsiyum ve bor uygulamalarının raf ömrü süresince meyve kalite ve biyokimyasal değişimleri üzerine etkileri, *Bahçe* 46: 297-302.
- Parlatan C. S. (2018). Bor içeren bileşiklerin nörodejenerasyona olan olası etkilerinin in vitro aksotomi modelinde araştırılması. İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilim Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 6-7 s.
- Pir M. (2021). Bazı dioksaborepin türevlerinin sentezi ve antimikrobiyal aktivite tayini. *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 23(68), 501-507.
- Qin G., Zong Y., Chen Q., Hua D., Tian S. (2010). Inhibitory effect of boron against *Botrytis cinerea* on table grapes and its possible mechanisms of actions. *International Journal of Food Microbiology*, 138,145-150.
- Saglam M, Koseoglu S, Enhoş S. (2013). Boron in periodontology. *J Health Sci.*, 22(1):70-5. Shuler, T.R., Pootrakul P., Yarnsukon P., Nielsen F. H. (1990). Effect of thalassemia/hemoglobin E disease on Macro, Trace, and Ultratrace Element Concentrations in Human Tissue. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 3:31-43.
- Söğüt Ö., Acar O. (2020). Bor ve sağlık. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 9(1):11-7. doi: 10.5336/pharmsci.2019-71534.
- TMMOB (2016). Bor Raporu, ISBN 978-605-01-0883-5.
- Topal M., Topal E. I. A. (2017). Elazığ Keban Baraj Gölü'nde bor konsantrasyonlarının araştırılması ve izlenmesi. *Journal of Pure & Applied Sciences*, 3(1): 33-40.
- Tutulescu F., Mogosanu G. D., Bită A., Bejenaru L. E., Bejenaru C., Rau G., Oancea C. N., Capruci R., Neamtu J. (2018). Effect of boric acid and calcium ascorbatoborate esters against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Romanian Biotechnological Letters*, 23(6).
- Uçkun Z. (2013). Esansiyel bir komponent: bor-borun günlük alımı ve fizyolojik etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6:119-23.
- Yakıncı D. Z., Kök M. (2016). Borun sağlık alanında kullanılması. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 4(1).
- Yin C., Jia X., Miron R. J., Long Q., Xu H., Wei Y., Wu M., Zhang Y., Li Z. (2018). Setd7 and its contribution to Boron-induced bone regeneration in Boron-mesoporous bioactive glass scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 73:522-530.
- Zan R., Hubbezoglu İ., Ozdemir A. K., Tunc T., Sumer Z., Alici O. (2013). Antibacterial effect of different concentration of boric acid against *Enterococcus faecalis* biofilms in root canal. *Marmara Dental Journal*, 2:76-80.



INVESTIGATION OF FLAVOUR PERMANENCE OF STRAWBERRY AND WATERMELON FLAVOURED CHEWING GUMS BY USING RETRONASAL AROMA TRAPPING DEVICE AND SENSORY ANALYSIS TECHNIQUES

**Pınar Uzun^{1,2}, Ahmet Emir Özünal¹, Hakan Başkaya¹, Nuray Doğan¹,
Sonay Merve Gülay¹, Büşra Hantal¹, Melike Üner³, Aslı Barla Demirkoz^{**4}**

¹Aromsa Flavours and Food Additives Inc. Co., Department of Research and Development Center, Kocaeli, Turkey

²Isparta University of Applied Sciences, Gelendost VS, Department of Food Technology, Isparta, Turkey

³Istanbul University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Istanbul, Turkey

⁴Haliç University, Department of Nutrition and Dietetics, Istanbul, Turkey

Received / Geliş: 18.11.2021; Accepted / Kabul: 04.04.2022; Published online / Online baskı: 07.04.2022

Uzun, P., Özünal, A. E., Başkaya, H., Doğan, N., Gülay, S. M., Hantal, B., Üner, M., Barla Demirkoz A. B. (2022). Investigation of flavour permanence of strawberry and watermelon flavoured chewing gums by using retronasal aroma trapping device and sensory analysis techniques. *GIDA* (2022) 47 (3) 408-419 doi: 10.15237/gida.GD21139

Uzun, P., Özünal, A. E., Başkaya, H., Doğan, N., Gülay, S. M., Hantal, B., Üner, M., Barla Demirkoz A. B. (2022). Çilek ve karpuz aromalı sakızlarda aroma kalıcılığının retronazal aroma-yakalama cihazı ve duyuşsal analiz teknikleri kullanılarak araştırılması. *GIDA* (2022) 47 (3) 408-419 doi: 10.15237/gida.GD21139

ABSTRACT

Combining in vivo instrumental analysis with sensory evaluation techniques to analyze the release of volatile components from the gum matrix is gaining importance due to the flavour expectations of consumers. Besides consumers' preferences and quality of flavourings determine the market value of chewing gums. In this study, strawberry and watermelon flavoured chewing gums were prepared and evaluated with both sensory evaluation and analytical techniques by using retronasal aroma trapping device and dynamic headspace analysis - DHA-GC/MS. Ethyl hexanoate and isoamyl acetate were chosen as flavour compounds for strawberry and watermelon flavoured gums to monitor in the study. The in vivo experiment with retronasal aroma trapping device showed that selected compounds were quite intense in the first 5 min of breath, and they were also detected in the 45th min of chewing. The flavour stability of the chewing gums was also monitored for 3 months. According to all sensory and instrumental analyzes, watermelon flavour was perceived as watermelon taste both at the 45th min and at the end of shelf life (equal to 12 months).

Keywords: Flavoured chewing gum, flavour permanence, retronasal aroma trapping device, sensory evaluation technics

*Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ aslibarla@gmail.com

☎ (+90) 262 326 1111

☎ (+90) 262 751 1390

Aslı Barla Demirkoz; ORCID no: 0000-0002-3261-0212

Pınar Uzun; ORCID no: 0000-0001-8525-4111

Ahmet Emir Özünal; ORCID no: 0000-0001-8498-2491

Hakan Başkaya; ORCID no: 0000-0003-2510-3367

Nuray Doğan; ORCID no: 0000-0001-8323-9487

Sonay Merve Gülay; ORCID no: 0000-0002-4519-4836

Büşra Hantal; ORCID no: 0000-0003-0936-564X

Melike Üner; ORCID no: 0000-0003-2786-5947

ÇİLEK VE KARPUZ AROMALI SAKIZLARDA AROMA KALICILIĞININ RETRONAZAL AROMA YAKALAMA CİHAZI VE DUYUSAL ANALİZ TEKNİKLERİ KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI

ÖZ

Günümüzde, uçucu bileşenlerin sakız matrisinden salımını analiz etmek amacıyla *in vivo* enstrümental analiz ile duyuşal değerlendirme tekniklerini birleştirmek, tüketicilerin lezzet beklentilerini karşılamak açısından önem kazanmaktadır. Tüketicilerin sakızdaki tercihleri ve kullanılan aromaların kalitesi sakızların piyasa değerini belirlemektedir. Bu çalışmada, ilek ve karpuz aromalı sakızlar, retronazal aroma yakalama cihazı ve dinamik headspace analizi-GC/MS kullanılarak hem duyuşal değerlendirme hem de analitik tekniklerle değerlendirilmiştir. Çalışmada ilek ve karpuz aromalı sakızlar, aroma öncülü olarak seçilmiş olan etil heksanoat ve izoamil asetat üzerinden izlenmişlerdir. Retronazal aroma yakalama cihazı ile yapılan *in vivo* deney, seçilen bileşiklerin nefesin ilk 5 dakikasında oldukça yoğun olduğunu ve çiğnemenin 45. dakikasında bile tespit edildiğini göstermiştir. Sakızların raf ömrü 3 ay boyunca izlenmiştir. Tüm duyuşal ve enstrümental analizlere göre, karpuz aroması hem 45. dakika hem de raf ömrünün sonunda (12 aya eşit) yine karpuz tadı olarak algılanmıştır.

Anahtar kelimeler: Aromalı sakız, aroma kalıcılığı, retronazal aroma yakalama cihazı, duyuşal değerlendirme teknikleri

INTRODUCTION

Chewing gum is one of the most popular confections consumed all over the whole world. According to the Mintel market size report (2018), 14-15 thousand tons of chewing gum were put on the market for the consumption of approximately 43 million people in Turkey. Turkish Food Codex Communiqué on Chewing Gum (7/24/1999) defines chewing gum as a product that can be produced with a sugar-free or sugar-sweetened gum base, formulated with some other additives such as texture modifiers, preservatives, and flavourings. All over the world, chewing gums are produced similarly (De Roos, 2008). The gum base consists of a hydrophobic water-insoluble base and a water-soluble sugar or polyol phase in a ratio of approximately 1:3. The water-insoluble part remains in the mouth during chewing and the water-soluble substances are dissolved and swallowed (Hinderink et al., 2019).

Flavourings, which give taste and odour to foods, are the most important ingredient of chewing gum formulations that appeal to the consumer. 0.4-1g/100g flavour components are generally used in formulations (Wong et al., 2009; Menis-Henrique, 2020). However, after about 3-5 min, most chewing gums immediately lose their flavour and consumer perception (Thomas et al., 1984; Fenimore, 2008).

The perception of flavourings in foods begins with orthonasal olfaction and continues as the food is being processed in the mouth. Perception of flavourings ends with the last flavour molecule disappearing from breath. It depends on the nature of the food and how it is consumed. The chewing action does not only provide the disintegration of foods into small pieces and mixing them with saliva, but also plays an important role in the perception of flavourings by transferring flavour molecules to the pharynx (Hinderink et al., 2019; Selli and Kilic, 2020). Chewing gum is a food item in which flavour molecules have lower mobility, and the basic flavour perception occurs in the mouth. During chewing, the flavour molecules mix with saliva, thus the volatiles are perceived by the consumer (Voilley and Etievant, 2006).

The release of flavour components is very important as it also determines how pleasant and how long lasting a flavour will be perceived (Taylor et al., 2000; Potinini et al., 2008). As it is known, a long-lasting taste of chewing gum during a long chewing period is an important parameter for consumer preference. Based on previous studies, it is predicted that when the compounds are more hydrophobic, they interact better with the gum base. This interaction results in a relatively lower flavour release rate during chewing. De Roos (2008) determined that the

flavour release was diffusion controlled after 5 min of chewing. In another study, it was observed that flavour compounds were released from the chewing gum through saliva into the mouth, throat and nose cavity and these components could then be detected in the epithelium of the olfactory region (Hodgson et al., 2003).

It is also known that the permanence of the flavour, in other words, the flavour release during chewing depends on many factors such as the composition, texture and rheological properties of the matrix, the chewing power and the flow rate of saliva (Boland et al., 2006; Koliandris et al., 2008). Also, the release of flavours from the chewing gum is often limited because the flavours are lipophilic and thus largely retained in the gum base (Haar et al., 2003).

Due to the increasing demand for chewing gum confectionery, manufacturers are trying to improve their product quality by focusing on customer satisfaction. There is a challenge among manufacturers on the design of a gum matrix that releases both volatile compounds and sweeteners displaying a stable flavour during chewing up to 20 min. Therefore, studies on this subject have led to the development of reliable analytical techniques for monitoring the flavour volatiles released from the chewing gum during the production process and storage (Guichard, 2002). The headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) method, which is one of the instrumental methods used to analyze the flavour compounds in chewing gums, was developed by Pawliszyn et al. (2001). However, one of the main limitations of this method is the difficulty in quantitative analysis of head cavity components of a complex solid matrix (eg, chewing gum). Subsequently, more advanced devices were designed to detect and analyze the release of volatile compounds from the challenging food matrix. The most used device for this purpose is the atmospheric pressure-chemical-ionization mass spectrometer (APCI-MS, MS-noise). The breath of assessors is continuously sampled by these systems, which enable precise and rapid monitoring of volatile release (Taylor, 2000; Haarh, 2003; Boland et al., 2006). Another device developed for this purpose

is the proton transfer reaction mass spectrometer (PTR-MS). In both, the basic principle is based on detecting the flavour components in the breath that the assessors exhale during chewing the gum (Buettner and Schieberle, 2000; Buettner et al., 2008). Another device designed to examine flavour release by using the nose retronasal method is retronasal aroma trapping or retronasal olfactometer-GC/MS device. In this device, the breath of assessors into the nose is placed in a glass mask, and the air sample (breath) passing through the mask is trapped in the Tenax, and these trapped molecules are analyzed through GC/MS to determine what or not the flavour components in-breath (Munoz-Gonzalez et al., 2014; Bonneau et al., 2018).

As it is known, only "sensory" features can be controlled by consumers among food quality characteristics. For this reason, sensory evaluation experiments are used in consumer preference studies to determine consumers' reactions to the appearance, taste, texture and other sensory characteristics of foods.

Among the sensory analysis tests, the affective (preferences) test is mostly used to determine consumer preferences. On the other hand, analysis of permanence, perception, and flavour release of flavours are usually hard to determine by using these instruments in food manufacturing. Since the flavour permanence of the chewing gum determines consumers' preference. Studies on flavour release have led to the development of reliable analytical techniques for monitoring the behaviour of flavour volatiles release of the chewing gum (Fenimore, 2008). However, RATD-GC/MS gives the advantage of following selected flavour pre-cursors in every flavouring (Koliandris et al., 2008).

According to the literature, there is not any previous study that analyzed flavour release both sensory and instrumental techniques in chewing gum. In this study, the permanence of strawberry and watermelon flavoured gums during chewing was analyzed *in vivo* by RATD-GC/MS combined with sensory evaluation techniques for the flavoured chewing gum. The correspondence

between analytical and sensory evaluation techniques (an affective test and descriptive sensory analysis) was also criticized.

MATERIAL and METHODS

Materials

The gum base was purchased from Remik Chemistry San. ve Tic. A.Ş., Pendik, Istanbul. Ethyl Hexanoate (CAS 123-66-0), isoamyl acetate (CAS 123-92-2), citric acid (CAS 77-92-9, Jungbunzlauer Suisse AG.), malic acid (CAS 6915-15-7, Tate and Lyle, Turkey), encapsulated citric acid (50%, Tastetech, Bristol, UK), sorbitol, maltitol syrup, mannitol, xylitol (Roquette Agriculture and Food LLC., Turkey), cooling agent (WS3 Type, Henan Sunlake Enterprise Corporation, Henan, China), isomalt (Beneo, Turkey), sucralose (Splenda, Turkey), encapsulated sucralose (10%, Tastetech, Bristol, UK), strawberry flavour, encapsulated strawberry flavour, extruded strawberry flavour, watermelon flavour, encapsulated watermelon flavour, extruded watermelon flavour were obtained internally (Aromsa Flavours and the Food

Additives Inc. Co., Kocaeli, Turkey). All other chemicals were of analytical grade.

Sample preparation

According to the Mintel/Global New Product data, strawberry and watermelon flavoured chewing gums are the 4th and 5th most favored chewing gums after mint, spearmint, and peppermint flavoured gums. Thus, strawberry and watermelon flavoured chewing gums were prepared in this study (Table 1). Talk type of gums is preferred to use because citric acid causes decomposition and instability of other gum types. Artificial flavouring mixture components of strawberry and watermelon (liquid form: encapsulated form: extruded form, 1:1:1) were used. Each chewing gum was prepared to be suitable Council Regulations EU No:1330/2008 (The European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Food Additives) for chewing gum additives. Stick-type gums weighing 2.2 ± 0.2 g were prepared. They were put in a plastic bag, wrapped in aluminum foil, and stored at $21 \pm 1^\circ\text{C}$ at 35% relative humidity until they were used for the analysis.

Table 1. Composition (%) of strawberry and watermelon flavoured chewing gums

Ingredients	Strawberry				Watermelon			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Flavour mix*	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Gum base	30	30	30	30	30	30	30	30
Encapsulated citric acid	1	1	1	1	-	-	-	-
Citric acid	0.4	0.4	0.4	0.4	-	-	-	-
Malic acid	0.4	0.4	0.4	0.4	-	-	-	-
Sorbitol	47.6	47.6	48.05	48.05	49.4	49.4	49.85	49.85
Maltitol syrup	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
Mannitol	3	3	3	3	3	3	3	3
Encapsulated sucralose	1	1	0.5	0.5	1	1	0.5	0.5
Sucralose	-	-	0.05	0.05	-	-	0.05	0.05
Xylitol	7.5	-	7.5	-	7.5	-	7.5	-
Isomalt	-	7.5	-	7.5	-	7.5	-	7.5
Cooling agent	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

*Flavour mix includes the same flavourings: Liquid, encapsulated and extruded forms.

Study design

The study was designed as two main stages. Sensory evaluation (affective test) and subsequently, preselection were performed at the first stage. Sensory evaluation based on descriptive sensory analysis (DSA) and instrumental analysis was conducted on the selected samples at the second stage. A shelf-life study was also carried on for selected samples.

Strawberry and watermelon flavoured chewing gums were evaluated in terms of affective

(preference) and DSA tests. Thus, the optimum taste for the chewing gums was selected by trained and experienced assessors. The use of the free and encapsulated form of sucralose was compared between the groups of A-C and B-D by the presence of xylitol or isomalt. After then, the flavour profiles of selected formulas were characterized by DSA (Table 2). The flavour permanence of each selected chewing gum was monitored with both sensory evaluation analysis and in vivo retronasal aroma trapping method.

Table 2. Flavouring attributes selected for DSA by tasting the flavoured chewing gums

Flavouring	Attribute	Characteristics
Strawberry	Sour	Typical sourness in strawberry
	Fleshy	The taste of the outer seeds of strawberries
	Green	The taste of the green stem of the strawberry
	Creamy	Creamy taste in strawberry flavours
	Vanillin	Typical vanilla flavour
	Sweet	Typical sweetness in watermelon
	Juicy	The typical taste of watermelon juice
Watermelon	Soapy	The typical taste of watermelon flesh
	Fresh	Fresh watermelon flavour
	Peely	The taste of the watermelon close to the skin
	Fleshy	The taste of the fibrous meat part of the watermelon
	Green	Raw watermelon felt a green note

Sensory evaluation analyzes

Assessors

The assessors were 16 male and 24 female, between 35±12 age, non-smoking, non-pregnant, no piercings in the mouth, no mastication or swallowing disorder, and healthy volunteers of AROMSA Inc. Co. They had also normal olfactory and gustatory functions. All assessors' permission was taken by their consent for this study. All assessors were selected and trained in accordance with the instructions of the International Organization for Standardization (ISO 8586:2014). The chewing gums were evaluated by affective (preference/acceptance) test done with the assessors, 7 of whom participated in the in vivo RATD-GC/MS to determine the intensities between the tasting/flavouring attributes.

Affective (preference/acceptance) test

Evaluations were performed in the personal cabins of the AROMSA Inc. Co. Sensory Analysis Laboratory. Positive pressure was applied to remove the several odors in those cabins when the cabin temperature and relative humidity were kept at 21±1°C and 50-55% during the analysis. There were no objects that could disturb the concentration of the assessors in the cabins. A five-linear scale was used to evaluate the intensity of the sample taste. Instructions about the evaluation and the scale were also demonstrated on the evaluation monitors. The samples were presented to the assessors as blank and coded with randomly selected three-digit numbers (Lawless and Heymann, 2010).

The flavoured chewing gums were evaluated in separate sessions by each assessor. The assessors participated in two evaluation sessions which were held morning and afternoon hours. Each assessor evaluated two samples in each session: A and C were one session, and B and D were other sessions. In the last session, the best sample was chosen by the assessors. Water and crackers were provided to clean the mouth of the assessors.

Descriptive sensory analysis (DSA)

Strawberry and watermelon flavoured chewing gums were evaluated by the experienced assessor group to determine the intensities between the tasting/flavouring attributes. Before DSA, the flavoured chewing gums were given to the assessors, who were informed about the studied method, analysis steps and product information (ISO/DIS 13299: 2016). Critical information like the production and the expiration dates was not given to the assessors. The evaluations were performed in the personal cabins of the Aromsa Sensory Analysis Laboratory. A five-linear scale was used to evaluate the sample taste intensities. Instructions about the evaluation and the scale were also demonstrated on the evaluation monitors (Fizz Software, Biosystems, Couternon, France). The samples were presented to the assessors blank and coded with randomly selected three-digit numbers.

Flavour lexicons are used in a sensory evaluation to determine the flavour profile of food products. In the DSA method, a consumer panel of a small group of highly educated people, known as the descriptive panel, was used. Descriptive panels used lexicons, a list of defined terms, to describe products. The assessors discussed and found out the characteristics of samples and the reference products for each attribute (Lawless and Heymann, 2010). DSA was performed for the flavouring attributes of selected flavoured chewing gums listed in Table 2.

In vivo sensory analysis

The RATD used for the in vivo experiment was performed based on an earlier study (Buettner and Schieberle, 2000; Buettner et al., 2008; Muñoz-González et al., 2014; Bonneau et al., 2018). The

device consisted of an olfactory glass port, a Tenax, and a vacuum pump. The olfactory port was combined with an adsorbent polymer conditioned in a glass tube (200 mg Tenax TA, 60–80 mesh, Gerstel, Germany). The Tenax tube was connected to the vacuum pump at the outlet of the device. The vacuum pump was provided a stable 500 mL/min flow during in vivo aroma trapping. In this part, a gas flowmeter (ADM 2000 flow meter, Agilent Technologies, Wilmington, DE) was used for measuring the stable gas flow. The assessors put their noses olfactory glass port and exhaled through the nasal cavity during mastication of flavoured chewing gum. Flavoured compounds from the assessors' breath were collected in the Tenax, and then in thermal desorption unit of dynamic head space-GC/MS (DHA-GC/MS) desorbed these compounds from the Tenax. Desorbed compounds were injected automatically into the same column used for calibration.

Protocol

The conditions of the sensory analysis by using RATD were determined based on our studies at Aromsa Research and Development Center. According to the study protocol, in vivo sensory analysis was performed in triplicate over six-session held on separate days, at the same time of day. The first gum sample was put in the mouth and chewed for 20 s by exhalation through the nose. At the end of 20 s, 3 breaths are blown into the olfactory glass port at approximately 5-s intervals and data T0 were collected. The same process was repeated for T5 and T45 min by chewing for 5 and 45 min (3 blows at 5-s intervals) and the permanence of the flavour components, which were collected into Tenax, was determined with DHA-GC/MS.

Volatile compound analysis

Ethyl hexanoate for strawberry and isoamyl acetate for watermelon flavouring's peaks were monitored easily. The peaks were more clear than other compounds. Therefore, ethyl hexanoate and isoamyl acetate were chosen as flavouring precursors. They were dissolved in ethanol for the preparation of the calibration curve (6 points, 0-2 mg/mL), separately. Solutions were put into the

vials and collected in Tenax and then in thermal desorption unit desorbed these compounds from the Tenax. Desorbed compounds were injected automatically into a DP-WAX UI GC column (60 m × 25 µm film thickness × 0.25 mm innerdia) (INNOWAX, Germany). A calibration curve was obtained for each compound ($R=0.999$, $y=1.12 \times 10^8 x + 6686.51$ for ethyl hexanoate and $R=0.999$, $y=1.26 \times 10^9 x - 1.24 \times 10^6$ for isoamyl acetate). When the calibration curve was prepared, all measurements were done with amounts of flavouring compounds. Their total ion chromatogram was obtained using a Gerstel DHS System (Germany) connected to an Agilent 7890A GC and 5975C MS equipped with an Inert MSD with Triple Axis Detector (Germany). The flow rate of the helium carrier gas was adjusted to 1.2 mL/min. Each sample in Tenax was analyzed in the splitless mode. The GC oven temperature was programmed from 40°C to 240°C at 5°C/min. The results were reported as mg/mL (Table 3).

Data treatment and statistics

RATD-GC/MS data were evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA), and significant differences found among assessors were further evaluated by Tukey's test in the SPSS package program (Version 23.0, IBM Inc., New York, USA). The results were considered statistically significant at $P < 0.05$. All sensorial analyzes were done by using the Fizz Software (the non-parametric Friedman test), (Biosystems, Couternon, France) at a 95% confidence level.

Accelerated shelf-life analyzes

The flavour permanence of selected flavoured chewing gums was monitored during 3 months of storage. The samples were divided into two groups: experimental and control groups. Experimental samples were produced at the same time for both sensory and instrumental analysis. Experimental groups of chewing gums were stored under 35°C and 30-40% RH storage conditions in a cooled incubator (Nüve ES252, Istanbul, Turkey), and the control group of chewing gums was produced freshly for each time of analyzes for the shelf-life study. Sensory evaluation analyzes were performed for every

week of storage during the shelf life. The samples were analyzed with RATD-GC/MS at the end of the 12th week. The shelf life of chewing gums on the market is expected to be at least 12 months. According to the previous research results of the R&D center of the company, storage at $35 \pm 1^\circ\text{C}$ and 30-40% RH conditions for 3 months are equal to 12 months. The flavoured chewing gums were chewed by a panel of 7 assessors. Each gum was chewed for 45 min.

RESULTS and DISCUSSION

The first stage of the study

When considering strawberry flavoured chewing gums, formula C was preferred by 72.73% of the assessors in the first session, and for the second session formula B was preferred by 63.63% of assessors. As a result, in the third and final session between groups B and C, formula C was preferred by 56.25% of assessors. The assessors rated the selected formula C as having a sweeter strawberry flavour and balanced sour taste, and as a powerful, permanent and the most favorable flavour (Figure 1a).

Free and encapsulated forms of sucralose were used with xylitol in formulation C. The sweeteners used in the gum matrix influence the flavour perception and sensory properties of chewing gums. The increased amount of the sweeteners provides an increase in flavour taste. In the meantime, the loss of sweetness due to chewing gives the impression that the flavour is consumed, even if the amount of released flavour does not decrease (Davidson et al., 1999; Fisker and Nissen, 2006). It is also known that the use of liquid and encapsulated forms of the flavourings in the chewing gum, separately or in combination, increase the flavour permanence during the chewing. Encapsulation is a technology provided to control the release properties and support the strength and flavour permanence of flavourings in the products (Merritt et al., 1983; Castro and Johnson, 2006; Madene et al., 2006). Xylitol, which gives the same effect in strawberry flavouring, is known to support the flavour in the excess sucralose, like the effect of menthol (Davidson et al., 2000).

For watermelon flavoured chewing gums, 78.35% of the assessors preferred formula A in the first session and 80% preferred formula D in the second session. In the last session, 68.42% of the assessors preferred formula D. The assessors

rated the selected formula D as the juicier and more permanent product with highly intensive fruity nuances compared to other formulations (Figure 1b).

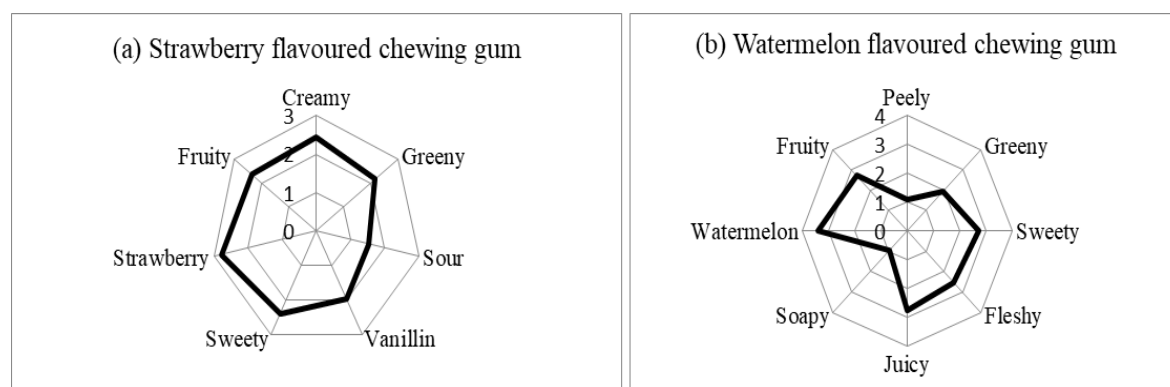


Figure 1. Radars of flavoured chewing gum sensory analysis

Formula D was prepared by using isomalt, and free and encapsulated forms of sucrose without any acidity regulator. In the sensory test, the non-sour flavour enhancing effect and sweet taste of isomalt conducted the preference of the assessors. Another advantage of isomalt is masking the bitter aftertaste of some sweeteners (Sentko and Willibald-Ettle, 2012). Watermelon flavour is a soapier and mouthful flavour than other fruit flavourings. It has also no acidity. These factors may also affect positively the preference of formula D. Xylitol was usually preferred in the

strawberry flavoured chewing gums in the market because of its cooling and better emphasising effects of fruit flavourings, especially in acidic environments.

The second stage of the study

Results for every two types of gums during 45 min are shown in Figure 2. As seen in Table 3, the permanence of both ethyl hexanoate and isoamyl acetate flavouring compounds was still observed at 45th min.

Table 3. Data from in vivo sensory analysis (RATD-GC/MS) of strawberry and watermelon flavoured chewing gums

Assessors	Strawberry flavoured chewing gum			Watermelon flavoured chewing gum		
	Ethyl hexanoate			Isoamyl acetate		
	T= 0 min	T= 5 min	T= 45 min	T= 0 min	T= 5 min	T= 45 min
1	20.67±0.11 ^e	19.52±0.10 ^b	10.97±0.10 ^f	14.08±0.12 ^b	12.92±0.10 ^a	6.16±0.11 ^d
2	3.06±0.09 ^a	2.79±0.11 ^a	0.67±0.11 ^a	1.99±0.12 ^a	1.32±0.11 ^b	0.13±0.10 ^a
3	5.99±0.10 ^d	5.80±0.12 ^e	4.32±0.10 ^e	4.07±0.09 ^c	3.89±0.11 ^d	2.58±0.12 ^e
4	4.51±0.11 ^c	4.35±0.10 ^d	2.62±0.13 ^c	2.92±0.11 ^d	2.70±0.09 ^c	1.11±0.09 ^c
5	4.77±0.12 ^c	4.28±0.11 ^{bc}	2.18±0.09 ^b	2.05±0.10 ^a	1.97±0.10 ^e	1.34±0.09 ^c
6	4.71±0.08 ^c	4.49±0.11 ^d	3.58±0.09 ^d	4.58±0.10 ^e	4.09±0.13 ^d	0.79±0.10 ^b
7	4.18±0.07 ^b	4.01±0.13 ^b	2.80±0.10 ^c	4.99±0.08 ^f	4.48±0.11 ^f	0.68±0.11 ^b

Results are mean±SD (10⁻² mg/mL)

Different letters in same column indicate significant differences at $P < 0.05$.

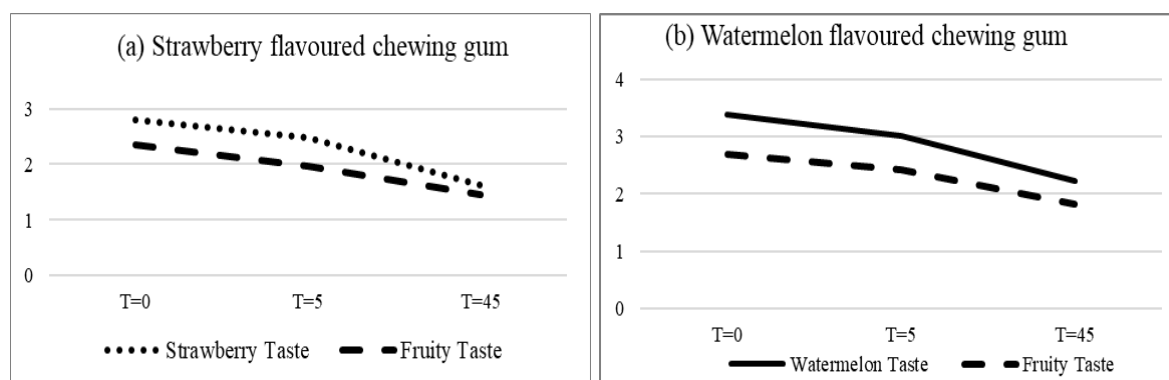


Figure 2. Sensory analysis of flavoured chewing gum

The compounds selected for strawberry and watermelon were quite intense in the first 5 min of breath, and they were still detected at the 45th min. Therefore, the sensory and DHA-GC/MS analyzes were in correspondence. According to the sensory evaluation results, the watermelon flavouring was still perceived as watermelon flavourings by the assessors at the 45th min, but the fruity nuance perception remained in the strawberry flavourings. However, the specific strawberry flavour was determined to disappear at the 30th min (Table 3). The reason for this is that the flavour components are known to be effective in the flavour release (Cook et al., 2005). Ethyl hexanoate is one of the strawberry flavouring ingredients. However, it is also frequently used as an ingredient to obtain fruity flavours. As it is known, a flavouring ingredient consists of many flavour chemicals and it releases each of these chemicals in different manner (Due et al., 2011; Sentko and Willibald-Ettle, 2012; Hinderink et al., 2019). Therefore, ethyl hexanoate was determined at the 45th min. The reason of perception of the fruity taste by the assessors instead of the sensory-specific strawberry flavouring might be the monitoring a single component in the instrument. It should be considered that working with devices with selected compounds gives parallel results with sensory evaluation studies but may show variability in specific flavour components. As a result, a single chemical is monitored with the instrument. However, in the sensory analysis, the instrument is human and evaluates a flavouring. The advantage of this device is that it requires only one vacuum pump, a special glass apparatus, and a Tenax, which is easily adapted to GC/MS.

Flavour compounds specific for various gum types can be monitored with the RATD-GC/MS to determine flavour quality parameters. This technique also gives parallel results to human perceptions. Although data from the assessors were statistically different ($P < 0.05$), the permanence of the flavour was determined by all panelists after 45 min.

Accelerated shelf-life analyzes

Data from accelerated shelf-life analysis of flavoured chewing gums by RATD-GC/MS are given in Table 4 and Figure 3. It was confirmed that the formulations maintained their flavour permanence at the end of the shelf-life. The sensory results were in correspondence with the device. However, a deviation in the strawberry flavoured chewing gum was determined. The reason for this can be explained by the differences in the volatiles used in strawberry flavouring and their interaction with each other and with the gum base.

CONCLUSION

Flavour release is usually determined solely by employing sensory perception analyses to estimate the taste of foodstuffs. However, due to the human sensory nature of taste perception, there may be situations where flavour release could not be predicted specifically and the taste perception may not be clear due to some properties of food products (sugar or acidity in the food matrix, etc.). The importance of changes in instrumental measurements of flavour release should always be in correspondence to human perception due to the complexity of mixing

effects and the potential for perceptual interaction. In this study, the permanence of the chewing gum was determined by using both sensory techniques and RATD-GC/MS. For this purpose, the presence of the selected compounds

of strawberry and watermelon flavourings was monitored. It was observed that the measurements were in correspondence with the assessor's evaluations.

Table 4. Shelf-life of strawberry and watermelon flavoured chewing gums

Assessors	Strawberry		Watermelon	
	Ethyl hexanoate		Isoamyl acetate	
	T= 0 min	T = 45 min	T = 0 min	T = 45 min
1	3.10±0.09 ^c	3.45±0.08 ^f	2.82±0.08 ^d	0.66±0.01 ^e
2	0.58±0.01 ^a	0.53±0.02 ^c	0.59±0.01 ^a	0.31±0.01 ^d
3	1.55±0.10 ^b	0.78±0.01 ^e	1.02±0.08 ^b	0.29±0.01 ^d
4	1.91±0.09 ^b	0.67±0.01 ^d	0.96±0.01 ^b	0.22±0.01 ^c
5	0.55±0.01 ^a	0.25±0.01 ^b	1.09±0.08 ^b	0.21±0.01 ^{bc}
6	4.03±0.78 ^d	5.11±0.02 ^c	1.76±0.08 ^c	0.16±0.01 ^a
7	1.83±0.08 ^b	0.01±0.01 ^a	0.63±0.01 ^a	0.19±0.01 ^b

Results are mean± SD (10⁻² mg/mL)

Different letters in same column indicate significant differences at $P < 0.05$.

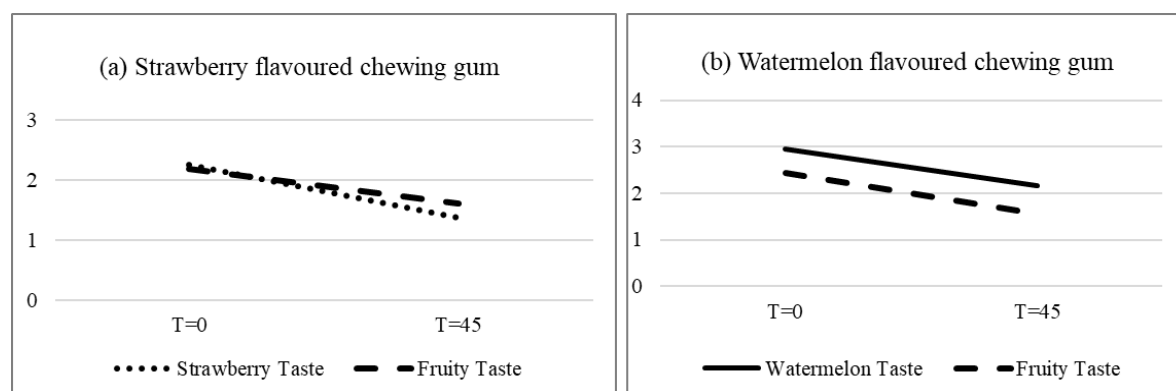


Figure 3. Shelf-Life sensory analyses result of flavoured chewing gum

This study presents important data that will contribute to the confectionery design process in the food industry that meets consumer expectations. Due to the human sensory nature of taste perception, measuring flavour permanence and estimating the taste experience of foodstuffs solely by sensory techniques could not be sufficient. Flavour permanence studies in different food matrices by using a RATD-GC/MS will be beneficial to create more permanent flavourings and may help to optimize production systems. In this study, the taste permanence of chewing gums evaluated both sensory techniques and RATD-GC/MS with the

presence of selected compounds from the flavourings of flavoured chewing gum.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey) [Grant Number TEYDEB 3180337]. The authors also thank the Aromsa Flavours and Food Additives Inc. Co., Kocaeli, Turkey and are grateful to Murat YASA and Melis YASA for their support in this study.

DECLARATION OF COMPETING INTEREST

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

AUTHORS CONTRIBUTIONS

Pınar Uzun: Methodology, Writing-original draft; Ahmet Emir Özünal and Hakan Başkaya: Methodology, Formal Analyses, and Formulation of Chewing Gums; Nuray Doğan: Instrumental Analyses; Sonay Merve Gülay and Büşra Hantal: Sensory Analyses; Melike Üner: Writing review and editing; Asli Barla Demirköz; Supervisor and Writing-original draft.

REFERENCES

Boland, A.B., Delahunty, C.M., Van Ruth, S.M. (2006). Influence of the texture of gelatin gels and pectin gels on strawberry flavour release and perception. *Food Chemistry*, 96(3), 452-460. doi:10.1016/j.foodchem.2005.02.027

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I., Valette, J., Guichard, É., Gunata, Z. (2018). Impact of fruit texture on the release and perception of aroma compounds during in vivo consumption using fresh and processed mango fruits. *Food Chemistry*, 239, 806-815. doi:10.1016/j.foodchem.2017.07.017.

Buettner, A., Schieberle, P. (2000). Exhaled odorant measurement (EXOM)-a new approach to quantify the degree of in-mouth release of food aroma compounds. *LWT-Food Science and Technology*, 33(8), 553-559. doi:10.1006/fstl.2000.0708

Buettner, A., Otto, S., Beer, A., Mestres, M., Schieberle, P., Hummel, T. (2008). Dynamics of retronasal aroma perception during consumption: Cross-linking on-line breath analysis with medico-analytical tools to elucidate a complex process. *Food Chemistry*, 108(4), 1234-1246. doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.042

Castro, A.J., Johnson, S.S. (2006) Encapsulated Flavors and Chewing Gum Using Name. *U.S. Patent No. 7,022,352*. U.S. Patent and Trademark Office, Washington, DC.

Cook, D.J., Hollowood, T.A., Linforth, R.S., Taylor, A.J. (2005). Correlating instrumental measurements of texture and flavour release with human perception. *International Journal of Food Science and Technology*, 40(6), 631-641. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.00973x.

Davidson, J.M., Linforth, R.S., Hollowood, T.A., Taylor, A.J. (1999). Effect of sucrose on the perceived flavor intensity of chewing gum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4336-4340. <https://doi.org/10.1021/jf9901082>

Davidson, J.M., Linforth, R.S., Hollowood, T.A., Taylor, A.J. (2000). Release of non-volatile flavor compounds in vivo. In: *Flavor Release*, Roberts D.D. and Taylor A.J. (eds), American Chemical Society, Washington, pp 99-111.

De Roos, K.B. (2008), Flavourings for Chewing gum. In: *Formulation and Production of Chewing and Bubble Gum*, Douglas F. (Ed.), Kennedy's Publications Limited, London, UK, pp. 205-231.

Du, X., Plotto, A., Baldwin, E., Rouseff, R. (2011). Evaluation of volatiles from two subtropical strawberry cultivars using GC-olfactometry, GC-MS odor activity values, and sensory analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23), 12569-12577. <https://doi.org/10.1021/jf2030924>

Fenimore, E.L. (2008). Flavourings for Chewing gum. In: *Formulation and Production of Chewing and Bubble Gum*, Douglas F. (Ed.), Kennedys Book Ltd, London, UK, pp. 1-46.

Fisker, H.O., Nissen, V. (2006). Effect of the gum base and bulk sweetener on the release of specific compounds from fruit flavoured chewing gum. *Developments in Food Science*, 43, 429-432. doi:10.1016/S0167-4501(06)80101-9.

Guichard, E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International*, 18, 49-70. <https://doi.org/10.1081/FRI-120003417>

Haahr, A.M., Madsen, H., Smedsgaard, J., Bredie, W.L., Stahnke, L.H., Refsgaard, H.H. (2003). Flavor release measurement by atmospheric pressure chemical ionization ion trap mass

- spectrometry, construction of interface and mathematical modeling of release profiles. *Analytical Chemistry*, 75(3), 655-662. <https://doi.org/10.1021/ac026035u>
- Hinderink, E.B., Avison, S., Boom, R., Bodnár, I. (2019), Dynamic flavor release from chewing gum: mechanisms of release. *Food Research International*, 116, 717-723. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.002>
- Hodgson, M., Linforth, R.S.T., Taylor, A.J. (2003). Simultaneous real time measurements of mastication, swallowing, nasal air flow, and aroma release. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5052-5057. <https://doi.org/10.1021/jf030118+>
- Kataoka, H., Lord, H.L., Pawliszyn, J. (2000). Applications of solid phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography*, 880, 35-62. doi:10.1016/j.foodres.2018.09.002.
- Koliandris, A., Lee, A., Ferry, A.L., Hill, S., Mitchell, J. (2008). Relationship between structure of hydrocolloid gels and solutions and flavour release. *Food Hydrocolloids*, 22(4), 623-630. doi.org:10.1016/j.foodhyd.2007.02.009.
- Lawless, H. T., Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. Springer Science+Business Media LLC, New York, pp 1431-1450.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 1-21. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x.
- Menis-Henrique, M.E.C. (2020). Methodologies to advance the understanding of flavor chemistry. *Current Opinion in Food Science*, 33, 131-135. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.005>
- Merritt, C. G., Wingerd, W. H., Keller, D. J. (1983). Process for preparing a time delayed release flavorant and an improved flavored chewing gum composition. U.S. Patent No. 4,386,106. U.S. Patent and Trademark Office, Washington, DC.
- Muñoz-González, C., Rodríguez-Bencomo, J.J., Moreno-Arribas, M.V., Pozo-Bayón, M. Á. (2014). Feasibility and application of a retronasal aroma-trapping device to study in vivo aroma release during the consumption of model wine-derived beverages. *Food Science and Nutrition*, 2(4), 361-370. doi:10.1002/fsn3.111.
- Parliament, T.H. (1998). Applications of a microextraction class separation technique to the analysis of complex flavor mixtures. In: *Flavour Analysis*, Mussinan C.J. and Morello M.J. (eds.), ACS Symposium Series Vol. 705, pp. 8-21. DOI:10.1021/bk-1998-0705.ch002
- Pawliszyn, J. (2001). Solid phase microextraction. In: *Headspace Analysis of Foods and Flavors, Advances in Experimental Medicine and Biology*, Rouseff R.L., Cadwallader K.R. (eds.), Springer, Boston, MA, pp. 73-87. DOI: 10.1007/978-1-4615-1247-9_6
- Potineni R.V., Peterson D.G. (2008). Mechanism of flavor release in chewing gum: Cinnamaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3260-3267. <https://doi.org/10.1021/jf072783e>
- Sentko, A., Willibald-Ettle, I. (2012). Isomalt, In: *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology*, O'Donnell, K., Kearsley M.W. (eds), John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, UK, pp. 243-274.
- Selli S., Kiliç Buyukkurt, Ö. (2020). Aroma maddelerinin salınımlarında etkili faktörler, *GIDA*, 45, 204-216. <https://doi.org/10.15237/gida.GD19122>
- Taylor, A.J., Linforth, R.S.T., Harvey, B.A., Blake, A. (2000). Atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for in vivo analysis of volatile flavour release. *Food Chemistry*, 71(3), 327-338. doi:10.1016/S0308-8146(00)00182-5.
- Voilley A., Etievant, P. (2006). *Flavour in Food*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 287p.
- Wong, S. W., Yu, B., Curran, P., Zhou, W. (2009). Characterising the release of flavour compounds from chewing gum through HS-SPME analysis and mathematical modelling. *Food Chemistry*, 114, 852-858. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.030>



EVALUATION OF QUALITY AND STORAGE STABILITY OF BEEF PATTIES CONTAINING DIFFERENT LEVELS OF PEANUT (*Arachis hypogaea* L.) SKIN

Şule Bıyık, Sadettin Turhan*

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

Received / Geliş: 11.10.2021; Accepted / Kabul: 31.03.2022; Published online / Online baskı: 08.04.2022

Bıyık, Ş., Turhan, S.. (2022). Evaluation of quality and storage stability of beef patties containing different levels of peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin. *GIDA* (2022) 47 (3) 420-433 doi: 10.15237/gida.GD21130

Bıyık, Ş., Turhan, S.. (2022). Farklı düzeylerde yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.) zarı içeren sığır köftelerinin kalite ve depolama stabilitesinin değerlendirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (3) 420-433 doi: 10.15237/gida.GD21130

ABSTRACT

The present study was conducted to evaluate the quality and storage stability of beef patties containing different levels of peanut skin (PS) during cold storage. The PS showed a high phenolic content and antioxidant capacity. The addition of PS enhanced the water holding capacity of patties while negatively affected the protein content, hardness, and chewiness. The treatment of PS decreased appearance, juiciness, and overall acceptability scores, but overall acceptability scores of beef patties containing up to 4.5% PS were similar to the negative control without PS. The incorporation of PS to beef patties at high levels (3.0, 4.5, and 6.0%) stabilized the pH, lipid oxidation, color differences, and microbial growth during the storage period. Thus, the inclusion of 4.5% PS could be recommended to prolong the shelf life of beef patties with minimal compositional and sensory changes.

Keywords: Beef patty, peanut skin, quality evaluation, storage stability

FARKLI DÜZEYLERDE YER FISTIĞI (*Arachis hypogaea* L.) ZARI İÇEREN SIĞIR KÖFTELERİNİN KALİTE VE DEPOLAMA STABİLİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZ

Bu çalışma, farklı düzeylerde yer fıstığı zarı (YFZ) içeren sığır köftelerinin soğuk depolama sırasında kalite ve depolama stabilitesini değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir. YFZ, yüksek fenolik içerik ve antioksidan kapasite sergilemiştir. YFZ ilavesi köftelerin su tutma kapasitesini artırırken, protein içeriğini, sertliğini ve çiğnenebilirliğini olumsuz yönde etkilemiştir. YFZ uygulaması, görünüm, sululuk ve genel kabul edilebilirlik puanlarını azaltmış ancak %4.5'e kadar YFZ içeren köftelerin genel kabul edilebilirlik puanları, YFZ içermeyen negatif kontrole benzer bulunmuştur. Köftelere yüksek düzeylerde (%3.0, 4.5 ve 6.0) YFZ ilavesi, depolama süresince pH, lipit oksidasyonu, renk farklılıkları ve mikrobiyal gelişmeyi stabilize etmiştir. Böylece minimum düzeyde bileşimsel ve duyuşal değişikliklerle sığır köftelerinin raf ömrünü uzatmak için %4.5 düzeyinde YFZ ilavesi önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Sığır köftesi, yer fıstığı zarı, kalite değerlendirmesi, depolama stabilitesi

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: sturhan@omu.edu.tr

☎: (+90) 362 312 1919/1503

☎: (+90) 362 457 6034

Şule Bıyık; ORCID no: 0000-0003-2406-6111

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

INTRODUCTION

Lipid oxidation and microbial growth are the major reasons for the quality loss and shelf-life reduction in meat products during cold storage. The growth of microorganisms in meat products causes spoilage or foodborne diseases while lipid oxidation adversely affects the color, flavor, texture, and nutritional value of these products (Fernandez-Lopez et al., 2005; Altuntas and Turhan, 2013). The latter can also lead to the formation of potentially toxic oxidation products (Tang et al., 2001; Altuntas and Turhan, 2013). Meat products such as beef patties and hamburgers are more susceptible to microbial and oxidative changes since they are produced from minced meat. Mincing of meat disrupts the integrity of the muscle membrane and increases the surface area that promotes lipid oxidation and microbial growth in stored meat products. Also, these products usually show a rather high-fat content which makes them susceptible to oxidative changes (Danowska-Oziewicz and Kurp, 2017). Although synthetic additives have been widely used in the meat industry to overcome these problems, the trend is to decrease their use because of the toxicity and carcinogenicity of such chemical additives (Juntachote et al., 2006).

The recent decades, there has been a global trend toward using by-products obtained from the agro-industry as natural antioxidants and antimicrobials in foods. One of them, peanut skin (PS), is produced as a by-product of the peanut processing industry. PS is the pink-red layer that covers peanuts and is the primary residue of peanut processing, which represents less than 3% of peanut weight (Lorenzo et al., 2018). PS is traditionally consumed as part of peanuts in many areas of the world without adverse effects and would qualify as a GRAS product (Yu et al., 2010). However, this by-product has limited applications in the industry due to its low commercial value (Lorenzo et al., 2018). Recent research has shown that extracts of PSs are an excellent source of phenolic compounds such as proanthocyanidins and other flavonoids, which are responsible for antioxidant and antimicrobial activities (Yu et al., 2006, 2010; Munekata et al., 2016; Calomeni et al.,

2017). PSs are also rich in dietary fibre and potentially other health-promoting compounds. The total dietary fibre accounts for ~45% weight of the roasted PS, of which roughly 2.2% is soluble fibre (Shimizu-Ibuka et al., 2009). In this context, the antioxidant and antimicrobial effects of PS extracts have been studied by some researchers in meat and poultry products. For example, O'Keefe and Wang (2006) reported that PS methanol extract at 200 ppm level prevented lipid oxidation but did not affect the instrumental color, aroma, cooking loss, and microbial growth in cooked ground beef during 14 days of refrigerated storage. However, these authors observed that PS extract levels higher than 400 ppm (600 and 800 ppm) reduced the luminosity, redness, and yellowness of cooked ground beef. Likewise, Yu et al. (2010) observed that the use of PS extract in the raw and cooked ground beef displayed a high effect on the inhibition of lipid oxidation but relatively a low effect on antimicrobial activity during 12 days of refrigerated storage. In the study performed by Munekata et al. (2015), an aqueous extract obtained from PS inhibited the lipid oxidation and prevented the loss of redness in cooked chicken patties during 15 days of refrigerated storage. In another study, 200 ppm of PS extract in raw sheep patties packaged in a modified atmosphere (80% O₂ - 20% CO₂) reduced the redness loss and changes in sensory attributes, prevented lipid oxidation but did not affect the microbial growth during refrigerated storage (Munekata et al., 2016).

As seen in the examples above, although there are few studies on the use of PS extract in meat and poultry products, there is no information about the effect of direct use of this by-product on the quality and shelf life of meat products. The direct use of the PS may increase the shelf life of the product due to the loss of some antioxidative and antimicrobial compounds during the extraction process and enrich the dietary fibre content of the product. In addition, in order to recover bioactive compounds from plant by-products, solvents (eg. methanol) are commonly used, which in many cases can be toxic. Therefore, this study aimed to assess the effect of direct use of PS on the quality

(proximate composition, water holding capacity, texture, and sensory attributes) and storage stability (pH, TBARS, color, and microbial load) of beef patties during cold storage (4 °C).

MATERIAL AND METHOD

Materials

The minced beef (64.33% moisture, 21.55% protein, 11.81% fat and 1.01% ash), beef fat (17.43% moisture, 78.13% fat), and peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin (6.54% moisture, 8.48% protein, 12.03% fat and 23.58% ash) were used in the preparation of beef patties, and minced beef and beef fat were purchased from a butcher shop. PS produced as a byproduct of the roasting process of peanuts were obtained from a local nuts company and used in the powder form after being ground with a blender (Waring-8011ES, USA) and passed through a 0.5 µm sieve. Butylated hydroxyl toluene (BHT) was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Unless otherwise stated, all chemicals used were of analytical grade.

Determination of total phenolic content and antioxidant activity of PS

Extraction procedure

The extraction of phenolic compounds was carried out according to the procedure explained by Guliyeva and Turhan (2021). Firstly, 5 g of PS was mixed with 20 mL of 80% methanol aqueous solution and submitted to ultrasound for 15 min. Next, the mixture was left in the dark at room temperature for 12 h and filtrated through filter paper (Whatman No. 1, Maidstone, UK). The obtained extract was used for the total phenolic content and antioxidant activity determinations.

Total phenolic content

The total phenolic content of PS was determined using the Folin-Ciocalteu method, as described by Singleton and Rossi (1965). Briefly, the diluted extract was mixed with Folin-Ciocalteu reagent and left at room temperature for 5 min. Then, sodium carbonate was added to the mixture and left in dark at room temperature for 2 h. The absorbance of the mixture was measured with a spectrophotometer (Helios gamma, Thermo Spectronic, Madison, WI) at 760 nm against a

blank reagent. The quantity of total phenolic content in the PS was calculated as mg gallic acid equivalent (GAE) per g PS.

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity of PS was measured according to Nakajima et al. (2004) with a slight modification. Briefly, 50 µL of the diluted extract was added to 1 mL of DPPH methanol solution (100 µM) and left to stand for 1 h at room temperature followed by absorbance measurement of the resulting solution at 517 nm using a spectrophotometer. The DPPH scavenging activity was calculated by the following equation:

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (1)$$

where A_c is the absorbance of the control (DPPH solution with methanol) and A_s is the absorbance of the sample. A Trolox standard curve was produced and the antioxidant activity was then calculated as mmol Trolox equivalent (TE) per g PS.

Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

The ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay of PS was performed according to the methodology, described by Gao et al. (2000). Briefly, 50 µL of the diluted extract was mixed with 0.95 mL ferric-2,4,6-tripyridil-s-triazine (TPTZ) reagent (which was done by mixing 300 mM acetate buffer, pH 3.6, 10 mM TPTZ in 40 mM HCl and 20 mM FeCl₃ at the ratio 10:1:1). Then, the sample absorbance was read at 593 nm after 30 min incubation at room temperature using a spectrophotometer. A Trolox standard curve was produced and antioxidant power was then calculated as mmol TE per g PS.

Preparation of beef patties

Six different batches of beef patties were manufactured in Ondokuz Mayıs University, Meat and Meat Products Laboratory (Samsun, Turkey) as follows: 1) CON, negative control (78.5% minced beef + 20% beef fat + 1.5% salt); 2) BHT, positive control (78.5% minced beef + 20% beef fat + 1.5% salt + 0.01% BHT); 3) PS15

(77% minced beef + 20% beef fat + 1.5% salt + 1.5% PS); 4) PS30 (75.5% minced beef + 20% beef fat + 1.5% salt + 3.0% PS); 5) PS45 (74% minced beef + 20% beef fat + 1.5% salt + 4.5% PS); 6) PS60 (72.5% minced beef + 20% beef fat + 1.5% salt + 6.0% PS). All batches were mixed for 10 min to obtain a homogenous mass, weighed into ~30 g portions, and shaped by hand with gloves. The final products with a mean of 50 mm diameter and 10 mm thickness were aerobically packaged in polyamide bags with an oxygen transmission rate of 52.4 cm³/m²/24 h at 1 atm and 23 °C and stored at 4 ± 1 °C home-type refrigerator for 9 days. Samples were randomly selected for analysis at the evaluation periods. Proximate composition, water holding capacity (WHC), texture profile analysis (TPA) and sensory attributes of samples were evaluated on 1 day of storage. The pH, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), color and microbial growth were analyzed on days 1, 3, 6, and 9 of storage.

Determination of proximate composition and water holding capacity

The proximate composition (moisture (950.46), protein (981.10), fat (960.39), and ash (920.153)) of the minced beef, beef fat, PS, and beef patties were determined using the official standard method (AOAC, 2000).

The water holding capacity (WHC) of the beef patties was determined using a press technique explained by Öztan and Vural (1993) with a slight modification. Briefly, 1.0 g of sample was placed on the filter paper (Whatman No. 1, Maidstone, UK), which was placed between two Plexiglas plates and pressed for 1 h by a 1.0 kg weight. The area of pressed meat and a spread juice was measured, and WHC was calculated by the following equation:

$$WHC = \frac{\text{Meat film area (cm}^2\text{)}}{\text{Total surface area (cm}^2\text{)}} \quad (2)$$

Determination of textural properties

Textural properties of the beef patties with a mean of 50 mm diameter and 10 mm thickness were determined according to the methodology, described by Öztürk and Turhan (2020) using a

Texture Analyzer (TA-XT Plus, Stable Micro Systems, UK) with a 50 mm aluminum cylindrical probe (model P/50R) and a 2 kg load cell. The patties were compressed twice at a pre-test speed of 2.0 mm/s, a post-test speed of 5.0 mm/s, test speed of 5.0 mm/s, and 5 s between compressions. Values for hardness (N), springiness (mm), cohesiveness, and chewiness (N.mm) were calculated from the curves provided by the equipment.

Evaluation of sensory attributes

Sensory properties (appearance, flavor, juiciness, and tenderness) of the beef patties were evaluated by an experienced panelist group of 10 members from the staff and graduate students of the Department of Food Engineering, Ondokuz Mayıs University, Turkey. All sensory work was carried out in the sensory evaluation room under fluorescence lighting. The cooked samples were cooled to room temperature, cut into blocks, randomized, and served to each panelist. The panelists evaluated the samples randomly and after rating each sample, rinsed their mouths with water and waited 1-2 min before evaluating the next sample. Flavor, juiciness, and tenderness evaluations were performed only on cooked samples, while appearance was done on both raw and cooked samples. A 9- point hedonic scale was used to assess appearance and flavor (1 = undesirable to 9 = desirable), and a 9- point descriptive scale to assess juiciness (1 = dry to 9 = juicy) and tenderness (1 = tough to 9 = tender). The overall acceptability was calculated taking into account appearance (raw and cooked), flavor, juiciness, and tenderness (each with 20%) (Turhan et al., 2014).

Determination of pH value and lipid oxidation

For the determination of pH, 5 g of patty sample was homogenized with 50 mL distilled water, and the pH value was measured using a digital pH-meter (Cyberscan PC 510, Singapore) calibrated at pH 4 and 7.

Lipid oxidation was assessed by the distillation method according to Tarladgis et al. (1960) and

the absorbance was measured at 538 nm. The content of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) was calculated from the standard curve prepared with 1,1,3,3-tetraethoxypropane and expressed as mg malondialdehyde (MDA) per kg sample.

Determination of instrumental color

Instrumental color was measured on the surface of beef patties at room temperature using a colorimeter (Minolta Chromometer CR-400, Japan). Three patties per formulation were randomly selected and five readings were taken from each patty. Color measurement included Hunter *L*, *a*, and *b* parameters, where *L* represents lightness with a scale from 0 (black) to 100 (white), *a* represents redness with a scale from -60 (green) to +60 (red), and *b* represents yellowness with a scale from -60 (blue) to +60 (yellow).

In addition, total color change between respective day and day 1 is calculated as color difference (ΔE) by the following equation:

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2} \quad (3)$$

Determination of microbial quality

For the microbial analysis, 10 g of patty sample was aseptically weighed into a sterile stomacher bag and homogenized with 90 mL of sterile saline solution (NaCl, 0.85%) for 2 min at room temperature using a stomacher to make the initial solution. Other decimal dilutions were prepared from this dilution and the surface plate method was used for enumeration. Enumeration of total viable count (TVC) and psychrotrophic bacteria count (PBC) were determined in Plate Count Agar (PCA, Merck) after incubation at 35 °C for 48 h and at 7 °C for 10 d, respectively. The results were log-transformed and expressed as log₁₀ cfu/g.

Statistical analysis

The whole trial was replicated twice (two independent batches), with each replication corresponding to a different production day. For each batch of beef patties, measurements of related traits were carried out in triplicate. The data were analyzed with the SPSS 21 statistical

software (IBM, Chicago, IL, USA), and first checked for normal distribution and homogeneity of variances. Data from pH, TBARS, color, and microbiological properties were analyzed using a random block design, considering a mixed linear model including batch and storage as fixed effects and replicate as a random effect. The results of proximate composition, WHC, textural and sensory properties were analyzed by one-way ANOVA, followed by Duncan's multiple range test when the ANOVA was significant ($P < 0.05$). For the sensory analysis, panel day, session number, and panelist number are considered as random effects. All results were expressed as mean value \pm standard deviation.

RESULTS AND DISCUSSION

Total phenolic content and antioxidant activity of PS

The phenolic compounds that may occur in all parts of plants are principally responsible for antioxidant activity and can act as reducing agents (free radical terminators), metal chelators, and singlet oxygen quenchers (Shahidi and Naczka, 2004). The total phenolic content determined in PS was 128.26 mg GAE/g while its antioxidant activity as DPPH and FRAP was 417.99 and 41.07 mmol TE/g, respectively (Table 1).

Table 1. Total phenolic content and antioxidant capacity of peanut skin¹

Parameters	Values
Total phenolic content (mg GAE/g)	128.26 \pm 1.15
DPPH ² scavenging activity (mmol TE/g)	417.99 \pm 2.06
FRAP ³ (mmol TE/g)	41.07 \pm 0.42

¹Results are expressed as mean \pm standard deviation. Analyses were carried out in triplicate.

²DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, ³FRAP, ferric reducing antioxidant power.

A similar phenolic content was recorded by Yu et al. (2006) for directly peeled (130.8 mg GAE/g), and roasted PSs (124.3 mg GAE/g) and by Chuenchom et al. (2016) for Spanish (129.0 mg GAE/g) and Valencia PSs (131.94 mg GAE/g). Moreover, numerous authors reported that PS extracts have a strong antioxidant capacity (Yu et

al., 2006; Chuenchom et al., 2016; Calomeni et al., 2017). However, higher phenolic content was recorded by Chuenchom et al. (2016) for Virginia PSs and by Calomeni et al. (2017) in powders produced by spray-drying of PS extracts with 10 and 20% maltodextrin. The phenolic content and antioxidant activity of PS are extremely variable due to different factors such as peanut species, roasting temperature and time, skin removal methods, and solvent types used for extraction (Ma et al., 2014). These findings show that PS

could be a good source of natural antioxidants and use as a natural additive in other foods.

Proximate composition and water holding capacity of beef patties with PS

As seen in Table 2, the incorporation of PS at different levels significantly ($P < 0.05$) affected the moisture, protein, and ash content of beef patties whereas its effect on fat content was not significant ($P > 0.05$).

Table 2. Proximate composition, WHC and textural properties of beef patties containing different levels of peanut skin¹

Parameters	Batches					
	CON ³	BHT ⁴	PS15 ⁵	PS30 ⁶	PS45 ⁷	PS60 ⁸
Moisture (%)	55.10±1.52 ^{ab}	56.65±1.78 ^a	54.12±1.50 ^b	53.30±1.19 ^{bc}	51.72±1.50 ^c	48.47±1.48 ^d
Protein (%)	18.45±0.42 ^a	18.39±0.52 ^a	17.96±0.57 ^{ab}	17.99±0.64 ^{ab}	17.27±0.21 ^{bc}	16.94±0.45 ^c
Fat (%)	23.65±1.88 ^a	21.86±1.10 ^a	22.85±1.76 ^a	22.95±1.77 ^a	22.81±1.37 ^a	20.75±1.42 ^a
Ash (%)	2.40±0.04 ^c	2.42±0.05 ^c	2.87±0.09 ^d	3.19±0.09 ^c	3.60±0.05 ^b	3.99±0.16 ^a
WHC ²	0.62±0.02 ^{cd}	0.58±0.01 ^d	0.60±0.05 ^{cd}	0.66±0.03 ^{bc}	0.69±0.03 ^b	0.76±0.05 ^a
Hardness (N)	114.82±16.32 ^b	119.64±15.04 ^b	133.36±10.97 ^{ab}	135.25±17.18 ^{ab}	169.93±23.63 ^{ab}	189.49±28.12 ^a
Springiness (mm)	0.86±0.07 ^a	0.78±0.09 ^a	0.85±0.03 ^a	0.77±0.07 ^a	0.77±0.14 ^a	0.74±0.08 ^a
Cohesiveness	0.42±0.04 ^a	0.49±0.10 ^a	0.44±0.08 ^a	0.46±0.10 ^a	0.62±0.05 ^a	0.57±0.05 ^a
Chewiness (N.mm)	40.84±5.27 ^c	44.46±4.44 ^c	49.89±2.96 ^{bc}	45.76±3.24 ^c	70.81±15.43 ^{ab}	78.26±10.12 ^a

¹Results are expressed as mean ± standard deviation. The trial was conducted in duplicate. Analyses were carried out in triplicate. a-e: Means not sharing a common superscript in a row are significantly different at $P < 0.05$ as assessed by Duncan's multiple range test, ²WHC: water holding capacity, ³CON: negative control, ⁴BHT: positive control with 0.01% BHT, ⁵PS15: 1.5% peanut skin, ⁶PS30: 3.0% peanut skin, ⁷PS45: 4.5% peanut skin, ⁸PS60, 6.0% peanut skin.

The moisture and protein content of patties gradually decreased with an increase in PS level, but the ash content increased. The decrease in moisture content could be attributed to the decrease in red meat content and the increase in total solids contents following the addition of PS. Similarly, Turhan et al. (2005) reported a decrease in the moisture content of beef burgers formulated with hazelnut pellicle. Also, Yılmaz (2005) indicated that an increase in wheat bran decreased the moisture content of meatballs. The decrease in protein content could result from the low protein content (8.48%) of PS. Bilek and Turhan (2009) determined a similar decreasing trend in protein content in raw beef patties formulated with different levels of flaxseed flour. Moreover, Aykin Dinçer et al. (2018) observed a concomitant decrease in protein content in meatballs formulated with retrograded flour. The

increase in ash content could be attributable to the high ash content (23.58%) of PS. Similar results were also obtained by Bilek and Turhan (2009) in beef patties with added flaxseed flour, and by Öztürk and Turhan (2020) in beef meatballs containing pumpkin seed kernel flour.

The incorporation of PS at different levels significantly ($P < 0.05$) affected the WHC of beef patties and it gradually increased with more PS addition (Table 2). This positive effect could be attributed to the high dietary fiber content of PS. It was reported that PSs contain 42.8-54.7% dietary fiber (Ma et al., 2014), and dietary fibers have the ability to keep the moisture in the matrix (Serdaroğlu et al., 2018). Similar to our results, Serdaroğlu et al. (2018) reported that the addition of dried pumpkin pulp and seed improved the WHC of beef patties.

Textural properties of beef patties with PS

As seen in Table 2, the addition of PS to beef patties significantly ($P < 0.05$) affected the hardness and chewiness whereas its effect on springiness and cohesiveness was not significant ($P > 0.05$). A progressive increase in the PS level increased both the hardness and chewiness values of beef patties. This increase was significant in only 6.0% PS addition for hardness, while it was significant in 4.5% and 6.0% PS addition for chewiness. These results might be due to the decrease moisture content of beef patties (Table 2) with increased levels of PS. Namely, a higher amount of PS may contribute to higher dry matter content which therefore resulted in beef patties with greater hardness and chewiness, particularly

in beef patties PS45 and PS60. This was supported by Aykin Dinçer et al. (2018) who observed that the high dry matter content of retrograded flour may increase both the hardness and chewiness of the meatball. Similarly, Ran et al. (2020) reported that with increase *Perilla* seed, the hardness and chewiness of *Perilla* meatballs increased or remained high due to the high solid matter content of *Perilla* seed.

Sensory attributes of beef patties with PS

The addition of PS to beef patties significantly ($P < 0.05$) affected the appearance (raw and cooked), juiciness, and overall acceptability whereas its effect on flavor and tenderness was not significant ($P > 0.05$) (Fig. 1).

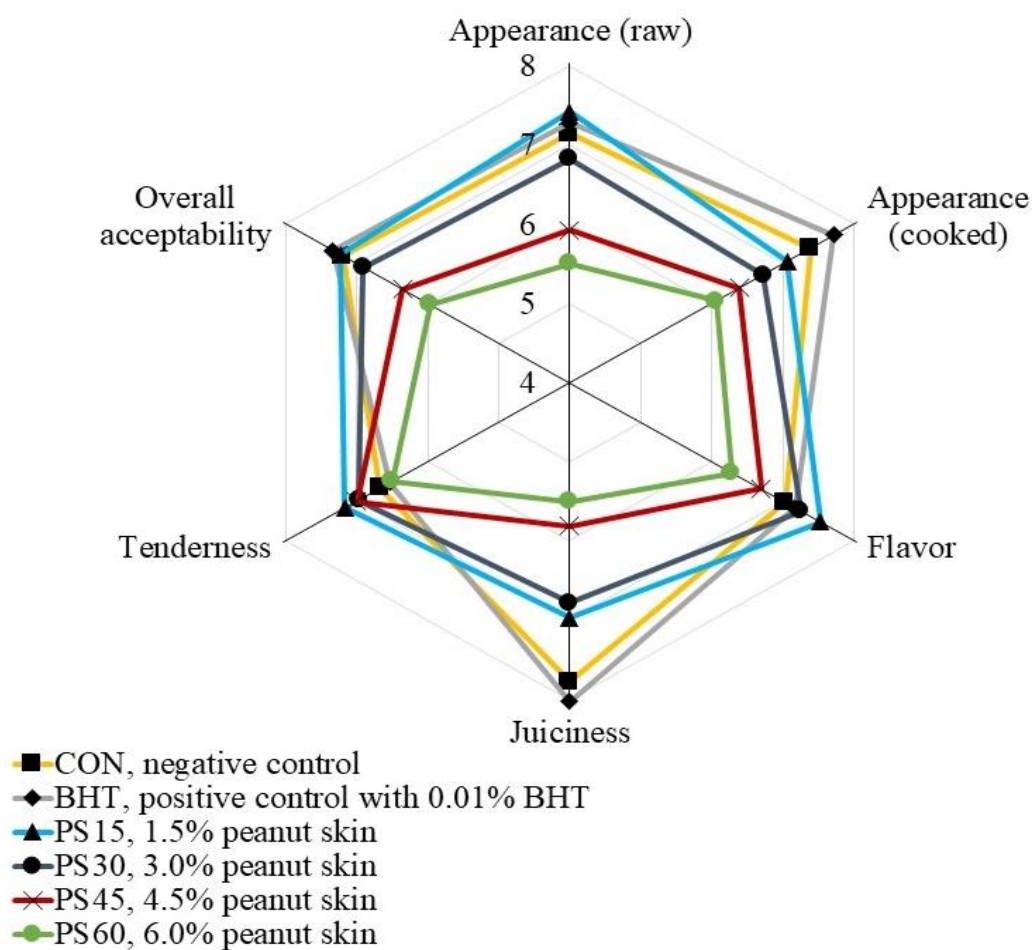


Figure 1. Sensory scores of beef patties containing different levels of peanut skin

Generally, the highest appearance, juiciness, and overall acceptability scores were observed for the negative (CON) and positive control patties (BHT), and the sensory scores decreased with more PS addition ($P < 0.05$). However, the incorporation of PS to beef patties at a level up to 4.5% did not affect the appearance and overall acceptability compared to CON. The incorporation of PS to beef patties at 6.0% level resulted in a brown-red color and this state was probably regarded by panelists as less likable. Finally, the beef patties with 6.0% PS showed the lowest juiciness scores, which agrees with the lower moisture content and the higher hardness values of beef patties (Table 2). Such negative effects of the use of non-meat ingredients at high concentrations on the sensory properties of comminuted meat products were reported by Turhan et al. (2005) in low-fat beef burgers with hazelnut pellicle, and by Yılmaz (2005) in low-fat meatballs with added wheat bran.

pH and TBARS values of beef patties with PS during storage

As seen in Table 3, the initial pH values of beef patty samples ranged from 6.16 to 6.27 and the differences between pH values of samples were not significantly different ($P > 0.05$). Except for PS60 samples, pH values of other meatball

samples did not change until the 3rd day of storage ($P > 0.05$) but gradually increased after 3 days of storage. Except for the initial day, on the other days of storage, PS addition to beef patties significantly ($P < 0.05$) decreased the pH values. During storage, the rate of pH increase was significantly higher ($P < 0.05$) in BHT, CON, and PS15 samples than PS30, PS45, and PS60 samples. On day 9 of storage, the highest pH values were observed in BHT and CON samples, followed by the PS15 sample, and the lowest value was observed in PS60 sample ($P < 0.05$). Consequently, the addition of PS significantly enhanced the pH stability of the formulated patties simultaneously with the level of PS suggesting the protective role of PS against spoilage microorganisms. The increase in pH during storage may be attributed to the accumulation of protein decomposition products due to the bacterial action in stored patties (Danowska-Oziewicz and Kurp, 2017; Turhan et al., 2017). Similarly, Turhan et al. (2017) reported a significant increase in the pH of meatballs with and without bee pollen during the storage period. Moreover, Ikhlas et al. (2012) reported an increase in the pH value in *Cosmos caudatus*, *Polygonum minus*, and BHT treated quail meatballs during the refrigeration storage.

Table 3. Changes in pH and TBARS values of beef patties containing different levels of peanut skin during storage at 4 °C¹

Parameters	Batches	Storage period (days)			
		1	3	6	9
pH	CON ³	6.27±0.05 ^{ar}	6.24±0.05 ^{br}	6.72±0.05 ^{bq}	7.20±0.06 ^{ap}
	BHT ⁴	6.25±0.05 ^{ar}	6.33±0.04 ^{ar}	6.85±0.08 ^{aq}	7.29±0.04 ^{ap}
	PS15 ⁵	6.25±0.04 ^{ar}	6.22±0.05 ^{br}	6.67±0.03 ^{bq}	6.99±0.07 ^{bp}
	PS30 ⁶	6.19±0.03 ^{ar}	6.13±0.04 ^{cr}	6.55±0.09 ^{dq}	6.79±0.08 ^{cp}
	PS45 ⁷	6.21±0.18 ^{ar}	6.08±0.03 ^{cd}	6.58±0.05 ^{cdq}	6.83±0.09 ^{cp}
	PS60 ⁸	6.16±0.14 ^{ar}	6.02±0.07 ^{ds}	6.40±0.08 ^{sq}	6.65±0.04 ^{dp}
TBARS ² (mg MDA/kg)	CON ³	1.91±0.12 ^{aq}	2.30±0.08 ^{ap}	2.48±0.13 ^{ap}	2.38±0.11 ^{ap}
	BHT ⁴	0.44±0.06 ^{bq}	0.56±0.06 ^{bp}	0.63±0.04 ^{bp}	0.62±0.05 ^{bp}
	PS15 ⁵	0.42±0.06 ^{bp}	0.46±0.07 ^{cp}	0.49±0.07 ^{cp}	0.48±0.08 ^{cp}
	PS30 ⁶	0.47±0.04 ^{bp}	0.47±0.06 ^{cp}	0.52±0.06 ^{cp}	0.55±0.06 ^{bp}
	PS45 ⁷	0.42±0.04 ^{bp}	0.44±0.04 ^{cp}	0.47±0.08 ^{cp}	0.47±0.04 ^{cp}
	PS60 ⁸	0.47±0.05 ^{bp}	0.44±0.02 ^{cp}	0.51±0.05 ^{cp}	0.49±0.08 ^{cp}

¹Results are expressed as mean ± standard deviation. The trial was conducted in duplicate. Analyses were carried out in triplicate. a-e: Means not sharing a common superscript in a column are significantly different at $P < 0.05$ as assessed by Duncan's multiple range test. p-s: Means not sharing a common superscript in a row are significantly different at $P < 0.05$ as assessed by Duncan's multiple range test, ²TBARS: thiobarbituric acid-reactive substances,

³CON: negative control, ⁴BHT: positive control with 0.01% BHT, ⁵PS15: 1.5% peanut skin, ⁶PS30: 3.0% peanut skin, ⁷PS45: 4.5% peanut skin, ⁸PS60: 6.0% peanut skin.

The addition of PS showed a significant ($P < 0.05$) effect on TBARS of beef patty samples (Table 3). The highest TBARS was obtained in negative control samples (CON) at all storage days; however, patties added with BHT and PS revealed a noticeable decrease in TBARS value compared to the CON samples. The TBARS values for the CON and patties added with BHT increased significantly ($P < 0.05$) with the advancement of the storage period, while non-significant ($P > 0.05$) changes in TBARS values were noticed for beef patties formulated with PS at the different concentration for all storage days. On day 3 of storage, the TBARS value (2.30 mg MDA/kg sample) of the negative control patties was higher than the limit (2.0 mg MDA/kg), which could be considered as a threshold for the acceptability of oxidized beef (Campo et al., 2006). However, the TBARS values (0.47 to 0.62 mg MDA/kg sample) of the positive control (BHT) and all patties containing PS were within the acceptable limit even at the end of storage, indicating the significant antioxidant effect of PS on the patties. This effect can be explained by the phenolic compounds present in the PS such as proanthocyanidins and other flavonoids (Munekata et al., 2016). Such antioxidant effect was in agreement with DPPH and FRAP assays (Table 1), indicating the activity of phenolic compounds in PS on prevention of lipids oxidation. The phenolic compounds can act as reducing agents (free radical terminators), metal chelators, and singlet oxygen quenchers, thus forming a stable product (Shahidi and Naczk, 2004). Similar findings on the reduction of lipid oxidation in meat and poultry products treated with PS extract was also reported by various researchers. For example, O'Keefe and Wang (2006) observed that PS methanol extract at 400 ppm level dramatically reduced TBARS values of cooked ground beef during the period of the 14-day storage. Similarly, Yu et al. (2010) reported that the addition of PS extract to raw ground beef before cooking significantly inhibited the formation of TBARS in cooked ground beef during the refrigerated storage, and PS extract at concentration 0.06% was as effective as BHABHT at 0.02% in inhibiting lipid oxidation. In another study, Munekata et al. (2015) presented

similar results in cooked chicken patties treated with an aqueous extract (3%) obtained from PS during 15 days of refrigerated storage. In addition, Munekata et al. (2016) indicated that raw sheep patties treated with PS extract at concentration of 1000 ppm showed a lower level of lipid oxidation as compared to control in modified atmosphere packaging condition (80% O₂ + 20% CO₂) during refrigerated storage.

As seen in Table 3, the TBARS level of samples treated with PS was lower than those treated with BHT; this difference was especially significant ($P < 0.05$) on day 3, 6 and 9 of storage period. Similar to our results, it is also reported by some researchers that the possibility of applying PS extract as substitutes for synthetic additives, since they are able to delay oxidative reactions in lipids in a similar or more effective way than their synthetic counterparts. For example, Yu et al. (2010) indicated that the addition of PS extract at concentrations of 0.06% and higher to raw ground beef was as effective as 0.02% BHA/BHT based on measured level of TBARS value in cooked ground beef during refrigerated storage. Similarly, Munekata et al. (2016) showed that in raw sheep patties, the antioxidant potential of PS extract is comparable to that of BHT. Therefore, the present study results indicate that PS can be considered as natural antioxidant to prevent lipid oxidation in meat and meat products.

Instrumental color parameters of beef patties with PS during storage

The addition of PS showed a significant ($P < 0.05$) effect on *L* values of beef patty samples (Table 4). As seen in Table 4, the incorporation of different levels of PS to beef patties reduced the lightness (*L* value) of formulated patties compared to the controls (CON and BHT), and lightness values further reduced with increasing PS concentration ($P < 0.05$). Thus, the beef patties formulated with more PS became darker in color compared to the control patties. This effect is probably a consequence of the lower moisture content when PS was added since moisture is related to lightness values (Zhang et al., 2020). Also, this effect could be attributed to the natural color of PS, ranging from light brown to deep red. Similarly, Munekata

Properties of beef patties containing peanut skin

et al. (2015) reported that the addition of the PS extract to the chicken patties caused a slight darkening that resulted in lower L values compared to the control samples over the storage

time. However, non-significant ($P > 0.05$) changes in L values were noticed for all-beef patties with the advancement of the storage period.

Table 4. Changes in color parameters of beef patties containing different levels of peanut skin during storage at 4 °C¹

Parameters	Batches	Storage period (days)			
		1	3	6	9
L^2	CON ⁶	43.39±3.15 ^{ap}	40.96±1.57 ^{ap}	43.40±1.22 ^{ap}	43.36±1.81 ^{ap}
	BHT ⁷	42.90±1.97 ^{ap}	42.00±0.43 ^{ap}	42.59±1.72 ^{ap}	44.54±3.16 ^{ap}
	PS15 ⁸	39.42±1.86 ^{bp}	38.11±1.67 ^{bp}	37.98±1.74 ^{bp}	38.79±2.72 ^{bp}
	PS30 ⁹	35.63±1.01 ^{cp}	35.65±1.69 ^{cp}	35.41±0.63 ^{cp}	36.81±2.64 ^{bcp}
	PS45 ¹⁰	33.47±0.54 ^{dp}	34.54±1.06 ^{cdp}	34.57±0.62 ^{cdp}	34.83±1.55 ^{cdp}
	PS60 ¹¹	32.60±0.84 ^{dp}	33.34±0.96 ^{dp}	33.24±0.57 ^{dp}	33.24±0.63 ^{dp}
a^3	CON ⁶	10.62±0.92 ^{bpq}	8.62±1.42 ^{bq}	9.50±2.66 ^{apq}	11.09±1.79 ^{ap}
	BHT ⁷	12.27±1.15 ^{ap}	10.42±1.61 ^{ap}	10.85±1.77 ^{ap}	11.77±1.25 ^{ap}
	PS15 ⁸	8.68±0.27 ^{cp}	6.91±1.13 ^{cq}	7.11±1.26 ^{bq}	6.98±0.76 ^{bq}
	PS30 ⁹	7.87±0.48 ^{cdp}	6.47±0.35 ^{cq}	6.81±0.88 ^{bq}	6.17±0.62 ^{bq}
	PS45 ¹⁰	7.90±0.59 ^{cdp}	6.34±0.17 ^{cq}	6.09±0.53 ^{bq}	6.73±0.66 ^{bq}
	PS60 ¹¹	7.27±0.43 ^{dp}	6.17±0.18 ^{cq}	5.77±0.20 ^{br}	6.26±0.12 ^{bq}
b^4	CON ⁶	8.51±0.32 ^{ap}	7.97±1.49 ^{ap}	7.60±2.15 ^{apq}	7.52±1.78 ^{aq}
	BHT ⁷	8.58±0.85 ^{ap}	7.87±1.11 ^{apq}	6.64±1.39 ^{aq}	6.81±1.31 ^{aq}
	PS15 ⁸	7.91±0.40 ^{abp}	7.22±0.81 ^{apq}	6.14±1.00 ^{aqf}	5.92±1.17 ^{ar}
	PS30 ⁹	7.48±0.49 ^{bp}	7.26±0.46 ^{ap}	6.68±0.71 ^{apq}	6.14±1.12 ^{aq}
	PS45 ¹⁰	7.38±0.51 ^{bp}	7.45±0.31 ^{ap}	7.10±0.43 ^{apq}	6.78±0.49 ^{aq}
	PS60 ¹¹	7.40±0.51 ^{bpq}	7.55±0.28 ^{ap}	7.01±0.32 ^{aq}	7.03±0.40 ^{aq}
ΔE^5	CON ⁶	-	5.32±1.46 ^{ap}	4.57±0.92 ^{ap}	3.03±0.87 ^{aq}
	BHT ⁷	-	3.59±1.44 ^{bp}	4.01±1.26 ^{abp}	3.23±0.94 ^{ap}
	PS15 ⁸	-	3.25±1.26 ^{bcp}	3.27±0.68 ^{bcp}	3.38±0.68 ^{ap}
	PS30 ⁹	-	1.75±0.83 ^{dq}	1.78±0.78 ^{dq}	3.21±0.86 ^{ap}
	PS45 ¹⁰	-	2.12±1.06 ^{cdp}	2.32±0.73 ^{cdp}	2.54±0.61 ^{abp}
	PS60 ¹¹	-	1.90±0.75 ^{cdp}	2.13±0.36 ^{dp}	1.79±0.54 ^{bp}

¹Results are expressed as mean ± standard deviation. The trial was conducted in duplicate. Analyses were carried out in triplicate. a-d: Means not sharing a common superscript in a column are significantly different at $P < 0.05$ as assessed by Duncan's multiple range test. p-r: Means not sharing a common superscript in a row are significantly different at $P < 0.05$ as assessed by Duncan's multiple range test, ² L : lightness, ³ a : redness, ⁴ b : yellowness, ⁵ ΔE : color difference, ⁶CON: negative control, ⁷BHT: positive control with 0.01% BHT, ⁸PS15: 1.5% peanut skin, ⁹PS30: 3.0% peanut skin, ¹⁰PS45: 4.5% peanut skin, ¹¹PS60: 6.0% peanut skin.

At all storage periods, significant differences for a values were noticed among the batches and the beef patties containing PS at different levels exhibited a lower a value than control samples (CON and BHT) and became less red in color (Table 4). As mentioned above, the decline in redness could be attributed to the natural color of PS. Similar observations on the decrease in a

values of chicken patties incorporated with PS extract were also reported by Munekata et al. (2015). All the treatments except BHT demonstrated a trend of reduction of a values from day 1 to day 3 ($P < 0.05$), but then non-significant ($P > 0.05$) changes were noticed for beef patties containing PS. However, there was no change in the redness values of the BHT samples

during the all storage period. The results showed that the incorporation of PS to beef patties inhibited myoglobin oxidation after day 3 and as a result reduced the formation of metmyoglobin. A similar influence of PS extract on redness was also reported by Yu et al. (2010) in ground beef and by Munekata et al. (2015, 2016) in chicken and sheep patties, respectively.

The incorporation of different levels of PS to beef patties ($P < 0.05$) slightly reduced the b values on day 1, while non-significant ($P > 0.05$) changes in b values were noticed for other storage periods (Table 4). This result was similar to those found by Munekata et al. (2015), who reported the addition of PS extract to chicken patties resulted in lower b values than those observed in the control samples. The b values of both PS-formulated and non-formulated beef patties demonstrated a slight reduction trend during the storage period reaching the minimum values on day 9 ($P < 0.05$). A related study indicated a similar trend in sheep patties produced with BHT or PS extract for 20 days at 2 °C (Munekata et al. 2016).

The positive effect observed of PS on the color of beef patties during the storage period is partially supported by the color differences (ΔE). As seen in Table 4, while on days 3 and 6, all beef patties with added PS showed lower ΔE values compared to the control (CON), on day 9, only beef patties with added PS at 6.0% level showed lower ΔE values ($P < 0.05$). Hence, the addition of PS would help preserve the color stability of beef patties under refrigerated conditions. This protective effect on the color of beef patties may influence consumers' purchase decisions. Such positive effects of the use of non-meat ingredients on the color differences were also reported by Prommachart et al. (2020) in beef patties added with black rice water extract during chilled storage.

Microbial quality of beef patties with PS during storage

The addition of PS to beef patties significantly ($P < 0.05$) affected the TVC whereas its effect on the PBC was not significant (Table 5).

Table 5. Changes in microbial quality of beef patties containing different levels of peanut skin during storage at 4 °C¹

Parameters	Batches	Storage period (days)			
		1	3	6	9
TVC ² (log cfu/g)	CON ⁴	7.32±0.46 ^{aq}	8.80±0.52 ^{ap}	9.16±0.31 ^{abp}	9.42±0.04 ^{ap}
	BHT ⁵	7.37±0.34 ^{ar}	8.47±0.12 ^{abq}	9.20±0.28 ^{abp}	9.49±0.15 ^{ap}
	PS15 ⁶	7.39±0.18 ^{aq}	8.89±0.27 ^{aq}	9.33±0.09 ^{ap}	9.32±0.03 ^{ap}
	PS30 ⁷	7.30±0.28 ^{ar}	8.48±0.14 ^{abq}	8.91±0.41 ^{bcp}	9.15±0.12 ^{bp}
	PS45 ⁸	7.26±0.32 ^{ar}	8.41±0.26 ^{abq}	8.91±0.10 ^{bcp}	9.00±0.16 ^{bp}
	PS60 ⁹	7.27±0.55 ^{ar}	8.15±0.26 ^{bq}	8.64±0.07 ^{cp}	8.72±0.04 ^{cp}
PBC ³ (log cfu/g)	CON ⁴	6.94±0.32 ^{aq}	7.94±0.46 ^{ap}	8.37±0.55 ^{ap}	8.78±0.79 ^{ap}
	BHT ⁵	7.14±0.37 ^{ar}	7.90±0.54 ^{aq}	8.38±0.31 ^{apq}	8.84±0.84 ^{ap}
	PS15 ⁶	7.24±0.25 ^{aq}	8.02±0.65 ^{ap}	8.44±0.30 ^{ap}	8.60±0.55 ^{ap}
	PS30 ⁷	7.11±0.22 ^{ar}	7.96±0.55 ^{aq}	8.55±0.25 ^{ap}	8.56±0.35 ^{ap}
	PS45 ⁸	7.14±0.24 ^{aq}	7.89±0.36 ^{apq}	7.95±1.00 ^{apq}	8.51±0.50 ^{ap}
	PS60 ⁹	6.91±0.23 ^{aq}	7.72±0.16 ^{ap}	7.88±0.85 ^{ap}	8.37±0.47 ^{ap}

¹Results are expressed as mean ± standard deviation. The trial was conducted in duplicate. Analyses were carried out in triplicate. a-c: Means not sharing a common superscript in a column are significantly different at $P < 0.05$ as assessed by Duncan's multiple range test. p-r: Means not sharing a common superscript in a row are significantly different at $P < 0.05$ as assessed by Duncan's multiple range test, ²TVC: total viable count, ³PBC: psychrotrophic bacteria count, ⁴CON: negative control, ⁵BHT: positive control with 0.01% BHT, ⁶PS15: 1.5% peanut skin, ⁷PS30: 3.0% peanut skin, ⁸PS45: 4.5% peanut skin, ⁹PS60: 6.0% peanut skin.

As seen in Table 5, the initial TVC of beef patties ranged from 7.26 to 7.39 cfu/g and the differences between the TVC of samples were not significantly different ($P > 0.05$). The high initial TVC in beef patties can be attributed to the high level of contamination in the PS produced as a byproduct of the roasting process of peanuts. The TVC and PBC showed a significant increase ($P < 0.05$) during the storage period for all batches, however beef patties added with 3.0, 4.5, and 6.0% PS showed lower TVC than CON and BHT samples at the end of the storage period. However, there were no differences ($P > 0.05$) in TVC on days 3 and 6 among CON, PS30, and PS45 batches. The low plate count determined in the beef patties containing high levels of PS could be attributed to the appreciable phenolic compound content of PS. Similarly, Yu et al. (2010) and Munekata et al. (2016) reported that PS extracts delayed microbial growth in raw ground beef stored at 4 °C for 12 days and in sheep patties stored at 2 °C for 20 days, respectively. Thus, high levels of PS may contribute to the increase in the shelf-life of the beef patties.

CONCLUSION

Our findings showed the PS is a rich source of phenolic compounds and has substantial potential as an antioxidant agent. While the addition of 4.5% PS to the beef patties enhanced WHC, it did not adversely affect the hardness and overall acceptability. Also, the addition of PS into beef patties at high concentrations (3.0, 4.5, and 6.0%) improved lipid and microbial stability during 9 days of cold storage. Thus, PS could be used in beef patties at 4.5% concentration to prolong the shelf life with minimal compositional and sensory changes, and this situation could represent a new alternative for the utilization of PS in the food industry.

CONFLICT OF INTEREST

There are no possible conflicts of interest between the authors.

AUTHOR CONTRIBUTION

This study was derived from Şule Bıyık's Master's thesis and Sadettin Turhan contributed as the

thesis supervisor in conducting analyzes, statistical analyses of data, writing the article, and writing-review-proofreading-publishing procedures. The Master's thesis student Şule Bıyık carried out the preparation of samples, analyses, reporting, and writing and correction of literature sources. The authors have read and approved the final version of the article.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was derived from Şule Bıyık's Master's thesis and supported by Ondokuz Mayıs University Project Management Office (PYO.MUH.1904.19.005). The authors would like to thank Ondokuz Mayıs University for its financial support.

REFERENCES

- Altuntas, I., Turhan, S. (2013). Effect of packaging methods on colour, lipid quality and microbial growth of beef patties enhanced with flaxseed flour. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33: 58-66, doi: 10.5851/kosfa.2013.33.1.58.
- AOAC (2000). *Official methods of analysis* (16th ed.). Method no. 950.46, 981.10, 960.39, and 920.153. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Aykin Dinçer, E., Kiliç Büyükkurt, Ö., Candal, C., Bilgiç, B.F., Erbaş, M. (2018). Investigation of the usability of retrograded flour in meatball production as a structure enhancer. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38: 78-87, doi: 10.5851/kosfa.2018.38.1.78.
- Bilek, A.E., Turhan, S. (2009). Enhancement of the nutritional status of beef patties by adding flaxseed flour. *Meat Science*, 82: 472-477, doi: 10.1016/j.meatsci.2009.03.002.
- Calomeni, A.V., Souza, V.B., Tulini, F.L., Thomazini, M., Ostroschi, L.C., Alencar, S.M., Massarioli, A.P., Balieiro, J.C.C., de Carvalho, R.A., Favaro-Trindade, C.S. (2017). Characterization of antioxidant and antimicrobial properties of spray-dried extracts from peanut skins. *Food and Bioprocess Processing*, 105: 215-223, doi: 10.1016/j.fbp.2017.08.001.

- Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D., Richardson, R.I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72: 303-311, doi: 10.1016/j.meatsci.2005.07.015.
- Chuenchom, P., Swatsitang, P., Senawong, T., Jogloy, S. (2016). Antioxidant capacity and phenolic content evaluation on peanut skins from 3 peanut types. *Chiang Mai Journal of Science*, 43: 123-137.
- Danowska-Oziewicz, M., Kurp, L. (2017). Physicochemical properties, lipid oxidation and sensory attributes of pork patties with lupin protein concentrate stored in vacuum, modified atmosphere and frozen state. *Meat Science*, 131: 158-165, doi: 10.1016/j.meatsci.2017.05.009.
- Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A., Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: Application in beef meatballs. *Meat Science*, 69: 371-380, doi: 10.1016/j.meatsci.2004.08.004.
- Gao, X., Björk, L., Trajkovski, V., Uggla, M. (2000). Evaluation of antioxidant actives of rosehip ethanol extracts in different test systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 80: 2021-2027, doi: 10.1002/1097-0010(200011)80:14<2021::AID-JSFA745>3.0.CO;2-2.
- Guliyeva, F., Turhan, S. (2021). Assessment of physicochemical and sensory quality of beef patties formulated with pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) powder. *Gıda*, 46(3): 739-750, doi: 10.15237/gida.GD21011.
- Ikhlas, B., Huda, N., Ismail, N. (2012). Effect of *Cosmos caudatus*, *Polygonum minus* and BHT on physical properties, oxidative process, and microbiology growth of quail meatball during refrigeration storages. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36: 55-66, doi: 10.1111/j.1745-4549.2011.00552.x.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F. (2006). The oxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat Science*, 72: 446-456, doi: 10.1016/j.meatsci.2005.08.009.
- Lorenzo, J.M., Munekata, P.E.S., Sant'Ana, A.S., Carvalho, R.B., Barba, F.J., Toldrá, F., Mora, L., Trindade, M.A. (2018). Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 77: 1-10, doi: 10.1016/j.tifs.2018.04.007.
- Ma, Y., Kerr, W.L., Swanson, R.B., Hargrove, J.L., Pegg, R.B. (2014). Peanut skins-fortified peanut butters: Effect of processing on the phenolics content, fibre content and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 145: 883-891, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.125.
- Munekata, P.E.S., Calomeni, A.V., Rodrigues, C.E.C., Favaro-Trindade, C.S., Alencar, S.M., Trindade, M.A. (2015). Peanut skin extract reduces lipid oxidation in cooked chicken patties. *Poultry Science*, 94: 442-446, doi: 10.3382/ps/pev005.
- Munekata, P.E.S., Fernandes, R.P.P., Melo, M.P., Trindade, M.A., Lorenzo, J.M. (2016). Influence of peanut skin extract on shelf-life of sheep patties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6: 586-596, doi: 10.1016/j.apjtb.2016.05.002.
- Nakajima, J., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M., Saito, K. (2004). LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5: 241-247, doi: 10.1155/S1110724304404045.
- O'Keefe, S.F., Wang, H. (2006). Effects of peanut skin extract on quality and storage stability of beef products. *Meat Science*, 73: 278-286, doi: 10.1016/j.meatsci.2005.12.001.
- Öztürk, T., Turhan, S. (2020). Physicochemical properties of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed kernel flour and its utilization in beef meatballs as a fat replacer and functional ingredient. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9): e14695, doi: 10.1111/jfpp.14695.
- Öztan, A., Vural, H. (1993). Sığır etinde su tutma kapasitesi ve serbest su oranı değişimi üzerine bir araştırma. *Gıda*, 18(1): 29-33.
- Prommachart, R., Belem, T.S., Uriyapongson, S., Rayas-Duarte, P., Uriyapongson, J., Ramanathan, R. (2020). The effect of black rice water extract on

- surface color, lipid oxidation, microbial growth, and antioxidant activity of beef patties during chilled storage. *Meat Science*, 164: 108091, doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108091.
- Ran, M., Chen, C., Li, C., He, L., Zeng, X. (2020). Effects of replacing fat with *Perilla* seed on the characteristics of meatballs. *Meat Science*, 161: 107995, doi: 10.1016/j.meatsci.2019.107995.
- Serdaroğlu, M., Kavuşan, H.S., İpek, G., Öztürk, B. (2018). Evaluation of the quality of beef patties formulated with dried pumpkin pulp and seed. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38: 1-13, doi: 10.5851/kosfa.2018.38.1.001
- Shahidi, F., Naczki, M. (2004). *Phenolics in food and nutraceuticals*. 2nd Edition, CRC Press, Washington, DC, 576 p.
- Shimizu-Ibuka, A., Udagawa, H., Kobayashi-Hattori, K., Mura, K., Tokue, C., Takita, T., Arai, E. (2009). Hypocholesterolemic effect of peanut skin and its fractions: A case record of rats fed on a high-cholesterol diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73: 205-208, doi: 10.1271/bbb.80539.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Tang, S., Sheehan, D., Buckley, D.J., Morrissey, P.A., Kerry, J.P. (2001). Anti-oxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 685-692, doi: 10.1046/j.1365-2621.2001.00497.x.
- Tarladgis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37: 44-48.
- Turhan, S., Sagir, I., Ustun, N. S. (2005). Utilization of hazelnut pellicle in low-fat beef burgers. *Meat Science*, 71: 312-316, doi: 10.1016/j.meatsci.2005.03.027.
- Turhan, S., Yazici, F., Saricaoglu, F.T., Mortas, M., Genccelep, H. (2014). Evaluation of the nutritional and storage quality of meatballs formulated with bee pollen. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34: 423-433, doi: 10.5851/kosfa.2014.34.4.423.
- Turhan, S., Saricaoglu, F.T., Mortas, M., Yazici, F., Genccelep, H. (2017). Evaluation of color, lipid oxidation and microbial quality in meatballs formulated with bee pollen during frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41: e12916, doi: 10.1111/jfpp.12916.
- Yılmaz, I. (2005). Physicochemical and sensory characteristics of low fat meatballs with added wheat bran. *Journal of Food Engineering*, 69: 369-373, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.08.028.
- Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I., Dai, J. (2006). Peanut skin procyanidins: Composition and antioxidant activities as affected by processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 364-371, doi: 10.1016/j.jfca.2005.08.003.
- Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I. (2010). Potential of peanut skin phenolic extract as antioxidative and antibacterial agent in cooked and raw ground beef. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 1337-1344, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02241.x.
- Zhang, H., Liang, Y., Li, X., Kang, H. (2020). Antioxidant extract from cauliflower leaves effectively improve the stability of pork patties during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44: e14510, doi: 10.1111/jfpp.14510.



**ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTEYE SAHİP *PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI* VE
PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS SUŞLARININ PROBİYOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Nazife Yıldırım, Banu Özden Tuncer*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş / *Received*: 23.02.2022; Kabul / *Accepted*: 01.04.2022; Online baskı / *Published online*: 11.04.2022

Yıldırım, N., Özden Tuncer, B. (2022). Antimikrobiyel aktiviteye sahip *Pediococcus acidilactici* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2022) 47 (3) 434-446 doi: 10.15237/gida.GD22025

Yıldırım, N., Özden Tuncer, B. (2022). *Determination of probiotic properties of Pediococcus acidilactici and Pediococcus pentosaceus strains with antimicrobial activity. GIDA (2022) 47 (3) 434-446 doi: 10.15237/gida. GD22025*

ÖZ

Bu çalışmada, starter kullanılmadan üretilen sucuklardan izole edilmiş *Pediococcus acidilactici* ve *P. pentosaceus* suşlarının safra tuzuna tolerans, düşük pH ve fenol varlığında hayatta kalma, yapay mide öz suyuna tolerans, lizozime karşı direnç, hidrofobisite ve otoagregasyon yetenekleri gibi bazı probiyotik özellikleri incelenmiştir. İzolatların tamamının pH 1'de ilk ölçümlerinde, pH 3'te ise birinci saatin sonunda inaktive olduğu saptanmıştır. pH 5'te ise tüm *Pediococcus* suşları 4 saat inkübasyon süresi boyunca %67.02-95.42 oranında canlılıklarını korumuşlardır. %0.4 fenol uygulamasında *P. acidilactici* OBS62 suşu %2.32 oranında gelişim gösterirken diğer suşların %69.94-99.89 oranında canlılıklarını koruduğu tespit edilmiştir. 100 ppm lizozim uygulamasında suşların % canlılıkları 90.90 ve 107.40 arasında bulunmuştur. %0.3 pepsin içeren yapay mide suyu denemelerinde tüm *Pediococcus* suşları inaktive olmuştur. %0.3 ve %0.5 safra tuzu uygulamasında suşların tamamında hücre sayısında artış olduğu belirlenmiştir. %1 safra tuzu uygulamasında ise *P. acidilactici*'s OBS54 ve *P. pentosaceus* OBS56 suşları canlılığını korumuş, diğer suşlarda ise hücre sayısında artış olduğu tespit edilmiştir. *Pediococcus* suşlarının hidrofobisite oranları %61.42-%97.40 arasında, otoagregasyon yetenekleri ise %17.3-%64.78 arasında bulunmuştur. Sonuç olarak, izolatların mikroenkapsülasyon yolu ile midenin oluşturduğu sert çevresel koşullara dayanımının artırılması sayesinde probiyotik kültür olarak kullanılabilirler düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Sucuk, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, probiyotik

DETERMINATION OF PROBIOTIC PROPERTIES OF *PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI* AND *PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS* STRAINS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY

ABSTRACT

In this study, some probiotic properties such as bile salt tolerance, survival in low pH and in presence of phenol, tolerance to simulated gastric juice, resistance to lysozyme, hydrophobicity and autoaggregation abilities of *Pediococcus acidilactici* and *P. pentosaceus* strains isolated from sausages produced without starter were investigated. It was determined that all of the isolates were inactivated

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding Author*

✉: banutuncer@sdu.edu.tr

☎: (+90) 246 211 8006

☎: (+90) 246 237 0437

Nazife Yıldırım; ORCID no: 0000-0002-8560-7770

Banu Özden Tuncer; ORCID no: 0000-0001-9678-4441

at the first measurement at pH 1 and at the end of the first hour at pH 3. At pH 5, all *Pediococcus* strains preserved their viability at a rate of 67.02-95.42% during the four-hour incubation period. *P. acidilactici* OBS62 strain grew at a rate of 2.32% in 0.4% phenol, while other strains maintained viability at a rate of 69.94-99.89%. In 100 ppm lysozyme application, the % viability of the strains was found between 90.90 and 107.40. All *Pediococcus* strains were inactivated in the trials of artificial gastric juice containing 0.3% pepsin. It was determined that there was an increase in the number of cells in all of the strains with the application of 0.3% and 0.5% bile salt. In 1% bile salt application, *P. acidilactici* OBS54 and *P. pentasaceus* OBS56 strains preserved their viability, while an increase in the number of cells was detected in other strains. The hydrophobicity rates of *Pediococcus* strains were found to be between 61.42% and 97.40%, and their autoaggregation abilities were found to be between 17.3% and 64.78%. As a result, it is thought that the isolates can be used as probiotic cultures by increasing their resistance to harsh environmental conditions created by the stomach by microencapsulation.

Key words: Sausage, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentasaceus*, probiotic

GİRİŞ

Günümüzde karmaşık mikrobiyal topluluklardan yararlı bakterilerin taranması, izolasyonu ve tanımlanması giderek daha yaygın hale gelmektedir. Dünyada milyarlarca mikroorganizma var olmasına rağmen ancak bunların çok azının özellikleri ve gıda proseslerinde uygulanabilirlikleri test edilmiştir. Bunlar arasında, probiyotik adı verilen mikroorganizmalar, insanlar, hayvanlar, bitkiler ve gıdalar üzerindeki yararlı etkileri nedeniyle günümüze kadar birçok araştırmanın odağı olmuştur. Probiyotikler yeterli miktarlarda tüketildiğinde ürettikleri çeşitli metabolizma ürünleri ile veya adezyon noktaları için patojenler ile rekabete girmeleri gibi etkenler sayesinde konak üzerinde faydalı etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002). Probiyotik mikroorganizmalar arasında laktik asit bakterileri (LAB), hammaddelerin fermentasyonu sırasında ürettikleri organik asitler sayesinde gıdaların beslenme kalitelerinin korunmasında önemli rol oynar. LAB'nin gıda fermentasyonunda starter kültür olarak kullanılması ile ortam pH'sının düşürülmesi, proteolitik aktivite gibi çok yönlü metabolik özellikleri ve bakteriyosin gibi antimikrobiyel metabolitleri sentezleme yetenekleri sayesinde ürün kalitesi artırılmaktadır. Gıdalarda yaygın olarak bulunan LAB'nin, tekstür ve aroma gelişimine katkı sağlamalarının yanında biyo-koruyucu ve probiyotik olarak da kullanım potansiyelleri bulunmaktadır (Ng vd., 2015; Gad vd., 2016; Chen vd., 2017). Bu nedenle, daha geniş endüstriyel uygulamalar için yeni LAB türlerinin

izolasyonu ve karakterizasyonu endüstriyel öneme sahiptir (Abbasli vd., 2017). Son yıllarda, probiyotiklerin potansiyel sağlık yararları üzerine yapılan araştırmalarda viral veya bakteriyel ishal, ülseratif kolit ve poşit gibi kronik enflamatuvar hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli bulaşıcı hastalıkların tedavisinde önemli rol oynadıkları bildirilmektedir (Hickson vd., 2007; Grandy vd., 2010; Saad vd., 2013). Probiyotik mikroorganizmaların bağırsakta hayatta kalması ve konakçı üzerinde yararlı etkiler ortaya çıkarması için, mide ve bağırsaklardaki asidik pH ve safra tuzlarına toleransları çok önemlidir. İnsan midesinin pH'sı içerdiği hidroklorik asit nedeniyle yaklaşık 2.5 ile 3.5 arasındadır. Bu nedenle, probiyotiklerin ince bağırsağa ulaşması ve konakta kolonileşmesi için asidik mide ortamında hayatta kalması bir gerekliliktir. Ayrıca, probiyotiklerin besin alımı için diğer patojenlerle rekabet edebilmesi için gastrointestinal sistemdeki mukozal tabakaya yeterince iyi tutunması beklenir. Probiyotik bir mikroorganizmanın yüksek hücre yüzey hidrofobisitesi ile otoagregasyon yeteneğine sahip olması bağırsakta kolonizasyonu kolaylaştırırken, koagregasyon yeteneği ile de patojenler ile ilişkilenebilir bunların dışkı ile atımını kolaylaştırır. Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak seçilmesi için diğer önemli kriterler, patojenik bağırsak mikrobiyotasını inhibe etmek için organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal molekülleri üretebilmesidir (Oelschlaeger, 2010; Shyamala vd., 2016; Thakur vd., 2016; Villena ve Kitazawa, 2017; Mokoena, 2017).

Endüstriyel düzeyde fermente gıdaların üretiminde rol alan LAB grubu üyesi *Pediococcus* cinsi, *P. inopinatus*, *P. dextrinicus*, *P. claussenii*, *P. damnosus*, *P. cellicola*, *P. ethanolidurans*, *P. parvulus*, *P. stilesii*, *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus*'u kapsayan çeşitli türler içermektedir (Dobson vd., 2002; Holzapfel vd., 2006; Todorov ve Dicks, 2009; Holzapfel ve Wood, 2014). Özellikle *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* türlerinin genetik, moleküler ve fizyolojik yönlerini inceleyen araştırmaların sayısı sürekli olarak artmaktadır. Virülans faktörlerinin ve virülans genlerinin yokluğu, bir bakteriyi probiyotik olarak kabul etmek için bir ön koşuldur. Virülans faktörlerinin yokluğu ile birlikte antibiyotik dirençlerinin olmaması LAB'nin güvenli olarak değerlendirilmesi için çok önemli bir husustur. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından gıda takviyeleri olarak tanımlanan *P. pentosaceus* ve *P. acidilactici* suşlarının, bilinen antibiyotik direnç genlerinden yoksun olduğu bildirilmiştir (Shani vd., 2021). Her iki tür de olgunlaştırılmış çeşitli peynirler, turşu, şarap, et ve süt ürünlerinden ve çeşitli içeceklerden sıklıkla izole edilmekte ve aynı zamanda sebzeler, sosisler ve sucuk gibi gıdaları fermente etmek amacıyla endüstride yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Papagianni ve Anastasiadou, 2009).

Bu çalışmada, starter kullanılmadan üretilen sucuktan izole edilmiş *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* suşlarının safra tuzuna tolerans, düşük pH'da hayatta kalma, fenol varlığında hayatta kalma, simüle mide özsuyna tolerans, lizozime karşı direnç, hidrofobisite ve otoagregasyon yetenekleri gibi bazı probiyotik özellikleri araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında starter kullanılmadan üretilen fermente sucuk örneklerinden izole edilmiş 31 *P. acidilactici* ve 2 *P. pentosaceus* suşu kullanılmıştır (Yüceer ve Özden Tuncer, 2015). *Pediococcus* suşlarının *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium ve *Escherichia coli*'nin arasında bulunduğu çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği Aslan ve Özden Tuncer (2020)

tarafından belirlenmiştir. *Pediococcus* suşları de Man Rogosa and Sharp (MRS, Merck, Almanya) broth ortamlarında 30°C'de 24 saat süre ile geliştirilerek kültüre edilmiştir. Stok kültürler % 20 (v/v) oranında steril gliserol ilave edilerek -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Yöntem

Düşük pH'da hayatta kalma

Pediococcus suşlarının düşük pH'da hayatta kalma yetenekleri Conway vd. (1987) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. Kısaca, MRS broth besiyerinde 24 saat süre ile geliştirilen kültürler santrifüj ile çöktürülmüş (3000 g 10 dakika, Sigma 2-16P, Almanya) ve çöktürülen kültürün 10 katı hacminde fosfat buffer saline (PBS) ile yıkanmıştır. Ardından pH'sı 1, 3 ve 5'e ayarlanan PBS ortamlarına (2 mL) hazırlanan hücre süspansiyonlarından 0.1 mL aktarılmış ve inkübasyonun 0. 1. 2. 3. ve 4. saatinde hücre sayımları damla kültürel sayım yöntemi kullanılarak MRS agar ortamında yapılmıştır.

Fenol varlığında hayatta kalma

Teplý (1984) tarafından önerilen yöntemle göre %0.4 (w/v) oranında fenol (Riedel-de Haën, Almanya) içeren ve içermeyen MRS broth ortamlarına 200'er µL aktif *Pediococcus* kültürlerinden aktarılmış ve 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 24. saat sonunda hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır.

Lizozime karşı direnç

Pediococcus suşlarının lizozime karşı dirençleri 100 ppm düzeyinde lizozim içeren ve içermeyen MRS broth ortamlarında test edilmiştir (Brennan vd., 1986). Aktif *Pediococcus* kültürlerinden MRS broth ortamlarına %2 (v/v) oranında inokülasyon yapılmış ve tüpler 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır.

Simüle mide suyunda hayatta kalma

Pediococcus suşlarının simüle mide suyuna tolerans düzeyleri Vinderola ve Reinheimer (2003) tarafından önerilen yöntemle tespit edilmiştir. 30 mL MRS broth ortamında 24 saat geliştirilen kültürler 6000 g'de (+5 °C) 20 dakika çöktürülmüş ve K₂HPO₄ (pH 6.5) ile yıkanmış ve aynı

tamponda (3 mL) çözülmüştür. Hazırlanan hücre süspansiyonundan 1'er mL alınıp 12000 g'de (+5 °C) 5 dk çöktürülmüştür. Çöken hücreler pH'sı 2 ve 3'e ayarlanmış simüle mide suyunda (%0.5 NaCl ve %0.3 pepsin) çözüldükten sonra 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 3. saatinde hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır.

Safra tuzuna dayanım

Pediococcus suşlarının safra tuzuna dayanımlarının belirlenmesi amacıyla %0.3, %0.5 ve % 1 düzeyinde safra tuzu içeren MRS broth ortamlarına 18 saatlik aktif kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapılmış ve 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır (Gilliland ve Walker, 1990).

Hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi

Pediococcus suşlarının hidrofobisite yetenekleri Rosenberg vd. (1980) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. MRS broth ortamında 24 saat geliştirilen *Pediococcus* suşları santrifüj ile çöktürülüp (6000 g 15 dakika) iki kez PBS ile yıkanmıştır. Yıkanan hücre çökeltileri 0.1 M KNO₃ (pH 6.2) içinde çözülerek optik yoğunluğu 600 nm'de 0.5-0.6 (A_0) aralığına ayarlanmıştır. Hazırlanan hücre süspansiyonundan 3 mL alınmış üzerine 1 mL ksilen (Merck) ilave edilip oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiş ve akabinde 2 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra süspansiyonda faz ayrımının olması için 20 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Faz ayrımının tamamlanmasının ardından sulu fazın optik yoğunluğu 600 nm'de ölçülmüştür (A_1). *Pediococcus* suşlarının hidrofobisite değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hidrofobisite} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

Otoagregasyon yeteneklerinin belirlenmesi

Suşların otoagregasyon yeteneklerinin belirlenmesi Basson vd. (2008) tarafından önerilen yöntemle göre yapılmıştır. 24 saat geliştirilen *Pediococcus* suşları 7000 g'de (10 dakika, 20 °C) çöktürülmüş ve FTS içinde çözülmüştür. Ardından hücre süspansiyonunun yoğunluğu 0.3'e (660 nm) ayarlanmıştır (A_0). 37 °C'de 60

dakika inkübe edilen hücre süspansiyonu 300 g'de (2 dakika, 20 °C) çöktürülmüştür. Santrifüj sonrası üstte kalan hücre süspansiyonunun yoğunluğu 660 nm'de ölçülmüştür (A_{60}). *Pediococcus* suşlarının otoagregasyon değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Otoagregasyon} = (A_0 - A_{60} / A_0) \times 100$$

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Düşük pH'da hayatta kalma denemeleri sonucu, *Pediococcus* suşlarının tamamının pH 1'de 0. saatte canlılıklarını yitirdikleri, pH 3'te ise 0. saatte suşların tümünün belirli oranlarda aktivitelerini korudukları ($1 \pm 0.00 - 6.83 \pm 0.04$ log kob/mL) ancak takip eden inkübasyon sürelerinde ise inhibe oldukları belirlenmiştir. Diğer yandan, pH 5'te tüm suşların 4 saat inkübasyon süresi boyunca hayatta kaldıkları saptanmıştır. Suşların pH 5'te canlı kalma oranlarının %67.02 ile %95.42 arasında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). *P. acidilactici* türü, ısı ve soğuk uygulamalarına, farklı pH değerlerine ve proteolitik uygulamalara dayanımlarının olabildiği ve antilisterial peptid (pediosin) üretme kapasitesine sahip suşlar içermesi sebebi ile gıda koruyucusu olarak potansiyel taşıyan mikroorganizmalardır (Papagianni ve Anastasiadou, 2009). Bir mikroorganizmanın probiyotik olabilme özelliklerinin başında mide öz suyuna yakın pH seviyelerinde (pH 2-3) 3 saat boyunca hayatta kalabilmesi gelmektedir. İyi bir probiyotik kültürün pH 3 seviyesindeki asitliğe dayanım göstermesi beklenmektedir (Fernandez vd., 2003; Park vd., 2006). Yapılan çalışmalarda genellikle pH 1 ve pH 3 seviyesindeki asitliklerde hücre konsantrasyonlarında düşüşler olduğu diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Fernandez vd., 2003; Pan vd., 2008; Sahadeva vd., 2011). Yüksekdag ve Aslim (2010) sucuğun doğal mikrobiyotasında bulunan potansiyel probiyotik mikroorganizmaları araştırdıkları bir çalışmada izole ettikleri suşlar arasında düşük pH'nın etkisine direnme kapasitesi en yüksek suşların *P. pentosaceus* Z12P ve Z13P suşları olduğunu tespit etmişlerdir. Gupta ve Sharma (2017) yaptıkları çalışmada *P. acidilactici* suşunun pH 2 ve pH 3'e 3 saat inkübasyon süresince dayanım gösterdiğini ve sırasıyla %72.69-%98.62 seviyesinde canlılıklarını koruduğunu

bildirmişlerdir. Benzer olarak yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sosisten izole edilmiş *P.*

acidilactici CE51'in düşük pH'lara (pH 2, 2.5 ve 3) dirençli olduğu tespit edilmiştir (Vieira vd., 2020).

Çizelge 1. *Pediococcus* suşlarının düşük pH uygulamasına dayanımları (log kob/mL) ve pH 5'de canlılık oranları (%)

Table 1. Resistance of *Pediococcus* strains to low pH application (log cfu/mL) and viability rates (%) at pH 5

Suşlar Strains	pH 3					pH 5					% Canlılık Viability %
	0. s 0. b	1. s 1. b	2. s 2. b	3. s 3. b	4. s 4. b	0. s 0. b	1. s 1. b	2. s 2. b	3. s 3. b	4. s 4. b	
<i>P. acidilactici</i> OBS2	6.76±0.05	<1	<1	<1	<1	7.14±0.02	7.78±0.03	6.8±0.03	5.72±0.07	5.47±0.06	76.61
<i>P. acidilactici</i> OBS6	6.78±0.01	<1	<1	<1	<1	7.31±0.01	7.84±0.03	6.71±0.03	6.69±0.06	6.48±0.03	88.64
<i>P. acidilactici</i> OBS7	6.73±0.04	<1	<1	<1	<1	7.92±0.01	7.81±0.01	6.84±0.01	5.94±0.02	5.78±0.04	72.98
<i>P. acidilactici</i> OBS10	6.66±0.02	<1	<1	<1	<1	7.23±0.03	7.88±0.02	6.7±0.02	6.83±0.01	6.74±0.02	93.22
<i>P. acidilactici</i> OBS16	6.83±0.04	<1	<1	<1	<1	7.73±0.05	7.74±0.01	6.92±0.01	5.86±0.02	5.67±0.04	73.35
<i>P. acidilactici</i> OBS19	6.75±0.05	<1	<1	<1	<1	7.83±0.05	7.63±0.02	6.87±0.02	5.83±0.02	5.5±0.04	70.24
<i>P. acidilactici</i> OBS21	6.79±0.05	<1	<1	<1	<1	7.32±0.01	7.83±0.03	6.76±0.03	6.83±0.02	6.82±0.04	93.17
<i>P. acidilactici</i> OBS22	6.76±0.05	<1	<1	<1	<1	7.56±0.03	7.81±0.05	6.76±0.05	5.66±0.02	5.66±0.06	74.87
<i>P. acidilactici</i> OBS27	3.37±0.04	<1	<1	<1	<1	7.21±0.05	7.62±0.06	6.76±0.06	6.85±0.03	5.85±0.01	81.14
<i>P. acidilactici</i> OBS28	4±0.00	<1	<1	<1	<1	7.23±0.09	7.21±0.06	6.14±0.06	6.08±0.07	6.05±0.09	83.68
<i>P. acidilactici</i> OBS30	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.05±0.05	7.74±0.06	6.54±0.06	6.53±0.06	6.44±0.05	91.35
<i>P. acidilactici</i> OBS35	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.21±0.08	7.64±0.03	6.7±0.03	6.86±0.04	6.88±0.03	95.42
<i>P. acidilactici</i> OBS36	4.07±0.13	<1	<1	<1	<1	7.25±0.06	7.8±0.04	6.71±0.04	6.77±0.07	6.81±0.03	93.93
<i>P. acidilactici</i> OBS38	4.06±0.07	<1	<1	<1	<1	7.07±0.04	7.81±0.07	6.62±0.07	6.79±0.06	6.66±0.07	94.20
<i>P. acidilactici</i> OBS40	1±0.00	<1	<1	<1	<1	6.9±0.03	6.58±0.02	5.98±0.02	5.66±0.05	5.47±0.04	79.27
<i>P. acidilactici</i> OBS42	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.27±0.07	7.12±0.03	6.81±0.03	6.63±0.02	6.48±0.01	89.13
<i>P. acidilactici</i> OBS44	3.05±0.05	<1	<1	<1	<1	7.01±0.08	6.35±0.07	6.25±0.07	6.04±0.03	6.26±0.04	89.30
<i>P. acidilactici</i> OBS49	1±0.00	<1	<1	<1	<1	6.7±0.09	6.56±0.02	6.52±0.02	6.38±0.08	6.15±0.06	91.79
<i>P. acidilactici</i> OBS51	3.26±0.05	<1	<1	<1	<1	6.74±0.09	6.43±0.08	5.56±0.08	6.16±0.07	5.98±0.07	88.72
<i>P. acidilactici</i> OBS52	5.05±0.05	<1	<1	<1	<1	6.46±0.08	6.46±0.04	6.37±0.04	6.36±0.03	6.33±0.06	97.98
<i>P. acidilactici</i> OBS53	6.75±0.03	<1	<1	<1	<1	7.47±0.02	7.57±0.09	6.58±0.09	6.7±0.02	6.65±0.05	89.02
<i>P. acidilactici</i> OBS54	6.68±0.03	<1	<1	<1	<1	7.43±0.07	7.32±0.08	5.94±0.08	5.06±0.07	4.98±0.05	67.02
<i>P. acidilactici</i> OBS55	4.04±0.04	<1	<1	<1	<1	7.5±0.06	7.31±0.07	6.6±0.07	6.64±0.04	6.77±0.03	90.26
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	4.04±0.00	<1	<1	<1	<1	7.64±0.05	7.38±0.07	6.54±0.07	6.45±0.03	6.37±0.07	83.38
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.61±0.07	7.31±0.06	6.4±0.06	6.41±0.04	6.13±0.08	80.55
<i>P. acidilactici</i> OBS58	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.64±0.04	7.25±0.06	6.55±0.06	6.6±0.06	6.53±0.02	85.47
<i>P. acidilactici</i> OBS59	6.8±0.04	<1	<1	<1	<1	7.61±0.05	7.26±0.07	6.47±0.07	4.04±0.03	6.68±0.07	87.78
<i>P. acidilactici</i> OBS60	3.43±0.09	<1	<1	<1	<1	7.61±0.009	7.42±0.05	6.29±0.05	6.86±0.03	6.85±0.02	90.01
<i>P. acidilactici</i> OBS61	6.69±0.04	<1	<1	<1	<1	7.59±0.03	7.29±0.02	6.64±0.02	6.71±0.02	6.72±0.08	88.54
<i>P. acidilactici</i> OBS62	3.44±0.04	<1	<1	<1	<1	7.67±0.06	7.35±0.04	6.67±0.04	6.67±0.06	6.67±0.08	86.96
<i>P. acidilactici</i> OBS63	3.98±0.03	<1	<1	<1	<1	7.75±0.08	7.17±0.02	6.25±0.02	6.25±0.00	5.62±0.07	72.52
<i>P. acidilactici</i> OBS64	6.34±0.09	<1	<1	<1	<1	7.71±0.01	7.31±0.04	6.55±0.04	6.56±0.03	6.34±0.04	82.23
<i>P. acidilactici</i> OBS65	6.24±0.03	<1	<1	<1	<1	7.55±0.07	7.22±0.02	6.48±0.04	6.37±0.03	6.29±0.04	83.31

Pediococcus suşlarının %0.4 fenol varlığında hayatta kalma özellikleri incelendiğinde tüm suşların canlılıklarını sürdürdüğü belirlenmiştir. Yirmi dört saat inkübasyon süresi sonunda *P. acidilactici* OBS62 suşu hariç diğer *Pediococcus* suşlarının %69.94-99.89 oranında canlılıklarını koruduğu, *P. acidilactici* OBS62 suşunun ise %2.32 oranında gelişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 2). Ksiloz ve arabinoz gibi pentoz şekerlerini kullanabilen *P. acidilactici* türünün, lignoselülozik biyokütleden biyoetanol üretimi sırasında furan türevleri, fenolik bileşikler ve zayıf asitler gibi önceden işlenmiş inhibitörlere karşı yüksek direnç gösterdiği bildirilmiştir (Callejon vd., 2017). Fenol, tüketilen gıdalar ile alınan aromatik amino asitlerin sindirim sisteminde bulunan bakteriler

tarafından deaminasyonu ile oluşmaktadır. Bu nedenle fenole dayanım probiyotik bakterilerde aranan bir özelliktir (Gilliland ve Walker, 1990; Suscovic vd., 1997). Abbaslı vd. (2017), *P. acidilactici* KP 10 suşu ile yaptıkları çalışmada %0.4 fenol varlığında 24 s inkübasyon süresi sonunda hücre sayısında yaklaşık 1.5 log'luk düşüş olmasına rağmen söz konusu suşun fenolü tolere edebildiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Reuben vd. (2019) *P. pentosaceus* IL13 suşunun optik yoğunluğunda düşme olmasına rağmen %0.4 fenol konsantrasyonunu tolere edebildiğini rapor etmiştir.

Pediococcus suşlarının 100 ppm lizozim içeren MRS broth besiyerinde 24 saat sonunda canlılık oranları

%90.90 ile %107.40 arasında bulunmuştur (Çizelge 2). Lizozim tükürükte, insan sütünde ve diğer biyolojik sıvılarda doğal olarak bulunduğu, bağırsakta spesifik bakteri suşunun kolonizasyonunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle, probiyotik bakterilerin lizozime dirençli veya orta derecede dirençli olması istenmektedir. Shukla ve Goyal (2014), *P. pentosaceus* CRAG-3

suşunun 2 saat süre ile 100 ppm lizozim uygulamasına kontrole kıyasla %75 oranında hayatta kaldığını bildirmişlerdir. Benzer olarak Attri vd. (2015) *P. acidilactici* NCDC252 suşunun lizozime karşı dirençli olduğunu ve inkübasyon süresi sonunda optik yoğunluğunun arttığını bildirmişlerdir.

Çizelge 2. *Pediococcus* suşlarının %0.4 fenol varlığında hayatta kalma ve 100 ppm lizozime karşı direnç düzeyleri

Table 2. Survival levels of *Pediococcus* strains in the presence of 0.4% phenol and resistance to 100 ppm lysozyme

Suşlar Strains	%0.4 Fenol 0.4% Phenol			100 ppm Lizozim 100 ppm Lysozyme		
	0. s	24. s	% Canlılık	0. s	24. s	% Canlılık
	<i>0. b</i>	<i>24. b</i>	Viability %	<i>0. b</i>	<i>24. b</i>	Viability %
<i>P. acidilactici</i> OBS2	9.45±0.06	8.41±0.06	88.99	9.23±0.00	9.4±0.02	101.84
<i>P. acidilactici</i> OBS6	9.1±0.09	8.53±0.05	93.73	9.13±0.12	8.96±0.07	98.13
<i>P. acidilactici</i> OBS7	9.44±0.05	8.19±0.03	86.75	9.23±0.03	9.2±0.05	99.67
<i>P. acidilactici</i> OBS10	9.59±0.01	7.74±0.001	80.70	10.09±0.07	9.3±0.09	92.17
<i>P. acidilactici</i> OBS16	9.11±0.06	6.19±0.07	67.94	9.03±0.08	8.7±0.05	96.34
<i>P. acidilactici</i> OBS19	9.17±0.02	8.66±0.02	94.43	9.13±0.01	9.01±0.02	98.68
<i>P. acidilactici</i> OBS21	9.15±0.01	8.73±0.01	95.40	9.18±0.06	9.06±0.07	98.69
<i>P. acidilactici</i> OBS22	9.25±0.09	7.98±0.02	86.27	9.17±0.03	9.37±0.07	102.18
<i>P. acidilactici</i> OBS27	9.04±0.13	8.19±0.07	90.59	9.18±0.04	9.01±0.06	98.15
<i>P. acidilactici</i> OBS28	9.16±0.14	8.65±0.03	94.43	9.45±0.05	9.01±0.12	95.34
<i>P. acidilactici</i> OBS30	9.36±0.04	7.59±0.03	81.09	8.97±0.07	8.99±0.08	100.22
<i>P. acidilactici</i> OBS35	9.55±0.06	8.54±0.01	89.42	9.28±0.04	9.03±0.06	97.30
<i>P. acidilactici</i> OBS36	10.31±0.06	9.36±0.06	90.78	9.18±0.12	9.18±0.08	100
<i>P. acidilactici</i> OBS38	9.13±0.06	7.59±0.03	83.13	8.98±0.02	9.01±0.06	100.33
<i>P. acidilactici</i> OBS40	9.42±0.01	7.66±0.03	81.31	9.04±0.08	9.03±0.1	99.88
<i>P. acidilactici</i> OBS42	10.18±0.01	8.73±0.02	85.75	9.45±0.04	9.07±0.07	95.97
<i>P. acidilactici</i> OBS44	9.29±0.08	7.57±0.02	81.48	9.01±0.05	9.15±0.13	101.55
<i>P. acidilactici</i> OBS49	9.32±0.07	7.24±0.09	77.68	9.07±0.1	9.05±0.04	99.78
<i>P. acidilactici</i> OBS51	9.36±0.05	7.53±0.02	80.45	9.21±0.08	9.05±0.02	98.26
<i>P. acidilactici</i> OBS52	10.1±0.09	9.05±0.05	89.60	9.18±0.09	9.38±0.11	102.18
<i>P. acidilactici</i> OBS53	10.07±0.07	9.18±0.1	91.16	9.09±0.1	9.12±0.1	100.33
<i>P. acidilactici</i> OBS54	10.25±0.09	9.54±0.06	93.07	9.32±0.02	9.09±0.06	97.53
<i>P. acidilactici</i> OBS55	10.24±0.08	9.24±0.03	90.23	9.03±0.04	9.38±0.00	103.87
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	10.25±0.1	9.1±0.03	88.78	9.02±0.02	9.38±0.13	103.99
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	10.12±0.11	9.28±0.03	91.69	10.01±0.06	9.1±0.07	90.90
<i>P. acidilactici</i> OBS58	10.19±0.05	9.24±0.06	90.68	9.45±0.07	10.15±0.02	107.40
<i>P. acidilactici</i> OBS59	10.09±0.08	9.23±0.1	91.47	9.4±0.01	9.42±0.01	100
<i>P. acidilactici</i> OBS60	10.2±0.07	9.23±0.07	90.5	9.44±0.1	9.35±0.06	99.05
<i>P. acidilactici</i> OBS61	9.11±0.07	9.1±0.09	99.89	10.14±0.05	9.26±0.08	91.32
<i>P. acidilactici</i> OBS62	9.06±0.1	9.27±0.06	102.32	10.05±0.02	9.31±0.02	92.64
<i>P. acidilactici</i> OBS63	9.15±0.06	9.11±0.1	99.56	9.37±0.08	9.25±0.04	98.72
<i>P. acidilactici</i> OBS64	9.24±0.07	9.19±0.04	99.45	10.09±0.09	9.23±0.02	91.48
<i>P. acidilactici</i> OBS65	9.14±0.07	8.22±0.07	89.93	9.44±0.1	9.06±0.04	95.97

Pediococcus suşları pH'sı 2 ve 3'e ayarlanmış simüle mide suyunda 3 saat inkübasyonun ardından canlılıklarını yitirmişlerdir (Çizelge 3). Riberio vd. (2014), *P. acidilactici* B14 ile yürüttükleri bir çalışmada pH'sı 2 ve 4 olacak şekilde hazırlanan mide suyunda 4 saat inkübasyon süresi sonunda

hücre konsantrasyonunda sırası ile 3.2 ve 0.4 log'luk bir düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. pH 4 olan mide suyunda aynı suşun %98 oranında hayatta kaldığını bildirmişlerdir. Tokatlı vd. (2015), yaptıkları bir çalışmada pH'sı 2.5 olan simüle mide suyunda turşudan izole edilen *P.*

ethanolidurans suşlarının 4 saat inkübasyon süresi sonunda %40-76 oranında canlı kalabildiklerini bildirmişlerdir. Digtã vd. (2020), *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp. ve *Pediococcus* spp. ile yaptıkları çalışmada, 90 dakika süre ile pH'sı 2.5'e ayarlanmış simüle mide suyunda, canlı hücre seviyelerinin 10^8 - 10^9 kob/mL'den 10^4 kob/mL'ye önemli ölçüde düştüğünü bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar uygulama

süresinin 3 saatte tamamlanması ile hücre sayılarının bir log daha azalarak 10^3 kob/mL seviyesine indiğini belirlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda test ettikleri LAB arasında *P. pentosaceus* L3 ve *P. acidilactici* L5 izolatlarının simüle mide suyuna diğer LAB'ne kıyasla daha dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 3. *Pediococcus* suşlarının simüle mide suyunda hayatta kalma oranları

Table 3. Survival rates of *Pediococcus* strains in simulated gastric juice

Suşlar Strains	pH 2		pH 3	
	0. s <i>0. b</i>	3. s <i>3. b</i>	0. s <i>0. b</i>	3. s <i>3. s</i>
<i>P. acidilactici</i> OBS2	9.23±0.06	<1	9.46±0.03	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS6	8.04±0.04	<1	9.38±0.05	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS7	8.53±0.05	<1	9.33±0.07	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS10	8.25±0.01	<1	9.35±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS16	8.61±0.04	<1	9.6±0.01	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS19	8.08±0.08	<1	9.3±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS21	8.06±0.06	<1	9.39±0.08	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS22	9.06±0.06	<1	9.28±0.1	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS27	8.28±0.07	<1	9.39±0.07	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS28	8.13±0.11	<1	9.4±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS30	9.01±0.05	<1	9.24±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS35	9.22±0.04	<1	9.37±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS36	9.02±0.08	<1	9.32±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS38	9.18±0.06	<1	9.26±0.01	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS40	9.41±0.05	<1	9.29±0.09	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS42	9.28±0.03	<1	9.29±0.05	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS44	9.27±0.04	<1	9.37±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS49	9.34±0.08	<1	9.35±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS51	9.32±0.07	<1	9.34±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS52	8.58±0.01	<1	9.28±0.03	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS53	9.4±0.01	<1	9.13±0.13	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS54	9.44±0.05	<1	9.17±0.12	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS55	9.34±0.05	<1	9.23±0.06	<1
<i>P. pentasaceus</i> OBS56	9.41±0.05	<1	9.23±0.05	<1
<i>P. pentasaceus</i> OBS57	9.22±0.07	<1	9.52±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS58	9.32±0.02	<1	9.24±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS59	9.28±0.07	<1	9.06±0.11	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS60	9.37±0.03	<1	9.32±0.07	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS61	9.32±0.07	<1	9.2±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS62	9.28±0.09	<1	9.4±0.03	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS63	9.39±0.05	<1	9.2±0.08	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS64	9.01±0.06	<1	9.1±0.08	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS65	9.15±0.02	<1	9.21±0.09	<1

Pediococcus suşlarının tamamı denenen safra tuzu konsantrasyonlarında 24 saat inkübasyon süresi sonunda canlılıklarını korumuş, hatta başlangıç

konsantrasyonlarına göre geliştikleri gözlemlenmiştir. 24 saat inkübasyon süresi sonunda %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzu

konsantrasyonlarında hücre sayılarının sırasıyla 7.96 ± 0.02 - 8.88 ± 0.01 , 7.93 ± 0.02 - 8.47 ± 0.02 ve 7.1 ± 0.09 - 8.36 ± 0.01 log kob/mL arasında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4). Geleneksel Etiyopya fermente sığır eti sosisi Wakalim'den izole edilen *P. pentosaceus* suşlarının %0.3 safra tuzu konsantrasyonuna toleranslı olduğu rapor edilirken (Doungeraki vd., 2013), diğer taraftan *P. acidilactici* B14 ile yürütülen bir çalışmada %0.3 ve %1 safra tuzu içeren ortamlarda kontrole kıyasla

söz konusu suşun hücre konsantrasyonunda sırası ile 2 ve 4 log'luk azalma olduğu bildirilmiştir (Riberio vd., 2014). Mevcut bulgular, %0.3 safra tuzu konsantrasyonlarında pediokokların hayatta kalma oranlarının yüksek olduğunu gösteren farklı çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Abbasiliasi vd., 2012; Barbosa vd., 2015; Ilavenil vd., 2016; Zomiti vd., 2018; Yin vd., 2020; Digutá vd., 2020).

Çizelge 4. *Pediococcus* suşlarının %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzuna dayanımları (log kob/mL)
Table 4. 0.3%, 0.5% and 1% bile salt resistance of *Pediococcus* strains (log cfu/mL)

Suşlar Strains	%0.3 Safra tuzu 0.3% Bile salt		%0.5 Safra tuzu 0.5% Bile salt		%1 Safra tuzu 1% Bile salt	
	0. s	24. s	0. s	24. s	0. s	24. s
	0. b	24. b	0. b	24. b	0. b	24. b
<i>P. acidilactici</i> OBS2	7.15±0.01	8.28±0.01	7.54±0.04	8.06±0.04	6.46±0.07	7.52±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS6	7.46±0.07	8.88±0.01	7.38±0.07	8.5±0.01	7.3±0.08	8.16±0.11
<i>P. acidilactici</i> OBS7	7.48±0.05	8.44±0.19	7.61±0.04	8.24±0.08	6.98±0.02	8.04±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS10	7.49±0.05	8.44±0.06	7.6±0.06	8.21±0.04	6.98±0.02	7.95±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS16	7.12±0.59	8.23±0.00	6.78±0.03	8.54±0.02	6.56±0.02	8.1±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS19	7.3±0.09	8.32±0.21	7.47±0.05	8.36±0.04	6.96±0.1	8.09±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS21	7.27±0.02	8.7±0.07	7.54±0.06	8.24±0.09	7.13±0.01	8.06±0.11
<i>P. acidilactici</i> OBS22	7.08±0.07	7.98±0.12	7.36±0.03	7.93±0.02	7.08±0.1	7.47±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS27	7.2±0.06	8.15±0.1	7.55±0.02	8.11±0.08	7.25±0.02	7.95±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS28	6.94±0.09	8.29±0.14	7.46±0.08	8.39±0.06	7.14±0.03	8.36±0.01
<i>P. acidilactici</i> OBS30	7.04±0.03	8±0.00	7.5±0.07	8.21±0.05	6.99±0.07	8.01±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS35	7.27±0.02	8.19±0.04	7.78±0.04	8.12±0.01	7.14±0.05	8.18±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS36	7.08±0.07	8.4±0.04	7.58±0.01	8.39±0.00	7.15±0.01	8.13±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS38	7.02±0.08	8.02±0.02	7.52±0.03	8.01±0.11	7.01±0.06	8.15±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS40	7.02±0.04	8.37±0.06	7.49±0.04	7.98±0.13	6.96±0.02	8.07±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS42	7.17±0.05	8.45±0.02	7.44±0.02	8.19±0.06	6.57±0.01	8.01±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS44	6.96±0.02	7.96±0.02	7.07±0.03	8.35±0.04	7.13±0.12	7.93±0.02
<i>P. acidilactici</i> OBS49	7.1±0.03	8.05±0.05	7.51±0.07	7.99±0.11	7.22±0.07	8.24±0.1
<i>P. acidilactici</i> OBS51	7.07±0.09	8.1±0.02	7.47±0.05	8.15±0.04	7.03±0.08	8.22±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS52	7.09±0.1	8.32±0.05	7.04±0.15	8.01±0.05	6.96±0.05	7.28±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS53	7.21±0.06	7.98±0.05	7.35±0.05	8.47±0.05	7.01±0.12	7.24±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS54	7.05±0.04	8.07±0.07	7.2±0.04	8.15±0.13	7.12±0.03	7.1±0.09
<i>P. acidilactici</i> OBS55	7.16±0.04	7.98±0.02	7.01±0.06	8.29±0.06	7.06±0.07	8±0.00
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	6.95±0.04	8.06±0.11	7.03±0.04	7.98±0.07	7.16±0.04	7.1±0.02
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	7.09±0.1	7.96±0.02	7.01±0.02	8.16±0.07	6.96±0.05	7.24±0.09
<i>P. acidilactici</i> OBS58	6.99±0.04	8.34±0.03	7.03±0.07	8.35±0.06	7.16±0.07	8.06±0.02
<i>P. acidilactici</i> OBS59	7.08±0.07	8.57±0.04	7.08±0.07	8.56±0.03	7.15±0.13	8.01±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS60	7.18±0.08	8.03±0.1	7.2±0.08	8.29±0.08	6.98±0.13	7.45±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS61	7.14±0.12	7.96±0.02	7.26±0.05	8.17±0.05	7.22±0.02	7.53±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS62	7.18±0.06	8.51±0.008	7.23±0.07	8.19±0.01	7.2±0.06	7.98±0.14
<i>P. acidilactici</i> OBS63	6.96±0.06	8.64±0.02	7.22±0.06	8.27±0.08	7.37±0.06	7.96±0.02
<i>P. acidilactici</i> OBS64	7.09±0.12	8.3±0.03	7.25±0.1	8.47±0.02	7.19±0.11	7.95±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS65	6.91±0.06	8.04±0.08	7.08±0.07	8.09±0.1	7.23±0.11	7.9±0.0

İzolaların hidrofobisite oranlarının %61.42 ile %97.40 arasında olduğu bulunmuştur. *P. acidilactici* OBS58 suşunun en yüksek (%97.40), *P. acidilactici* OBS16 suşunun ise en düşük (%61.42) hidrofobisite değeri gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 5). Abbasiliası vd. (2017), *P. acidilactici* KP10 ile yürüttükleri çalışmada hidrofobisite yeteneğini ksilen, kloroform, etilen asetat ve n-hekzadekan olmak üzere dört solvante karşı denemişlerdir. Deneme sonucunda *P. acidilactici* KP10 suşunun dört solvent arasından %47.97 ile en yüksek hidrofobisite yeteneğini ksilene karşı gösterdiği tespit edilmiştir. Mikroorganizmalardaki hidrofobikliğin, hücre yüzeyindeki fibriler yapıların ve spesifik hücre duvarı proteinlerinin varlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu özelliğin, konağın mide-bağırsak sisteminde bakteri için hayati önem taşıyan bir rekabet avantajı sunduğu ileri sürülmektedir. LAB'nin fizikokimyasal özelliklerinden biri olan hücre hidrofobikliği probiyotik bakterilerin konak doku ile etkileşiminde çok önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, hidrofobikliğin türler arasında değişiklik gösterdiği ve hücrelerin fizyolojik durumundaki varyasyonlarla veya suşlar arasında değişken yüzeye ilişkili proteinlerin ekspresyonuyla değişebildiği rapor edilmiştir (Olajugbagbe vd., 2020).

Pediococcus suşlarının otoagregasyon yetenekleri %17.3 ile %64.78 arasında bulunmuştur. Buna göre, *P. acidilactici* OBS16 suşunun en yüksek (%64.78), *P. acidilactici* OBS62 suşunun ise en düşük (%17.3) otoagregasyon değerlerini gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 5). Benzer olarak Xu vd. (2009) yaptıkları çalışmada probiyotik *P. acidilactici* KACC 12307 suşunun otoagregasyon yeteneğinin %40'a yakın olduğunu bildirmişlerdir. Abbasiliası vd. (2017) de bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üreten *P. acidilactici* Kp10 suşunun otoagregasyon yeteneğinin % 35.2 olduğunu rapor etmişlerdir. Diğer taraftan *Pediococcus* suşlarının daha yüksek otoagregasyon değerleri gösterdiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Zommiti vd. (2018), *P. pentosaceus* MZF16 suşunun yaklaşık % 88, Bhagat vd. (2020) ise *P. acidilactici* SMVDUDB2 suşunun %77.68 düzeyinde otoagregasyon

yeteneği gösterdiğini bildirmişlerdir. Bir probiyotik mikroorganizmanın sahip olması gereken standart bir otoagregasyon yüzdesi olmamasına rağmen, son zamanlarda %40'tan daha az otoagregasyona sahip probiyotik izolatların zayıf otoagregasyon özelliklerine sahip olduğu bildirilmiştir (Wang vd., 2010). Bu bilgi ışığında çalışma kapsamında incelenen *Pediococcus* suşlarının % 72,73'ünün (24/33) otoagregasyon değerlerinin % 40'dan büyük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 5. *Pediococcus* suşlarının otoagregasyon ve hidrofobisite değerleri (%)

Table 5. Autoaggregation and hydrophobicity values of *Pediococcus* strains (%)

Suşlar Strains	Otoagregasyon Autoaggregation	Hidrofobisite Hydrophobicity
<i>P. acidilactici</i> OBS2	42.96±2.88	80.40±3.47
<i>P. acidilactici</i> OBS6	37.55±2.37	62.31±3.35
<i>P. acidilactici</i> OBS7	52.02±4.53	85.10±2.18
<i>P. acidilactici</i> OBS10	41.58±4.64	61.73±2.76
<i>P. acidilactici</i> OBS16	64.78±3.91	61.42±3.42
<i>P. acidilactici</i> OBS19	38.96±2.45	65.33±0.90
<i>P. acidilactici</i> OBS21	28.78±2.36	63.30±1.94
<i>P. acidilactici</i> OBS22	48.12±3.31	66.60±2.59
<i>P. acidilactici</i> OBS27	38.53±3.50	79.27±2.49
<i>P. acidilactici</i> OBS28	38.74±0.81	61.99±2.94
<i>P. acidilactici</i> OBS30	61.93±3.22	87.73±2.32
<i>P. acidilactici</i> OBS35	47.09±1.11	89.46±2.88
<i>P. acidilactici</i> OBS36	47.39±2.19	87.29±3.25
<i>P. acidilactici</i> OBS38	46.49±4.48	85.49±0.38
<i>P. acidilactici</i> OBS40	52.39±4.13	94.69±0.19
<i>P. acidilactici</i> OBS42	44.96±4.32	92.91±3.98
<i>P. acidilactici</i> OBS44	57.52±1.77	93.04±3.10
<i>P. acidilactici</i> OBS49	54.30±1.59	95.22±0.96
<i>P. acidilactici</i> OBS51	40.91±4.60	94.26±1.07
<i>P. acidilactici</i> OBS52	44.61±0.47	82.94±2.02
<i>P. acidilactici</i> OBS53	55.37±3.51	94.42±3.71
<i>P. acidilactici</i> OBS54	53.28±3.33	89.69±0.65
<i>P. acidilactici</i> OBS55	41.35±3.47	96.59±1.30
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	49.26±2.12	96.84±1.21
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	54.51±1.55	95.62±0.72
<i>P. acidilactici</i> OBS58	48.20±3.84	97.40±0.75
<i>P. acidilactici</i> OBS59	49.80±2.78	94.35±3.55
<i>P. acidilactici</i> OBS60	49.65±2.10	89.11±1.50
<i>P. acidilactici</i> OBS61	39.43±4.16	88.12±0.55
<i>P. acidilactici</i> OBS62	17.34±4.54	90.38±0.60
<i>P. acidilactici</i> OBS63	38.02±2.93	87.73±2.08
<i>P. acidilactici</i> OBS64	30.26±3.91	89.88±1.76
<i>P. acidilactici</i> OBS65	53.50±2.73	91.03±0.19

SONUÇ

Pediococcus cinsine ait türler arasında özellikle *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* türlerinin genetik, moleküler, fizyolojik ve probiyotik yönlerini inceleyen araştırmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Yapılan bu çalışmalar, çeşitli gıda matrislerinden izole edilen *Pediococcus* suşlarının, fonksiyonel gıda üretiminde önemli bir rol oynayabileceğini ve probiyotik kültür olarak pediokokların da kullanım potansiyeline sahip olduklarını ortaya koymaktadır. Yapılan bu çalışmada *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* suşlarının pH 1 ve 3'te dört saat inkübasyon süresince hayatta kalamadıkları ve simüle mide suyunda canlılıklarını koruyamadıkları görülmüştür. Ancak çalışmada *Pediococcus* suşlarının lizozime karşı direnç, safra tuzuna dayanım, fenole karşı direnç, hidrofobisite ve otoagregasyon yetenekleri bakımından ise probiyotik kültür olarak kullanım potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle izolatların mikroenkapsülasyon yolu ile midenin oluşturduğu sert çevresel koşullara dayanımlarının artırılması sayesinde probiyotik kültür olarak kullanılabilirler düşünülmektedir. İleride yapılacak çalışma ile *Pediococcus* suşlarının probiyotik olarak kullanılabilirlikleri için aktarılabildiği antibiyotik direnç genleri içerip içermediklerinin de araştırılması gerekmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma BÖT tarafından tasarlanmış, analizler BÖT ve NY tarafından gerçekleştirilmiştir. Makalenin yazımı BÖT tarafından yapılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 4203-YL1-14 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Abbasiliasi, S., Tan, J.S., Ibrahim, T.A.T., Ramanan, R.N., Vakhshiteh, F., Mustafa, S. (2012). Isolation of *Pediococcus acidilactici* Kp10 with ability to secrete bacteriocin-like inhibitory

substance from milk products for applications in food industry. *BMC Microbiology*, 12: 260, doi: 10.1186/1471-2180-12-260.

Abbasiliasi, S., Tan, J.S., Bashokouh, F., Ibrahim, T.A.T., Mustafa, S., Vakhshiteh, F., Sivasambo, S., Ariff, A.B. (2017). In vitro assessment of *Pediococcus acidilactici* Kp10 for its potential use in the food industry. *BMC Microbiology*, 17: 121, doi: 10.1186/s12866-017-1000-z.

Aslan, B., Özden Tuncer, B. (2020). Sucuktan izole edilen *Pediococcus* suşlarının bazı teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* 45 (6): 1109-1120, doi: 10.15237/gida.GD20086

Attri, P., Jodha, D., Gandhi, D., Chanalia, P., Dhanda, S. (2015). In vitro evaluation of *Pediococcus acidilactici* NCDC 252 for its probiotic attributes. *International Journal of Dairy Technology*, 68: 533-542, doi: 10.1111/1471-0307.12194.

Barbosa, J., Borges, S., Teixeira, P. (2015). *Pediococcus acidilactici* as a potential probiotic to be used in food industry. *International Journal of Food Science and Technology*, 50: 1151-1157, doi: 10.1111/ijfs.12768.

Basson, A., Flemming, L.A., Chenia, H.Y. (2008). Evaluation of adherence, hydrophobicity, aggregation characteristics and biofilm development of *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates from South African aquaculture systems. *Microbial Ecology*, 55: 1-14.

Bhagat, D., Raina, N., Kumar, A., Katoch, M., Khajuria, Y., Slathia, P.S., Sharma, P. (2020). Probiotic properties of a phytase producing *Pediococcus acidilactici* strain SMVDUDB2 isolated from traditional fermented cheese product, Kalarei. *Scientific Reports*, 10: 1926, doi: 10.1038/s41598-020-58676-2.

Brennan, M., Wansmail, B., Johnson, B.C., Ray, B. (1986). Cellular damage in dried *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Protection*, 49: 47-53.

Callejon, S., Sendra, R., Ferrer, S., Pardo, I. (2017). Recombinant laccase from *Pediococcus acidilactici* CECT 5930 with ability to degrade tyramine. *PLOS ONE* 12: e0186019, doi: 10.1371/journal.pone.0186019.

- Chen, F., Zhu, L., Qiu, H. (2017). Isolation and probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* and *Pediococcus pentosaceus* in specific pathogen free chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19: 325-332, doi: 10.1590/1806-9061-2016-0413.
- Conway, P.L., Gorbach, S.L., Goldin, B.R. (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 70: 1-12.
- Digută, C.F., Nitoi, G.D., Matei, F., Lută, G., Cornea, C.P. (2020). The biotechnological potential of *Pediococcus* spp. isolated from Kombucha Microbial Consortium. *Foods*, 9: 1780, doi:10.3390/foods9121780.
- Dobson, C.M., Deneer, H., Lee, S., Hemmingsen, S., Glaze, S., Ziola, B. (2002). Phylogenetic analysis of the genus *Pediococcus*, including *Pediococcus clausenii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from beer. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52: 2003-2010. doi: 10.1099/00207713-52-6-2003.
- Doulgeraki, A.I., Pramateftaki, P., Argyri, A.A., Nychas, G.-J.E., Tassou, C.C., Panagou, E.Z. (2013). Molecular characterization of lactic acid bacteria isolated from industrially fermented Greek table olives. *LWT-Food Science and Technology*, 50: 353-356, doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.003.
- Fernandez, M.F., Boris, S., Barbes, C. (2003). Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 449-455.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (FAO/WHO), 2002. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, pp. 1–11. London, Ontario, Canada.
- Gad, S.A., El-Baky, R.M.A., Ahmed, A.B.F., Gad, G.F.M. (2016). In vitro evaluation of probiotic potential of five lactic acid bacteria and their antimicrobial activity against some enteric and food-borne pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 10: 400-409.
- Gilliland, S.E., Walker, D.K. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *Journal of Dairy Science*, 73: 905-911.
- Grandy, G., Medina, M., Soria, R., Terán C.G., Araya, M. (2010). Probiotics in the treatment of acute rotavirus diarrhoea. A randomized, double-blind, controlled trial using two different probiotic preparations in Bolivian children. *BMC Infectious Disease*, 10(253): 1-7.
- Gupta, A., Sharma, N. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria- *Pediococcus acidilactici* Ch-2 isolated from Chuli- a traditional apricot product of Himalayan region for the production of novel bioactive compounds with special therapeutic properties. *Journal of Food Microbiology Safety Hygiene*, 2:119. doi:10.4172/2476-2059.1000119.
- Hickson, M., D'Souza, A.L., Muthu, N., Rogers, T.R., Want, S., Rajkumar, C., Bulpitt, C.J. (2007). Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ*, 335(7610): 80. doi: 10.1136/bmj.39231.599815.55.
- Holzappel, W.H., Franz, C.M.A.P., Ludwig, W., Back, W., Dicks, L.M.T. (2006). "The genera *Pediococcus* and *Tetragenococcus*," in *The Prokaryotes*, eds M.F.S. Dworkin, E. Rosenberg, K. H. Schleifer and E. Stackebrandt, E. (New York, NY: Springer-Verlag), 229–266. doi: 10.1007/0-387-30744-3_8.
- Holzappel, W.H., Wood, B.J.B. (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy, 1st Edn.* Somerset Wiley. ISBN: 978-1-444-33383-1. p.632
- Ilavenil, S., Vijayakumar, M., Kim, D.H., Valan Arasu, M., Park, H.S., Ravikumar, S., Choi, K.C. (2016). Assessment of probiotic, antifungal and cholesterol lowering properties of *Pediococcus pentosaceus* KCC-23 isolated from Italian ryegrass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(2): 593-601. doi: 10.1002/jsfa.7128.
- Mokoena, M.P., (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review.

- Molecules*, 22: 1255, doi: 10.3390/molecules22081255.
- Ng, S.Y., Koon, S.S., Padam, B.S., Chye, F.Y. (2015). Evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Malaysian fermented Bambang (Mangifera pajang). *CyTA- Journal of Food*, 13(4): 563-572.
- Oelschlaeger, T.A. (2010). Mechanisms of probiotic actions-A review. *International Journal of Medical Microbiology*, 300: 57-62.
- Olajugbagbe, T.E., Elugbadebo, O.E., Omafuvbe, B.O. (2020). Probiotic potentials of *Pediococcus acidilactici* isolated from wara; A Nigerian unripened soft cheese. *Heliyon* 6: 9 e04889.
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., Zhao, Z. (2008). The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*, 10: 135-140.
- Papagianni, M., Anastasiadou, S. (2009). Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: studies on cell viability under gastrointestinal simulating conditions. *Enzyme Microbial Technology*, 45: 514-522.
- Park, S.C., Hwang, M.H., Kim, Y.H., Kim, J.C., Song, J.C., Lee, K.W. (2006). Comparison of pH and bile resistance of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from rat, pig, chicken, and human sources. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22: 35-37.
- Reuben, R.C., Roy, P.C., Sarkar, S.L., Alam, R., Jahid, I.K. (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiology*, 19: 253, doi: 10.1186/s12866-019-1626-0.
- Riberio, M.C.O., Vandenberghe, L.P.S., Spier, M.R., Paludo, K.S., Soccol C.R., Soccol, V.T. (2014). Evaluation of probiotic properties of *Pediococcus acidilactici* B14 in association with *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 for application in a soy based aerated symbiotic dessert. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(5): 755-765.
- Rosenberg, M., Gutnick, D., Rosenberg, E. (1980). Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiology Letters*, 9: 29-33.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *Journal of Food Science and Technology*, 50: 1-16.
- Shani, N., Oberhaensli, S., Arias-Roth, E. (2021). Antibiotic susceptibility profiles of *Pediococcus pentosaceus* from various origins and their implications for the safety assessment of strains with food-technology applications. *Journal of Food Protection*, 84(7): 1160-1168.
- Shukla, R., Goyal, A. (2014). Probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* CRAG3: A new isolate from fermented cucumber. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6: 11-21.
- Shyamala, G.R., Meenambigai, P., Prabhavathi, P., Raja, R., Yesudoss, L. (2016). Probiotics and its effects on human health- A review. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 5(4): 384-392.
- Suscovic, J., Brkic, B., Matosic, S., Maric, V. (1997). *Lactobacillus acidophilus* M92 as potential probiotic strain. *Milchwissenschaft* 52: 430-435.
- Teply, M. (1984). Ciste mlekarke kulture. Phara. SNTL Nakladatelstvi. Technicke Litertury. In: *Starters for Fermented Milks*, Kurmann JA (chief ed), IDF Bulletin 227; pp. 41-55.
- Thakur, N., Rokana, N., Panwar, H. (2016). Probiotics: selection criteria, safety and role in health and disease. *Journal of Innovative Biology*, 3(1): 259-270.
- Todorov, S.D., Dicks, L.M. (2009). Bacteriocin production by *Pediococcus pentosaceus* isolated from marula (*Scerocarya birrea*). *International Journal of Food Microbiology*, 132: 117-126.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Elmacı, S.B., Egleyen, N.A., Özçelik, F. (2015). *In vitro* properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles. *BioMedical Research International*, Article ID 315819, 8.

- Vieira, K.C.D.O., Ferreira, C.D.S., Bueno, E.B.T., de Moraes, Y.A., Toledo, A.C.C.G., Nakagaki, W.R., Pereira, V.C., Winkelstroter, L.K. (2020). Development and viability of probiotic orange juice supplemented by *Pediococcus acidilactici* CE51. *LWT- Food Science and Technology*, 130: 109637.
- Villena, J., Kitazawa, H. (2017). Probiotic microorganisms; A closer look. *Microorganisms*, 5: 17-28.
- Vinderola c.g., Reinheimer, j.a. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research Internainal*, 36: 895-904.
- Wang, L.Q., Meng, X.C., Zhang, B.R., Wang, Y., Shang, Y.L. (2010). Influence of cell surface properties on adhesion ability of Bifidobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26: 1999-2007.
- Yin, H., Ye, P., Lei, Q., Cheng, Y., Yu, H., Du, J., Pan, H., Cao, Z. (2020). *In vitro* probiotic properties of *Pediococcus pentosaceus* L1 and its effects on enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced inflammatory responses in porcine intestinal epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, 144: 104163
- Yuksekdag, Z.N., Aslim, B. (2010). Assessment of potential probiotic and starter properties of *Pediococcus spp.* isolated from Turkish-type fermented sausages (Sucuk). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20: 161-168.
- Yüceer, Ö., Özden Tuncer, B. (2015). Determination of antibiotic resistance and biogenic amine production of lactic acid bacteria isolated from fermented Turkish sausage (sucuk). *Journal of Food Safety*, 35: 276-285.
- Zommiti, M., Bouffartigues, E., Maillot, O., Barreau, M., Szunerits, S., Sebei, K., Feuilloley, M., Connil, N., Ferchichi, M. (2018). *In vitro* assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16 isolated from artisanal Tunisian meat “Dried Ossban”. *Frontiers in Microbiology*, 9: 2607, doi: 10.3389/fmicb.2018.02607.
- Xu H., Jeong H. S., Lee H. Y., Ahn J. (2009). Assessment of cell surface properties and adhesion potential of selected probiotic strains. *Letters in Applied Microbiology*, 49: 434-442, doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02684.x.



ALIÇ MEYVESİNDEN SANAYİYE UYGUN ALIÇ PÜRESİ ÜRETİMİ

Hilal Rüzgâr*, Şerafettin Yazıcı

Tunay Gıda San. ve Tic. A.Ş., Ar-Ge Merkezi, Erzincan, Türkiye

Geliş/Received: 16.06.2021; Kabul/Accepted: 23.03.2022; Online baskı/Published online: 12.04.2022

Rüzgâr, H., Yazıcı, Ş. (2022). Alıç meyvesinden sanayiye uygun alıç püresi üretimi. *GIDA* (2022) 47 (3) 447-456 doi: 10.15237/gida.GD21100

Rüzgâr, H., Yazıcı, Ş. (2022). Production of hawthorn puree for industry from hawthorn fruit. *GIDA* (2022) 47 (3) 447-456 doi: 10.15237/gida.GD21100

ÖZ

Sağlığa faydalı etkileriyle bilinen alıç, ülkemizde fazla miktarda yetişmektedir. Bu bitkinin meyveleri, yaprakları ve çiçekleri fenolik bileşikler bakımından zengin olduğundan çeşitli hastalıkların önlenmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Gıda sanayinde değerlendirilmesi yaygın olmamasından dolayı kuruyan bu bitki yöresel olarak sınırlı miktarda tüketilmektedir. Dolayısıyla çeşitli aktif bileşenlere sahip bu meyveden üretilecek olan katma değeri yüksek farklı ürünler üretilerek ürün çeşitliliği sağlanması önemlidir. Bu çalışmada endüstriyel koşullarda Erzincan ve Sivas'ta (Suşehri) yetişen alıç bitkisinin meyvelerinden püre üretilmesi ve üretilen pürenin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Endüstriyel ölçekli üretime geçmeden önce Ar-Ge laboratuvarında denemeler gerçekleştirilmiştir. Üretilen ürünün briks, pH, titrasyon asitliği, renk ve akışkanlık analizleri yapılarak üretim şeması oluşturulmuştur. Proses hattında tatlandırıcı kullanılmadan püre üretimi gerçekleştirilerek genel kalite ve duyu analizleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda tadı nötr, dokusu homojen ve görünüşü hafif lekeli, olarak değerlendirilen, 7.37 ± 0.01 briks ve 5.5 ± 0.1 bostwick değerlerine sahip alıç püre elde edilmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, alıç püre tüketiciler tarafından tercih edilebileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler Alıç, püre, briks, pH, titrasyon asitliği, renk

PRODUCTION OF HAWTHORN PUREE FOR INDUSTRY FROM HAWTHORN FRUIT

ABSTRACT

Hawthorn, which is known for its beneficial effects on health, grows in large quantities in our country. Despite the high level of phenolic compounds and the prevention effects towards various diseases; it is consumed locally in limited quantities and not widely used in the food industry. Therefore, it is important to provide various value-added products of this fruit. The aim of this study is to produce puree from hawthorn fruits grown in Erzincan and Sivas (Suşehri). A pilot and industrial scale puree production line was designed according to general quality and sensory analyses out without using sweetener during production. The properties of puree were determined in the R&D laboratory. As a result of this study, hawthorn puree with a brix of 7.37 ± 0.01 and a Bostwick of 5.5 ± 0.1 was obtained, which was evaluated as neutral in taste, homogeneous in texture and having slight spots that could be preferred by consumers.

Keywords: Hawthorn, puree, brix, pH, titratable acidity, colour

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author;*

✉ hilal.ruzgar@tunay.com.tr

☎ (+90) 446 251 1040

☎ (+90) 446 251 1043

Hilal Rüzgâr; ORCID no: 0000-0001-8646-3425

Şerafettin Yazıcı; ORCID no: 0000-0002-5030-1202

GİRİŞ

Alıç türleri *Rosaceae* familyasının üyesi olup, *Maloideae* alt familyası, *Crataegeae* kabilesi ve *Crataegus* cinsine aittir (Gundogdu vd., 2014). *Crataegus* cinsindeki tüm bitkilerin ortak adı olan alıç, dikenli bir çalı veya küçük ağaçtır ve türüne bağlı olarak her biri bir ile üç veya beş çekirdek içerir. Alıç, başlıca Doğu Asya, Avrupa ve Kuzeydoğu Amerika'da yetişmektedir. Yaklaşık 280 türe sahip olduğu belirtilen alıcın (Chang vd., 2002) başka bir çalışmaya göre dünya çapında yaklaşık 200 türe ve Türkiye'de 24 türe sahip olduğu bildirilmiştir (Renda vd., 2018).

Türkiye, *Crataegus*'un genetik merkezlerinden biridir fakat *Crataegus* cinsini tanımlamak için az sayıda çalışma yapılmıştır. Şu anda Türkiye'de *C. monogyna* Jacq., *C. pentagyna* Willd., *C. azarolus* L., *C. orientalis* M. Bieb., *C. rhipidophylla* Gaud ve *C. laevigata* (Poir) DC. dahil olmak üzere 20'den fazla türü bulunmaktadır (Serçe vd., 2011). Anadolu'da en yaygın bulunan *C. monogyna* olup, *C. azarolus* ve *C. orientalis*'e de sıklıkla rastlanılmaktadır (Çalışkan vd., 2018). Bu türlerden *C. orientalis*, Akdeniz Havzası, Türkiye, İran ve diğer ülkelerde doğal olarak yetişen koyu sarı-turuncu renkli bir alıçtır (Coklar vd., 2018).

Türkiye'de yayılış gösteren alıç türlerinde meyve rengi açısından büyük farklılıklar vardır. Örneğin, *C. pentagyna* siyah veya siyahımsı-mor, *C. tanacetifolia* sarı, bazen kırmızı, *C. orientalis* kırmızımsı-turuncu, *C. pontica* sarıdan turuncuya, *C. atrosanguinea* koyu kırmızı, *C. curvisepala* koyu mor, *C. stevenii* kırmızı, *C. monogyna* kırmızı veya kahverengimsi kırmızı ve *C. microphylla* parlak kırmızı renklere sahiptir (Ercisli vd., 2015).

Genel olarak taze tüketilen alıç meyvesinin ana bileşenleri flavonoidler, triterpen asitler, proantosiyanidinler, organik asitler ve bazı aminlerdir (Chang vd., 2002; Arslan vd., 2011). Bunun yanı sıra C vitamini, glikozit, antosiyanın, saponin ve tanen içermektedir (Ercisli vd., 2015). Kırmızı renkli meyvelere sahip *C. monogyna* ve *C. sinaica* gibi bazı alıç türlerinin meyvelerinde antosiyanınların varlığı tespit edilmiştir (Coklar vd., 2018).

(+) - Katesin ve (-) - epikatesin, alıç meyvesindeki flavan-3-ol'lardır ve genellikle (-) - epikatesin konsantrasyonu (+) - katesinden daha yüksektir. Procyanidin B2, B5, C1 ve D1 alıç meyvesinde saptanan dimerik, trimerik ve tetramerik flavan-3-ol'lardır. Hiperosit, apigenin, kuersetin, klorojenik asit, gallik asit, viteksin, hesperidin, kumarik asit, kafeik asit, naringenin ve kratenasin meyvenin diğer fenolikleridir (Coklar vd., 2018).

Alıç meyvesinde C-glikosil flavon olarak bulunan viteksin (apigenin-8-C-glukozit), birçok geleneksel Çin tıbbında kullanılan aktif bir bileşendir. Bu bileşen ve türevleri, şimdiye kadar araştırılan farklı alıç türlerinde bulunan en yaygın C-glikosil flavonlardır. Anti-kanser, antioksidan, anti-inflamatuar, anti-nosiseptif, anti-AD (AD, Alzheimer hastalığı), antihipertansif, anti-spazmodik, anti-viral gibi geniş farmakolojik etkileri nedeniyle son zamanlarda viteksine olan ilgi artış görmektedir (Yang vd., 2012; He vd., 2016; Babaei, F., 2020). Bu bileşenin izomeri olan izoviteksinin de (apigenin-6-C-glukozit), benzer aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (He vd., 2016).

Alıç, yiyecek olarak kullanılan bitki olmasının yanı sıra, yüzyıllardır çeşitli tedavi amaçlı kullanılan popüler bir bitkisel ilaçtır (Rocchetti vd., 2020). Bitkinin meyveleri, yaprakları ve çiçekleri fenolik bileşikler bakımından zengin olduğundan geleneksel olarak kardiyovasküler rahatsızlıklar, hipertansiyon ve ateroskleroz tedavilerinde kullanıldığı bilinmektedir (Coklar vd., 2018; Chang vd., 2002). Özellikle kardiyovasküler hastalıkları önlemek ve tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Chang vd., 2002; Yılmaz vd., 2021).

Arap halk hekimliğinde, *Crataegus aromia* syn *azarolus* (L), yaprakların ve olgunlaşmamış meyvelerin kaynatılmasıyla elde edilen ekstrakt kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diyabetin tedavisi için kullanılmıştır. Çin ve Kore'de ise (*Crataegus pinnatifida* Bunge var. *typica* Schneider ve *C. pinnatifida* Bunge) alıç meyvelerinden kan stazını iyileştirmek ve ishal, karın ağrısı, hiperlipidemi ve hipertansiyonu iyileştirmek için faydalanılmıştır. Ayrıca, Çin'de alıcın hazımsızlık

tedavisinde etkili olduğu klinik olarak kanıtlanmıştır (Rocchetti, vd., 2020). Bunun yanında sindirim sorunları, zayıf dolaşım ve nefes darlığı gibi çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için bitkiyi kullanmışlardır (Chang vd., 2005). Avrupa'da ise, bitkinin meyvesinin, yapraklarının ve çiçeklerinin tentürleri, tabletleri, çayları ve sıvı ekstraktları, antispazmodik, kardiyotonik, hipotansif ve antiateroskleroz etkileri nedeniyle kardiyovasküler rahatsızlıkları tedavi etmek için geleneksel olarak faydalanılmıştır (Rocchetti, vd., 2020). Ayrıca bazı alıç türlerinin ekstraktlarını içeren ürünler Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'da doğal sağlık ürünleri olarak tüketilmektedir (Renda vd., 2018). Hem Çin'de hem de Avrupa'da, alıç meyvesi sadece tıbbi amaçlar için değil, aynı zamanda gıda maddesi (konserve meyve, reçel, jöle, içecek ve şarap) olarak da kullanılmaktadır (Chang vd., 2002). Sağlıklı ve besleyici olduğu düşünüldüğünden dolayı İspanya ve Portekiz'de çobanlar, avcılar ve çocuklar tarafından tercih edilmektedir (Caliskan, 2015).

Türkiye'de ise alıç sirkesi ülkenin bazı yörelerinde üretilmekte olup, alıç meyveleri ve çiçekleri çay olarak tüketilmektedir. Son yıllarda, alıç meyvesi popülerlik kazandığından yerel pazarlarda daha yüksek fiyatlara satılmakta, bu da bazı çeşitlerini potansiyel bahçe bitkileri haline getirmektedir. (Rocchetti vd., 2020; Caliskan vd., 2015).

Fonksiyonel gıda olarak tüketilen alıç meyvesi günlük hayatta bu kullanımının haricinde işlenebilmesinin ve tüketiminin sağlanması önemlidir. Bu kullanımının haricinde ilaç yapımı hatta içecek ve şekerleme ürünleri bile yapılmıştır. Ülkemizde fazla miktarda yetişmekte olan alıcın çeşitleri de bölgelere göre farklılık göstermektedir. Bu bitkinin gıda sanayisinde değerlendirilmesi yaygın olmamakla birlikte yöresel olarak tüketilmektedir. Son yıllarda marmelat üretimine başlanmış olmasına rağmen pekmez üretimi ise halen hiç denenmemiştir. Literatürde yapılan bir çalışma da deneme amacı ile yapılan alıç pekmezinin tadının ekşi, renginin de kara pekmez grubuna girdiği fakat su ve meyve oranının düşük, çekirdek miktarının fazla olması sebebiyle veriminin düşük olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde alıç fazla miktarda bulunmasına rağmen kullanım

alanının fazla olmamasından dolayı olgunlaşan meyve hasat edilmeyip dalında kuruyup yok olmaktadır (Batu vd., 2007; Batu, 2012).

Hasat edilen meyve ve sebzeler taze tüketildiği gibi çabuk bozulabilen gıdalar olduğundan farklı şekillerde işlenip raf ömrü arttırılarak da tüketime sunulabilmektedir. Bu çalışmada, bu sebeple alıç meyvesinin kullanım alanlarının genişletilip tüketiminin artırılması amaçlanmıştır. Erzincan ili sınırlarında faaliyet gösteren Tunay Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. olarak bölgede bulunan alıç meyvelerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda önce alıç meyvesinden Ar-Ge laboratuvarımız bünyesinde deneme püre üretimi yapılmış ve ardından püre hattında tatlandırıcı gıda katkı maddeleri kullanmadan alıç püre üretimi gerçekleştirilmiş ve sanayiye uygunluğu araştırılmıştır.

Denemelerde birden fazla üretim parametresi kullanılmamıştır. Bunun temel nedeni, bu çalışmanın akademik değil, tümüyle endüstriyel esaslı olmasıdır. Tunay Gıda San. ve Tic. A. Ş. olarak kendi deneyimlerimiz ölçüsünde alıç püre aşağıda belirtilen parametreler ile üretilmiştir ve sonuçları paylaşılmıştır. Tunay Gıda San. ve Tic. A. Ş. olarak akademi/sanayi iş birliğine açığız.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, Erzincan ili ve çevresinde yetişen alıç (*Crataegus orientalis*, Erzincan merkez ve Sivas Şuşehri, Türkiye) meyveleri püre üretimi için kullanılmıştır.

Üretim Yöntemi

Ülkemizde endüstriyel koşullarda alıç püre şimdiye kadar üretilmemiş olup bundan sonra üretim teknolojisi konusunda araştırmalar yapılarak ve geliştirilerek üretilebilecektir. Tunay Gıda Sanayi ve Tic. A.Ş. Ar-Ge Merkezi laboratuvarında püre ön çalışması yapılması amacıyla Erzincan ilinde bulunan arazilerden alıç meyveleri toplanmıştır. Firmaya getirilen meyveler soğuk hava deposunda muhafaza edilmiştir. Meyvelerin tür tanımlaması Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Prof. Dr. Ali KANDEMİR tarafından

yapılmıştır. Çalışmada *Crataegus orientalis* türü alıç meyvesi kullanılarak püre üretimi gerçekleştirilmiştir. Anadolu alıcı olarak da adlandırılan bu tür, yaz başında beyaz çiçekleri ve sonbaharda iri sarı ve kırmızı meyveleri olan küçük bir ağaçtır (Şekil 1) (Horoz vd., 2008).



Şekil 1. Alıç püre üretiminde kullanılan alıç (*C. orientalis*) meyveleri

Figure 1. Hawthorn (*C. orientalis*) fruits used in the hawthorn puree production

Püre ön çalışma denemesi Ar-Ge laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan Alıç meyvelerinin genel kalite özellikleri Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Alıç meyvelerinin genel kalite özellikleri

	Erzincan Alıç (<i>Erzincan</i> <i>Hawthorn</i>)	Suşehri Alıç (<i>Suşehri</i> <i>Hawthorn</i>)
Briks (<i>Brix</i>)	8.47±0.02	6.79±0.02
pH (<i>pH</i>)	3.45±0.03	3.44±0.01
Toplam Asitlik (<i>Total Acidity</i>) (%)	0.690±0.03	0.345±0.02

Hammadde analizleri gerçekleştirilen alıç meyvelerinin deneme sürecine geçilmeden önce laboratuvar aşamasında üzerlerindeki toz ve toprak kalıntılarını uzaklaştırmak için yıkanmıştır. Çalışmada 1 kg meyve başına 1.5 lt su olacak şekilde karışım hazırlanmıştır. Önceden sıcaklığı 90 °C’ye ayarlanmış su banyosunda (Termal Laboratuvar Aletleri), 45 dakika bekletilerek ısıtma işlemine tabi tutulan meyvelerin yumuşaması sağlanmıştır. Yumuşayan meyveler

mutfak tipi doğrayıcıdan (Vestel Perilla) geçirilerek küçük parçalara ayrılmıştır. Parçalanmış meyveler önce gözenek çapı 1.5 mm, ardından 0.5 mm olan laboratuvar test eleğinden geçirilerek alıç püre elde edilmiş ve genel kalite analizleri yapılarak püreye uygunluğu değerlendirilmiştir. Askorbik asit (0.75 g/kg meyve) eklenerek, ürünün doğal renginin korunması sağlanmıştır. Laboratuvar ortamında elde edilen bulgular endüstriyel üretime aktarılabileceğini göstermiş ve üretim akış şeması hazırlanmıştır.

Alıç püre üretiminde Şekil 2’de verilen akış şemasındaki işlemler uygulanmıştır. Proses hattında alıç püre üretiminde kullanılacak hammadde tedarik edilerek uygun koşullarda firmamıza getirilmiş ve hammadde uygunluk testleri yapılmıştır. Fabrikaya kabul edilen meyveler üretim bandına dökülerek hammadde besleme basamağına geçmiştir. Meyve üzerindeki toz, toprak ve mikroorganizma yükünün azaltılması için yıkama işlemi yapılmıştır. Bu basamakta meyveler seçme bandından geçerek dal, yaprak, sap kısımları ayrıca bozuk, çürük ve zedelenmiş meyvelerinin ayrılması sağlanmıştır. Temizlenen ve yabancı maddelerden arınmış alıç meyveleri, elevatör yardımıyla ekstraksiyon tanklarına taşınmıştır.

Ekstraksiyon tankına alınan meyvelere kilogram meyve başına, 2 lt su eklenerek 60-70 °C’de iki-üç saat süresince yumuşatma işlemine tabi tutulmuştur. Yapılan bu işlemle hem mikrobiyel yük azaltılmış hem de haşlanıp iyice yumuşayan meyveler kolayca çekirdeklerinden ayrılarak püre hâline getirilebilmiştir. Bu basamakta ürüne kontrollü bir şekilde askorbik asit ilavesi yapılmıştır.

Ekstraksiyon tanklarında yumuşayan meyveler bir sonraki aşama olan fırçalama basamağına geçerek çekirdeklerinden ayrılmıştır. Aynı zamanda bu basamakta kabuk, zar, tohum, çekirdek vb. oluşan posa yan ürün olarak proses dışına atılmıştır. Çekirdek ve kabuk kısmından ayrılan ürün iki farklı gözenek çapına sahip elekten geçirilmiştir. Önce 1.5 mm gözenek çapına sahip üst elekten sonra 0.5 mm gözenek çapına sahip alt elekten

geçirilerek ürün püre haline getirilmiş ve püre toplama tankına gönderilmiştir. Ürün evapore edilmeden önce daha homojen hale getirmek için, gözenek çapı 0.5 mm olan disk filtrelerden geçirilerek kalan yabancı partiküllerin tutulması sağlanmıştır. Ardından herhangi bir metal kalıntısı varsa önlemek amacıyla metal tutuculardan yani magnetlerden geçirilme işlemine tabi tutulmuştur. Yabancı kalıntılardan tamamen arındırılmış ve filtre edilmiş ürün evaporatöre (ING. A. ROSSI, Machine Evaporator, model CC/800) gönderilmiştir. Bu basamakta üründeki fazla su uçurularak istenilen kuru madde oranında ayarlama yapılmış ve alıç püre elde edilmiştir. 105-115 °C' de 90 sn boyunca ürün mikrobiyel

üremeye karşı sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu basamaktan sonra nihai ürün elde edilmiştir (Şekil 3). Elde edilen ürünün genel kalite özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen alıç püre, aseptik torbalara 200 kg olacak şekilde el değmeden konik varillere etiketlenerek dolumu yapılmıştır. Ürünün adı, lot numarası, miktarı, üretim tarihi, saati, depolama sıcaklığı ve raf ömrü bilgilerini içeren firma logolu etiketler el değmeden makinalar tarafından yapıştırılmıştır. Dolum ve etiketleme işlemi sonrasında ürün satışı gerçekleştirilip müşteriye ulaştırılana kadar 0 – 5 °C sıcaklıktaki soğuk hava deposunda muhafaza edilmektedir.

Hammadde Kabul (*Raw Material Income*) ⇒ Hammadde Besleme (*Raw Material Feeding*) ⇒ Yıkama (*Washing*) ⇒ Transfer-Ayıklama (*Transfer-Sorting*) ⇒ Elevatör (*Elevator*) ⇒ Ekstraksiyon Tankı (*Extraction Tank*) ⇒ Fırçalama (*Brushing*) ⇒ Elekler (*Sieves*) ⇒ Püre Toplama Tankı (*Puree Holding Tank*) ⇒ Evaporatör (*Evaporator*) ⇒ Sterilizatör (*Sterilizer*) ⇒ Dolum-Tartım-Etiketleme-Paketleme (*Filling-Weighting-Labeling-Packaging*) ⇒ Depolama (*Storage*) (0 - 5 °C)

Şekil 2. Alıç püre üretimi akış şeması
Figure 2. Flow chart of hawthorn puree production



Şekil 3. Proses hattında elde edilen nihai ürünün görseli
Figure 3. Image of the final product obtained in the process line

Çizelge 2. Elde edilen nihai ürünün genel kalite özellikleri

Table 2. General quality properties of the final product

Briks (Brix)	7.37±0.01
pH (pH)	3.66±0.01
Toplam Asitlik (Total Acidity) (%)	0.517±0.01
L* (L*)	41.63±0.02
a* (a*)	10.09±0.02
b* (b*)	32.70±0.01
Kıvam (Bostwick)	5.5±0.1
Askorbik asit (Ascorbic acid) (ppm)	300±0

Analiz Metotları

Suda Çözünür Kuru Madde (°Briks) Tayini

Suda çözünür kuru madde (SÇKM) dijital refraktometre (ATAGO marka-RX5000CX) ile ölçülmüş ve °Briks cinsinden ifade edilmiştir. Briks: “IFU Analysis No:8” metoduna göre numune 20 (± 0.5) °C’ye getirilerek Refraktometre ile analiz yapılmıştır (IFU Analysis No. 8, Rev. 2005). Analiz üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

pH Tayini

pH analizlerinde numune 20 (± 0.5) °C’ye getirilmiştir. Homojen hale getirilmiş numunedan pH metrenin elektrodu numune içerisine daldırılarak, “IFU Analysis No:11” metoduna göre numune, TitraLab AT1000 cihazı kullanılarak analiz yapılmıştır (IFU Analysis No. 11 (Rev. 2015)). Analiz üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Titration Asitliği Tayini

Asitlik analizleri “IFU Analysis No:3” metoduna göre TitraLab AT1000 cihazı kullanılarak yapılmıştır. Cihazın beherine numunedan yaklaşık 2 gram tartılarak, beher çizgisine kadar (~50 ml) üstüne saf su ile seyreltikten sonra, beher cihaza yerleştirilmiştir. Elektrot numune içerisine daldırılmış ve pH değeri 8.1’e ulaşıncaya kadar 0.1 N NaOH ile titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar malik asit cinsinden % (g/100 g) olarak ifade edilmiştir (IFU Analysis No. 3 Rev. 2017). Analiz üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Renk Tayini

Ölçümler, ColorFlex EZ marka Hunter Lab cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihazın

numune kabına konulan püre numunesi, cihazda ilgili yere konularak analizler yapılmıştır. Burada L*, a* ve b* renk değerleri 3-boyutlu renk koordinatlarını vermektedir. L; ışık değeri veya ışık aydınlık derecesini göstermekte ve (tam beyaz) ile (siyah) arasında değişmektedir. a değeri (+) ise renk kırmızı, (-) olduğunda yeşil; b değeri (+) olduğunda renk sarı, (-) olduğunda mavi kabul edilmektedir (Yücel, 2001). Analiz üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Akışkanlık Analizi

Bostwick konsistometresi ile pürenin kıvamı ölçülmüştür (Ergün vd., 2020). Alet, akışkanlığı ölçülecek numunenin doldurulduğu ön hazne ile numunenin akışı için bir akış yatağı denilen iki bölümden oluşmaktadır. Akış yatağı, ön hazne ile olan sınırdan başlayarak kanalın sonuna kadar, bir cetvel gibi cm ve mm olarak işaretlenmiştir. Analizi yapılacak numunenin sıcaklığı 20 (± 0.5) °C’ye ayarlanmıştır. Numune Bostwick konsistometresinin haznesine konulduktan sonra kapak serbest bırakılmıştır. Bu sırada ve analiz başladıktan 30 sn sonunda numunenin akış yatağına geldiği yerdeki değer bostwick değeri olarak belirlenmiştir (Şahin, 2003). Analiz üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Duyusal Değerlendirme

Çalışma kapsamında üretimi gerçekleştirilen püre numunesinin duyusal olarak değerlendirilmeleri Ar-Ge merkezi içinde bulunan duyusal analiz laboratuvarında 8 panelistin katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Panelistler tarafından, üretilen püre numunesinin tat, renk, koku, görünüş, genel izlenim özellikleri 1-4 (1: Zayıf, 2: Kabul edilebilir, 3: İyi, 4: Çok iyi) arasında puan vermek şartıyla değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Analiz sonuçlarına ilişkin veriler XLSTAT 2020 (Deneme Sürümü) programı kullanılarak varyans analizi uygulanmıştır. Analiz sonuçları paralellerin ortalaması ve standart sapma şeklinde verilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Tunay Gıda San. ve Tic. A.Ş. bünyesinde yapılan deneme alıç püre üretimi başarıyla sonuçlanmıştır.

Sağlık açısından önemli bileşikleri içeren alıç meyvesinin tüketimini yaygınlaştırmak amacıyla sanayiye uygun ürünlerin üretilmesi büyük önem arz etmektedir. Çalışmamızda, alıç (*Crataegus orientalis*) meyvesinden alıç püresi üretilmiştir.

Yapılan ölçümler sonucunda alıç meyve numunelerinin suda çözünür kuru madde miktarları, Erzincan ve Sivas Şuşehri ilçesinden temin edilen meyveler için sırasıyla 8.47 ± 0.02 ve 6.79 ± 0.02 °Bx iken bu değer prosteşte elde edilen püre için 7.37 ± 0.01 °Bx olarak bulunmuştur. Literatür de yapılan başka bir çalışmada Çorum ilinin farklı noktalarından temin edilen alıç numunelerinin suda kuru madde miktarları 12.6-17.7 °Bx aralığında olduğu bildirilmiştir (Güzel, 2021). Tunus'ta üç farklı lokasyondan toplanmış 14 farklı alıç genotipleri ile yapılan başka bir çalışmada da, alıç numunelerinin suda çözünür kuru madde miktarları 16.3-21.8 °Bx aralığında tespit edilmiştir (Bahri-Sahloul vd., 2009). Elde edilen sonuçlar literatür verileriyle kıyaslandığında, meyve numunelerinin suda çözünür kuru madde değerleri farklı bölgelerden toplanan farklı tür alıç meyvelerden elde edilen sonuçlar farklılık göstermektedir.

Alıç numunelerinin pH değerleri Erzincan ve Sivas Şuşehri için sırasıyla 3.45 ± 0.03 ve 3.44 ± 0.01 iken püre için 3.66 ± 0.01 olup, toplam asitlik (malik asit eşdeğeri) 0.690 ± 0.03 , 0.345 ± 0.02 g/100 g ve püre için 0.517 ± 0.01 g/100 g olarak bulunmuştur. Literatür incelendiğinde, Çorum ilinin farklı noktalarından temin edilen alıç numunelerinin pH ve toplam asitlik (malik asit eşdeğeri) değerleri ise sırasıyla 3.6-4.0, 0.9-1.7 g/100 g aralığında değişmektedir (Güzel, 2021). Çalışkan vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada alıç meyvelerinin pH değerlerinin 3.0-3.6 ve titre edilebilir asit içeriği (malik asit cinsinden) 1.3-1.6 g/100 g olarak bildirilmiştir. Gundoğdu vd. (2014) tarafından Erzincan ilinde yetiştirilen 11 farklı alıç türlerinde yapılan çalışmada bu değerlerin sırasıyla 4.22-5.99 ve %0.22-2.40 arasında olduğu tespit edilmiştir. Tunus'ta üç lokasyondan toplanmış 14 farklı alıç genotipleri ile yapılan başka bir çalışmada da, alıç numunelerinin pH miktarları 3.2-4.2 aralığında ve (malik asit cinsinden) asitlik değerleri 0.9-1.9 aralığında

bulunmuştur (Bahri-Sahloul vd., 2009). pH değerlerinin literatür verileriyle kıyaslandığında, alıç numunelerinin pH değerleri genel olarak literatür ile uyumlu bulunmuştur. Meyve asitlik değerleri ise genel olarak farklı bölgelerden toplanan alıç meyveleri ile yapılan analizlerde farklılık göstermekle birlikte Erzincan ilinden toplanan farklı meyvelerle yapılan asitlik sonuçlarıyla uyumlu olduğu görülmüştür.

Elde edilen nihai ürüne yapılan renk tayininde L*, a* ve b* renk değerleri sırasıyla 41.63 ± 0.02 , 10.09 ± 0.02 , 32.70 ± 0.01 olarak bulunmuştur. Diğer bir çalışmada Konya-Beyşehir'den toplanan *Crataegus orientalis* türü alıç meyvelerinin renk değerleri sırasıyla 61.86, 11.65 ve 49.07 olarak bildirilmiştir (Coklar vd., 2018).


Bostwick konsistometresi kullanılarak pürenin kıvamı 5.5 ± 0.1 olarak belirlenmiştir. Literatür taraması sırasında alıç püresinin konsistansı ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ülkemiz üzerinde yayılış gösteren bitki türleri, sahip olduğu çeşitli iklim ve toprak özelliği bakımından oldukça geniş ve zengin bir floraya sahiptir. Bunun yanı sıra genetik çeşitlilik ve hasat sonrası işlemlerin meyvelerin hem fiziksel hem kimyasal özellikleri üzerine etkili olabilmektedir (Güzel, 2021).

Tat, renk, koku, görünüş kriterleri altında duyu analizi ile değerlendirilen pürenin tüm kriterler için tam puan olarak (4 ± 0.0); tadı nötr, dokusu homojen ve görünüşü hafif lekeli olarak nitelendirilmiştir. Yapılan duyu analizi değerlendirme formu Şekil 4'te verilmiştir. Alıç püresi üretimi sırasında tadı zenginleştirmek amacıyla herhangi bir gıda katkı maddesi kullanılmamıştır. Laboratuvar ortamında elde edilen bulgular (görünüş, kıvam, tat) endüstriyel üretime aktarılabilceğini göstermiş ve üretim akış şeması hazırlanmıştır.

Çalışma da elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; doğal ve katkısız olarak proses hatlarında üretilmiş alıç püre hem alıcın kullanım olanağının artırılabilceği hem de doğal, sağlıklı, alternatif ürün sunulabileceği ve elde edilen sonuçların ilgili endüstri kuruluşlarına bu konuda başlangıç noktası oluşturabileceği

düşünülmektedir. Ek olarak ülkemizde ticari olarak yeterli seviyede değerlendirilemeyen alıç meyvelerinden katma değeri yüksek, yarı mamul

ürün ortaya konulabilecektir. Böylece hem ülke hem de yöre ekonomisine pozitif katkıları olabilecektir.

DOCUMENT NO: KGS-25-EK.1		SENSORY ANALYSIS FORM							
DATE	SAMPLE NAME	LOT NO	TASTE	COLOR	SMELL- FLAVOUR	APPEARANCE	TASTER	NOTES	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Güzel ürün, nötr tat	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Çok güzel, ille bon. nötr tat, lüme	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Güzel ürün, enerji verici	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Nötr tat, çok leke, sıkı paket	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Çok güzel, leke var	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Güzel ürün leke ve nötr tat	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Güzel ürün, nötr tat, leke var	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Leke, kendine özgü tat ve aroma, kaliteli, güzel.	
19.10.2020	Hawthorn Puree		4	4	4	4		Çok güzel	

1:POOR 2:ACCEPTABLE 3:GOOD 4:VERY GOOD

Şekil 4. Duyusal analiz formu

Figure 4. Sensory Analysis Form

ÇIKAR ÇATIŞMASI, YAZARLARIN KATKISI

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

YAZAR KATKILARI

Bu çalışmada tüm yazarların katkısı eşittir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan alıç meyvelerinin tür tanımlamasını gerçekleştiren Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. ALİ KANDEMİR'e ve desteklerinden dolayı Tunay Gıda San. ve Tic. A.Ş. Ar-Ge Merkezinde görevli Ar-Ge Mühendisi Hilal AKIN'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Arslan, R., Bor, Z., Bektas, N., Meriçli, A. H., Ozturk, Y. (2011). Antithrombotic effects of ethanol extract of *Crataegus orientalis* in the carrageenan-induced mice tail thrombosis model. *Thrombosis Research*, 127(3): 210–213. doi:10.1016/j.thromres.2010.11.028.

Babaei, F., Moafizad, A., Darvishvand, Z., Mirzababaei, M., Hosseinzadeh, H., Nassiri-Asl, M. (2020). Review of the effects of vitexin in oxidative stress-related diseases. *Food Science & Nutrition*, 8:2569–2580. doi:10.1002/fsn3.1567.

Bahri-Sahloul, R., Ammar, S., Grec, S., Harzallah-Skhiri, F. (2009). Chemical characterisation of *Crataegus azarolus* L. fruit from 14 genotypes found in Tunisia. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 84(1), 23–28. doi:10.1080/14620316.2009.1151247.

Batu, A. (2012). Alıç meyvesinin fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmesi ve insan sağlığı bakımından önemi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(2):01-05, ISSN: 1308-0040, E-ISSN: 2146-0132.

Batu, A., Çağlar, A., Emrem, Ö., Çeliker, B. (2007). Alıç pekmezi üretimi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, (2): 45-51, ISSN: 1306-7648.

Caliskan, O. (2015). Mediterranean hawthorn fruit (*Crataegus*) species and potential usage. *The Mediterranean Diet*, 621–628. doi:10.1016/b978-0-12-407849-9.00055-5.

- Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., Chow, M. S. S. (2002). Hawthorn. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42: 605–612, doi:10.1177/00970002042006003.
- Chang, W.-T., Dao, J., Shao, Z.-H. (2005). Hawthorn: potential roles in cardiovascular disease. *The American Journal of Chinese Medicine*, 33(01): 1–10. doi:10.1142/s0192415x05002606.
- Coklar, H., Akbulut, M., Kılınc, S., Yıldırım, A., Alhassan, I. (2018). Effect of freeze, oven and microwave pretreated oven drying on color, browning index, phenolic compounds and antioxidant activity of Hawthorn (*Crataegus orientalis*) fruit. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(2): 449-456, doi:10.15835/nbha46211027.
- Çalışkan, O., Kazım Gündüz, K., Bayazıt, S. (2018). Sarı alıç (*Crataegus azarolus* L.) genotipinin morfolojik, biyolojik ve meyve kalite özelliklerinin incelenmesi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 35 (Ek Sayı), 69-74, doi: 10.13002/jafag4504.
- Ercisli, S., Yanar, M., Sengul, M., Yıldız, H., Topdas, E. F., Taskin, T., Zengin, Y., Yılmaz, K. U. (2015). Physico-chemical and biological activity of Hawthorn (*Crataegus* spp. L.) fruits in TURKEY. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum cultus*, 14(1): 83-93, ISSN 1644-0692.
- Ergün, A.R., Baysal, T., Çağlar, D., Tüfenk, H., Batmaz, B. (2021). Kekik oleoresini katılan domates çorbasında *B. coagulans* bakterisinin ısı direncinin incelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 27(7), 800-806, doi: 10.5505/pajes.2020.47717.
- Gundogdu, M., Ozrenk, K., Ercisli, S., Kan, T., Kodad, O., Hegedus, A. (2014). Organic acids, sugars, vitamin C content and some pomological characteristics of eleven hawthorn species (*Crataegus* spp.) from Turkey. *Biological Research*, 47(1):21, doi:10.1186/0717-6287-47-21.
- Güzel, N. (2021). ALIÇ: biyoaktif bileşenlerin termosonikasyon ile ekstraksiyonu ve fiziko-kimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi. *GIDA*, 46 (4) 939-948, doi: 10.15237/gida.GD21077.
- He, M., Min, J.-W., Kong, W.-L., He, X.-H., Li, J.-X., Peng, B.-W. (2016). A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. *Fitoterapia*, 115: 74–85, doi:10.1016/j.fitote.2016.09.011.
- Horoz, M., Gok, E., Genctoy, G., Ozcan, T., Olmaz, R., Akca, M., Kiykim A., Gurses, I. (2008). *Crataegus Orientalis* associated multiorgan hypersensitivity reaction and acute renal failure. *Internal Medicine*, 47: 2039-2042, doi: 10.2169/internalmedicine.47.1502).
- International Federation of Fruit Juice Producers, Determination of Soluble Solids. *IFU Analysis No. 8* (Rev. 2005).
- International Federation of Fruit Juice Producers, Determination of pH Value. *IFU Analysis No. 11* (Rev. 2015).
- International Fruit and Vegetable Juice Association. *Method of Analysis No. 3* (rev. 2017) Titratable Acidity.
- Renda, G., Özel, A., Barut, B., Korkmaz, B., Yaylı, N. (2018). In vitro protection by *crataegus* microphylla extracts against oxidative damage and enzyme inhibition effects. *Turkish Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 15(1):77-84, doi: 10.4274/tjps.39200.
- Rocchetti, G., Senizza, B., Zengin, G., Mahomodally, M. F., Senkardes, I., Lobine, D., Lucini, L. (2020). Untargeted metabolomic profiling of three *Crataegus* species (Hawthorn) and their in vitro biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100: 1998–2006, doi:10.1002/jsfa.10216.
- Serçe, S., Şimşek, Ö., Toplu, C., Kamiloğlu, Ö., Çalışkan, O., Gündüz, K., Özgen, M., Kaçar, Y. A. (2011). Relationships among *crataegus* accessions sampled from Hatay, Turkey, as assessed by fruit characteristics and RAPD. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58: 933–942, doi:10.1007/s10722-010-9633-x.
- Şahin, H. (2003). Bazı hidrokolloidlerin farklı formülasyonlara sahip ketçapların konsistens ve serum ayrılması üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, Antalya, Türkiye, 39 s.

Yang, B., Liu, P. (2012). Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus spp.*) of different origins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8): 1578–1590, doi:10.1002/jsfa.5671.

Yılmaz, M. S., Kutlu, N., Erdem, G. M., Şakıyan, Ö., İşci, A. (2021). Fenolik bileşiklerin alıç meyvesinden (*Crataegus monogyna*) mikrodalga ve

ultrases destekli yöntemler ile ekstraksiyonu. *Gıda*, 46 (4) 1002-1015, doi: 10.15237/gida.GD21018.

Yücel, U. (2001). Maceration carbonique yöntemiyle üretilen kırmızı şaraplarda renk olgusunun hunter renk sistemine göre değerlendirilmesi. *Gıda*, 26(5):359-365.

FUNCTIONAL, RHEOLOGICAL AND MICROSTRUCTURAL PROPERTIES OF FREEZE-DRIED YOGHURT POWDER

Pınar Balkır*

Ege Vocational School, Department of Food Technology, Ege University, Bornova, İzmir, Türkiye

Received / Geliş: 08.02.2022; Accepted / Kabul: 24.03.2022; Published online / Online baskı: 13.04.2022

Balkır, P. (2022). Functional, rheological and microstructural properties of freeze-dried yoghurt powder. *GIDA* (2022) 47 (3) 457-467 doi: 10.15237/gida.GD22020

Balkır, P. (2022). Dondurarak kurutma ile elde edilmiş yoğurt tozunun fonksiyonel, reolojik ve mikroyapısal özellikleri. *GIDA* (2022) 47 (3) 457-467 doi: 10.15237/gida.GD22020

ABSTRACT

In this study, functional, rheological, and microstructural properties of freeze-dried yoghurt powder produced at -49°C and 0.0035 mBar conditions from pre-concentrated non-fat yoghurt were investigated. The sample showed good reconstitutive properties with 204 s, 192 s for wettability and dispersibility respectively and 74% for solubility index. Bulk density value was lower, as 285.71 kg/m^3 , which may be due to the deformation of casein micelles by freeze drying. The water activity of the yoghurt powder sample was 0.1125, much lower than the critical water activity value. The colour of the original yoghurt, yoghurt powder and reconstituted yoghurt were almost white. Reconstituted yoghurt showed better flow behaviour and consistency when compared to original yoghurt. Loss of soluble dry matter in pre-concentration of original yoghurt may have resulted in high hygroscopic powder. The microscopic imaging of original and reconstituted yoghurt demonstrated homogeneous structures for both, however the latter showed a coarser gel network.

Keywords: yoghurt powder, reconstitution, freeze drying, confocal Raman microscopy

DONDURARAK KURUTMA İLE ELDE EDİLMİŞ YOĞURT TOZUNUN FONKSİYONEL, REOLOJİK VE MİKROYAPISAL ÖZELLİKLERİ

ÖZ

Bu çalışmada, konsantre edilmiş yağsız yoğurttan -49°C ve 0.0035 mBar koşullarında dondurularak kurutma ile elde edilmiş yoğurt tozunun fonksiyonel, reolojik ve mikroyapısal özellikleri araştırılmıştır. Örneğin, 204 s ıslanabilirlik, 192 s dağılılırlik ve %74 çözünürlük endeksi değerleriyle iyi rekonstitüsyon özelliklerine sahip olduğu görülmüştür. Ancak, kitle yoğunluğu 285.71 kg/m^3 olup, bu düşük değerin dondurarak kurutma işleminin kazein misellerini deforme edici özelliğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Su aktivitesi 0.1125 olup kritik su aktivitesi değerinden oldukça düşük bulunmuştur. Orijinal yoğurdun, yoğurt tozunun ve rekonstitüe yoğurdun rengi beyaza çok yakındır. Rekonstitüe yoğurt orijinale göre daha iyi akış davranışı ve kıvam özellikleri göstermiştir. Ön konsantrasyon aşamasındaki çözünür kuru madde kaybının yüksek oranda higroskopik bir toz ürün eldesine yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Orijinal ve rekonstitüe yoğurdun mikroskopik görüntüleri her ikisinin de homojen bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir, ancak rekonstitüe yoğurdun daha kaba bir yapıya sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: yoğurt tozu, rekonstitüsyon, dondurarak kurutma, konfokal Raman mikroskopisi

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: pınar.balkir@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 5107

☎: (+90) 232 388 7599

Pınar Balkır; ORCID no: 0000-0003-1191-5989

INTRODUCTION

Recently consumers' attitude towards the consumption of healthy and nutritious foods has increased (Jouki et al., 2021). Yoghurt is one of the most consumed fermented product, which is manufactured to decrease the milk volume to less than 50-75% to its original volume (Aryana and Olson, 2017). The shelf life of yoghurt is shorter than other dairy products and prone to be exposed by spoilage microorganisms due to its nutrient composition (Santos et al., 2018).

Water removal is applied to milk and dairy products to yield in powdered products with less than 5% moisture (Vasiljevic et al., 2021). Besides, packaging, handling and transportation costs are also reduced due to the reduced product weight (Song and Aryana, 2014). Powdered dairy products are consumed directly by reconstituting to its original composition or by using it as an additive in the food industry (Tamime et al., 2007).

There are several researches on yoghurt powder production by using different drying techniques, either applying more than one or only one technique, such as spray drying, freeze drying, refractance window drying and air drying (Koç et al., 2014; Zungur-Bastioğlu et al., 2016; Carvalho et al., 2017; Fournaise et al., 2020; Ismail et al., 2020; Monsalve-Atencio et al., 2021). Freeze drying is applied to extend the shelf life in which the quality of the reconstituted product remains unchanged. Among the other drying techniques freeze drying is known to yield in products with superior quality where morphological, biochemical, structural and surface characteristics are maintained (Waghmare et al., 2021). This technique is regarded as the most convenient technique for the heat-sensitive materials and performed at low temperature and pressure (Ji et al.; Kovacı et al., 2021), where the solvent (generally water) or the suspension is first crystallized and then sublimated (Ciuzyńska and Lenart, 2011). It is possible to produce yoghurt powder maintaining its quality up to three months, in terms of microbiological and physical properties by freeze drying (Chutrtong, 2015; Tontul et al., 2018). Furthermore, freeze-dried yoghurt powder was reported to exhibit the best

organoleptic characteristics (Gallardo-Rivera et al., 2021).

Functional properties of food powders are known to have crucial significance in the formulations and processing in the food industry and consumer's acceptance (Silva and O'Mahony, 2016; Fournaise et al., 2021). The cited literature mostly focuses on the processing conditions and quality attributes of yoghurt powders produced by other above-mentioned drying techniques, however published research on the functional and physical properties of freeze-dried yoghurt powder is scarce and yet there is no finding about the fractal parameters of reconstituted freeze-dried yoghurt powder. The objective of the study was to evaluate the reconstitution, rheological and microstructural properties of yoghurt powder produced by freeze drying.

MATERIALS AND METHODS

Yoghurt production

Skimmed milk (0.05% fat) and yoghurt starter culture (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) used in the manufacturing of non-fat yoghurt were supplied from Pinar Dairy Co. Milk was pasteurized at 90°C for 5 min and cooled to 42°C, then inoculated with 0.03 g/l starter culture and incubated until pH decreased to 4.70 then immediately cooled to 4°C. Before drying, total solids content was increased from 8.86% to 14% by draining through a cloth bag.

Freeze drying of yoghurt

Yoghurt samples were placed in plastic beakers and frozen overnight at -80°C. The frozen samples were freeze-dried for 48 h by using FreeZone 6 litre Benchtop Freeze dryer (Labcoenco Co., Kansas City, USA) having a condenser temperature of -49°C at 0.0035 mBar.

Methods

Moisture content

Moisture content was determined in both yoghurt (dry solids) and yoghurt powder samples by gravimetric method (AOAC, 1990).

Reconstitution properties

Wettability and Dispersibility

Wettability and dispersibility analyses were performed according to the procedure described in FIL-IDF: 87 (IDF, 1979).

Solubility index

The solubility index of yoghurt powder was measured after reconstituting 13.0 g powder in 100 mL water at 24 °C (IDF, 1988)

Bulk density

The bulk density of the freeze-dried yoghurt sample was calculated by weighing approximately 20 g of sample into a 100 ml graduated cylinder. The mass of the powder was divided by the volume occupied by the powder into the cylinder (Jinpong et al., 2008).

Water activity

The water activity (a_w) values of yogurt powders were measured using a water activity measurement device (Testo AG 400, Lenzkirch, Germany), with a 0.001 sensitivity.

Hygroscopicity

The freeze-dried yoghurt powder samples were spread evenly on the moisture dishes and put in the closed environment of 75% relative humidity (RH) (provided by saturated NaCl solution) and 25 °C temperature. Although hygroscopicity is based on the equilibrium moisture content, to provide a fast evaluation of the sample's hygroscopicity, the weight increase of sample for 1 hour intervals up to 4 hours and lately at the 24th hour was determined (Al-Kahtani and Hassan 1990; Koc et. al., 2014; Li et al., 2020). The hygroscopicity of the powder sample was evaluated by the rate of hygroscopicity ($R_{hygroscopicity}$) (Eq. 1):

$$R_{hygroscopicity} = (m_t - m_o)/m_o \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Where, m_t is the mass of the sample at time t , m_o is the initial mass of the sample. This term can be expressed with a unit of $\text{kg}_{\text{moisture}}/100\text{kg}_{\text{powder}}$.

Colour measurement

The colour of fresh, dried, and reconstituted yogurt powder samples (Lightness-L, redness-a,

and yellowness- b values) was measured with a colorimeter (Colorflex, CFLX 45-2 Model Colorimeter, HunterLab, Reston, VA) and results were expressed in accordance with the CIE Lab system (Hunter, 1975).

Rheological analysis

Apparent viscosity (Pa.s) and shear stress (Pa) against an increasing range of 1–1000 (1/s) shear rate (and then reducing from 1000-1(1/s)) were measured in twice in two parallels, for both the original and the reconstituted yoghurt samples. Then, the average values of results for the original yoghurt sample and the reconstituted yoghurt samples were calculated. The rotary viscometer (TA Ins., Hybrid Rheometer Discovery HR-2, USA) with 20 mm parallel plate, was used for the measurements and the temperature of the sample chamber was kept at 20°C. Before the measurement, the fresh yoghurt sample was needed to apply a mixing stage, in the same way as with the reconstituted samples, to achieve the same thermo-mechanical effect on the structure (Sakin-Yilmazer et. al., 2014a; Sakin-Yilmazer et. al., 2014b).

Power law (Eq.2) was applied to the averaged measurements of shear rate (1/s) against shear stress (Pa) to find out the constants and flow behaviour index.

$$\tau(Pa) = K \times \gamma^n \quad \text{Eq. (2)}$$

Where, K is the consistency index (Pa.sn) and n is flow behaviour index (Sakin-Yilmazer et. al., 2014b).

Confocal Raman Microscopy

In determining the fractal parameters, dried yoghurt samples were reconstituted to its original dry matter. Both fresh yoghurt and reconstituted yoghurt were analysed for imaging at 570-725 nm spectral range by using Renishaw Confocal Raman Microscopy.

Statistical analyses

All the analyses for determining the reconstitution properties and the colour were conducted at least in triple. Mean values and standard deviations were determined with descriptive statistical analysis. Data were processed with the univariate

analysis of variance to determine the significance of individual differences of means on the level of $P < 0.01$ and $P < 0.05$. Significant means from the colour measurements were compared with the Duncan test. The correlation analyses were performed with 2-tailed Pearson correlation analysis to reveal the correlations between reconstitution and colour properties. For the rheological analyses, independent t-test was performed to results from two parallel measurements to understand whether the n and K values, i.e. the flow behaviour for both samples are different significantly. Statistical analyses were conducted using the SPSS (Version 25) commercial statistical package.

RESULTS AND DISCUSSION

Moisture content

The moisture content of freeze-dried yoghurt powder from drained yoghurt having 14% dry matter was found as 4.50%, which is lower than those reported for freeze-dried yoghurt samples. Carvalho and colleagues (2017) produced freeze-dried yoghurt foam with 5.6% moisture. Tontul et al (2018) found the moisture content of freeze-dried yoghurt as 8.3%. Ismail et al. (2020) could manufacture freeze-dried yoghurt powder with no additive having 4.25%.

It has been stated that moisture content of around 5% enables a prolonged shelf life for dried foods (Santos et al., 2018; Vasiljevic et al., 2021). Freeze drying seems to be an efficient method in terms of moisture reduction and therefore shelf life extension.

Reconstitution properties

Results from dispersibility, wettability, solubility index, bulk density and water activity are summarized in Table 1.

Table 1. Some reconstitution properties of freeze-dried yoghurt powder

Properties	Values (Mean \pm SD)
Wettability (s)	204 \pm 3.646
Dispersibility (s)	192 \pm 1.732
Solubility index (%)	74 \pm 1.732
Bulk density (kg/m ³)	285.71 \pm 1.816
Water activity (aw)	0.1125 \pm 0.029

Wettability and Dispersibility

It is known that wettability, dispersibility and solubility are the three main and consecutive characteristics for reconstitution of powders, therefore the efficiency of rehydration strongly depends on the completion of each process (Ji et al., 2016). In the first step, named wettability, the powder absorbs water on the surface and wets (Sharma et al., 2012). The wetting time was determined as 374 s for spray dried yoghurt powder (Koç et al., 2014), which is higher than the wettability measured in this research, suggesting that the freeze-dried powder wets faster. It is known that fat content has a negative effect on wettability and flowability characteristics and when compared to particle size, milk fat has a greater effect on wettability and flow properties (Silva and O'Mahony, 2016). Milk fat is removed for the improvement of powder's wetting ability (Selomulya and Fang, 2013). In this research, non-fat yoghurt was used as raw material to yield a powder product with good functional characteristics and ease in drying steps.

The dispersibility was measured as 192 s. For spray dried yoghurt powder, Koç et al. (2014) calculated the dispersibility as 351 s, indicating that freeze-dried yoghurt powder disperses faster. A correlation between wettability and dispersibility ($P < 0.01$, $r = 1.00$) was determined in freeze-dried yoghurt powder.

Solubility index (%)

High wettability and faster solubility are favourable in the reconstitution of powders (Koç et al., 2014). The solubility index (SI) was calculated as 74%. The wettability and solubility index values of freeze-dried yoghurt powder was reported as 71.0 s and 34.8% respectively by Tontul et al. (2018). In a research carried out by Ismail and et al. (2020), the solubility of non-treated yoghurt powder was reported to be 82.66%, where the addition of modified starch significantly increased the solubility. When compared to spray dried yoghurt powder, freeze-dried yoghurt powder showed better wettability, dispersibility (351 s) and solubility (68.7 %), as reported by Koç et al. (2014).

Bulk density

High bulk density values indicate that the powder's volume is reduced for transport and hence less packaging material is consumed. Sharma et al. (2012) stated that the bulk density was subject to particle density, particle internal porosity and the particle arrangement in the container. The average bulk density value was calculated as 285.71 kgm^{-3} . In a research done by Ismail et al (2020), the bulk density of freeze-dried yoghurt powder was 1.3 g/ml. The bulk density value found in this research was lower but similar to that found by Tontul et al (2018), which was 0.20 g/ml. Authors attributed this low value to the porous structure of the powder. It was reported that the shape of casein micelles was subjected to deformation in the freeze drying process (Tamime et al., 2007).

Water activity

According to Roos (2001), critical water activity value in dairy powders is 0.37 and the increase in

this value result in a decrease in viscosity, and some problems like stickiness, caking, induced lactose crystallisation, and Maillard reaction, linked to the powder stability (Lin et al., 2020). The water activity of freeze-dried yoghurt powder sample was measured as 0.1125 which is much lower than this critical value. Similar result was reported by Tontul et al (2018) for freeze-dried yoghurt powder as 0.14.

Hygroscopicity

Moisture adsorption of freeze-dried yoghurt powder at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and 75 \% RH , during 24 h is shown in Fig. 1. As the figure illustrates $7.1 (\pm 0.5) \text{ kg moisture}$ was adsorbed per 100 kg of powder sample, on average of three replicates. Knowing the sample's initial moisture content as $4.50\% \text{ (w/w)}$; after 24 h at the given conditions, the powder sample in this research resulted in a moisture content of 0.13 kg/kg (dry basis).

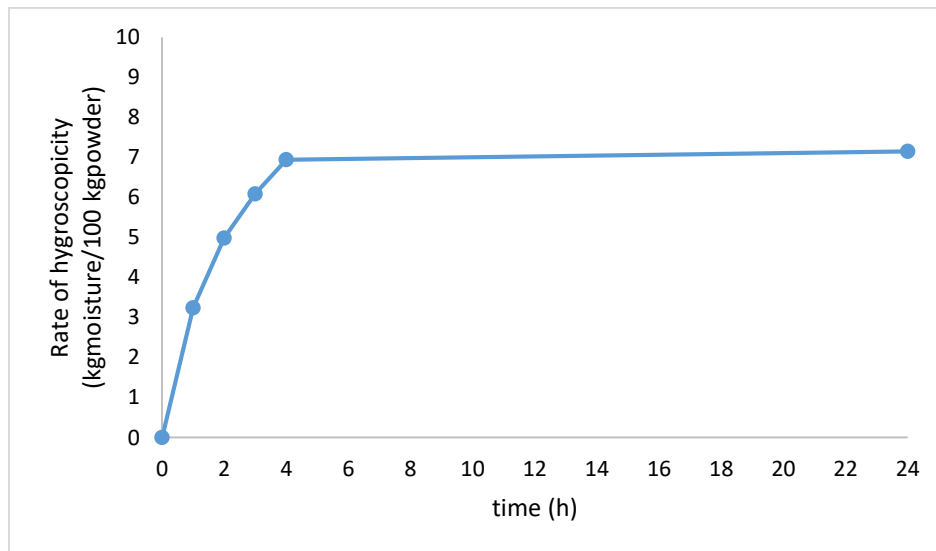


Figure 1. The hygroscopicity of freeze-dried yoghurt powder.

About the hygroscopicity of their spray-dried yoghurt powder sample, Koc et. al., (2014) reported an uptake of 4 kg moisture/100 kg solid, during 90 minutes of exposure to the $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and 75% relative humidity conditions. Their sample's moisture content prior to hygroscopicity measurement was 6 \% (w/w) , on average.

Zungur-Bastioğlu et al. (2016) declared an equilibrium moisture content of 0.24 kg/kg (dry basis) for the freeze-dried plain yoghurt, at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and 75% relative humidity. The big difference of this value with that found in this study, even the same drying method used, was attributed the preliminary straining process applied to yoghurt to fasten the long lasting and expensive drying

stage, by doing so some water soluble dry matter leaved from the sample, possibly changing its moisture adsorption behaviour.

Colour

Hunter L, a and b values for original and reconstituted yoghurt and yoghurt powder were given in Table 2.

Table 2. Colour properties of yoghurt and freeze-dried yoghurt powder

	L	Values (Mean ±SD)	
		a	b
Original yoghurt	97.65 ±0.176 ^a	-1.64±0.197 ^a	8.36±0.149 ^a
Yoghurt Powder	96.83±0.149 ^b	-1.89±0.065 ^a	8.36±0.215 ^a
Reconstituted yoghurt	97.15±0.260 ^b	-1.63±0.059 ^a	8.33±0.258 ^a

^{a,b}: Means with different lowercase letters in the same column are significantly different (p<0.05)

Colour is an important characteristic for a food product which has an influence on consumer's acceptance. As seen from the table, L values of original yoghurt, yoghurt powder and reconstituted yoghurt imply almost white colour. Similar results for L and a values were reported by Tontul et al (2018), as well. L and b values of all the samples are very close and a values are almost the same, on the other hand, there is still a significant difference between L values of samples, the original yoghurt is the whitest sample (P<0.01). In a research done by Monsalve-Atencio et al. (2021), freeze drying of yoghurt minimally altered the colour of the powdered product compared to convection and spray drying processes, where this difference was not found significant. Increase in the intensity of yellowness due to Maillard reactions occurring at high

temperatures was reported in powdered milk (Stapelfeldt et al., 1997). In this research, no difference was detected between yellowness of the samples (P>0.05). Carvalho et al. (2017) stated that the freeze-dried yoghurt foams showed the higher L and lower b values compared to air-dried ones and attributed this the low processing temperature in freeze drying, avoiding the formation of brown pigments coming from the Maillard reaction. All the samples showed negative a values indicating the absence of a red colour.

Rheological analysis

The average values of apparent viscosity against shear rate for both the original and reconstituted yoghurt samples are shown by Figure 2.

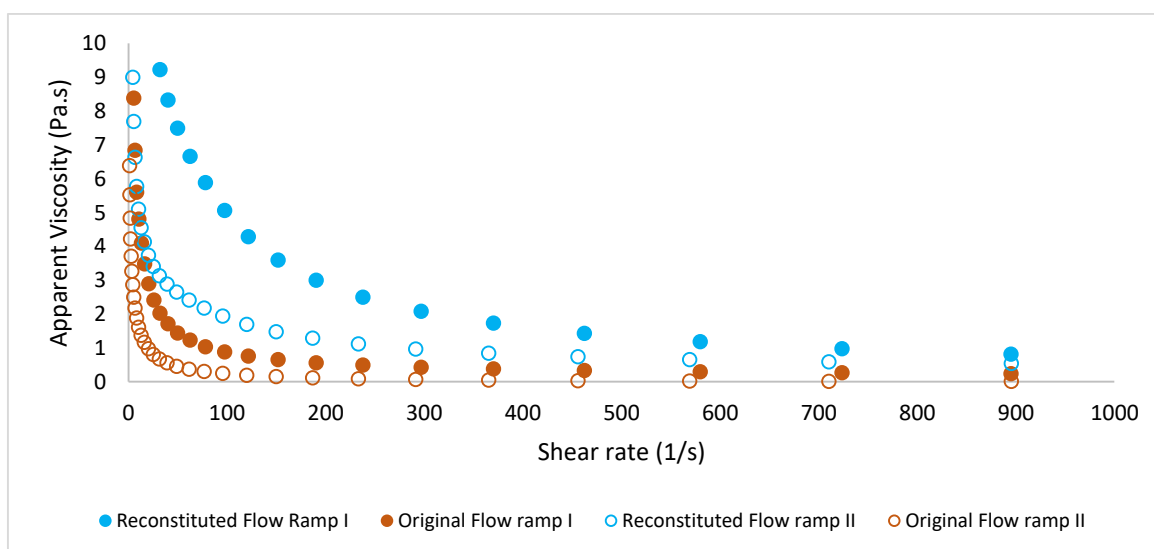


Figure 2. Apparent viscosity of yoghurt samples.

Shear stress values against shear rate, for both samples at increasing shear rates, are shown on Figure 3.

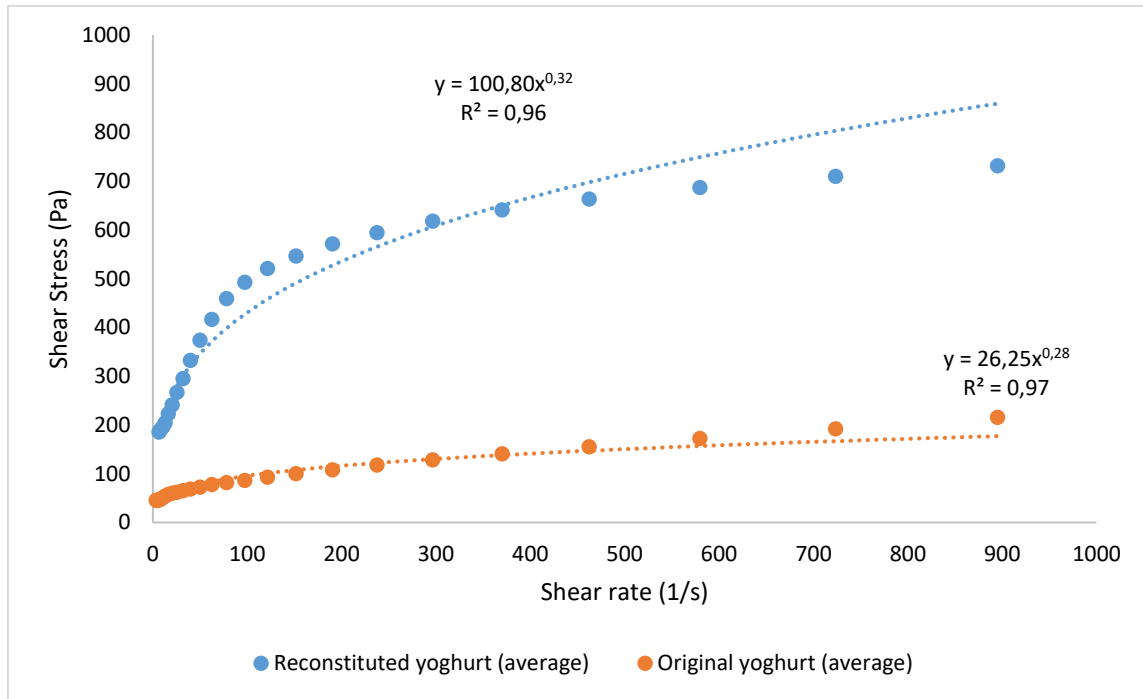


Figure 3. Shear stress vs shear rate

Flow behaviour values (n and K) for original and reconstituted samples were given by Table 3. It was seen that there was a difference between the original and reconstituted samples ($P < 0.05$), in terms of flow behaviour. The reconstituted sample has significantly higher values of n and K ; i.e. it is more consistent than the original sample. This result was attributed first to the removal of yoghurt serum as a pre-process, therefore concentrating the yoghurt to the dry matter content of 14%, before freeze drying. This pre-concentrating stage was applied to shorten the freeze drying time and to increase the efficiency of the process. The drainage (serum) can be further processed with a different path either to a powder or an alternative product, so the pre-concentration of yoghurt does not account for any loss of valuable protein. Author acknowledges the added value of freeze-dried yoghurt powder of which the sensory properties will be evaluated after larger scale production.

Table 3. Flow behaviour values.

	N	K	R ²
original yoghurt	0.28	26.25	0.97
reconstituted yoghurt	0.32	100.80	0.96

Microstructure

Micrographs from original and reconstituted yoghurt samples were shown in Fig 4.

The microstructures of original and reconstituted yoghurt samples were determined by using Confocal Raman Microscopy technique in which the samples are directly scanned without any pre-treatment as in the other techniques. The fluorescent dyes used in other imaging techniques may be absorbed by the interface and thus influence the system’s physical chemistry (Nair et al., 2021). The 3-D images acquired by Raman microscopy offer homogeneous structures for both samples. The original non-fat yoghurt sample has a fine network. Small pores in the

micrographs indicate that more water is held in the matrix (Jose et al., 2016). The reconstituted yoghurt demonstrated a coarser gel network where the voids can be observed. According to Venir and co-workers (2007), while rheological

properties of reconstituted yoghurt powder from non-fat yoghurt were not significantly affected by the freeze drying process, the network structure weakened.

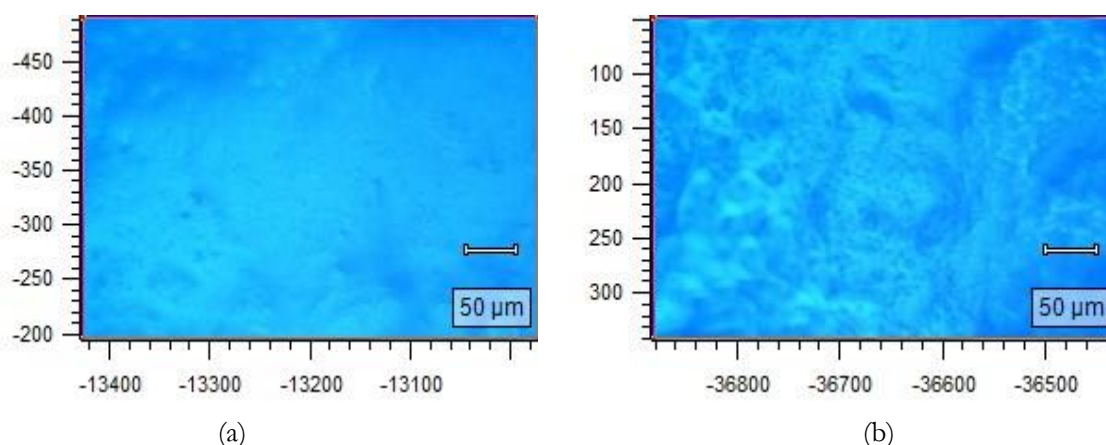


Fig 4. Confocal Raman micrographs of (a) nonfat yoghurt (b) reconstituted yoghurt powder obtained at x500 magnifications

CONCLUSION

Good functional and reconstitution properties of powdered food products are significant in terms of formulation, handling, processing as well as consumption. The freeze-dried non-fat yoghurt powder showed favourable characteristics in terms of wettability, dispersibility and water activity. On the other hand, low bulk density value was obtained, which might be due to the porous structure of the powder induced by freeze drying. Solubility of yoghurt powder was 74%, further studies can be done by using some additives to improve solubility. The freeze-dried yoghurt powder showed good colour properties with almost white colour, indicating the superiority of the freeze-drying process when compared to other drying techniques. The water activity value was much lower than the critical value stated for dried food products, which would have a positive influence on powder stability.

Concentration of original yoghurt prior to the drying process had an impact on both hygroscopicity and rheology. Freeze-dried yoghurt powder sample was found to be more hygroscopic than those studied by others. However, reconstituted yoghurt demonstrated

greater consistency than the original yoghurt. To conclude, pre-concentration step before freezing can be recommended in terms of improvement of rheological behaviour.

Reconstituted yoghurt demonstrated a coarser gel network in which larger voids can be observed. Nevertheless, it still showed a homogeneous structure. Along with functional properties and rheological behaviour, the results certify the efficiency of freeze drying in yoghurt powder production. Further research on the selection of packaging material and determination of powder stability throughout storage of freeze-dried yoghurt powder seem quite likely to offer important findings in the future.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank Assoc. Prof. Melike Sakin-Yilmazer at Department of Gastronomy and Culinary Arts, Katip Çelebi University.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares no conflict of interest.

REFERENCES

- Al-Kahtani HA, Hassan BH. (1990). Spray drying of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Journal of Food Science*. 55 (4):1073–1076, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01601.x>
- AOAC. (1990). Official method of analysis, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists (no 934.06), Washington, DC.
- Aryana, K.A., Olson, D.W. (2017). A 100 year review: Yoghurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*. 100: 9987-10013, doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12981>
- Carvalho, M.J., Perez-Palacio, T., Ruiz-Carrascal, J. (2017). Physico-chemical and sensory characteristics of freeze-dried and air-dehydrated yogurt foam. *LWT-Food Science and Technology*. 80:328-334, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.039>
- Chutrtong, J. (2015). Survival of probiotic bacteria in freeze - dry yogurt starter cultures storage at 4 and 30 degree celsius. *Procedia Social and Behavioral Sciences*. 191: 2219-2225, doi: <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.04.514>
- Ciurzyńska, A., Lenart, A. (2011). Freeze-drying – application in food processing and biotechnology – a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*. 61 (3): 165-171, doi: <https://doi.org/10.2478/v10222-011-0017-5>
- Fournaise, T., Burgain, J., Perroud, J., Scher, J., Gaiani, C., Petit, J. (2020). Impact of formulation on reconstitution and flowability of spray-dried milk powders. *Powder Technology*. 372: 107-116, doi: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.05.085>
- Fournaise, T., Burgain, J., Perroud-Thomassin, C., Petit, J. (2021). Impact of the whey protein/casein ratio on the reconstitution and flow properties of spray-dried dairy protein powders. *Powder Technology*. 391:275-281, doi: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.06.026>
- Gallardo-Rivera, C., Báez-González, J.G, García-Alanís, K.G., Torres-Alvarez, C., Dares-Sánchez, K., Szymanski, A., Amaya-Guerra, C.A., Castillo, S. (2021). Effect of three types of drying on the viability of lactic acid bacteria in foam-mat dried yogurt. *Processes*. 9 (12): 2123, doi: <https://doi.org/10.3390/pr9122123>
- Hunter, R.S. (1975). Scales for the measurements of color difference. In *The Measurement of Appearance*; Wiley-Interscience: New York. 133.
- IDF. (1979). Determination of the dispersibility and wettability of instant dried milk (Reference method). IDF standard 87. International Dairy Federation, Brussels
- IDF. (1988). Determination of insolubility index of Caseins and Caseinates (Reference method). IDF standard 129A. International Dairy Federation, Brussels
- Ismail, E.A., Aly, A.A., Atallah, A.A. (2020). Quality and microstructure of freeze-dried yoghurt fortified with additives as protective agents. *Helvion*. 6: e05196, doi: <https://doi.org/10.1016/j.helivon.2020.e05196>
- Ji, J., Fitzpatrick, J., Cronin, K., Maguire, P., Zhang, H., Miao, S. (2016). Rehydration behaviours of high protein dairy powders: The influence of agglomeration on wettability, dispersibility and solubility. *Food Hydrocolloids*. 58: 194-203, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.030>
- Jinapong N, Suphantharika M, Jamnong P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*. 84: 194-205, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.032>
- Jouki, M., Khazaei, N., Razei, F., Taghavian-Saeid, R. (2021). Production of synbiotic freeze-dried yoghurt powder using microencapsulation and cryopreservation of *L. plantarum* in alginate-skim milk microcapsules. *International Dairy Journal*. 122: 105133, doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105133>
- Koc, B., Sakin-Yılmaz, M., Kaymak-Ertekin, F., Balkır, P. (2014). Physical properties of yoghurt powder produced by spray drying. *Journal of Food Science and Technology*. 51 (7): 1377-1383, doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0653-8>
- Kovacı, T., Dikmen, E., Şencan Şahin A. (2021). Thermodynamics analysis of the experimental

- freeze drying system. *Teknik Bilimleri Dergisi-Journal of Technical Sciences*. 11 (2): 28-31, doi: <https://doi.org/10.35354/tbed.946156>
- Li, L., Zhang, M., Chitrakar, B., Jiang, H. (2020). Effect of combined drying method on phytochemical components, antioxidant capacity and hygroscopicity of Huyou (*Citrus changshanensis*) fruit. *LWT - Food Science and Technology*. 123: 109102, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109102>
- Lin, R., Wang, Y., Selomulya, C. (2020). Analytical methods: Physical properties of dairy powders. *Encyclopedia of Dairy Science*. L.H. McSweeney, McNamara, P. (chief eds). 3rd Edition. Academic Press. Pp:1-17., doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00028-3>
- Monsalve-Atencio, R., Sánchez, K., Chica, J., Camaño, J., Saldarriaga, J., Quintero-Quiroz, J. (2021). Effect of the drying method and texture improvers on reconstitution behavior of yogurt powder: physical and microbiological properties. *Vitae*. 28 (02): 344985, doi: <https://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v28n2a344985>
- Nair, S., Gao, J., Otto, C., Duits, M.H.G., Mugele, F. (2021). In-situ observation of reactive wettability alteration using algorithm-improved confocal Raman microscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*. 584: 551-560, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.10.016>
- Roos, Y.H. (2002). Importance of glass transition and water activity to spray drying and stability of dairy powders. *Lait*. 82: 475-484, doi: <https://doi.org/10.1051/lait:2002025>
- Sakin-Yilmazer, M., Dirim, S.N., Di-Pinto, D., Kaymak-Ertekin, F. (2014b). Yoghurt with candied chestnut: freeze drying, physical, and rheological behaviour. *Journal of Food Science and Technology*. 51 (12): 3949-3955, doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0890-x>
- Sakin-Yilmazer, M., Koc, B., Balkir, P., Kaymak-Ertekin, F. (2014a). Rheological behavior of reconstituted yoghurt powder—An optimization study. *Powder Technology*. 266: 433-439, doi: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.06.060>
- Santos, G., Nogueira, R.I., Rosenthal, A. (2017). Powdered yoghurt produced by spray drying and freeze drying: a review. *Food Technology*. 21: e2016127, doi: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.12716>
- Selomulya, C., Fang, Y. (2013). Food powder rehydration. *Handbook of Food Powders*. Bhandari, B., Bansal, N., Zhang, M., Schuck, P. (Eds). Woodhead Publishing Ltd. UK. Pp: 379-408, doi: <https://doi.org/10.1533/9780857098672.2.379>
- Sharma, A., Jana, A.H., Chavan, R.S. (2012). Functionality of milk powders and milk-based powders for end use applications- A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 11: 518-528, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00199.x>
- Silva, J.C., O'Mahony, J.A. (2016). Flowability and wetting behaviour of milk protein ingredients as influenced by powder composition, particle size and microstructure. *International Journal of Dairy Technology*. 69: 1-10, doi: <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12368>
- Song, L., Aryana, K.J. (2014). Reconstituted yogurt from yogurt cultured milk powder mix has better overall characteristics than reconstituted yogurt from commercial yogurt powder. *Journal of Dairy Science*. 97: 6007-6015, doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8181>
- Stapelfeldt, H., Nielsen, B.R., Skibsted, L.H. (1997). Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder. *International Dairy Journal*. 7: 331-339, doi: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(97\)00016-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(97)00016-2)
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K., Michel, M. (2007). Microstructure of Concentrated and Dried Milk Product. *Structures of Dairy Products*. Tamime, A.Y. (chief ed). Blackwell Publishing Ltd. UK. pp: 104-133. <https://doi.org/10.1002/9780470995921.CH5>
- Tontul, İ., Ergin, F., Eroğlu, E., Küçükçetin, A. (2018). Physical and microbiological properties of yoghurt powder produced by refractance window drying. *International Dairy Journal*. 85: 169-176, doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.002>

Vasiljevic, T., Toebes, A., Huppertz, T. (2021). Moisture sorption by dairy powders studied by low-field NMR. *International Dairy Journal*. 119: 105062, doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105062>

Venir, E., Del Torre, M., Stecchini, M.L., Maltini, E., Di Nardo, P. (2007). Preparation of freeze-dried yoghurt as a space food. *Journal of Food Engineering*. 80: 402-407, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.030>

Waghmare, R.B., Perumal, A.B., Moses, J.A., Anandharamakrishnan, C. (2021). Recent

developments in freeze drying of foods. *Innovative Food Processing Technologies*. Vol. 3. Knoerzer, K, Muthukumarappan, K. (chief eds). Elsevier Inc. pp: 82-99, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815781-7.00017-2>

Zungur Bastioglu, A., Dirim, S. N., Kaymak Ertekin, F. (2016). Moisture Sorption Isotherms of Yogurt Powder Containing Candied Chestnut Puree. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*. 4 (8): 676-683, doi: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i8.676-683.681>

SIĞIR KIYMASININ BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİ VE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE
***Trachystemon Orientalis* L. SU, METANOL VE PETROL ETER**
EKSTRAKTLARININ ETKİLERİ

Muhammet İrfan Aksu^{1*}, Hakan Derman²

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Eskişehir, Türkiye

²TAGEM, Fındık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Gıda Teknolojileri Bölümü, Giresun, Türkiye

Geliş / Received: 15.02.2022; Kabul / Accepted: 06.04.2022; Online baskı / Published online: 13.04.2022

Aksu, M.İ., Derman, H. (2022). Sığır kıymasının bazı kalite özellikleri ve raf ömrü üzerine *Trachystemon Orientalis* L. su, metanol ve petrol eter ekstraktlarının etkileri. *GIDA* (2022) 47 (3) 468-480 doi: 10.15237/gida.GD22023

Aksu, M.İ., Derman, H. (2022). The effects of water, methanol and petroleum ether extracts of *Trachystemon Orientalis* L. on some quality properties and shelf life of ground beef. *GIDA* (2022) 47 (3) 468-480 doi: 10.15237/gida.GD22023

ÖZ

Araştırmada, *Trachystemon orientalis* L.'nin (Kaldirik, Somar) sığır kıymasının raf ömrüne etkisi araştırılmıştır. Kurutulmuş *Trachystemon orientalis* L. yaprakları farklı solventler (petrol eter, metanol ve su) ile muamele edildikten sonra liyofilize edilmiştir. Liyofilize ekstraktlar kıymaya farklı seviyelerde (250 ppm ve 500 ppm) ilave edilmiş ve kıyma örnekleri 2 ± 1 °C'de aerobik olarak depolanmıştır. Depolanmanın 1., 24., 48. ve 72. saatlerinde örneklerin TBARS, pH ve renk özellikleri ile *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* sayıları tespit edilmiştir. Ekstrakt ilavesi kıyma örneklerinin pH değerini artırmış ($P < 0.01$), lipid oksidasyonunu yavaşlatmıştır ($P < 0.01$). a^* değeri 250 ve 500 ppm su ekstraktlı örneklerde diğer muamele gruplarına göre daha fazla korunmuştur. Kıymaya ekstrakt ilavesi *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* gelişimini engellemiştir ($P < 0.01$). İncelenen özellikler üzerine depolama süresinin önemli etkilerinin olduğu ($P < 0.01$), depolama süresince bütün örneklerin TBARS değerlerinin arttığı ($P < 0.01$), en fazla artışın ise kontrol grubu örneklerde olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Anahtar kelimeler: Sığır kıyması, *Trachystemon orientalis* L., antimikrobiyel etki, antioksidan etki, renk, bitki ekstraktı

THE EFFECTS OF WATER, METHANOL AND PETROLIUM ETHER
EXTRACTS OF *Trachystemon Orientalis* L. ON SOME QUALITY PROPERTIES
AND SHELF LIFE OF GROUND BEEF

ABSTRACT

In the study, the effects of *Trachystemon orientalis* L. (Kaldirik, Somar) on the shelf life of ground beef were investigated. Dried leaves were lyophilized after being treated with different solvents (petroleum ether, methanol and water). Lyophilized extracts were added to ground beef at different levels (250 ppm and 500 ppm), and the samples were stored at 2 ± 1 °C. TBARS, pH, color values and *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* counts of the ground beef samples were analyzed at 0, 24, 48, and 72 hours of storage. The addition of the extract increased the pH value of ground beef ($P < 0.01$) and prevented

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mirfan.aksu@ogu.edu.tr

☎ (+90) 222 239 4880

☎ (+90) 222 324 2990

Muhammet İrfan Aksu; ORCID no: 0000-0001-9391-6955

Hakan Derman; ORCID no: 0000-0002-1362-765X

lipid oxidation ($P < 0.01$). The a^* value was more preserved in the samples with 250 and 500 ppm water extract than in the other treatment groups. Addition of extract to ground beef prevented the growth of *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* ($P < 0.01$). Storage time had significant effects on the investigated properties ($P < 0.01$). During storage, TBARS values of all samples increased ($P < 0.01$), while the highest increase was detected in control samples ($P < 0.05$).

Keywords: Ground beef, *Trachystemon orientalis* L., antimicrobial effect, antioxidant effect, color, plant extracts

GİRİŞ

Sığır kıyması; kimyasal, mikrobiyolojik ve fiziksel değişimlerin çok hızlı olduğu, yapısal özellikleri ve hazırlama teknolojisi ile mikrobiyel kontaminasyona uygun olan taze et ürünlerinden biridir. Bu nedenlerle kıymanın raf ömrü oldukça kısadır. Kıyma, bileşimindeki yüksek besleyici değere sahip protein ve yağ gibi bileşenleri, uygun pH, yüksek su aktivitesi değeri ve etin kıyma haline getirilmesi sırasında yüzey alanının genişlemesi sonucu birçok mikroorganizmanın gelişebileceği ideal bir ortam haline gelmektedir. Etin yüzey mikroflorasını oluşturan mikroorganizmalar, kıymanın hazırlanması özellikle çekme ve karıştırma işlemleri sırasında ürünün her tarafına yayılmakta ve uygun şartlar oluştuğunda da hızla gelişerek ürünün raf ömrünü kısaltmakta ve ürün güvenliği ve tüketici sağlığı açısından potansiyel risk oluşturmaktadır. Kıymanın mikrobiyel açıdan kaliteli ve tüketilebilir olması için, öncelikle kıyma elde edilecek etin mikrobiyolojik kalitesine, üretim öncesi ve üretim sırasında hijyen ve sanitasyon kurallarına, ambalajlama şekline ve depolama şartlarına dikkat etmek gerekmektedir. Kıymanın mikroorganizma yükü oldukça yüksektir (Öztaş, 1999) ve patojen bakteri bulundurma olasılığı da fazladır (Ünlütürk ve Turantaş, 1999). Ürünün genellikle ambalajsız tüketime sunulması ve uygun olmayan muhafaza koşulları da bozulmayı hızlandırmaktadır. Üründe yağ miktarlarının yüksek olması lipid oksidasyonunun da hızlı olmasını sağlamaktadır. Bu nedenlerle tüketime sunulan hazır kıymalarda bazı ilave tedbirlerin alınmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kapsamda yapılan araştırmalarda antimikrobiyel ve antioksidan özellik gösteren birçok bitkinin et ürünlerinde kullanılabilme imkânlarının belirlenmesine yönelik araştırmalar son yıllarda giderek artmıştır (Alp ve Aksu, 2010; Aksu vd., 2020; Aksu ve Turan, 2021, 2022; Aksu ve Özer,

2013; Bambeni vd., 2021; Kaczmarek ve Muzolf-Panek, 2021).

Doğal bitkiler ve ekstraktları günümüzde farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunların en sık kullanım alanları da gıdalardaki antioksidan ve antimikrobiyel etkileridir. Doğal kaynaklardan elde edilen ekstraktların gıda güvenliğini artırdığı ve raf ömrünü uzattığı belirtilmiştir (Aksu, 2003; Alzoreky ve Nakahara, 2003; Özen, 2010). *Trachystemon orientalis* L. bitkisi de bu bitkilerden biridir (Karagöz vd., 2002; Uzun vd., 2004; Şekeroglu vd., 2006.) ve Boraginaceae familyasına aittir. Karadeniz Bölgesinin değişik habitatlarında yayılış gösteren *Trachystemon orientalis* L. G. Don (Boraginaceae) çiçekleri, sapları ve yaprakları gıda maddesi olarak kullanılan Avrupa-Sibirya kökenli bir bitkidir. *Trachystemon orientalis* L. cinsi Türkiye’de tek tür ile temsil edilmektedir (Akçin vd., 2004). Ülkemiz Kuzey Anadolu kıyı coğrafyasında halk tarafından çeşitli amaçlarla sıklıkla kullanılan (taze, konserve, turşu, kurutulmuş, bitki çayı) *Trachystemon orientalis* L.’nin (Yeşilada vd., 1999; Öz ve Sadıkoğlu, 2002; Birinci, 2008) teknolojik olarak işlenmesi ve gıda sanayinde kullanılması hakkında herhangi bir literatüre rastlanmamıştır. Bu kapsamda sanayici ve tüketici açısından arzu edilen optimum ürün profilinin sağlanabilmesi için *Trachystemon orientalis* L. ile ilgili veya destekleyici bilimsel verilerin belirlenmesi önemlidir. Bu araştırmada, tüketime hazır hale getirilmiş taze sığır kıymalarına *Trachystemon orientalis* L. bitkisinin petrol eter, su ve metanol ekstraktları farklı oranlarda ilave edilerek ürünün raf ömrünün uzatılabilme imkânları araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada ekstrakt üretiminde kullanılan *Trachystemon orientalis* L. bitkisi Trabzon, Tonya, Karasu köyünden hasat edilmiştir. Erzurum Et ve Süt Kurumu’ndan temin edilmiş parça etler,

laboratuvar şartlarında ayna delik çapı 5 mm olan kıyma makinası ile kıyma haline getirilerek materyal olarak kullanılmıştır.

Trachystemon orientalis L. bitkisinin kurutulmuş yapraklarından ekstrakt eldesinde Alp ve Aksu (2010) tarafından verilen yöntem kısmen modifiye edilerek uygulanmıştır. Yönteme göre 20 gram kurutulmuş-parçalanmış bitki materyali üzerine 400 ml çözücü materyal (su, eter ve metanol) ilave edilmiş ve Ultra-Turrax kullanılarak (IKA T25 Werk, Germany) 30 saniye homojenize edilmiştir. Bileşim daha sonra magnetik karıştırıcı üzerinde bekletilmiş (15 dakika) ve Whatman No: 1 filtre kâğıdı kullanılarak süzüntü elde edilmiştir. Elde edilen süzüntüden çözücü materyal rotary evaporatörle (40 °C'de, 30-60 dakika) uzaklaştırılmış, -38°C'de dondurulmuş ve -50°C'de liofilize edilmiştir.

Araştırmada biri kontrol ve altısı muamele grubu olmak üzere yedi grup oluşturulmuştur. Muamele grupları için kıyma örneklerine liofilize *Trachystemon orientalis* L. petrol eter (LTOPE), metanol (LTOME) ve su (LTOSE) ekstraktları 250 ppm ve 500 ppm seviyelerinde ilave edilmiştir. Ekstrakt ilave dilmeyen grup kontrol grup olarak değerlendirilmiştir. Petrol eter, metanol ve su ekstraktları straför köpük tabaklar içinde 200'er gramlık porsiyonlar şeklinde hazırlanan kıyma örneklerine ilave edilmiş ve üzerleri tek katlı streç film ile kaplanmıştır. Bu şekilde hazırlanan kontrol ve ekstraktlı kıymalar 2±1°C'de 72 saat süreyle depolanmış ve depolamanın 1., 24., 48. ve 72. saatlerinde TBARS, pH ve renk (L*, a*, b*) analizleri ile *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* sayıları tespit edilmiştir.

Örneklerdeki TBARS değeri Lemon (1975) ve Aksu (2009)'a, pH değeri Gökalp vd. (2001)'e göre belirlenmiştir. Örneklerin renk yoğunlukları (L*; L*=0, siyah; L*=100, beyaz (koyuluk-açıklık), a*; +a*=kırmızı, -a*=yeşil ve b*; +b=sarı, -b*=mavi) Minolta (CR-200, Minolta Co, Osaka, Japan) kolorimetre cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analizler ise Baumgart vd. (1993) tarafından verilen yöntemlere göre belirlenmiştir.

Araştırma şansa bağlı tam bloklar deneme planına göre kurulmuş ve iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Model ana varyasyon kaynağı olarak muamele (Kontrol, 250 ppm LTOPE, 500 ppm LTOPE, 250 ppm LTOME, 500 ppm LTOME, 250 ppm LTOSE ve 500 ppm LTOSE), depolama süresi (1., 24., 48. ve 72. saat) ile bunların interaksiyonlarını içermektedir. Elde edilen verilere paket program (SPSS 22.0) kullanılarak varyans analizi yapılmış, önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarına ilişkin ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır ($\alpha = 0.05$). Ortalama değerler çizelgelerde standart sapma (\pm) değerleri ile birlikte verilmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Sığır kıyması örneklerinin lipid oksidasyonuna (TBARS değerleri) *Trachystemon orientalis* L. eter (LTOPE), metanol (LTOME) ve su (LTOSE) ekstraktlarının etkisi ile ilgili veriler Çizelge 1'de verilmiştir. Ekstrakt ilavesi ile kıyma örneklerinde malondialdehit (MDA) oluşumu, buna bağlı olarak da TBARS değeri çok önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkilenmiştir. En yüksek ortalama değerler kontrol örneklerde (24.97 ± 15.78 $\mu\text{mol MDA/kg}$), en düşük değerler ise 500 ppm LTOME ilaveli (14.11 ± 7.60 $\mu\text{mol MDA/kg}$), 250 ppm (15.81 ± 10.05 $\mu\text{mol MDA/kg}$) ve 500 ppm LTOSE (16.20 ± 9.35 $\mu\text{mol MDA/kg}$) ilaveli örneklerde tespit edilmiştir (Çizelge 1). Bu sonuçlar, *Trachystemon orientalis* L. ekstraktlarının kıymada lipid oksidasyonuna karşı potansiyel bir antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Lipid oksidasyonundan koruyucu etki, *Trachystemon orientalis* L. ekstraktlarının yüksek antioksidan kapasiteye sahip çeşitli bileşikleri (polifenoller, flavonoidler, antosiyaninler) içermesine bağlanabilir. Nitekim Özen (2010) tarafından yapılan bir araştırmada, yöresel olarak "Galdirik" diye tanımlanan *Trachystemon orientalis*'in kurutulmuş yapraklarının toplam fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarlarının sırasıyla 82.1 ± 1.5 mg pyrocatechol/g, 3.63 ± 1.1 mg quercetin/g ve 15.2 ± 0.1 mg cyanidin 3-glukozide/g olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacı bu bitkinin kurutulmuş örneklerinden elde edilen %80 etanol + %20 su ekstraktının toplam antioksidan aktivitesinin bütillenmiş hidroksi

tolüen (BHT), *Beta vulgaris* (Pazı), *Tussilago farfara* (Gabalak), *Brassica oleracea* (Karalahana) ve *Chaerophyllum byzantinum* (Mendek) gibi birçok bitkiden daha güçlü olduğunu ancak süperoksit radikal süpürme ve metal şelatlama aktivitesinin bu bitkilerden daha zayıf olduğunu belirlemiştir. *Trachystemon orientalis* L. ekstraktlarının fenolik içeriğinin yüksek olması, yüksek antioksidan kapasitesine sahip olması (Özen, 2010) ve su, eter ve metanol ekstraktlarının kıymalarda malonaldehit oluşumunu engellemesi dikkate

alındığında bu bitki ekstraktlarının kıyma gibi taze et ve et ürünlerinde sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidan madde olarak kullanılabilmesi ifade edilebilir. Sığır kıyması ile ilgili yapılan bazı araştırmalarda da ısırğan otu (*Urtica dioica* L.) (Alp ve Aksu, 2010), siyah havuç (*Daucus carota* L.) (Aksu ve Turan, 2021; 2022) ve karadut (*Morus nigra* L.) (Turan ve Şimşek, 2021) liyofilize su ekstraktlarının kıymanın kalite özelliklerini artırdığı ve depolama süresince lipid oksidasyonunu önlediği belirtilmiştir.

Çizelge 1. Farklı seviyelerde liyofilize *Trachystemon orientalis* L. su, metanol ve petrol eter ekstraktı ilave edilerek 2±1 °C'de 72 saat depolanan sığır kıymalarında belirlenen TBARS, pH ve enstrümental renk değerleri

Table 1. TBARS, pH and instrumental color values determined in ground beef stored at 2±1 °C for 72 hours by adding different levels of lyophilized *Trachystemon orientalis* L. water, methanol and petroleum ether extract

n	TBARS ¹	pH	Renk Değerleri / Color Values			
			L*	a*	b*	
Muamele (M) / Treatments (T)						
Kontrol	16	24.97±15.78 a	5.90±0.13 f	44.47±2.52	24.25±4.77 a	14.18±1.39
250 ppm LTOSE	16	15.81±10.05 d	6.00±0.07 ab	44.23±3.23	24.29±2.07 a	14.53±1.59
500 ppm LTOSE	16	16.20±9.35 d	6.01±0.08 a	43.83±3.25	22.98±2.43 ab	14.42±1.80
250 ppm LTOME	16	18.92±12.03 b	5.96±0.09 cd	42.94±3.34	20.88±2.90 c	14.29±1.37
500 ppm LTOME	16	14.11±7.60 e	5.97±0.06 bc	42.70±2.60	18.71±2.62 d	14.45±1.03
250 ppm LTOPE	16	19.26±11.58 b	5.92±0.11 ef	44.78±2.50	22.22±2.26 bc	14.71±1.53
500 ppm LTOPE	16	16.96±10.56 c	5.94±0.10 de	45.52±3.31	20.80±2.64 c	14.78±1.57
P		**	**	ÖD	**	ÖD
Depolama Süresi (DS, Saat) / Storage Time (ST, hours)						
1	28	6.92±0.82 d	5.96±0.07 b	43.56±2.79	22.86±2.50 ab	13.34±1.52 b
24	28	8.99±1.66 c	5.92±0.10 c	43.84±3.30	23.38±4.37 a	14.73±1.30 a
48	28	25.41±7.37 b	5.95±0.13 b	44.66±2.77	21.69±3.25 b	14.93±1.35 a
72	28	30.81±6.34 a	6.00±0.07 a	44.22±3.35	20.15±2.41 c	14.92±1.03 a
P		**	**	ÖD	**	**
İnteraksiyonlar / Interactions						
M x DS (T x ST)		**	**	ÖD	*	ÖD

¹µmol malonaldehit/kg

¹µmol malonaldehyde/kg

a-f: Aynı sütun ve seksiyonda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P < 0,05).

a-f: Any means in the same section and column having the same letters are not significantly different at P < 0.05.

±: Standart sapma,

±: Standard deviation,

** : P < 0,01,

** : P < 0.01,

* : P < 0,05,

* : P < 0.05,

ÖD: Önemli değil (P > 0.05)

ÖD: not significant (P > 0.05)

LTOSE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* su ekstraktı

LTOSE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* water extract

LTOME: Liyofilize *Trachystemon orientalis* metanol ekstraktı

LTOME: Lyophilized *Trachystemon orientalis* methanol extract

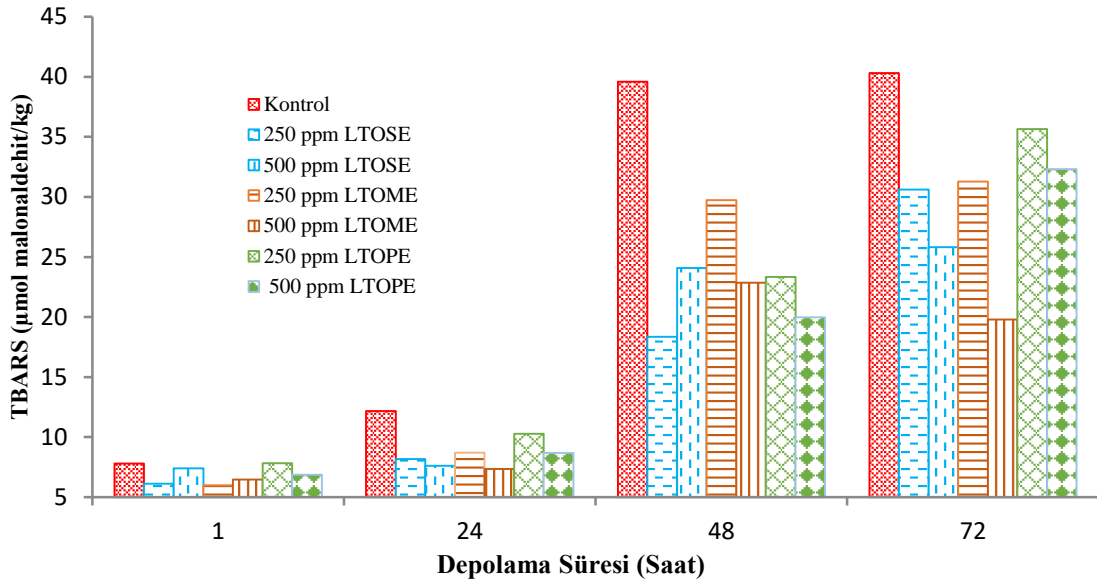
LTOPE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* petrol eter ekstraktı

LTOPE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* petroleum ether

TBARS değeri depolama süresinden çok önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkilenmiş, depolama süresine bağlı olarak artmıştır (Çizelge 1). TBARS değeri üzerine muamele x depolama süresi interaksyonunun etkisinin ($P < 0.01$) verildiği Şekil 1'den de görüldüğü gibi depolama süresince en fazla artışın kontrol örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Kıyma örneklerinin tamamında 24 ile 48. saatler arasında hızlı bir lipid oksidasyonu artışı olmuştur. Depolamanın 72. saatinde ise 500 ppm ekstrakt katılan örneklerin TBARS değerleri 250 ppm katılanlardan daha düşüktür. Bu sonuçlar her üç çözücü ile hazırlanan ekstraktın kıymaya ilave edilen seviyesi arttıkça lipid oksidasyonunun engellendiğini göstermektedir. Sığır etinde lipid oksidasyonunun duyusal olarak kabul edilebilirliği yani acılaşıma açısından üst sınır değer olarak kabul edilen 2 mg MDA/kg (Campo vd., 2006) seviyesi dikkate alındığında; depolamanın 48. saatinde kontrol ve 250 ppm LTOME ilave edilen kıyma örneklerinde bu seviye aşılmıştır. 72. saat sonunda ise sadece 500 ppm LTOSE ve LTOME ilaveli kıyma örnekleri bu değerlerin altında kalmıştır. Bu sonuçlar ekstrakt ilavesinin lipid oksidasyonu açısından kontrol kıyma örneklerine göre 250 ppm LTOSE, 250 ve 500 ppm LTOPE ilavesi ile kıyma örneklerinde 24 saatlik, 500 ppm LTOSE ve LTOME ilaveli kıyma örneklerinde ise 48 saatlik bir avantaj sağlandığını göstermektedir. Lipid oksidasyonu üzerine su ve metanol ekstraktları eter ekstraktına göre daha fazla etkili olmuştur (Şekil 1). Yapılan çeşitli araştırmalarda bitki özelliklerine bağlı olarak her bir çözücünün farklı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Hossain vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada *C. renigera* metanol ekstraktlarının petrol eter ekstraktlarına göre toplam fenol, toplam flavonoid ve toplam antioksidan kapasitelerinin daha yüksek olduğunu, DPPH kapasitesinin ise petrol eter ekstraktlarında yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, ekstraktlar arasında özellikle toplam antioksidan kapasitesi açısından önemli bir farklılığın olduğunu, metanol ekstraktında 18.26 ± 3.29 mg/g

AAE olarak tespit ettikleri toplam antioksidan kapasitesinin petrol eter ekstraktında 1.81 ± 0.65 mg/g AAE seviyesinde belirlemişlerdir. Ayhan (2018) *Trachystemon orientalis* yapraklarına ait metanol ekstraktlarının toplam fenolik miktarının 67.01 mg GAE/g, DPPH giderme aktivitesinin ise %65 düzeyinde olduğunu belirlemiştir. Diğer taraftan meyve ve sebzelerin bileşiminde bulunan antosiyanin ve betalainlerin suda çözünür özellikte olmaları su ekstraktının antioksidan özelliğini artırmaktadır. Espin vd. (2000) antosiyaninlerin yüksek antiradikal kapasiteleri nedeniyle, gıdaların oksidatif stabilitelerini arttırdığını tespit etmiştir.

Ekstrakt ilavesi ile kıyma örneklerinin pH değeri çok önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkilenmiştir. En yüksek ortalama değerler 6.00 ± 0.07 ve 6.01 ± 0.08 olarak 250 ve 500 ppm su ekstraktlı ilaveli örneklerde, en düşük değerler ise 5.90 ± 0.13 olarak kontrol grubu örneklerde belirlenmiştir (Çizelge 1). Kontrol örneklere en yakın pH değerleri ise petrol eter ekstraktlı gruplarda tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, *Trachystemon orientalis* L. ekstraktlarının kıymada pH'yı artırdığını göstermektedir. *Trachystemon orientalis* L. bitki yapraklarının pH değerinin yüksek olması (Özer ve Aksoy, 2019) ve bazik karakterli Na, K ve Ca gibi mineral maddeler bakımından zengin olmasının (Kibar ve Kibar, 2017) bu artışta etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu bileşenlerin suda daha iyi çözünmeleri nedeniyle su ekstraktına daha fazla geçmiş olmaları ve bu sayede de pH'yı diğer çözücülere göre daha fazla artırmış olmaları muhtemeldir. Özer ve Aksoy (2019) tarafından Karadeniz bölgesinde bulunan 30 *Trachystemon orientalis* genotipinin özelliklerinin belirlendiği çalışmada bitkinin pH değerinin 6.61 ± 0.01 ile 6.88 ± 0.01 arasında değiştiğinin ve özellikle K olmak üzere Ca, P ve Na miktarlarının diğer minerallerden daha yüksek olduğunun belirlenmiş olması da ekstraktlı örneklerde pH'nın yükselebileceğini doğrulamaktadır.



Şekil 1. TBARS değeri üzerine muamele x depolama süresi interaksiyonunun etkisi (LTOSE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. su ekstraktı, LTOME: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. metanol ekstraktı, LTOPE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. petrol eter ekstraktı)

Figure 1. Effect of treatment x storage time interaction on TBARS values (LTOSE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. water extract, LTOME: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. methanol extract, LTOPE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. petroleum ether extract)

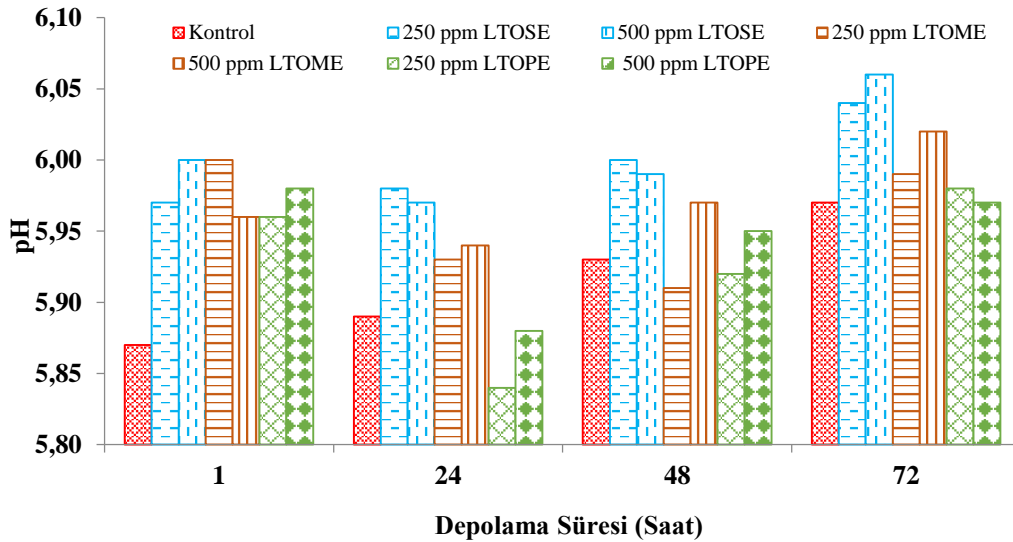
pH değeri depolama süresinden çok önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkilenmiş, depolama sonunda en yüksek değerler tespit edilmiştir (Çizelge 1). pH değeri üzerine muamele x depolama süresi interaksiyonunun etkisi de çok önemli ($P < 0.01$) bulunmuş ve interaksiyon grafiği Şekil 2'de verilmiştir. Çizelge 1'de verilen genel ortalama değerleri dikkate alındığında depolamanın 1. saatinde 5.96 ± 0.07 olan pH değeri 24 saat sonra 5.92 ± 0.10 'a düşmüş ve 48. saatte tekrar yükselmiştir. Muamele x depolama süresi interaksiyonunun verildiği Şekil 2'de 24. saatteki pH düşüşünün ekstraktlı örneklerden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Benzer değişim yani depolama süresince pH'daki dalgalanma Aksu ve Turan (2021) ve Aksu ve Turan (2022)'nin yaptığı araştırmalarda da tespit edilmiştir. Depolama başlangıcına göre takip eden depolama günlerinde ekstraktların etkili olduğu, bu sayede de mikrobiyal gelişim ve proteolitik parçalanma engellendiği için kontrol grubuna kıyasla pH düşmüştür. Hem kontrol hem de ekstraktlı örneklerin pH değerleri depolamanın 24. saatinden sonra ise artmıştır (Şekil 2). Bu artışa

Pseudomonas (Şekil 4) ve *Enterobacteriaceae* (Çizelge 2) sayılarındaki artışında etkili olduğu düşünülmektedir.

Sığır kıymasında renk özelliklerinin önemli bir kalite kriteri olması nedeniyle depolama süresince korunması arzu edilmektedir. Kıymada oksidasyon (lipid, protein), mikrobiyal aktivite, pH değişimi ve kuruma gibi faktörler renk değişiminin başlıca etmenleridir. Bu konuda yapılan birçok araştırmada ekstraktların et ürünlerinde kullanım amaçları arasında taze et ve işlenmiş et ürünlerinde myogloblin oksidasyonunun önlenmesi, bu sayede de depolama süresince renk değişiminin engellenmesi yer almaktadır. Mevcut araştırmada da kıyma örneklerinin enstrümental renk değerleri depolama süresince tespit edilmiş ve ekstrakt ilavesinin L^* ve b^* değerlerini etkilemediği ($P > 0.05$) ancak a^* değeri üzerinde önemli ($P < 0.05$) etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Kontrol ve su ekstraktı ilaveli örneklerde metanol ve petrol eter ekstraktı ilaveli örneklerden daha yüksek a^* değerleri tespit edilmiştir (Çizelge 1). Kırmızılık indeksinde (a^* / b^*) de benzer değişim

gözlenmiştir. Bitkilerin yapısında bulunan ve kullanılan çözücülerle ekstrakta geçen renk pigmentleri, ekstraktların katıldığı ürün renk değerlerini pH ile birlikte etkilemektedirler. Bununla birlikte katıldıkları ürünlerin pH'sı da renk üzerine etkili bir faktördür (Aksu, Turan ve Sat, 2020). *Trachystemon orientalis* bitkisinin yenibilir yapraklarında en fazla miktarda bulunan renk pigmenti klorofildir (19.15 ± 0.25 mg/100g) (Demir vd., 2020). Bitkinin antosiyaninler ve karotenoidler miktarları ise sırasıyla 15.05 ± 0.22 mg/100g ve 13.14 ± 0.04 mg/100g'dır (Demir vd., 2020). Bilindiği gibi klorofiller, suda çözünmeyip yağda çözünen pigmentlerdir ve yeşil renk özelliği gösterirler. Mevcut çalışmamızda da klorofillerin su ekstraktına geçmemesi, su ekstraktlı kıyma

örneklerinde a^* değerinin kontrol kıyma örneklerinin a^* değerlerine yakın olmasını sağlamıştır. Diğer taraftan *Trachystemon orientalis* bitkisinde hakim renk pigmentlerinden biri olan karotenoidlerin lipofilik bileşikler olmaları ve petrol eter gibi organik çözücülerle çözümleri petrol eter ekstraktlı kıyma örneklerinde a^* değerinin su ekstraktlı ve kontrol örneklerinden daha düşük olmalarına neden olmuştur. Bu etkide *Trachystemon orientalis* bitkisinde karotenoid olarak bulunan β -karoten'in miktar olarak likopenden daha yüksek olması (Demir vd., 2020) da etkili olmuştur. Çünkü β -karoten rengi sarı-turuncu arasında renk özelliğine sahiptir ve gıdalarda doğal renk maddesi olarak kullanılmaktadır (Bilek ve Özkan, 2012).



Şekil 2. pH değeri üzerine muamele x depolama süresi etkisinin etkisi (LTOSE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. su ekstraktı, LTOME: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. metanol ekstraktı, LTOPE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. petrol eter ekstraktı)

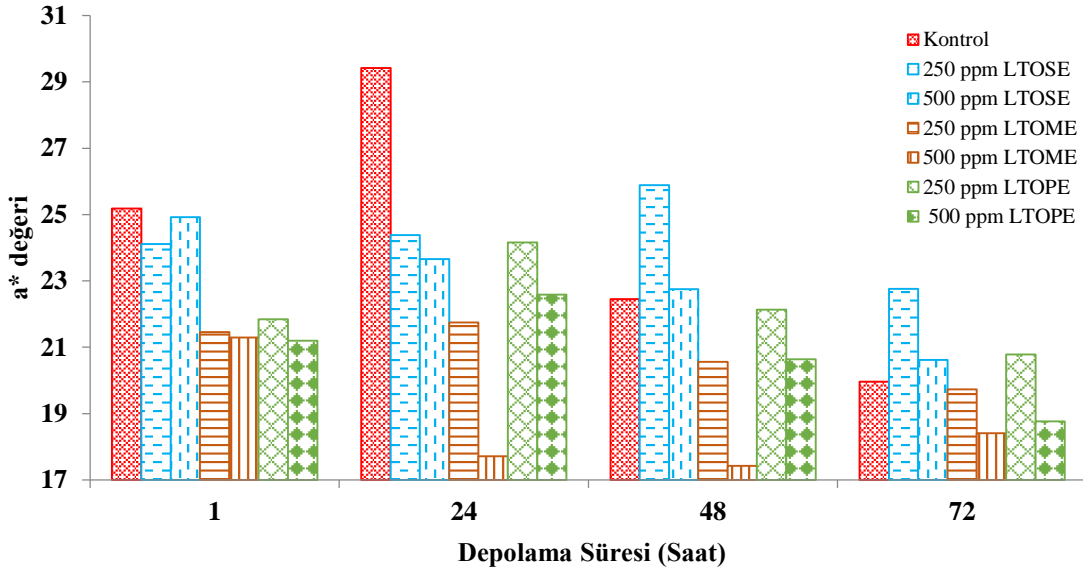
Figure 2. Effect of treatment x storage time interaction on pH values (LTOSE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. water extract, LTOME: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. methanol extract, LTOPE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. petroleum ether extract)

Kıyma örneklerinin a^* ve b^* değerleri üzerine depolama süresinin de çok önemli ($P < 0.01$) etkileri olmuş, depolama süresince a^* değeri azalırken b^* değeri artmıştır (Çizelge 1). a^* değeri üzerine muamele x depolama süresi etkisinin ($P < 0.05$) verildiği Şekil 3'den de görüldüğü gibi depolama süresince en fazla değişim kontrol örneklerde olmuştur. Depolama süresince a^* değerindeki en fazla

azalma ise 500 ppm'li metanol ekstraktlı örneklerde olmuştur. Bu sonuçlar metanol ekstraktının lipid oksidasyonu önlediği kadar myoglobin oksidasyonu üzerine etkili olmadığını göstermektedir. Diğer taraftan depolama süresince a^* değerinin en fazla korunduğu muamele grubu 250 ppm *Trachystemon orientalis* su ekstraktı ilaveli gruptur. Bu grubu 500 ppm su ve 250 ppm petrol eter ekstraktlı gruplar takip

etmektedir (Şekil 3). Bitkisel ekstraktlarla kıyma kalitesinin korunmasına yönelik yapılan çeşitli araştırmalarda da benzer değişimler tespit edilmiştir. Aksu ve Özer (2013) tarafından yapılan araştırmada farklı oranlarda (100, 250 and 500

ppm) *Satureja hortensis* liyofilize su ekstraktı ilave edilerek 4 ± 0.5 °C'de 72 saat depolanan sığır kıymalarında ekstrakt seviyesi arttıkça *a değeri azaldığı, b* değerinin ise arttığı belirtilmiştir.



Şekil 3. a* değeri üzerine muamele x depolama süresi interaksiyonunun etkisi (LTOSE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. su ekstraktı, LTOME: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. metanol ekstraktı, LTOPE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. petrol eter ekstraktı)

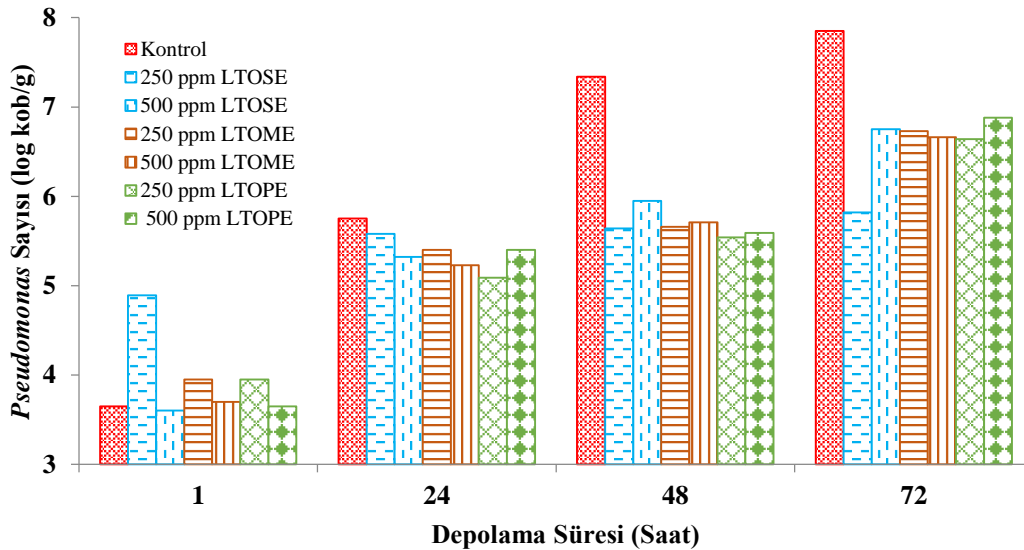
Figure 3. Effect of treatment x storage time interaction on a* values (LTOSE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. water extract, LTOME: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. methanol extract, LTOPE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. petroleum ether extract)

Sığır kıyması örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri üzerine *Trachystemon orientalis* L. eter (LTOPE), metanol (LTOME) ve su (LTOSE) ekstraktlarının etkisi ile ilgili ortalama veriler Çizelge 2'de verilmiştir. Ekstrakt ilavesi ile kıyma örneklerinde *Pseudomonas* sayısı hem ekstrakt ilavesinden ($P < 0.01$), hem de depolama süresinden önemli seviyede ($P < 0.01$) etkilenmiştir. Özellikle 500 ppm LTOME, 250 ppm ve 500 ppm LTOPE ekstraktı ilave edilen kıyma örneklerinde diğer muamele gruplarından daha düşük sayılar belirlenmiştir. Kontrol örneklerde belirlenen sayılar ekstrakt katkılı örneklerden daha yüksektir. *Pseudomonas* sayısı depolama süresince de yükselmiştir ve depolama başlangıcı ile depolama sonu arasında ortalama olarak yaklaşık 3 logaritmik birimlik artış olmuştur (Çizelge 2). *Pseudomonas* sayısı üzerine muamele x depolama süresi interaksiyonunun etkisinin ($P <$

0.01) verildiği Şekil 4'den de görüldüğü gibi depolama süresince en fazla artış kontrol örneklerde olmuştur. Kontrol grubu kıyma örneklerinin tamamında depolama süresince hızlı bir artış olmuştur. Ekstraktlı örneklerin *Pseudomonas* sayıları ise depolamanın 24, 48 ve 72 saatlerinde kontrole göre oldukça düşüktür. Bu sonuçlar her üç çözücü ile hazırlanan ekstraktın taze sığır kıymasında *Pseudomonas* gelişimini engellendiğini göstermektedir. *Pseudomonas*'lar düşük sıcaklıkta muhafaza edilen etlerde renk değişimi, ekşime ve yapışkanlık gibi kalite kayıplarının oluşumunu etkileyen mikroorganizmalar arasında oldukları için gelişimleri arzu edilmez. Sığır kıymasına *Trachystemon orientalis* L. petrol eter, metanol ve su ekstraktlarının ilavesi *Enterobacteriaceae* gelişimini de önlemiştir ($P < 0.01$, Çizelge 2). Kontrol dışındaki gruplar arasında istatistiki olarak bir

farklılık görülmemesine rağmen 250 ppm su ekstraktı ilaveli örneklerde daha düşük değerler tespit edilmiştir (Şekil 4). Benzer bulgular Aksu ve Özer (2013) tarafından da tespit edilmiş olup, *Enterobacteriaceae* gelişiminin 100 ppm *S. hortensis* su ekstraktı ilaveli kıymalarda 250 ve 500 ppm ilaveli örneklerden daha az olduğu belirtilmiştir. Depolama başlangıcında ortalama 3.36 log kob/g olarak belirlenen *Enterobacteriaceae* sayısı depolamanın 48 saatine kadar yükselmiş, 48 ve 72. saatler arasında ise istatistiki olarak bir farklılık tespit edilmemiştir (Çizelge 2). *Trachystemon orientalis* L. ekstraktlarının et ve et ürünlerinde kullanımı ile ilgili herhangi bir literatüre rastlanmamıştır. Ancak aerobik ambalajlanmış sığır kıymalarına farklı oranlarda *S. hortensis* su ekstraktı ilavesi ile ilgili yapılan bir araştırmada (Aksu ve Özer, 2013) araştırma bulgularımıza benzer değişimler tespit edilmiştir. Araştırmacılar su ekstraktı ilaveli örneklerde hem *Pseudomonas* hem de *Enterobacteriaceae* sayılarının kontrole göre daha düşük olduğunu ve 4 ± 0.5 °C'de 72 saatlik depolama süresince bu sayıların arttığını tespit etmişlerdir. Bu bitki ile ilgili yapılan farklı bir araştırmada metanol ekstraktının da

antimikrobiyel etkisinin olduğu belirtilmiştir (Adıgüzel vd., 2007). Son yıllarda yapılan çeşitli araştırmalarda da bitkisel ekstraktların taze et ürünleri (Alp ve Aksu, 2010; Aksu vd., 2015; Aksu ve Turan, 2021; Aksu ve Turan, 2022) ile farklı et ürünlerinde (Aksu ve Kaya, 2004; Turan ve Şimşek, 2021; Aksu vd., 2020; Aksu vd., 2022) antimikrobiyel etki gösterdiği belirtilmiştir. Diğer taraftan Karagöz vd. (2004), Yılar vd. (2014) ve Onaran ve Yılar (2012)'de *Trachystemon orientalis* L.'in güçlü antiviral ve antifungal özelliklerinin olduğunu belirtmişlerdir. Karagöz vd., (2002) tarafından *Trachystemon orientalis* bitkisinin antiviral etki potansiyelinin araştırıldığı çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan su ekstraktlarının sitotoksik olmayan 40 µg/ml konsantrasyonda parainfluenza virus plak oluşumunu % 50 oranında, 100 µg/ml'lik konsantrasyonda ise % 72 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir. *Trachystemon orientalis* L. ile ilgili yapılan farklı araştırmalarda da etanol (Uzun vd., 2004) ve metanol (Ayhan, 2018) ekstraktının *E. coli* üzerine inhibisyon etkisi olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4. *Pseudomonas* sayısı üzerine muamele x depolama süresi interaksyonunun etkisi (LTOSE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. su ekstraktı, LTOME: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. metanol ekstraktı, LTOPE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* L. petrol eter ekstraktı)

Figure 4. Effect of treatment x storage time interaction on *Pseudomonas* counts (LTOSE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. water extract, LTOME: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. methanol extract, LTOPE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* L. petroleum ether extract)

Kıyım kalitesi üzerine *Trachystemon orientalis* L. ekstraktlarının etkileri

Çizelge 2. Farklı seviyelerde liyofilize *Trachystemon orientalis* L. su, metanol ve petrol eter ekstraktı ilave edilerek 2 ± 1 °C'de 72 saat depolanan sığır kıymalarında belirlenen *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* sayıları

Table 2. *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* counts determined in ground beef stored at 2 ± 1 °C for 72 hours by adding different levels of lyophilized *Trachystemon orientalis* L. water, methanol and petroleum ether extract

	n	<i>Pseudomonas</i> (kob/g) / (CFU/g)	<i>Enterobacteriaceae</i> (kob/g) / (CFU/g)
Muamele (M) / Treatments (T)			
Kontrol	16	6.15±1.81 a	4.74±0.87 a
250 ppm LTOSE	16	5.73±0.75 b	3.65±0.80 b
500 ppm LTOSE	16	5.41±1.25 bc	4.05±0.72 b
250 ppm LTOME	16	5.43±1.07 bc	4.00±0.58 b
500 ppm LTOME	16	5.32±1.17 c	4.09±0.42 b
250 ppm LTOPE	16	5.31±1.03 c	3.96±0.45 b
500 ppm LTOPE	16	5.38±1.25 c	3.99±0.58 b
P		**	**
Depolama Süresi (DS, Saat) / Storage Time (ST, hours)			
1	28	3.91±0.52 d	3.36±0.49 c
24	28	5.39±0.22 c	4.01±0.40 b
48	28	5.92±0.64 b	4.39±0.38 a
72	28	6.90±0.52 a	4.49±0.69 a
P		**	**
İnteraksiyonlar / Interactions			
M x DS (T x ST)		**	ÖD

a-c: Aynı sütün ve seksiyonda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır (P < 0,05).

a-c: Any means in the same section and column having the same letters are not significantly different at P < 0.05.

±: Standart sapma,

±: Standard deviation,

** : P < 0,01,

** : P < 0.01,

ÖD: Önemli değil (P > 0,05)

ÖD: not significant (P > 0.05)

LTOSE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* su ekstraktı

LTOSE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* water extract

LTOME: Liyofilize *Trachystemon orientalis* metanol ekstraktı

LTOME: Lyophilized *Trachystemon orientalis* methanol extract

LTOPE: Liyofilize *Trachystemon orientalis* petrol eter ekstraktı

LTOPE: Lyophilized *Trachystemon orientalis* petroleum ether

SONUÇ

Sığır kıymasına ilave edilen *Trachystemon orientalis* L. ekstraktları lipid oksidasyonu ile *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* gelişimini önlemiştir. Bu kapsamda en düşük TBARS değerleri su (250 ve 500 ppm) ve metanol ekstraktlı (500 ppm) örneklerde tespit edilmiştir. *Pseudomonas* sayısı 500 ppm metanol ekstraktı, 250 ve 500 ppm petrol ekstraktı ilaveli, *Enterobacteriaceae* sayısı ise ekstraktı ilaveli kıyım örneklerinde kontrol kıyım örneklerine göre daha düşük bulunmuştur. Araştırma sonuçları *Trachystemon orientalis* L. su ekstraktının metanol ve petrol eter ekstraktlarına

göre a* renk değerini daha az etkilemesi, lipid oksidasyonunu önlemesi ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin gelişimini engellemesi bakımından taze et ürünlerinde doğal bir antioksidan ve antimikrobiyel olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Ancak, *Trachystemon orientalis* L. su ekstraktının bu fonksiyonlarında etkili olan toplam antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde, antosiyanin içeriği ve DPPH* özellikleri ile bileşiminin detaylı olarak belirlenmesi bitkinin gıda endüstrisinde değerlendirilmesi ve kullanılabilirliğinin

yaygınlaştırılması bakımından önem arz etmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların makale ile ilgili başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Muhammet İrfan AKSU, çalışma konusu belirleme, projelendirme, yöntem, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi ve yorumlanması, makalenin yazımı ve danışmanlık; Hakan DERMAN, kaynak taraması, bitkilerin toplanması ve kullanılabilir hale getirilmesi, analizlerin gerçekleştirilmesi ve verilerden çizelge ve şekillerin hazırlanması.

TEŞEKKÜR

Araştırma; Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje numarası:2009/197).

KAYNAKLAR

Adıguzel, A., Ozer, H., Kılıç, H., Cetin, B. 2007. Screening of antimicrobial activity of essential oil and methanolic extract of *Satureja hortensis* on foodborne bacteria and fungi. *Czech Journal of Food Sciences*, 25: 81–89.

Akçin, Ö.E. , Kandemir, N. , Akçin, Y. 2004. A morphological and anatomical study on a medicinal and edible plant *Trachystemon orientalis* (L.) G.Don. (Boraginaceae) in the Black Sea Region. *Turk Journal of Botany*, 28: 435-442.

Aksu, M.İ. 2003. Effect of using *Urtica Dioica* L. on the quality of Turkish Sucuk (Turkish Style Dry Sausage). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Science*, 27 (3): 685-693.

Aksu, M.İ., Kaya, M. 2004. Effect of usage *Urtica dioica* L. On microbiological quality of Turkish Sucuk (Turkish style dry-fermented sausages). *Food Control*, 15(8):591-595.

Aksu, M.I. 2009. Fatty acid composition of beef intermuscular, sheep tail, beef kidney fats and its effects on shelf life and quality properties of kavurma. *Journal of Food Science*, 74(2): 65-72.

Aksu, M.I., Ozer, H. 2013. Effects of lyophilized water extract of *Satureja hortensis* on the shelf life and quality properties of ground beef. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37: 777–783.

Aksu, M.I., Alinezhad, H., Erdemir, E. 2015. Effect of lyophilized water extract of *Urtica dioica* L. on the shelf life of vacuum-packaged beef steaks. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): 3059-3066. doi:10.1111/jfpp.12571

Aksu, M. I., Erdemir, E., Turan, E., Sat, I. G. 2020. Effects of red beet extracts on protein and lipid oxidation, colour, microbial, sensory properties and storage stability of Turkish pastırma. *Journal of Stored Products Research*, 89: 101721. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101721>

Aksu, M.I., Turan, E., Sat, I.G. 2020. Effects of lyophilized red cabbage water extract and pH levels on the quality properties of pastırma cemen paste during chilled storage. *Journal of Stored Products Research*, 89: 101696. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101696>

Aksu, M.I., Turan, E. 2021. Effects of lyophilized black carrot (*Daucus carota* L.) water extract on the shelf life, physico-chemical and microbiological quality of high-oxygen modified atmosphere packaged (HiOx-MAP) ground beef. *Journal of Food Science and Technology*, 9:3514-3524. doi: 10.1007/s13197-021-05044-1

Aksu, M.I., Erdemir, E., Turan, E., Öz, F. 2022. Chemical, microbial, color, oxidative and sensory properties of clean-label pastırma produced with raspberry water extracts as a novel ingredient. *Meat Science*, 186: 108737. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108737>

Aksu, M.I., Turan, E. 2022. Properties of black carrot extract and its efficacy for improving the storage quality of vacuum packaged fresh meat products. *Packaging Technology and Science*, 35: 1-11. doi:10.1002/pts.2631

Alp, E., Aksu, M.I. 2010. Effects of water extract of *Urtica dioica* L. and modified atmosphere packaging on the shelf life of ground beef. *Meat Science*, 86(2): 468-473. doi:10.1016/j.meatsci.2010.05.03

- Alzoreky, N.S., Nakahara, K. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 223-230.
- Ayhan, B. S. 2018. *Trachystemon orientalis* ekstraktlarının antimutajenik, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması. Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Bambeni, T., Tayengwa, T., Chikwanha, C. Ö., Manley, M., Gouws, A.P., Marais, J., Fawole, A. O., Mapiye C.2021. Biopreservative efficacy of grape (*Vitis vinifera*) and clementine mandarin orange (*Citrus reticulata*) by-product extracts in raw ground beef patties. *Meat Science*, 181: 108609. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108609>
- Baumgart, J., Firnhaber, J. und Spcher, G., 1993. Mikrobiologische untersuchung von lebensmitteln, Behr's Verlag, Hamburg, Germany.
- Bilek, S. E., Özkan, G. 2012. Gıda işleme ve depolamanın karotenoidler üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 10(2): 84-88.
- Birinci, S. 2008. Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak bulunan faydalı bitkiler ve kullanım alanlarının araştırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Adana.
- Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D., Richardson, R.I. 2006. Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72 (2): 303-311, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.07.015>.
- Demir, E., Turfan, N., Özer, H., Üstün, N.Ş., Pekşen, A. 2020. Nutrient and bioactive substance contents of edible plants grown naturally in Salıpazarı (Samsun). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 19(1): 151-160.
- Espin, J. R., Soler-Rivas, C, Wichers, J. H., García-Viguera, C. 2000. Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48 (5): 1588-1592. <https://doi.org/10.1021/jf9911390>
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö. (1995). Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset tesisi, Erzurum.
- Hossain, M., Mondal, M. Hossain, P., Uddin, S., Uddin, N., Hasan, M., Hossain, S., Islam, M.A.F.M., Rana, S. 2015. In vitro antioxidant, brine shrimp lethality and antimicrobial activities of methanol and petroleum ether extracts of *Cassia renigera* fruit. *Food Measurements*, 9: 68-75.
- Karagöz, A., Cevahir, G., Özcan, T., Sadıkoğlu, N., Yentür, S., Kuru, A. 2002. Bazı yüksek bitkilerden hazırlanan sulu ekstraktların antiviral aktivite potansiyellerinin değerlendirilmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler Kitabı, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir.
- Kaczmarek, A., Muzolf-Panek, M. 2021. Article predictive modeling of changes in tbars in the intramuscular lipid fraction of raw ground beef enriched with plant extracts. *Antioxidants*, 10 (5): 736. 10.3390/antiox10050736
- Kibar, B., Kibar, H., 2017. Determination of the nutritional and seed properties of some wild edible plants consumed as vegetable in the Middle Black Sea Region of Turkey. *South African Journal of Botany*, 108: 117-125.
- Lemon, D.W., 1975. An Improved TBA Test for Rancidity New Series Circular. No:51. Halifax-Laboratory, Halifax, Nova Scotia.
- Onaran, A., Yılar, M. 2012. Antifungal activity of *Trachystemon orientalis* L. aqueous extracts against plant pathogens. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10(3-4): 287-291.
- Öz, G. C., Sadıkoğlu, N. 2002. *Trachystemon orientalis* (L.) G.Don. (Boraginaceae): ethnobotanical uses, morphological characteristics, distribution, protein contents and anthocyanin. VIth Plant Life of Southwest Asia Symposium, 10-14 Haziran 2002, Van.
- Özer, M.Ö., Aksoy, M. 2019. Mineral composition and nutritional properties of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don. Populations in the central black sea region of Turkey. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 18(4): 157-167.

- Özen, T. 2010. Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey. *Grasas Y Aceites*, 61(1): 86-94.
- Öztan, A. 1999. Et Bilimi ve Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Yayınları. Beytepe, Ankara.
- Şekeroglu, N., Özkutlu, F., Deveci, M., Dede, Ö., Yılmaz, N. 2006. Evaluation of some wild plants aspect of their nutritional values used as vegetable in Eastern Black Sea Region of Turkey . *Asian Journal of Plant Sciences*, 5 (2): 185-189.
- Turan, E., Şimşek, A. 2021. Effects of lyophilized black mulberry water extract on lipid oxidation, metmyoglobin formation, color stability, microbial quality and sensory properties of beef patties stored under aerobic and vacuum packaging conditions, *Meat Science*, 178: 108522. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108522>.
- Uzun, E. Sarıyar, G. Adersen, A. Karakoç, B. Ötük, G. Oktayoğlu, E. Pirildar, S. 2004. Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species, *Journal of Ethnopharmacology*, 95: 287–296.
- Ünlütürk, A., Turantaş, F. 1999. Gıdalarda Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri. *Gıda Mikrobiyolojisi*. 1. Bölüm 2. Baskı (Editörler: A. Ünlütürk, F. Turantaş) Mengi Tan Basımevi, 1570 Sok. No:20, Çınarlı-I'zmir, Turkey, pp. 259–317.
- Yeşilada, E., Sezik, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T. 1999. Traditional medicine in Turkey IX. Folk Medicine in North-West Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 64: 195-210.
- Yılar, M., Onaran, A., Yanar, Y., Belgüzar, S., Kadioğlu, İ. 2014. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don. (Kaldırık)'ın herbisidal ve antifungal potansiyeli. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 4(4):19-27.

INVESTIGATION OF THERMOSONICATED STRAWBERRY NECTAR QUALITY DURING STORAGE AND KINETIC MODELLING

Burcu Dünder Kırıt*, Asiye Akyıldız

Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Cukurova University, Adana, Turkey

Received / Geliş: 17.12.2021; Accepted / Kabul: 06.04.2022; Published online / Online baskı: 15.04.2022

Dünder-Kırıt, B., Akyıldız, A. (2022). Investigation of thermosonicated strawberry nectar quality during storage and kinetic modelling. *GIDA* (2022) 47 (3) 481-492 doi: 10.15237/gida.GD21154.

Dünder-Kırıt, B., Akyıldız, A. (2022). Depolama boyunca termosonikasyon uygulanan çilek nektarı kalite özelliklerinin araştırılması ve kinetik modelleme. *GIDA* (2022) 47 (3) 481-492 doi: 10.15237/gida.GD21154

ABSTRACT

The changes in ascorbic acid-(AA) content, hydroxymethylfurfural-(HMF) content, total color difference- (ΔE^*) and browning index-(BI) of optimally thermosonicated (59°C-455 J/g) cloudy strawberry nectar during storage (3 months at 4°C) were evaluated. Also, the data obtained were modelled. The initial AA content (104.86 mg/L) decreased ~99% after storage, while HMF level increased from 20.46 to 494.44 µg/L. The significant increases in BI-(0.45-0.56) and ΔE^* -(5.21–11.23) were consistent with each other and over storage time. The changes in HMF content-($R^2=0.849$), BI-($R^2=0.942$) and ΔE^* were best fitted to zero-order kinetic model, while decrease in AA content-($R^2=0.9755$) was described with the first-order kinetic model. The reaction rate constants of AA, HMF, ΔE^* and BI were determined as 5.58×10^{-2} 1/day, 4.34 mg/L.day, 6.40×10^{-2} mg/L.day and 14×10^{-2} mg/L.day, respectively. The highest correlation with the change in ΔE^* was observed in AA-($R^2=0.955$) followed by BI-($R^2=0.859$). Therefore, the greatest effect on color might be caused by AA degradation.

Keywords: Strawberry nectar, Kinetic modelling, Hydroxymethylfurfural, Ascorbic acid, Total color difference, Browning index, Storage

DEPOLAMA BOYUNCA TERMOSONİKASYON UYGULANAN ÇİLEK NEKTARI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE KİNETİK MODELLEME

ÖZ

Bulanık çilek nektarında depolama (4°C-3 ay) boyunca askorbik asit-(AA) içeriği, hidrosimetilfurfural-(HMF) içeriği, toplam renk farkı-(ΔE^*) ve esmerleşme indeksi-(BI) değerlerindeki değişimler değerlendirilmiş ve modellenmiştir. AA içeriği (104.86 mg/L) depolamadan sonra ~%99 azalırken, HMF içeriği artmıştır (20.46 µg/L-494.44 µg/L). Depolama boyunca, BI (0.45-0.56) ve ΔE^* (5.21–11.23) değerlerinde meydana gelen önemli artışlar birbiri ile ve depolama süresince tutarlılık göstermiştir. HMF içeriği ($R^2=0.849$), BI ($R^2=0.942$) ve ΔE^* değişimleri sıfıncı dereceden kinetik modele uyum gösterirken, AA içeriğindeki azalma birinci dereceden kinetik model ile açıklanmıştır ($R^2=0.9755$). AA, HMF, ΔE^* ve BI reaksiyon hız sabitleri sırasıyla 5.58×10^{-2} 1/gün,

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: bdunder@cu.edu.tr,

☎: (+90) 322 338 65 37

☎: (+90) 322 338 66 14

Burcu Dünder Kırıt; ORCID no: 0000-0002-9919-5711

Asiye Akyıldız; ORCID no: 0000-0001-5584-0849

4.34 mg/L.gün, 6.40×10^{-2} mg/L.gün ve 14×10^{-2} mg/L.gün olarak belirlenmiştir. ΔE^* değişimiyle en yüksek korelasyona sahip olan AA içeriğini ($R^2=0.955$), BI ($R^2=0.859$) takip etmiştir. Bu sebeple renk üzerindeki en yüksek etkiye AA parçalanmasının neden olması söz konusu olabilir.

Anahtar kelimeler: Çilek nektarı, Kinetik modelleme, Hidroksimetil furfural, Askorbik asit, Toplam renk farkı, Esmerleşme indeksi, Depolama

INTRODUCTION

Strawberries (*Fragaria x ananassa*) have a bright red color directly affects the consumer perception, besides nutrients which are effective against cardiovascular diseases, some cancer types and neurodegenerative diseases (Giampieri, 2012). Browning of fruit juices including citrus and strawberry juice during storage is one of the major quality deteriorations, which cause a big challenge in the juice industry (Paravisini et al., 2016; Wibowo et al., 2015; Buve et al., 2018). Juice browning can occur through enzymatic and/or non-enzymatic browning pathways. Ascorbic acid (AA) degradation and Maillard reaction have been proposed as the reaction pathways responsible for non-enzymatic browning of fruit juices. Therefore, the most important precursors for browning reactions can be AA and reactive carbonyl products that may polymerize and react with amino acids of the juice to form brown compounds. The high acidic conditions of juices ($\text{pH} < 4.0$) may not favor the classical type of Maillard reactions occurring between reducing sugars and the free amino group of amino acids and/or proteins. However, a Maillard-associated reaction in which reactive carbonyl compounds resulting from AA condensation with amino acids could still play an important role in the browning of juice during storage (Pham et al., 2020; Bharate and Bharate, 2014).

Ultrasound energy has been identified as a potential technology to meet the need of US Food and Drug Administration for a 5-log reduction in pertinent microorganisms found in fruit juices (Salleh-Mack and Roberts, 2007). However, thermosonication, the combination of heat and high frequency sound waves (>16 kHz), can be preferred to eliminate or reduce the unfavourable effects of thermal treatment on strawberry juice quality properties (Lafarga et al., 2019). Thermosonicated juices may have better quality properties when compared to pasteurized juices (Nayak et al., 2018; Oladunjoye et al., 2021).

Regarding the PPO inactivation, change in color and some bioactive components (ascorbic acid, total phenolic, monomeric anthocyanin), the optimum thermosonication parameters was reported as 59°C and 455 J/g (Dündar et al., 2019). There are some other process optimization studies in the literature. However, to the best of our knowledge, there is no study focused deeply on the changing kinetics of ascorbic acid, HMF contents or color of cloudy strawberry juice/nectar during storage.

The objective of the study is to determine the changing kinetics of ascorbic acid content, hydroxymethylfurfural content, total color difference and browning index of optimally thermosonicated strawberry nectar during 3 months of storage at 4°C and to evaluate the relationship between these quality parameters.

MATERIAL AND METHODS

Strawberries

Strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Rubygem (10 kg of strawberries harvested in May 2017) at similar maturity and size were used for producing nectar.

Strawberry nectar production

Strawberry nectar (50% fruit puree content, 0.5 g/L titrable acidity and 10°Brix total soluble solids) was prepared after determining the initial acidity level of strawberries and adjusting it with citric acid solution (50%), sugar and water additions. The thermosonication of nectar was conducted at 59°C and 455 J/g ultrasound energy density according to the results of an optimization study completed before (Dündar et al., 2019). A laboratory-scale ultrasonic device (S14 standard sonotrode, UP200S, Hielscher, Germany), a temperature controller, a digital power-meter and digital timer to apply optimum processing at a constant temperature and time were used during thermosonication treatment (Supplementary File 1). Strawberry nectar (for each run 250 mL) was

placed in a double-walled glass beaker with a cooling/heating system with a sonotrode at the point 1 cm upper than the bottom. Temperature was controlled by a water-circulator, and the treated nectar was cooled to room temperature immediately. All of the thermosonicated nectars (5 L) were mixed to eliminate the difference from the material, before filling the dark-colored glass bottles.

Ultrasound energy density parameter (UED , J/g) and its relationship with ultrasonic power (P , W), treatment time (t , s) and sample amount (m , g) were explained with following equation (Eq. 1);

$$UED = \frac{P \cdot t}{m} \quad (1)$$

The mean power value was determined as 150 W during treatment.

Analyses

All the analyses were performed at the 0, 10, 20, 30, 60 and 90. days of storage with at least three repetitions. Five mL of the strawberry nectar samples and 5 mL of 2.5% meta-phosphoric acid (Merck, Germany) centrifuged (4000 rpm at 4 °C for 10 min) according to the procedure of Lee and Coates (1999) to determine ascorbic acid (AA) content. A 0.5 mL aliquot of the supernatant was completed to 10 mL with 2.5% metaphosphoric acid. The mixture was filtered using a 0.45 μ m nylon filter (Millipore, Munich, Germany). HPLC (Shimadzu LC-20AT, Japan) system was used for quantification of AA (Sigma-Aldrich, USA) with UV detector at 244 nm using an external ascorbic acid standard method ($R^2=0.998$). The identified peaks were quantified by a calibration curve (5–50 mg/L AA concentrations, $R^2 = 0.998$). The statistical limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) values were calculated as 0.124 and 0.155 ppm, respectively (Akyıldız et al., 2021).

20 μ L of supernatant obtained by using the method of Gökmen and Acar (1996) were injected into a C18 ACE (4.6mm \times 250 mm) HPLC column (Shimadzu LC-20AT, Japan) at 30 °C for HMF analysis. Mobile phase was methanol/water/acetic acid (20/79/1, v/v/v),

while the flow rate was 0.5 mL/min. Quantification of HMF was carried out at 285 nm using an external standard (Merck, Italy) method ($R^2=0.995$). The statistical limit of LOD and LOQ values were calculated as 1.36 and 1.51 ppb (Akyıldız et al., 2021).

Five mL of strawberry nectar and the same amount of ethyl alcohol (96%, Merck, Germany) centrifuged (6000 rpm, 10 min, at 4 °C) for the determination of browning index (BI). The supernatant filtered with a 0.45 μ m teflon membrane filter (Millipore, Munich, Germany), and the absorbance of the supernatant was determined with a spectrophotometer (Perkin Elmer Lambda 25-UV/vis, USA) at 420 nm (Meydav et al., 1977).

The ColorQuest XE Hunter Lab (Virginia, USA) with 20mm Glass Optical Cell Light Path used for determination of lightness (L^*), redness (a^*) and yellowness (b^*) just after mixing the sample with vortex for a minute. Then total color difference values were calculated with following equation (Eq. 2).

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

Kinetic Modelling of Changes in Strawberry Nectar

The changing kinetics of ascorbic acid, HMF, ΔE^* and BI of thermosonicated strawberry nectar were investigated. The obtained data during the 90 days of storage were used to determine the best fitted mathematical kinetic model to the changing (degradation of AA or formation HMF etc.) kinetics by using Curve Fitting Toolbox, Matlab ver. 7.10 (The MathWorks Inc., USA, 2010). The goodness of model fitting to the experimental data was determined with the aid of correlation coefficient (R^2), adjusted coefficients of determination (R^2_{adj}), confidence intervals ($ConfI$) and root mean square error (RMSE) values (Remini et al., 2015).

The solutions of differential equations for reaction kinetics with different order (zero (Eq. (3)), half (Eq. (4)), first (Eq. (5)) and second (Eq. (6))) were given below, where C_0 is initial

concentration (mg/L), C is the concentration of some certain compound which is found in a certain time (mg/L), t is storage time (day), $t_{1/2}$ is half-life (day) and k is the reaction rate coefficient (Labuza, 1984).

$$\frac{dC}{dt} = -kC^0 \quad C = C_0 - kt \quad t_{\frac{1}{2}} = \frac{C_0}{2k} \quad (k, \frac{mg}{L.day}) \quad (3)$$

$$\frac{dC}{dt} = -kC^{0.5} \quad 2\sqrt{C} = \sqrt{C_0} - kt \quad t_{\frac{1}{2}} = \frac{-4.142}{k} \quad (k, 1/day) \quad (4)$$

$$\frac{dC}{dt} = -kC^1 \quad \ln(C) = \ln(C_0) - kt \quad t_{\frac{1}{2}} = \frac{0.693}{k} \quad (k, 1/day) \quad (5)$$

$$\frac{dC}{dt} = -kC^2 \quad \frac{1}{C} = \frac{1}{C_0} + kt \quad t_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{C_0 k} \quad (k, \frac{L}{mg.day}) \quad (6)$$

Sensory Evaluation

The control (non-processed) and optimally thermosonicated strawberry nectars were evaluated according to their taste, aroma, color, viscosity and overall quality at the first day of storage by 14 panelists to determine the effect of optimum thermosonication treatment on sensorial acceptance. The point of the sensory evaluation was to remove the concerns of consumers about the sensory properties of thermosonicated nectar. Sensory analysis was conducted in laboratory by using a graphic scale test (between 0 and 10).

Statistical Analysis

The variance and Duncan's multiple tests of obtained values during storage were conducted with SPSS (PASW Statistic 18 for Windows, Chicago, IL, USA) packet program to determine significant differences ($P < 0.05$) between mean values, except sensory analysis results. The obtained sensory analysis results were evaluated with the aid of independent t-test by using SPSS.

RESULTS AND DISCUSSION

Change of Ascorbic Acid (AA)

The AA contents (104.86 – 0.98 mg/L) of nectar during storage were given in Fig. 1.a.. The significant decrease in AA content continued during storage until the 60. day. The initial AA content (104.86 mg/L) decreased 60% in the first

20 days of storage, while approximately all of them (~99%) degraded at the 90. day. Chemical reactions and physical conditions might be resulted with decrease in AA content of the nectar. Free radicals, hydrogen ions and hydroperoxides causing from sonolysis can also be related with the degradation of AA (Adekunte et al., 2010). Ascorbic acid present in juice is thermodynamically unstable, and it undergoes deterioration during storage. In addition to loss of nutritive value, degradation of ascorbic acid could form undesirable color in juice due to browning reactions (Bharate and Bharate, 2014). Pham et al. (2020) indicated that ascorbic acid in orange juice degraded in two phases during storage: a fast decline in the first 2 week, and a gradual decrease until the end of 8. week. These two phases of degradation were explained with the higher presence of oxygen in the medium at the first phase. AA degradation can occur simultaneously by aerobic and anaerobic mechanisms at the first phase. However, the latter pathway is slower than the former. Therefore, these two phases in AA degradation correspond to the dominance of the aerobic pathway in the presence of high headspace and/or dissolved oxygen content at the beginning of storage. The dominance of the anaerobic pathway decreases in the later phase when the oxygen level was lower (Pham et al., 2020).

Change of Hydroxymethylfurfural (HMF)

HMF contents, a thermal indicator for determining the quality of food, of nectar were between the levels of 20.4 µg/L - 494.4 µg/L (Fig. 1.b.). HMF content showed a significant increase during storage ($P < 0.01$). When the changes in the amount of ascorbic acid during storage were examined, a 95% correlation was determined between the HMF and AA contents. Kus et al. (2005) reported that HMF contents of strawberry concentrates (13-66°Bx) were between 0.4 – 4.5 mg/L. When the lower Brix values of strawberry nectar produced in this study were considered, results were found convenient. During storage of thermosonicated cloudy apple juice, HMF content (1.30 – 3.02 mg/L) increased after 7 days at 4°C and it remained unchanged during 21 days (Illera et al., 2020). Also, HMF contents of red

and yellow watermelons reported between 0.108 mg/L and 0.244 mg/L after ultrasonication (26 kHz, 50% amplitude, 80 W, 4-16 min) treatment (Yıkımsı, 2020). HMF content increase with storage time in fruit juices, and it was further reported that HMF formation increased with storage temperature for all fruit juices (Oral et al., 2012). This increasing can be caused from Maillard reaction or ascorbic acid degradation. The oxidized form of ascorbic acid also might

have had a role as a carbonyl source in Maillard reaction. Molecules with higher acidic character might be formed from amines or sugars by Maillard reaction (Beck et al., 1990). High temperatures cause significant increase in HMF content of strawberry nectar. The relation between temperature of treatment and HMF content of strawberry nectar is linear, while HMF content is gradually increased with the increasing of ultrasound energy density (Dündar et al., 2019).

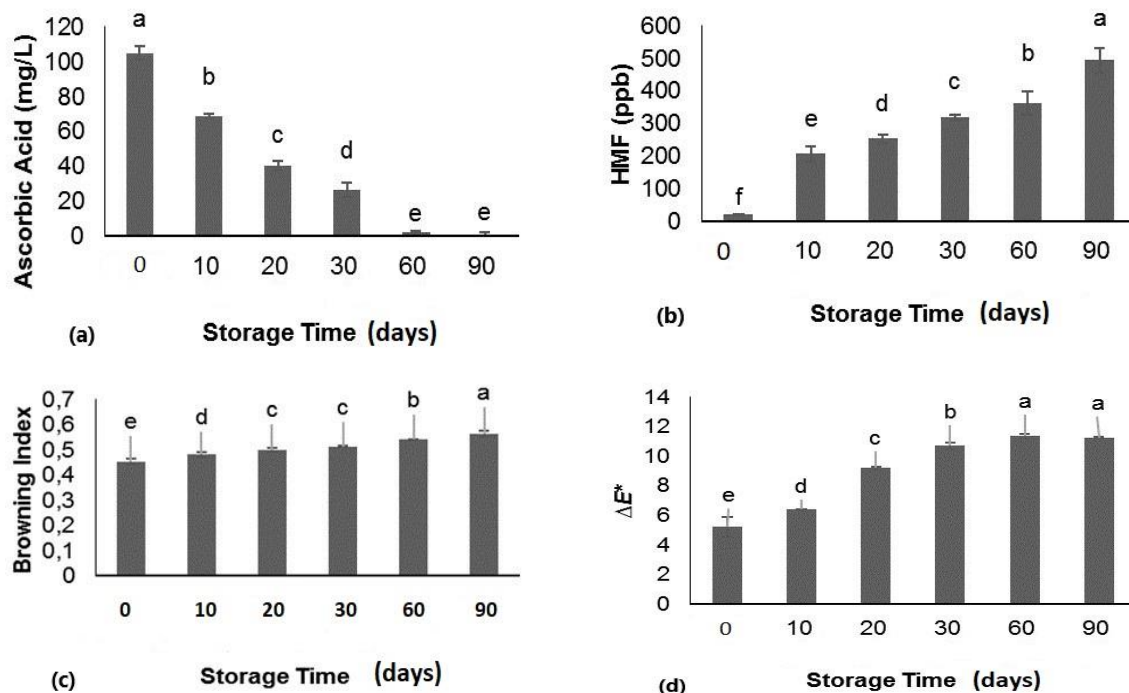


Figure 1. The ascorbic acid content (a), Hydroxymethylfurfural content (HMF) (b), browning index (c) and total color difference (ΔE^*) (d) of strawberry nectar during storage.

^{a-e} The mean values with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

Change of Browning Index (BI)

BI of nectar (0.45-0.56) increased significantly during storage ($P < 0.05$), and reached the level of 0.56 (24% increase) at the end (Fig. 2.c). The change in BI can be related with the degradation of ascorbic acid and formation of HMF. BI had correlations with AA content (98%) and HMF level (96%). Abid et al. (2015) determined the non-enzymatic browning (NEB) values of ultrasound-treated apple juices during storage (30 days at 4°C). It was also reported that there was a significant increase in NEB values of all samples. It is possible that the change in AA can be more

effective on the browning of strawberry nectar than HMF content during storage. The level of AA in nectar affect the color with browning reaction which can degrade the AA as substrate, but also decrease in AA affects the pH of medium. Consequently, change in pH can be effective on the color of nectar which contains anthocyanin compounds, which are causing pH-dependent change in color. In addition, degradation of anthocyanin can have resulted with the browning of nectar. Besides AA, presence of citric acid in the medium has a stimulation effect on non-enzymatic browning in

juice (Buve et al., 2021), and citric acid was added when producing nectar from strawberries as mentioned in methods of this study.

Change of Total Color Difference (ΔE^*)

The ΔE^* values of nectar changing between 5.21-11.36 were given in Fig. 2.d.. The color of nectar changed during storage, especially during the first month. ΔE^* value showed 23% and 116% increase in the first 10 days and at the end of storage, respectively. A high correlation between AA and ΔE^* values was determined ($R^2=0.955$). Buglione and Lozano (2002) reported that the ΔE^* values of grape juices stored at 10, 20 and 30°C for 21 weeks increased during storage. Similarly, Abid et al. (2015) reported that there was a significant increase in the ΔE^* value of ultrasonicated apple juices during storage ($P < 0.05$). It has been stated that the color change may have occurred due to the acceleration of carotenoid isomerization caused from physical conditions such as cavitation, storage temperature and high temperature. An increase in the ΔE^* value of ultrasonicated kiwi juice during 7 days of storage was also reported by Tomadoni et al.

(2016), and this increase was faster in the first 2 days. Cavitation occurs during thermosonication may accelerate the chemical reactions, increase diffusion rate, inactivate some enzymes, and therefore it can also affect color change (Adekunte et al., 2010). It has been reported that a small change in pH value is also effective in increasing the sensitivity of the color to temperature application as well as the color of strawberry juice (Wang et al, 2015). Change in pH value during storage may also have caused color change in nectars.

Kinetic Parameters

The kinetic parameters rate constant (k), half-time ($t_{1/2}$) or doubling time (t_2) as well as the R^2 , adjusted- R^2 and RMSE of the zero, half, first and second-order models through a least square fitting procedure of the main compounds and some important quality parameters were given in Table 1. The content of each compound that was investigated, and the kinetic model with highest correlation coefficient is accepted to explain the order of changing.

Table 1. The correlation coefficients of different degradation/formation orders and kinetic performance outputs

		AA	HMF	ΔE^*	Browning Index
R^2	<i>Zero</i>	0.7725	0.8492	0.6784	0.9422
	<i>Half</i>	0.9136	0.6825	0.6578	0.9338
	<i>First</i>	0.9755	0.4958	0.6362	0.9249
	<i>Second</i>	0.8989	0.2989	0.591	0.9056
R^2_{adj}	<i>Zero</i>	0.7156	0.8115	0.5979	0.9277
	<i>Half</i>	0.892	0.6031	0.5723	0.9173
	<i>First</i>	0.9694	0.3698	0.5453	0.9062
	<i>Second</i>	0.8736	0.2989	0.4888	0.8820
RMSE	<i>Zero</i>	21.53	69.38	1.670	0.01075
	<i>Half</i>	1.205	3.836	0.3023	0.008068
	<i>First</i>	0.3353	0.9155	0.2216	0.02415
	<i>Second</i>	1.455x10 ⁻¹	1.743x10 ⁻²	3.084 x10 ⁻²	5.366 x10 ⁻²
Reaction constant*(k)	Rate	5.58x10 ⁻² 1/day	4.34 mg/L.day	6.40x10 ⁻² mg/L.day	1.14x10 ⁻² mg/L.day
ConfInt		2.46 x10 ⁻²	5.08	1.22 x10 ⁻¹	7.87x10 ⁻⁴
$t_{1/2}$ or t_2 (days)		12	2	41	20

AA: Ascorbic acid, HMF: Hydroxymethylfurfural, ΔE^* : total color difference

$t_{1/2}$: half-life, t_2 : doubling time.

RMSE: root mean square error, ConfInt: confidence interval was calculated with 95% of probability.

*The reaction rate constants and half-lives were determined according to best fitted kinetic model for each compound/quality parameter.

The properties directly related browning which are HMF content, BI and ΔE^* value of strawberry nectar followed the zero-order kinetic during storage, while AA degradation was best fitted to the first-order kinetic model. The half-lives or doubling times of AA, HMF, ΔE^* and BI were 12, 2, 41 and 20 days, respectively. The half-time of ascorbic acid in blood orange juice during storage at 4°C was also 12 days (Remini et al., 2015), and daily AA intake should be 60 mg/day (Lukaski, 2004). The obtained results showed that the consumption of optimally thermosonicated strawberry nectar at the level of 100 mL can meet the need of daily AA until the 31. day of storage. Dhakal et al. (2018) showed that AA degradation followed the first order kinetic during thermal treatment only or a thermal treatment combined with pressure in pineapple juice. In literature, ascorbic acid degradation has been described by

first order kinetics (Nisha et al., 2004, Polydera et al., 2003, Tola and Ramaswamy, 2015, Vieira et al., 2016). On the other hand, similar to the results of this study, Wibowo et al. (2015) indicated that HMF formation during storage of pasteurized orange juice could be best fitted to zero-order model ($R^2_{adj} = 0.96$). Burdurlu et al. (2016) were also reported zero-order model as the best fitted to the change of HMF content in orange juice concentrate. When the relationships between the quality properties and ΔE^* value of nectar were evaluated, the strongest relationship was found with AA ($R^2=0.955$) and followed by BI ($R^2=0.859$).

Sensorial Evaluation

The sensory evaluation scores of strawberry nectar changed between 6.39 and 7.70 (Fig. 2).

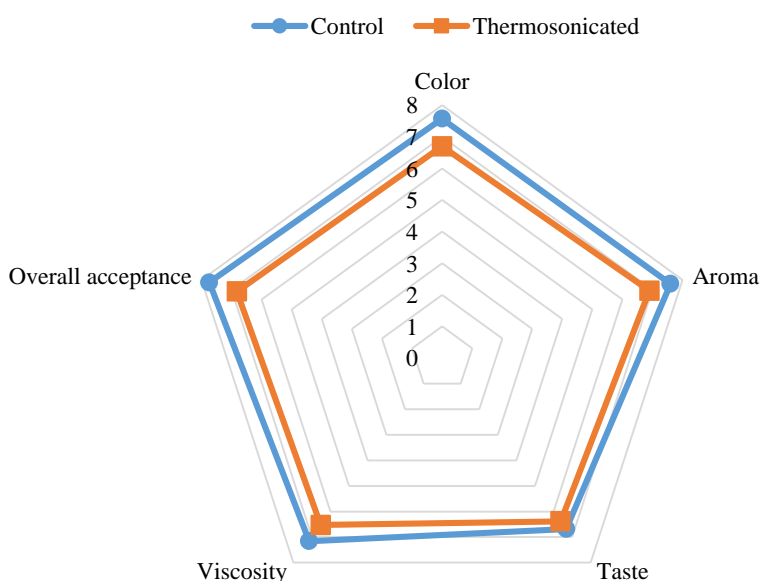


Figure 2. Spider plot for the sensory score based on the viscosity, taste, aroma, color and overall acceptance of control and thermosonicated strawberry nectars.

Although thermosonication caused decrease in all of the rated sensory attributes, the difference between control and the thermosonicated nectar was not significant. Therefore, it can be said that the optimum thermosonication conditions have no significant adverse effect on the sensorial

properties of strawberry nectar. It has been reported in the literature that thermosonication may have positive effects as well as negative effects on sensory properties of fruit juice (Walkling-Ribeiro et al., 2009). Conditions caused by thermosonication such as removal of the gas

in the nectar, lightening of the nectar color, decreased enzyme activity, and increased prevention of ascorbic acid may have caused no significant difference between the control and processed nectars in terms of sensory properties.

CONCLUSION

Thermosonication is considered as an alternative way to conventional thermal treatment in fruit juices. In this study, the effect of storage (three months at 4°C) on ascorbic acid, HMF, browning index, ΔE^* and the changing kinetics of optimally thermosonicated strawberry nectar were determined. Ascorbic acid degradation fitted the first order model. AA was the most sensitive parameter among them with the half-life of 12 days. The highest correlation with the change of total color was observed in AA ($R^2=0.955$) and followed by BI ($R^2=0.859$). Therefore, the greatest effect on color might be caused by the AA degradation among the studied quality properties. The knowledge gained from this study could be useful for further shelf-life studies of strawberry nectar after thermosonication, evaluating the effect storage on quality parameters and relations between them. The obtained degradation kinetics and half-lives could be suitable for the juice processing industry and consumers.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no conflict of interest

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Asiye Akyıldız conceptualized and designed the study. Material preparation, data collection and analyses were performed by Burcu Dündar Kirit. The first draft of the manuscript was written by Burcu Dündar Kirit. Asiye Akyıldız edited the manuscript. All authors approved the final manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to Cukurova University (Project no: FYL-20178267) for financial supports, Dr. Erdal Ağçam for his helps, and Dr. Mehmet Ali Sarıdaş for providing strawberries.

REFERENCES

- Aaby, K., S. Mazur, S., Nes, A., Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, 132(1): 86–97, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.10.037.
- Abdullakasm, P., Songchitsomboon, S., Techagumpuch, M., Balee, N., Swatsitang, P., Sungpuag, P. (2009). Antioxidant capacity, total phenolics and sugar content of selected Thai health beverages. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(1): 77–85, doi: 10.1080/09637480601140946.
- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Lei, S., Zeng, X. (2014). Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1): 93–97, doi: 10.1016/j.ultrsonch.2013.06.002.
- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Saeeduddin, M., Zeng, X. (2015). Qualitative assessment of sonicated apple juice during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): 1299–1308.
- Adekunte, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M., O'Donnell, C. P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3): 500–507, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.026.
- Ağçam, E., Akyıldız, A., Akdemir Evrendilek, G. (2014). Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. *Food Chemistry*, 143: 354–361, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.115.
- Ağçam, E., Akyıldız, A., Dündar, B. (2017). Thermal pasteurization and microbial inactivation of fruit juices. In: *Fruit juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, Rajauria, G., Tiwari, B. K. (eds), Academic Press, the UK, pp. 309–339, doi: 10.1016/B978-0-12-802230-6.00017-5.
- Akyıldız, A., Mertoglu, T. S., & Ağçam, E. (2021). Kinetic study for ascorbic acid degradation,

- hydroxymethylfurfural and furfural formations in Orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 102, 103996.
- Beck, J., Ledl, F., Sengl, M., Severin, T. (1990). Formation of acids, lactones and esters through the Maillard reaction. *Bildung von Säuren, Lactonen und Estern im Verlauf der Maillard-Reaktion. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 190(3): 212-216.
- Bharate, S. S., Bharate, S. B. (2014). Non-enzymatic browning in citrus juice: chemical markers, their detection and ways to improve product quality. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10): 2271-2288.
- Bhat, R., Goh, K. M. (2017). Sonication treatment convalesce the overall quality of hand-pressed strawberry juice. *Food Chemistry*, 215: 470-476, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.07.160.
- Bhat, R., Kamaruddin, N. S. B. C., Min-Tze, L., Karim, A. A. (2011). Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(6): 1295-1300, doi: 10.1016/j.ultsonch.2011.04.002.
- Burdurlu, H. S., Koca, N., Karadeniz, F. (2006). Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74(2): 211-216.
- Buvé, C., Kebede, B. T., De Batselier, C., Carrillo, C., Pham, H. T. T., Hendrickx, M., Grauwet, T., Van Loey, A. (2018). Kinetics of colour changes in pasteurised strawberry juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 216: 42-51.
- Buvé, C., Pham, H. T. T., Hendrickx, M., Grauwet, T., Van Loey, A. (2021). Reaction pathways and factors influencing nonenzymatic browning in shelf-stable fruit juices during storage. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(6): 5698-5721.
- Carabasa-Giribet, M., Ibarz-Ribas, A. (2000). Kinetics of colour development in aqueous glucose systems at high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 44(3): 181-189, doi: 10.1016/S0260-8774(00)00027-3.
- Chakraborty, S., Baier, D., Knorr, D., Mishra, H. N. (2015). High pressure inactivation of polygalacturonase, pectinmethylesterase and polyphenoloxidase in strawberry puree mixed with sugar. *Food and Bioprocess Processing*, 95: 281-291, doi: 10.1016/j.fbp.2014.10.016.
- del Castillo, M. D., Villamiel, M., Olano, A., Corzo, N. (2000). Use of 2-furoylmethyl derivatives of GABA and arginine as indicators of the initial steps of maillard reaction in orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48; 4217-4220.
- del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Talcott, S. T. (2004). Phytochemical composition and pigment stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6): 1539-1545, doi: 10.1021/jf035189n.
- Dhakal, S., Balasubramaniam, V. M., Ayvaz, H., Rodriguez-Saona, L. E. (2018). Kinetic modeling of ascorbic acid degradation of pineapple juice subjected to combined pressure-thermal treatment. *Journal of Food Engineering*, 224: 62-70. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.08.002.
- Dündar, B., Ağçam, E., Akyıldız, A. (2019). Optimization of thermosonication conditions for cloudy strawberry nectar with using of critical quality parameters. *Food Chemistry*, 276: 494-502, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.10.028.
- Eiro, M. J., Heinonen, M. (2002). Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25): 7461-7466, doi: 10.1021/jf0258306.
- Fernández-Romero, E., Chavez-Quintana, S. G., Siche, R., Castro-Alayo, E. M., Cardenas-Toro, F. P. (2020). The kinetics of total phenolic content and monomeric flavan-3-ols during the roasting process of Criollo cocoa. *Antioxidants*, 9(2): 146, doi: 10.3390/antiox9020146.
- Garzon, G. A., Wrolstad, R. E. (2002). Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 67(4): 1288-1299, doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb10277.x.
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., Battino, M. (2012). The strawberry: composition, nutritional quality, and

- impact on human health. *Nutrition*, 28(1): 9-19, doi: 10.1016/j.nut.2011.08.009.
- Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (1): F1-2, doi: 10.1002/0471142913.faf0102s00
- Gökmen, V. Acar, J. (1996). Rapid reversed-phase liquid chromatographic determination of patulin in apple juice. *Journal of Chromatography A*, 730(1-2): 53-58, doi: 10.1016/0021-9673(95)00861-6.
- Illera, A. E., Beltrán, S., Sanz, M. T. (2020). Enzyme inactivation and changes in the properties of cloudy apple juice after high-pressure carbon dioxide and thermosonication treatments and during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7): e14521.
- Jiang, Y. M. (1999). Purification and some properties of polyphenol oxidase of longan fruit. *Food Chemistry*, 66(1): 75-79, doi: 10.1016/S0308-8146(98)00242-8.
- Kus, S., Gogus, F., Eren, S. (2005). Hydroxymethyl furfural content of concentrated food products. *International Journal of Food Properties*, 8 (2): 367-375.
- Labuza, T. P. (1984). Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal of Chemical Education*, 61(4): 348, doi: 10.1021/ed061p348.
- Lafarga, T., Ruiz-Aguirre, I., Abadias, M., Viñas, I., Bobo, G., Aguiló-Aguayo, I. (2019). Effect of thermosonication on the bioaccessibility of antioxidant compounds and the microbiological, physicochemical, and nutritional quality of an anthocyanin-enriched tomato juice. *Food and Bioprocess Technology*, 12(1): 147-157, doi: 10.1007/s11947-018-2191-5.
- Lee, H. S., Coates, G. A. (1999). Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled orange juice: a storage study. *Food Chemistry*, 65(2): 165-168, doi: 10.1016/S0308-8146(98)00180-0.
- Lončarić, A., Pablo Lamas, J., Guerra, E., Kopjar, M., Lores, M. (2018). Thermal stability of catechin and epicatechin upon disaccharides addition. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(5): 1195-1202, doi: 10.1111/ijfs.13696.
- Lukaski, H. C. (2004). Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*, 20(7-8): 632-644, doi: 10.1016/j.nut.2004.04.001.
- Meydav, S., Saguy, I., Kopelman, I. J. (1977). Browning determination in citrus products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(3): 602-604, doi: 10.1021/jf60211a030.
- Muzaffar, S., Ahmad, M., Wani, S. M., Gani, A., Baba, W. N., Shah, U., Khan, A. A., Masoodi, F. A., Gani, A., Wani, T. A. (2016). Ultrasound treatment: effect on physicochemical, microbial and antioxidant properties of cherry (*Prunus avium*). *Journal of Food Science and Technology*, 53(6): 2752-2759, doi: 10.1007/s13197-016-2247-3.
- Nayak, P. K., Chandrasekar, C. M., & Kesavan, R. K. (2018). Effect of thermosonication on the quality attributes of star fruit juice. *Journal of food process engineering*, 41(7), e12857.
- Nisha, P., Singhal, R.S., Pandit, A.B. (2004). A study on degradation kinetics of ascorbic acid in amla (*Phyllanthus emblica* L.) during cooking. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 55(5): 415-422.
- Oladunjoye, A. O., Adeboyejo, F. O., Okekunbi, T. A., Aderibigbe, O. R. (2021). Effect of thermosonication on quality attributes of hog plum (*Spondias mombin* L.) juice. *Ultrasonics sonochemistry*, 70, 105316.
- Oliveira, A., Almeida, D. P., Pintado, M. (2014). Changes in phenolic compounds during storage of pasteurized strawberry. *Food and Bioprocess Technology*, 7(6): 1840-1846, doi: 10.1007/s11947-013-1239-9.
- Oliveira, A., Gomes, M. H., Alexandre, E. M., Poças, F., Almeida, D. P., Pintado, M. (2015). Phytochemicals preservation in strawberry as affected by pH modulation. *Food Chemistry*, 170: 74-83, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.156.
- Oral, R. A., Dogan, M., Sarioglu, K., Toker, Ö. S. (2012). 5-hydroxymethyl furfural formation and reaction kinetics of different pekmez samples: effect of temperature and storage. *International Journal of Food Engineering*, 8 (4).

- Özkan, M. (2002). Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chemistry*, 78(4): 499-504, doi: 10.1016/S0308-8146(02)00165-6.
- Pacheco-Palencia, L. A., Hawken, P., Talcott, S. T. (2007). Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Research International*, 40(5): 620-628, doi: 10.1016/j.foodres.2006.11.006.
- Paravisini, L., Peterson, D. G. (2016). Characterization of browning formation in orange juice during storage. In: *Browned flavors: analysis, formation, and physiology*, ACS Symposium Series 1237, Granvogl, M., Peterson, D., Schieberle, P. (eds), Oxford University Press, Washington, DC, the USA, pp. 55-65.
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, 21(1): 3-11, doi: 10.1016/J.TIFS.2009.07.004.
- Pham, H. T., Kityo, P., Buvé, C., Hendrickx, M. E., Van Loey, A. M. (2020). Influence of pH and composition on nonenzymatic browning of shelf-stable orange juice during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(19): 5402-5411.
- Polydera, A. C., Stoforos, N. G., Taoukis, P. S. (2003). Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering*, 60(1): 21-29.
- Rein, M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Ph.D. Dissertation, University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, Helsinki, Finland, 87 p.
- Remini, H., Mertz, C., Belbahi, A., Achir, N., Dornier, M., Madani, K. (2015). Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage. *Food Chemistry*, 173: 665-673, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.069.
- Salleh-Mack, S. Z., Roberts, J. S. (2007). Ultrasound pasteurization: the effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. *Ultrasonics sonochemistry*, 14(3), 323-329.
- Sulaiman, A., Soo, M. J., Farid, M., Silva, F. V. (2015). Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: modeling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 165: 133-140, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.06.020.
- Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X., Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25): 7449-7454, doi: 10.1021/jf0207530.
- Tola, Y. B., Ramaswamy, H. S. (2015). Temperature and high pressure stability of lycopene and vitamin C of watermelon juice. *African Journal of Food Science*, 9(5), 351-358.
- Tomadoni, B., Cassani, L., Viacava, G., Moreira, M. D. R., Ponce, A. (2017). Effect of ultrasound and storage time on quality attributes of strawberry juice. *Journal of Food Process Engineering*, 40(5): e12533. doi: 10.1111/jfpe.12533.
- Vieira, R. P., Mokochinski, J. B., Sawaya, A.C. (2016). Mathematical modeling of ascorbic acid thermal degradation in orange juice during industrial pasteurizations. *Journal of Food Process Engineering*, 39 (6): 683-691.
- Wang, H. Y., Hu, X. S., Chen, F., Wu, J. H., Zhang, Z. H., Liao, X. J., Wang, Z. F. (2006). Kinetic analysis of non-enzymatic browning in carrot juice concentrate during storage. *European Food Research and Technology*, 223(2): 282-289, doi: 10.1007/s00217-005-0202-z.
- Wibowo, S., Grauwet, T., Santiago, J. S., Tomic, J., Vervoort, L., Hendrickx, M., Van Loey, A. (2015). Quality changes of pasteurised orange juice during storage: a kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. *Food Chemistry*, 187: 140-151.
- Wrolstad, R. E., Skrede, G., Lea, P. E. R., Enersen, G. (1990). Influence of sugar on

anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science*, 55(4): 1064-1065. doi: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb01598.x.

Yıkılmış, S. (2020). Sensory, physicochemical, microbiological and bioactive properties of red watermelon juice and yellow watermelon juice after ultrasound treatment. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(3), 1417-1426.

Zheng, Y., Wang, S. Y., Wang, C. Y., Zheng, W. (2007). Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1): 49-57, doi: 10.1016/j.lwt.2005.08.013.

BİBERİYENİN (*Rosmarinus officinalis*) KARNOSİK ASİT VE KARNOSOL İÇERİĞİNİN HASAT ZAMANI VE LOKASYONA GÖRE DEĞİŞİMİ

Haluk Tokgöz, Orçun Çınar, Muharrem Gölükcü*, Fatma Uysal Bayar
Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 30.01.2022; Kabul / Accepted: 23.03.2022; Online baskı / Published online: 16.04.2022

Tokgöz, H., Çınar, O., Gölükcü, M., Uysal-Bayar, F. (2022). Biberiyenin (*Rosmarinus officinalis*) karnosik asit ve karnosol içeriğinin hasat zamanı ve lokasyona göre değişimi. GIDA (2022) 47 (3) 493-501 doi: 10.15237/gida.GD22010

Tokgöz, H., Çınar, O., Gölükcü, M., Uysal-Bayar, F. (2022). Carnosol and carnosic acid content of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) with respect to location and harvesting time. GIDA (2022) 47 (3) 493-501 doi: 10.15237/gida.GD22010

ÖZ

Biberiye antioksidan özellikte olan karnosik asit ve karnosol açısından önemli bir kaynaktır. Biberiyenin fenolik diterpen yapıdaki karnosik asit ve karnosol içeriği birçok parametreden etkilenebilmektedir. Çalışmanın amacı bitkisel materyalin alındığı lokasyon ve hasat zamanının bu bileşenlerin miktarı üzerine etkisini belirlemektir. Çalışma kapsamında kullanılan biberiye örnekleri üç farklı lokasyondan (Adana, Mersin, Antalya) birer aylık periyotlarla alınmıştır. Örneklerin karnosik asit ve karnosol içerikleri LC-MS/MS cihazı ile analiz edilmiştir. Karnosol ve karnosik asit içeriği üzerine istatistiksel olarak lokasyon ve hasat zamanının etkisi önemli olmuştur. Karnosol açısından Antalya-Döşemealtı'ndan Şubat ayında alınan örnek en zengin içeriğe (%0.78) sahip iken, karnosik asit açısından en zengin örnek (%0.74) yine aynı lokasyondan Eylül ayında alınan olmuştur. Çalışma bulguları biberiyenin karnosol ve karnosik asit içeriğinin lokasyonun yanında hasat zamanına göre de önemli farklılıklar gösterebileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: *Rosmarinus officinalis*, karnosol, karnosik asit, hasat zamanı, lokasyon

CARNASOL AND CARNOSIC ACID CONTENT OF ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*) WITH RESPECT TO LOCATION AND HARVESTING TIME

ABSTRACT

Rosemary is a good source for carnosol and carnosic acid. There are many parameters could affect the amount of these phenolic diterpenes. It was aimed to determine the effects of location and harvesting time on carnosol and carnosic acid contents of rosemary. Samples used within the scope of the study were taken from three different locations (Adana, Mersin, Antalya) in one month intervals during two years. The carnosic acid and carnosol contents of the samples were analyzed by LC-MS/MS. Location and harvesting time have statistically important effect on carnosol and carnosic acid contents of the plant. The highest carnosol content (0.78%) was determined in the Antalya-Döşemealtı which was harvested at February. And, the highest carnosic acid content (0.74%) was

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ muharrem.golukcu@tarimorman.gov.tr

☎ (+90) 242 325 5325 / 114

Muharrem Gölükcü; ORCID no: 0000-0003-1646-5876

Haluk Tokgöz; ORCID no: 0000-0002-9956-0045

Orçun Çınar; ORCID no: 0000-0002-8356-384X

Fatma Uysal Bayar; ORCID no: 0000-0002-7130-5704

found in the same location in September. The study findings revealed that carnosol and carnosic acid content of rosemary may differ significantly according to harvest time as well as the location.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, carnosol, carnosic acid, harvesting time, location

GİRİŞ

Kuşdili, püren, hasalban gibi yöresel isimlerle de bilinen biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) Labiatae (Lamiaceae) familyasından, çalı formunda herdem yeşil, çok yıllık aromatik bir bitkidir (Davis, 1982). Biberiye dünyanın birçok bölgesinde özellikle de Akdeniz ülkelerinde yetiştirilmektedir. Akdeniz ülkeleri bitki çeşitliliği anlamında oldukça zengindir (Vargas, 2020). Bitki İspanya, Yunanistan, İtalya, Fransa, Cezayir ve Fas'ta kültüre alınmıştır (Ayoob vd., 2018). Ülkemizde de özellikle Akdeniz Bölgesi'nde doğal olarak yetişmektedir. Üretimin önemli bir kısmı ise Tarsus-Mersin'de gerçekleştirilmektedir (Gülbaba vd., 2002).

Aromatik özelliğinin yanında biberiye sahip olduğu fonksiyonel bileşenler nedeniyle oldukça geniş kullanım alanına sahip olup, gıda, kozmetik, ilaç endüstrisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Bitkinin fonksiyonel özelliği özellikle uçucu yağ ve fenolik yapıdaki antioksidan bileşenlerden ileri gelmektedir. Biberiye, uçucu yağ içeriğinden dolayı, geleneksel tıp, modern tıp ve aromaterapide de kullanım alanı bulmuştur (Sasikumar, 2004). Bitkinin uçucu yağ içeriği 1,8-sineol, α -pinen, β -pinen, kamfor, borneol gibi bileşenlerce zengin (Borges vd., 2019) olup bu alanda birçok çalışma yapılmıştır. Türkiye'de de bu alanda bazı çalışmalar bulunmaktadır (Gülbaba vd., 2002; Özcan ve Chalchat, 2008; Başkaya vd., 2016; Kırpık ve Özgüven, 2018; Katar vd., 2019; Kocak vd., 2021). Tıbbi bitkilerden biberiye uçucu yağ içeriğinin yanında karnosol, karnosik asit, rosmarinik asit gibi antioksidan özellik gösteren fenolik bileşenlerce de zengin doğal bir kaynaktır (Hidalgo vd., 1998; Genena vd., 2008; Mulinacci vd., 2011; Gird vd., 2017; Silva vd., 2018; Aziz vd., 2021). Gıda ve kozmetik ürünlerinde oksidasyonun engellenmesi amacıyla antioksidanlar kullanılmaktadır (Caracho vd., 2015; Gonzales-Minero vd., 2020). Bu anlamda da son yıllarda doğal gıda katkı maddelerine olan ilgi artış göstermiştir (Caracho vd., 2015; Aziz vd., 2021). Biberiyenin karnosol ve karnosik asit içeriği üzerine birçok araştırma yapılmıştır (Okamura

vd., 1994; Türker, 2010; Jasmin, 2017, Lesellier vd., 2021). Karnosik asit yüksek antioksidan kapasitesi sayesinde gıda ve içecek, kişisel bakım, besin ve sağlık gibi birçok endüstriyel uygulamada kullanılmaktadır. Yağ, çığ ve pişirilmiş etler sentetik antioksidanlara göre daha yüksek verim veren karnosik asit sayesinde oksidasyondan korunabilmektedir. Karnosik asit biyosentezi ve birikimi yaprağın gelişimi boyunca gerçekleşmektedir. Biberiye bitkilerinde yer alan diterpen yapıdaki bu bileşenlerin seviyeleri mevsimsel değişikliklerle beraber değişim gösterebilmekte, çevresel stres koşullarına bağlı olarak karnosik asit konsantrasyonlarında düşüşler meydana gelebilmektedir. Özellikle doğal koşullarda yetişen biberiye yapraklarının karnosik asit konsantrasyonları yazın yüksek sıcaklıklarda ve düşük yağış olduğu durumlarda azalış göstermektedir (Loussouarn vd., 2017; Anwar ve Qadir, 2021). Karnosik asidin yanısıra karnosol gibi biberiye yapraklarında daha az miktarda bulunan fenolik diterpenler de mevcuttur. Karnosol karnosik asidin ana oksidasyon ürünü olup günümüzde biberiye de içeren birçok bitki türünden doğal olarak ekstrakte edilebilmekte ve bu bileşen de antioksidan özellik göstermektedir (Chun vd., 2014; Loussouarn vd., 2017). Bu bileşenlerin ayrıca sağlık üzerinde de antikanser, antianjiyojenik, antienflamatuar, karaciğer koruyucu, nörodejeneratif hastalıklardan koruyucu gibi olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir (del Pilar Sánchez-Camargo ve Herrero, 2017; Anwar ve Qadir, 2021).

Ülkemizde biberiye üzerine, özellikle de uçucu yağ bileşimi olmak üzere bazı çalışmalar bulunmakla beraber biberiyenin doğal yayılışının yaygın olduğu Akdeniz Bölgesi'nde lokasyon ve hasat zamanlarına göre karnosol ve karnosik asit içeriği üzerine yapılmış detaylı bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Çalışma kapsamında ülkemizde biberiyenin doğal yayılış alanı olan Akdeniz Bölgesi'nde lokasyonlara ve bitkinin hasat zamanına göre antioksidan özellikte olan diterpenlerin (karnosol, karnosik asit) içeriklerindeki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM**Materyal**

Araştırma kapsamında kullanılan biberiye bitki örnekleri, bitkinin doğal yayılış alanları olan Adana-Karaisalı (37° 07' 52" K; 35° 08' 75" D), Mersin-Tarsus (36° 58' 05" K; 34° 48' 30" D) ve Antalya-Döşemealtı (36° 58' 53" K; 30° 40' 35" D) olmak üzere üç farklı bölgeden 2 yıl süreyle birer aylık periyotlarla alınmıştır. Bitki örneklerinde birinci hasat 26 Eylül 2017 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan bitkisel materyaller vejetasyon gelişim süresini tamamlanmış olanlardan herba kısmı kesilerek yapılmıştır. Hasat edilen örnekler analizleri gerçekleştirmek üzere Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Merkezi Laboratuvarı'na getirilmiştir. Analiz işlemlerine geçmeden önce örnekler hava sirkülasyonlu (7.272 m³/saat) kurutma fırınında (Venticell-404 Standard, MMM group, Almanya), nem içeriği ortalama %10 oluncaya kadar kurutma işlemine tabi tutulmuştur.

Karnosol ve karnosik asit miktarı analizi

Kurutulmuş olan materyal öncelikle öğütücüde (Retsch GM200, Almanya) 10000 rpm'de 20 saniye boyunca öğütülmüştür. Daha sonra öğütülmüş materyalden 250 mg hassas terazide tartularak falkon tüplere aktarılmıştır. Üzerine 10 mL %99.9 saflıkta etil alkol (Merck) eklenmiştir. Vortekste (Daihan, WiseMix VM-10, Güney Kore) iyice karıştırıldıktan sonra falkon tüpler ultrasonik su banyosuna (Bandelin Sonorex, Almanya) konulmuş, 15 dak boyunca ekstraksiyon

işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra örnekler soğutmalı ultrasantrifüj cihazında (Sigma, 2-16KL, Almanya) 5000 rpm'de 4°C'de 5 dak boyunca santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen berrak sıvı kısım 0.45 µm'lik membran filtrelerden geçirilerek 1.5 mL'lik amber viallere aktarılmış ve analiz için sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS-MS) cihazına (Agilent, 1290 Infinity (LC)-6430 Tripquadrapol (MS)) enjekte edilmiştir (Zabot vd., 2014).

Antioksidan bileşenler, Fischer vd. (2011) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak LC-MS/MS cihazında Zorbax RRHD Eclipse Plus C18 kolonu (3 µm 2.1x100 mm) kullanılarak analiz edilmiştir. Bunun için öncelikle karnosol ve karnosik asidin ana stok çözeltileri hazırlanmıştır. Standart maddeler metanol içerisinde çözüldükten sonra 100 ppm'lik ana stok çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra ana stok çözeltilerden seyreltilerek kalibrasyon çözeltileri (1, 2, 5, 10 ve 20 ppm) hazırlanmıştır. LC-MS-MS cihazında kantitatif tayin için öncelikle MS parametreleri (polarite, ana iyon, fragmentör voltajı, parçalanma iyonları, çarpışma enerjisi) belirlenmiştir (Çizelge 1). Daha sonra belirlenen bu parametreler ve kalibrasyon çözeltileri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Hazırlanan örnek ekstraktlardan uygun oranlarda seyreltme işlemi yapılmış ve kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak örneklerin içerisinde yer alan karnosol ve karnosik asit miktarları tespit edilmiştir. Analiz sırasında kullanılan MS parametreleri ve cihaz şartları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 1. Standartların optimizasyon parametreleri

Table 1. MS optimization parameters of the standards

Standartlar Standards	Polarite Polarity	Ana iyon (m/z) Precursor ion (m/z)	Fragmentör voltajı (V) Fragmentor voltage (V)	Parçalanma iyonları (m/z) Product ions (m/z)	Çarpışma enerjisi (V) Collision energy (V)
Karnosol Carnosol	+	330.8	110	266.8 284.9	18 10
Karnosik asit Carnosic acid	-	330.9	90	286.9 243.9	18 20

LC-MS/MS koşulları:

Hareketli fazlar: A; Metanol:Su (5:95(v/v), %0.01 formik asit ve 5 µM amonyum format içeren), B;

Metanol (%0,01 formik asit ve 5 µM amonyum format içeren);

Akış hızı: 0.30 mL/dak

Kolon sıcaklığı: 35°C

Hareketli faz akışı: Gradient akışı

0-3.00 dak %5 hareketli faz B,
3.01- 8.00 dak %30 hareketli faz B,
8.01-12.00 dak %95 hareketli faz B,
12.01-15.00 dak %5 hareketli faz B,
Enjeksiyon hacmi: 3 µL

Analiz süresi: 15 dak

Dedektör: MS-MS (analiz pozitif ve negatif iyon modunda yürütülmüştür)

İyonizasyon, elektron spray iyonizasyon kaynağı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir (Düzgüneş vd., 1987). Çalışma kapsamında analizler de iki paralelli olarak yapılmış ve elde edilen sonuçlar SAS paket programı kullanılarak

istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Analiz çalışmaları kurutulmuş bitkisel materyal (yaprak) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bulgular Duncan Testi ile $P<0.05$ önem seviyesinde karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular ortalama±standart sapma (SS) şeklinde verilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Biberiye karnosol ve karnosik asit gibi antioksidan maddelerce önemli bir kaynaktır. Ülkemizde doğal yayılış gösteren üretimin yaygın olduğu üç farklı lokasyondan aylık olarak iki yıl boyunca temin edilen örneklerin karnosol içeriklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Biberiye örneklerinin hasat zamanı ve lokasyonlara göre karnosol içerikleri (%)

Table 2. Carnosol content of rosemary with respect to location and harvesting time (%)

Hasat zamanı Harvesting time	Adana	Mersin	Antalya	Ortalama/ Mean*
Eylül/September	0.53±0.05	0.61±0.06	0.72±0.18	0.62±0.15 ^A
Ekim/October	0.45±0.04	0.48±0.04	0.69±0.11	0.54±0.15 ^B
Kasım/November	0.41±0.04	0.37±0.04	0.57±0.03	0.45±0.09 ^C
Aralık/December	0.38±0.05	0.40±0.03	0.72±0.01	0.50±0.18 ^{BC}
Ocak/January	0.38±0.02	0.33±0.02	0.74±0.06	0.48±0.19 ^{BC}
Şubat/February	0.37±0.05	0.31±0.06	0.78±0.07	0.48±0.22 ^{BC}
Mart/March	0.29±0.04	0.30±0.07	0.57±0.05	0.39±0.14 ^D
Nisan/April	0.30±0.03	0.27±0.04	0.54±0.04	0.37±0.13 ^D
Mayıs/May	0.29±0.08	0.20±0.04	0.51±0.05	0.33±0.15 ^D
Haziran/June	0.40±0.04	0.44±0.02	0.65±0.11	0.50±0.13 ^{BC}
Temmuz/July	0.47±0.07	0.46 ±0.05	0.63±0.06	0.52±0.10 ^B
Ağustos/August	0.50±0.06	0.46±0.05	0.54±0.04	0.50±0.06 ^{BC}
Ortalama/Mean**	0.40±0.09 ^B	0.39±0.11 ^B	0.64±0.13 ^A	

* Hasat zamanına göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$)/ Different letters show significant differences between mean values with respect to harvesting time ($P<0.05$).

** Lokasyona göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$)/ Different letters show significant differences between mean values with respect to location ($P<0.05$).

Karnosol ve karnosik asidin yüksek antioksidan aktivite özelliğe sahip olması ve kullanım alanının yaygınlığı bu bileşenlere olan ilgiyi arttırmıştır. Bu anlamda biberiye için karnosol ve karnosik asit içeriği oldukça önemli kalite kriterleri arası öne çıkmaktadır. Örneklerin karnosol içerikleri lokasyon ve hasat zamanına göre önemli farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$). Lokasyonlara göre bir değerlendirme yapıldığında, çalışma kapsamında analizi yapılan örnekler içerisinde

karnosol miktarı açısından Antalya-Döşemealtı lokasyonu öne çıkmıştır. Diğer iki lokasyon bu lokasyona göre karnosol içeriği açısından daha düşük olup birbirleri ile benzerlik göstermektedir. Hasat zamanına göre ortalama karnosol içeriği üzerinden bir değerlendirme yapıldığında en yüksek karnosol Eylül ayında temin edilen örnekte tespit edilmiştir. En düşük karnosol içeriğine ise Mayıs ayında alınan örnek sahip olmuştur. LokasyonXhasat zamanına göre değerlendirme

yapıldığında da bu bileşen bakımından Antalya-Döşemealtı lokasyonundan Şubat ayında alınanın örneğin en zengin olduğu görülmüştür. Bu lokasyondan iki yıl süre ile alınan örneklerin karnosol içeriği %0.51-0.78, Adana-Karaisalı %0.29-0.53, Mersin-Tarsus bölgesi örnekleri ise hasat zamanına göre %0.20-0.61 gibi daha geniş bir Aralıkta dağılım göstermiştir.

Jasim (2017) yaptığı çalışmada biberiye yaprağında bulunan karnosol içeriklerini tespit etmiştir. Karnosol seviyesi %0.08 olarak tespit edilmiştir. Türker (2010)'da yaptığı çalışmada Türkiye'den topladığı 37 farklı biberiye örneğinde karnosol miktarlarını tespit etmiştir. Yapılan analizler sonucunda karnosol miktarları %0.08-0.28 arasında tespit edilmiştir. İspanya'da yetiştirilen biberiye üzerine yapılan çalışmada; hasat zamanının bitki etken madde içeriği üzerine etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmada, bitkide karnosol ve karnosik asit içeriğinin en yüksek konsantrasyonlarına Ekim-Şubat aylarında ulaştığı, buna karşın Mayıs-Ağustos aylarında ise düşük seviyelerde kaldığı belirtilmiştir. Karnosol içeriğinin %0.05 (Ağustos) ve %0.13 (Ekim) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada karnosol içerikleri %0.20-0.78 arasında değişim göstermektedir. Bu

çalışmada elde edilen değerler genel olarak literatürdeki değerlerin üzerinde yer almaktadır. Lokasyon bazında değerlendirme yapıldığında en yüksek karnosol değerleri %0.78 ile Antalya lokasyonunda Şubat ayında elde edilmiştir. Hasat zamanına göre değerlendirme yapıldığında en yüksek değerler Adana lokasyonunda Eylül ayında (%0.53), Mersin lokasyonunda Eylül ayında (%0.61) ve Antalya lokasyonunda Şubat ayında (%0.78) elde edilmiştir. Literatürde yapraktaki su miktarı, sıcaklık ve güneş ışığına maruz kalma süresi gibi iklimsel faktörlerin bu değişimin ana nedeni olduğu ifade edilmiştir (Munne-Bosch vd., 2000). Benzer şekilde çalışmamızda da bitkinin karnosol miktarında mevsimsel etkilere bağlı olarak hasat zamanına göre farklılıklar gözlemlenmiştir. Aylar bazında elde edilen ortalama değerler incelendiğinde en düşük (Mayıs ayı) ve en yüksek (Eylül ayı) karnosol değerlerinin literatürde yapılan çalışmalar ile benzerlik taşıdığı görülmektedir.

Çalışma kapsamında üç farklı lokasyondan aylık olarak iki yıl boyunca temin edilen örneklerin karnosik asit içeriklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Biberiye örneklerinin hasat zamanı ve lokasyonlara göre karnosik asit içerikleri (%)

Table 3. Carnosic acid content of rosemary with respect to location and harvesting time (%)

Hasat zamanı Harvesting time	Adana	Mersin	Antalya	Ortalama/ Mean*
Eylül/September	0.47±0.09	0.48±0.11	0.74±0.07	0.56±0.16 ^{AB}
Ekim/October	0.40±0.06	0.44±0.02	0.73±0.03	0.52±0.16 ^{ABC}
Kasım/November	0.45±0.10	0.46±0.04	0.52±0.07	0.48±0.07 ^{CDE}
Aralık/December	0.43±0.03	0.51±0.04	0.62±0.03	0.52±0.09 ^{ABC}
Ocak/January	0.41±0.01	0.46±0.04	0.65±0.06	0.51±0.11 ^{BCD}
Şubat/February	0.32±0.04	0.47±0.15	0.64±0.04	0.47±0.16 ^{CDE}
Mart/March	0.26±0.03	0.38±0.10	0.54±0.04	0.39±0.14 ^F
Nisan/April	0.32±0.04	0.36±0.08	0.59±0.03	0.42±0.13 ^{EF}
Mayıs/May	0.37±0.07	0.29±0.04	0.71±0.08	0.45±0.20 ^{DE}
Haziran/June	0.49±0.05	0.48±0.09	0.67±0.07	0.54±0.11 ^{AB}
Temmuz/July	0.48±0.06	0.49±0.07	0.69±0.05	0.55±0.11 ^{AB}
Ağustos/August	0.51±0.11	0.52±0.05	0.71±0.04	0.58±0.12 ^A
Ortalama/Mean**	0.41±0.09 ^C	0.44±0.10 ^B	0.65±0.08 ^A	

* Hasat zamanına göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$)/ Different letters show significant differences between mean values with respect to harvesting time ($P<0.05$).

** Lokasyona göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$)/ Different letters show significant differences between mean values with respect to location ($P<0.05$).

Gıda ve kozmetik sektöründe antioksidan olarak kullanılmaya potansiyeli olan diterpen yapıdaki karnosik asitin biberiyedeki miktarı da bu bitki için önemli kalite kriterlerinden birisidir. Örneklerin karnosik asit içerikleri lokasyon ve hasat zamanına göre önemli farklılıklar göstermiştir. Lokasyonlara göre bir değerlendirme yapıldığında Antalya-Döşemealtı lokasyonunun bu anlamda öne çıktığı görülecektir. Bu lokasyona ait örneklerin karnosik asit içerikleri örneklemenin yapıldığı diğer iki lokasyondan yaklaşık %50 daha fazladır. Mersin-Tarsus ile Adana-Karaisalı lokasyonu arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli olsa da rakamsal olarak daha düşük düzeydedir. Üç lokasyonun ortalama verileri üzerinden değerlendirme yapıldığında hasat zamanlarına göre önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. Ortalama verilere göre en yüksek karnosik asit içeriğine Ağustos ve Eylül aylarında hasat edilen örnekler sahip olmuştur. Bu anlamda da en düşük karnosik asit içeriği Mart ayında temin edilen örnekte tespit edilmiştir. LokasyonXhasat zamanı üzerinden bir değerlendirme yapıldığında da Adana-Karaisalı ve Mersin-Tarsus lokasyonlarında en yüksek karnosik asit içeriği Ağustos ayında hasat edilen örnekte tespit edilirken, Antalya-Döşemealtı lokasyonundan Eylül ayında araziden alınan materyalde saptanmıştır. Her bir lokasyon için hasat zamanına göre kısmi farklılıklar olmakla birlikte, Adana-Karaisalı ve Mersin-Tarsus lokasyonlarından temin edilen örneklerde benzer yönde değişim olmuştur. Antalya-Döşemealtı lokasyonundan ise hasat zamanına göre daha farklı yönde değişim meydana gelmiştir (Çizelge 3).

Luis ve Johnson (2005)'de yaptıkları çalışmada biberiyede karnosik asidin mevsimsel değişimlerini incelemişlerdir. Karnosik asit miktarı ortalama olarak %1.22 olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada karnosik asit seviyelerinin yaz aylarında %50 kadar düştüğü, Aralık ayında ise maksimum seviyeye çıktığı görülmüştür. Jasim (2017) yaptığı çalışmada biberiye yaprağında bulunan karnosik asit seviyelerini tespit etmiştir. Karnosik asit seviyeleri %1.38 olarak tespit edilmiştir. Türker (2010)'da yaptığı çalışmada Türkiye'den topladığı 37 farklı biberiye örneğinde karnosik asit miktarlarını tespit

etmiştir. Yapılan analizler sonucunda karnosik asit miktarları %1.98-5.18 arasında tespit edilmiştir. Troncoso vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada da biberiyenin karnosik asit içeriğinin kurumadde üzerinden %2-8 aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. Hadi Soltanabad vd. (2018) yaptıkları çalışmada İran'dan topladıkları biberiye örneklerindeki karnosik asit miktarlarının yıl boyunca değişimlerini incelemişlerdir. Karnosik asit içerikleri %5.78 ile %8.51 arasında değişim göstermiştir. En yüksek ve en düşük karnosik asit miktarları sırasıyla Ocak ve Nisan aylarında elde edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada karnosik asit miktarları %0.26 ile %0.74 arasında değişim göstermiştir. Lokasyona göre ortalama değerler incelendiğinde Antalya lokasyonunun ortalama değeri (%0.65) diğer lokasyonlara göre daha yüksek bulunmuştur. Lokasyon ve hasat zamanı değerleri beraber incelendiğinde en yüksek karnosik asit miktarı Antalya lokasyonunda Eylül ayında elde edilmiştir. Biberiyenin vejetatif gelişimi boyunca gerçekleşen değişimler ve yetiştirilme koşullarına bağlı olarak karnosik asit miktarında farklılıklar oluşabileceği bildirilmektedir (Luis ve Johnson, 2005). Yaptığımız çalışmada da buna benzer olarak hasat zamanı ve lokasyona göre farklılıklar olduğu görülmüştür.

SONUÇ

Araştırma sonucunda elde edilen analiz bulguları değerlendirildiğinde, ülkemizde doğal olarak yetişen biberiyenin karnosol ve karnosik asit içeriği üzerine bitkinin temin edildiği lokasyon ve hasat zamanının önemli etkisi olduğu görülmüştür. Araştırma bulguları biberiyenin uçucu yağ yanında antioksidan maddelerce de zengin olduğunu göstermektedir. Kültürel üretim çalışmalarında araştırma bulgularının katkı sağlayabileceği ortadadır. Biberiyenin endüstriyel alanda bu antioksidan maddeler açısından değerlendirileceği durumlarda da bu verilerden yararlanılabileceği düşünülmektedir. Ayrıca biberiyeden uçucu yağ ve antioksidan üretiminin entegre bir şekilde yapılıp yapılamayacağını değerlendirilmesinin de sektörel gelişim için yararlı olacağı düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların makale ile ilgili başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKILARI

Haluk Tokgöz konunun belirlenmesi, çalışmanın kurgulanması ve yürütülmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı; Orçun Çınar ve Muharrem Gölükcü analizlerin yapılması, sonuçların değerlendirilmesi ve makale yazımı; Fatma Uysal Bayar bitkisel materyallerin temini kısımlarında katkı sağlamışlardır. Makalenin son şekli tüm yazarlar tarafından okunmuş ve onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu makale TÜBİTAK tarafından 1003 kapsamında desteklenen 215Z647 nolu projenin bir kısmını oluşturmaktadır. Araştırmayı destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Anwar, F., Qadir, R. (2021). Carnosic acid and carnosol. In: *A Centum of Valuable Plant Bioactives*, Mushtaq, M., Anwar, F. (eds.), Academic Press, UK, pp. 261-274.

Ayoob, I., Rahman, M.U., Rehman, S.U. (2018). Essential oil composition of *Rosmarinus officinalis* L. from Kashmir (India). *EC Microbiology*, 14 (2), 29-32.

Aziz, E., Batoool, R., Akhtar, W., Shahzad, T., Malik, A., Shah, M.A., Iqbal, S., Rauf, A., Zengin, G., Bouyahya, A., Rebezov, M., Dutta, N., Khan, M.U., Khayrullin, M., Babaeva, M., Goncharov, A., Shariati, M.A., Thiruvengadam, M. (2021). Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications. *South African Journal of Botany*, 2021, 1-16. doi:10.1016/j.sajb.2021.09.026.

Başkaya, Ş., Ayanoglu, F., Bahadırli, N. (2016). Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinin uçucu yağ oranı, uçucu yağ bileşenleri ve antioksidan içeriğinde morfojenetik ve ontogenetik varyabilite. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1), 12-20.

Borges, R.S., Ortiz, B.L.S., Pereira, A.C.M., Keita, H., Carvalho, J.S.T. (2019). *Rosmarinus officinalis*

essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229, 29-45. doi:10.1016/j.jep.2018.09.038.

Caracho M., Morales, P., Ferreira, I.J.F.R. (2015). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 45, 284-295. doi:10.1016/j.tifs.2015.06.007.

Chun, K.S., Kundu, J., Chae, I.G., Kundu, J.K. (2014). Carnosol: A phenolic diterpene with cancer chemopreventive potential. *Journal of Cancer Prevention*, 19 (2), 103-110.

Davis, P.H. (1982). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Volume 7. Edinburgh: Edinburgh University Press. UK, 948p.

del Pilar Sánchez-Camargo, A., Herrero, M. (2017). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a functional ingredient: recent scientific evidence. *Current Opinion in Food Science*, 14, 13-19. doi:10.1016/j.cofs.2016.12.003.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987). *Araştırma ve deneme metotları*. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 381s.

Genena, A.K., Hense, H., Smania Junior, A., Souza, S.M.D. (2008). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*)-A study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Food Science and Technology (Campinas)*, 28 (2), 463-469. doi:10.1590/S0101-20612008000200030.

Gird, C.E., Nencu, I., Popescu, M.L., Costea, T., Dutu, L.E., Balaci, T.D., Olaru, O.T. (2017). Chemical, antioxidant and toxicity evaluation of rosemary leaves and its dry extract. *Farmacia*, 65 (6), 979-983.

Gonzales-Minero, F.J., Bravo-Diaz, L., Ayala-Goez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): An ancient plant with uses in personal healthcare and cosmetics. *Cosmetics*, 7(4), 1-17. doi:10.3390/cosmetics7040077.

Gülbaba, A., G., Özkurt, N., Kürkçüoğlu, M., Başer, K., H., C. (2002). Mersin ve Adana yöresindeki doğal biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) populasyonlarının tespiti ve uçucu yağ verim ve

- bileşenlerin belirlenmesi. Orman Bakanlığı Yayın No: 193. Tarsus, Türkiye, ISSN: 1300-7912.
- Hadi Soltanabad, M., Bagherieh-Najjar, M.B., Mianabadi, M. (2018). Seasonal variations in carnosic acid content of rosemary correlates with anthocyanins and soluble sugars. *Journal for The Measurement of Physical Behaviour*, 2, 163-171. doi:10.22092/JMPB.2018.118144.
- Hidalgo, P.J., Uebera, J.L., Tena, M.T., Valcarcel, M. (1998). Determination of the carnosic acid content in wild and cultivated *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2624-2627. doi:10.1021/jf970974j.
- Jasim, A.J. (2017). Reversed phase high performance liquid chromatography method for quantification of antioxidants in fresh rosemary leaves. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 8 (4), 1015-1020.
- Katar, N., Katar, D., Temel, R., Karakurt, S., Bolatkıran, İ., Yıldız, E., Soltanbeigi, A. (2019). The effect of different harvest dates on the yield and quality properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) plant. *Biological Diversity and Conservation*, 12 (3), 7-13. doi:10.5505/biodicon.2019.29292
- Kırpık, M., Özgüven, M. (2018). Farklı kökenli *Rosmarinus officinalis* L. (Biberiye) bitkilerinin verim ve uçucu yağları üzerinde araştırmalar. *Adyutayam*, 6 (2), 46-54.
- Kocak, M.Z., Karadag, M., Celikcan, F. (2021). Essential oil composition of *Salvia officinalis* and *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Agriculture*, 4(1), 39-47. doi:10.46876/ja.938170.
- Lesellier, E., Lefebvre, T., Destandau, E. (2021). Recent developments for the analysis and the extraction of bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* and medicinal plants of the *Lamiaceae* family. *Trends in Analytical Chemistry*, 135, 1-14. doi:10.1016/j.trac.2020.116158.
- Loussouarn, M., Krieger-Liszkay, A., Svilar, L., Bily, A., Birti, S., Havaux, M. (2017). Carnosic acid and carnosol, two major antioxidants of rosemary, act through different mechanisms. *Plant Physiology*, 175, 1382-1394. doi:10.1104/pp.17.01183.
- Luis, J.C., Johnson, C.B. (2005). Seasonal variations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary extracts. Analysis of their in vitro antiradical activity. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 3 (1), 106-112. doi:10.5424/sjar/2005031-130.
- Mulinacci, N., Innocenti, M., Bellumori, M., Giaccherini, C., Martini, V., Michelozzi, M. (2011). Storage method, drying processes and extraction procedures strongly affect the phenolic fraction of rosemary leaves: An HPLC/DAD/MS study. *Talanta*, 85, 167-176. doi:10.1016/j.talanta.2011.03.050.
- Munne-Bosch, S., Alegre, L., Schwarz, K. (2000). The formation of phenolic diterpenes in *Rosmarinus officinalis* L. under Mediterranean climate. *European Food Research and Technology*, 210, 263-267. doi:10.1007/s002179900108.
- Okamura, N., Fujimoto, Y., Kuwabara, S., Yagi, A. (1994). High-performance liquid chromatographic determination of carnosic acid and carnosol in *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. *Journal of Chromatography A*, 679 (2), 381-386. doi:10.1016/0021-9673(94)80582-2.
- Özcan, M.M., Chalchat, J.C. (2008). Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59 (7-8), 691-698. doi:10.1080/09637480701777944.
- Sasikumar, B., 2004. Rosemary. In: *Handbook of Herbs and Spices*, Peter, K.V. (ed.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, pp. 243-255
- Silva, E.K., Zabet, G.L., Náthia-Neves, G., Nogueira, G.C., Meireles, A.M.A. (2018). Process engineering applying supercritical technology for obtaining functional and therapeutic products. In: *Advances in Biotechnology for Food Industry*, Holban, A.M., Grumezescu, A.M. (eds.), Academic Press, UK, pp. 327-358.
- Troncoso, N., Sierra, H., Carvajal, L., Delpiano, P., Gunther, G. (2005). Fast high performance liquid chromatography and ultraviolet-visible quantification of principal phenolic antioxidants in fresh rosemary. *Journal of Chromatography A*, 1100, 20-25. doi:10.1016/j.chroma.2005.09.008.

Türker, A.H. (2010). Carnosic acid and carnosol contents of some rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) ecotypes of Eastern Mediterranean Region of Turkey”, International PSE Symposium on Terpenes - Application, Activity & Analysis, 26-29 September 2010, İstanbul, Turkey.

Vargas, P. (2020). The mediterranean floristic region: High diversity of plants and vegetation types. In: *Encyclopedia of the World's Biomes*, Goldstein, M.I., DellaSala, D.A. (eds.), Elsevier Inc., Netherland, pp. 602-616

Yeddes, W., Chalghoum, A., Aidi-Wannes, W., Ksouri, R. Tounsi, M.S. (2019). Effect of

bioclimatic area and season on phenolics and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves. *Journal of Essential Oil Research*, 31 (5), 1-12. doi:10.1080/10412905.2019.1577305

Zabot, G.L., Moraes, M.N., Rostagno, M.A., Meireles, A.A. (2014). Fast analysis of phenolic terpenes by high performance liquid chromatography using a fused core column. *Analytical Methods*, 6, 7457-7468. doi:10.1039/C4AY01124D.



YEŞİL ÇAY EKSTRAKTININ AYÇİÇEK, SOYA VE FINDIK YAĞINDA DOĞAL ANTİOKSİDAN OLARAK KULLANIMININ OKSİDATİF STABİLİTE ÜZERİNE ETKİSİNİN KİNETİK VE TERMODİNAMİK ÇALIŞMALARLA DEĞERLENDİRİLMESİ

Cansu Ekin Gümüş-Bonacina*

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

Geliş / *Received*: 31.01.2022; Kabul / *Accepted*: 27.04.2022; Online baskı / *Published online*: 11.05.2022

Gümüş-Bonacina, C.E. (2022). Yeşil çay ekstraktının ayçiçek, soya ve fındık yağında doğal antioksidan olarak kullanımının oksidatif stabilite üzerine etkisinin kinetik ve termodinamik çalışmalarla değerlendirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (3) 502-517 doi: 10.15237/gida.GD22016

Gümüş-Bonacina, C.E. (2022). Evaluation of the effect of green tea extract utilization as a natural antioxidant in sunflower, soybean and hazelnut oil on oxidative stability by kinetic and thermodynamic studies. GIDA (2022) 47 (3) 502-517 doi: 10.15237/gida.GD22016

ÖZ

Tüketicilerin temiz etiketli gıdalara olan yöneliminin artmasıyla birlikte gıda endüstrisi sentetik gıda bileşenlerine alternatif olarak kullanılacak doğal içeriklerin arayışına girmiştir. Yemeklik yağlar ve yağlı gıdaların raf ömrünü kısıtlayan temel unsur lipit oksidasyonudur ve bunu engellemek için gıdalara antioksidanlar ilave edilmektedir. Gıdaların lipit oksidasyonuna dayanıklılıkları oksidatif stabiliteyi belirler ve bu özellik yüksek sıcaklıklarda hızlandırılmış yöntemlerle ölçülebilmektedir. Bu çalışmada, yeşil çay ekstraktının yaygın tüketilen bitkisel yemeklik yağlarda (Ayçiçek, soya ve fındık) doğal antioksidan olarak kullanımıyla oksidatif stabiliteyi belirleyen değişimler, kinetik yöntemler kullanılarak yüksek sıcaklıklarda elde edilen verilerin ortam sıcaklığına uyarlamalarına da değinilerek ele alınmıştır. Sonuçlara göre, yeşil çay ekstraktı (YÇE) eklenen örneklerde indüksiyon periyodu beklendiği şekilde daha yüksek bulunurken, YÇE eklenen örneklerde reaksiyon hız sabiti (k) ve Q₁₀ değerleri, YÇE eklenmemiş olan bitkisel yağlara kıyasla daha düşük çıkmıştır. YÇE eklenmiş bitkisel yağların aktivasyon enerjilerinin (E_a) de arttığı görülmüştür. Yüksek E_a değeri, lipit oksidasyonuna karşı direncin yüksek olduğu anlamına gelmektedir.

Anahtar kelimeler: Yeşil çay ekstraktı, bitkisel yağ, lipit oksidasyonu, ransimat, indüksiyon periyodu, doğal antioksidan

EVALUATION OF THE EFFECT OF GREEN TEA EXTRACT UTILIZATION AS A NATURAL ANTIOXIDANT IN SUNFLOWER, SOYBEAN AND HAZELNUT OIL ON OXIDATIVE STABILITY BY KINETIC AND THERMODYNAMIC STUDIES

ABSTRACT

With the increasing attention of consumers for clean-label foods, the food industry has been in search of natural ingredients as alternatives to synthetic ones. The main factor limiting the shelf life of edible oils is lipid oxidation, and antioxidants are added to foods to prevent this. The resistance of foods to lipid oxidation determines their oxidative stability, which can be measured by accelerated methods at

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉: cegumus@ankara.edu.tr

☎: (+90) 312 203 3680

☎: (+90) 312 212 7464

Cansu Ekin Gümüş-Bonacina; ORCID no: 0000-0003-3137-5617

elevated temperatures. In this study, the oxidative stability of widely consumed vegetable edible oils (sunflower, soybean and hazelnut) and the effect of green tea extract as a natural antioxidant were discussed, using exploration of data to ambient temperature by kinetic methods. As a result, the induction period was higher, and the reaction rate constant and Q_{10} values were lower in the samples with green tea extract (GTE). Moreover, the activation energies of vegetable oils with added GTE were higher.

Keywords: Green tea extract, vegetable oil, lipid oxidation, ransimat, induction period, natural antioxidant

GİRİŞ

Artan dünya nüfusu ile başa çıkmak adına gıda atığının minimum seviyeye indirilmesi amacıyla gıdaların raf ömürlerinin uzatılması oldukça önemli bir stratejidir. Yemeklik yağların raf ömrünü etkileyen en önemli unsur, birçok gıda maddesinin aksine mikrobiyolojik bozulma değil yağ acılaşması olarak da bilinen lipit oksidasyonudur. Günümüzde gıdaların temiz içerikli ve gıda bileşenlerinin doğal kökenli olması birçok tüketici için tercih sebebidir. Gıda endüstrisi de tüm gıda bileşenlerinde olduğu gibi, lipit oksidasyonunu geciktirmek amacıyla gıdalara katılan antioksidan maddelerin de doğal alternatiflerinin arayışı içerisinde.

Yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi içeren yağlar, kötü aroma oluşumu ve renk bozulmasına yol açan oksidatif bozulmaya karşı daha hassastır. Ayçiçek yağı, toplam yağ asidi içeriğinin %68-72'sini oluşturan linoleik asit (C18:2) başta olmak üzere yüksek çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeriği nedeniyle besleyici olarak kabul edilen bir bitkisel yağdır (Upadhyay ve Mishra, 2015a,b). Zayıf oksidatif stabiliteye sahip olan soya yağının linoleik asit (C18:2) içeriği ise, yaklaşık %48'dir (Ivanov vd., 2010; Gerde vd., 2021). Fındık yağı ise, %81 oleik asit (C18:1) ve yaklaşık %16 linoleik asit (C18:2) içeriğine sahiptir (Karabulut vd., 2005).

Lipit oksidasyonu, katı ve sıvı yağların bozulmasının önemli bir nedenidir. Lipit oksidasyonu sonucunda kalite ve besin değeri kayıpları ve hoş olmayan tatların gelişimi meydana gelir. Oksidatif stabilite, tanımlanmış koşullar altında oksidasyona karşı direnç olarak bilinir ve genellikle oksidasyon oranındaki ani bir artışa karşılık gelir. Oksidasyon normalde bu noktaya ulaşılan kadar çok yavaş ilerlediğinden, bu zaman periyodu indüksiyon periyodu (IP) olarak bilinir

(Velasco vd., 2004). İndüksiyon periyodu, oksidatif stabilitenin bir ölçüsüdür ve bileşiklerin antioksidan potansiyelini kanıtlamak için kullanılabilir (Upadhyay ve Mishra, 2015a,b).

Raf ömrü testleri, belirli gıda ürünlerine uygulanması gereken nispeten pahalı analizlerdir. Yağ stabilite indeksi (YSİ) yöntemi olarak da bilinen Ransimat yöntemi kullanılarak, yağların oksidatif stabilitesi, birkaç saat içinde yüksek sıcaklıklarda ve oksijen veya hava akışı varlığında değerlendirilebilir. Numunenin indüksiyon periyodunun bitiş noktasına ulaşması için gereken süre, Yağ Stabilite İndeksi (YSİ) olarak adlandırılır (Pike, 2001). Bitkisel yağların ve yağlı gıdaların YSİ değeri Ransimat cihazı ile ölçülebilmektedir. Ransimat cihazıyla elde edilen YSİ verilerinin, test koşullarındaki yüksek sıcaklıklara karşı doğal logaritmasının grafiği çizilerek ve oda sıcaklığına ekstrapolasyon yapılarak, örneklerin ortam koşulları da dahil farklı sıcaklık aralığındaki raf ömrü de tahmin edilebilmektedir (Farhoosh, 2007a; Farhoosh vd., 2008).

Tert bütül hidrokinon (TBHQ), bütül hidrokinon (BHT) ve bütül hidroksi anisol (BHA) gibi bileşikler, yağlı gıdaların raf ömürlerini artırmak için kullanımına izin verilmiş olan sentetik antioksidanlardır. Bununla birlikte, sentetik antioksidanların kullanımının insan sağlığıyla ilgili endişelere sebep olması nedeniyle, gıda endüstrisi sentetik antioksidanlar yerine genellikle daha güvenli olan doğal kaynaklı alternatifleri aramaktadır (Umeda ve Jorge, 2021). Gıda ürünlerinde uygulanabilecek potansiyel bir antioksidan kaynağı olarak baharat, çay ve tohumlar gibi bitkisel kaynaklardan elde edilen doğal ekstraktların değerlendirilmesiyle ilgili çalışmalar mevcuttur (Zhao vd., 2019; Tzima vd., 2020). Örneğin, sentetik antioksidanlara etkili bir alternatif olarak biberiye ekstraktının ve içeriğinde

bulunan karnosol ve karnosik asit bileşiklerinin potansiyel kullanımı soya, mısır, pirinç kepeği, yer fıstığı ve pamuk tohumu yağlarında belirlenmiştir (Frankel vd., 1996; Yang vd., 2016). Ayrıca, kekik yağı, flavonoidler (kersetin, kaemferol, mirisetin), kateşinler veya fenoller (rosmanol, rosamaridifenol) ve fenolik asitler (rosmarinik asit) gibi çeşitli bireysel antioksidanlar içeren bitki özleri farklı yemeklik yağların oksidatif stabilitesini arttırmada kullanılan doğal antioksidan alternatifleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Yanishlieva ve Marinova, 2001).

Çay polifenolleri, özellikle flavonoidler, antioksidan özelliğe sahiptirler. Yeşil çay polifenollerinin antioksidan aktivitesi, kimyasal yapılarındaki aromatik halkalar ve hidroksil gruplarının kombinasyonuna ve ortamdaki serbest radikallerin bu hidroksil grupları tarafından bağlanmasına atfedilir (Senanayake, 2013). Ayrıca, çay kateşinleri prooksidan özelliğe sahip geçiş metal iyonlarını şelatlayarak lipit peroksidasyonunu engeller. Yeşil çayın antioksidan kapasitesi, siyah çaydan çok daha yüksektir, çünkü yeşil çayda epigallokateşin gallat gibi kateşinler çok daha yüksek miktarda bulunmaktadır (Lee vd., 2002). Bu nedenle, yeşil çay özütü, sürülebilir yağ ürünlerinde test edildiğinde geleneksel bir sentetik antioksidan olan TBHQ ile karşılaştırılabilir antioksidan performansı göstermiş, ayrıca diğer doğal antioksidan kaynaklarından daha uygun maliyetli olduğu bildirilmiştir (Senanayake, 2013). Yeşil çay özütü, yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri içeriğine sahip olan oksidasyona karşı duyarlı ürünler için ideal bir doğal antioksidan olarak kullanılabilir.

Ransimat test koşulları altında bir dizi kinetik parametre oldukça hızlı şekilde belirlenebilir. Kinetik veriler, her bitkisel yağlardaki oksidatif stabilite dahil bir takım farklılıkları veya benzerlikleri karakterize etmek için kullanılabilir (Farhoosh vd., 2008). Ancak, bu konu çok araştırılmamıştır ve kullanım kolaylığı, zaman tasarrufu ve uygun tekrarlanabilirlik sağlayan Ransimat testi ile yağlarda oksidatif bozulma kinetiğine ilişkin veriler azdır (Farhoosh vd., 2008; Gülmez ve Şahin, 2019). Özellikle fındık yağı ile

ilgili çok sınırlı veri bulunmaktadır. Bu nedenle, bu çalışma kapsamında, çeşitli bitki kaynaklarından elde edilen ve farklı yağ asidi profiline sahip bazı bitkisel yağların (Ayçiçek, soya ve fındık) nispi oksidatif stabiliteleri ve bunların oksidasyonunun kinetik parametreleri, Ransimat test koşulları altında belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, yeşil çay ekstraktının doğal bir antioksidan olarak yemeklik bitkisel yağlarda kullanımı da değerlendirilmiştir. Raf ömrü modeli, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak indüksiyon periyodu kullanılarak oluşturulmuştur.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Rafine fındık yağı ve ayçiçek yağı Ankara'daki bir marketten alınmıştır. Üretim tarihi en güncel olan yağlar tercih edilmiştir. Rafine soya yağı ise Dia Bakliyat (Çorum) tarafından sağlanmıştır. Ön deneme analizlerinde, eklenecek ekstraktın miktarını belirlemek için ayçiçek yağına 200, 400 ve 600 mg/kg yeşil çay ekstraktı katılmıştır. Çalışmada, yerel bir marketten alınmış olan sade yeşil çay örneği ve etanol (1:10) kullanılarak Mildner-Szkudlarz vd. (2009) tarafından belirtilen şekilde hazırlandıktan sonra dondurarak kurtulmuş yeşil çay ekstraktı kullanılmıştır. Toz ekstraktlar tartılarak 10 mL etanol içerisinde 1 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Ardından üzerine bitkisel yağlar eklenerek 1 saat daha karıştırılmıştır. Etanol, rotary evaporatörde 60°C'de 20 dk süre ile uzaklaştırılmıştır. Örneklerin, renk (L, a*, b*) ve oksidatif stabilite (Ransimat) analizleri yapılmıştır.

Yöntem

Yağ asidi kompozisyonu

Yağ asidi bileşimi, oda sıcaklığında metanol içinde 2 M KOH ile yağ asidi metil esterlerine türevlendirildikten sonra, gaz kromatografisi (GC-2010, Shimadzu, Kyoto; Japonya) kullanılarak analiz edilmiştir (Anonymous, 1987). Kromatografik analiz, 230 °C'de enjeksiyon bloğu, 1:1 bölme oranı ile çalışan split enjektör, DB-23 kapiler kolon (30 m, 0.25 mm i.d. ve film kalınlığı 0.25 µm) ve 240 °C'de bir alev iyonizasyon detektörü (FID) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak Helyum (33.3 mL/dk) kullanılmıştır ve 190 °C'de 25 dk'lık sıcaklık programı uygulanmıştır. Tanımlama

işlemi, yağ asidi metil esterlerinin alkonma süreleri ile referans standartların alkonma sürelerinin karşılaştırılması ile gerçekleştirilmiştir ve analiz sonuçları, metil esterlerin yüzdesi olarak verilmiştir.

Peroksit değeri

Peroksit analizi AOCS Official Method Cd 8-53'e göre yapılmıştır ve sonuçlar meq O₂/kg olarak verilmiştir (Anonymous 1989a).

Renk ölçüm tayini

Yağ örneklerinin renginde meydana gelen değişimler AOCS Official Method Cc 13e-92'ye uygun olarak ölçülmüştür (Anonymous, 1989b). Ölçümler, spektrofotometrik renk ölçer (PFXi-195/3, Lovibond, Birleşik Krallık) kullanılarak CIE L*a*b* renk uzayına göre gerçekleştirilmiştir. Toplam renk farkı, tek bir değer kullanılarak bitkisel yağların renk yoğunluğundaki farklılıkları karşılaştırmak için şu şekilde hesaplanmıştır (McGuire, 1992):

$$\Delta E = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2} \quad (1)$$

Ransimat yöntemi ile indüksiyon periyodunun belirlenmesi
Rafine bitkisel yağ numunelerinin indüksiyon süresini değerlendirmek için ransimat cihazı (Ransimat 743, Metrohm, İsviçre) kullanılmıştır. Denemeler, 3 g yağ numunesi ile 100, 110, 120 ve 130°C sıcaklıklarda, 20 L/h hava akış hızında gerçekleştirilmiştir.

Kinetik veri analizi

Ransimat yöntemi ile yüksek sıcaklıklarda ($\geq 100^\circ\text{C}$) elde edilen indüksiyon periyodu verilerini kullanarak düşük sıcaklıklardaki raf ömrünün tahminini yapabilmek için sıcaklığa ($^\circ\text{C}$) karşı indüksiyon periyodunun (saat) doğal logaritmasının grafiği çizilmiştir. Böylece, ekstrapolasyon ile rafine bitkisel yağların düşük sıcaklıklardaki (20°C) raf ömürleri hesaplanabilmiştir. Çizgilerin eğimleri sıcaklık katsayılarını vermektedir. Q₁₀ sayıları, T ve T+10 sıcaklıklarındaki İP'ler kullanılarak, İP_T/ İP_{T+10°C} olarak hesaplanmıştır (Kaya vd., 1993; Farhoosh, 2007a,b).

Aktivasyon enerjileri (E_a, kJ/mol), Arrhenius denklemi kullanılarak 1/T'ye karşı ln (k)

regresyonu ile oluşturulan çizgilerin eğimlerinden belirlenmiştir (Farhoosh vd., 2008):

$$\ln (k) = \ln (A) - (E_a/RT) \quad (2)$$

Burada, k, reaksiyon hızı sabiti (1/saat olarak İP⁻¹) ve R, gaz sabitidir (8.3143 J/mol K).

Bir kimyasal sürecin termodinamiği, bir sistemin doğası hakkında bilgi sahibi olmak için bir zorunluluktur (Gülmez ve Şahin, 2019). Bu nedenle, entalpi (ΔH^{++}) ve entropi (ΔS^{++}), aktifleştirilmiş kompleks teorisinden türetilen Eyring denklemi kullanılarak 1/T'ye karşı ln (k/T) regresyonu yapılarak belirlenmiştir (Farhoosh vd., 2008; Gülmez ve Şahin, 2019):

$$\ln (k/T) = \ln (k_B/h) + (\Delta S^{++}/R) - (\Delta H^{++}/RT) \quad (3)$$

Burada k_B, Boltzmann sabitidir (1.380658×10^{-23} J/K) ve h, Planck sabitidir ($6.6260755 \times 10^{-34}$ J s). Doğruların eğimlerinden ve kesişimlerinden sırasıyla ΔH^{++} ve ΔS^{++} hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Araştırmada iki tekerrürlü çalışılmış olup elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi bir istatistik programı (SPSS 25, IBM, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığı tek yönlü Varyans Analiz Tekniği (ANOVA), farklılıkların hangi gruplardan kaynaklandığı ise ($P < 0.05$) Tukey testi kullanılarak araştırılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bitkisel yağların fizikokimyasal özellikleri

Örneklere ait yağ asidi profilleri Çizelge 1'de verilmiştir. Fındık yağının toplam doymamış yağ asidince ayçiçek ve soya yağına göre önemli ölçüde daha zengin ve tekli yağ asidi: çoklu yağ asidi oranının (T:Ç) ise çok daha yüksek olduğu göze çarpmaktadır ($P < 0.05$). Farhoosh ve Hoseini-Yazdi (2013), zeytinyağı örneklerinde oksidatif olarak kararlı olan yağ numunelerinin T:Ç oranının yüksek bulunduğunu vurgulamaktadır. Çalışma kapsamında temel yağ asidi oleik asit (C18:1) olan fındık yağı (%79.56) ile temel yağ asidi linoleik asit (C18:2) olan soya yağı (%54.39) ve ayçiçek yağı (%52.17), oksidatif stabilite ve sıcaklık parametreleri bakımından ele alınmıştır.

Çizelge 1. Bitkisel yağlara ait (a) Doymuş ve (b) Doymamış yağ asidi (y.a.) dağılımı ile (c) toplam yağ asidi oranları

Table 1. (a) Saturated and (b) Unsaturated fatty acid distribution and (c) total fatty acid (f.a.) ratios of vegetable oils

a.	C 14:0	C 16:0	C 17:0	C 18:0	C 20:0	C 22:0
Ayçiçek/ <i>Sunflower</i>	0.08±0.00 ^a	6.71±0.00 ^b	0.03±0.01 ^a	3.11±0.00 ^b	0.04±0.00 ^b	0.20±0.00 ^b
Soya/ <i>Soybean</i>	0.06±0.00 ^b	10.99±0.04 ^a	0.07±0.02 ^a	3.82±0.11 ^a	1.15±0.01 ^a	0.29±0.00 ^a
Fındık/ <i>Hazelnut</i>	0.03±0.00 ^c	5.48±0.02 ^c	0.02±0.03 ^a	2.02±0.04 ^c	0.03±0.00 ^b	0.10±0.01 ^c

Her sütun için farklı harflere sahip veri noktaları birbirinden önemli ölçüde farklıdır ($P < 0.05$).

For each column, data points with different letters are significantly different from each other ($P < 0.05$).

b.	C 16:1	C 17:1	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 22:1	C 20:1
Ayçiçek/ <i>Sunflower</i>	0.15±0.00 ^c	0.04±0.02 ^a	37.34±0.01 ^b	52.17±0.02 ^b	0.04±0.00 ^b	t.e./n.d.	0.09±0.00 ^a
Soya/ <i>Soybean</i>	0.06±0.00 ^b	0.05±0.02 ^a	23.61±0.20 ^c	54.39±0.16 ^a	5.24±0.02 ^a	0.07±0.01 ^b	0.10±0.02 ^a
Fındık/ <i>Hazelnut</i>	0.17±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	79.56±0.16 ^a	12.28±0.02 ^c	t.e./n.d.	0.14±0.00 ^a	0.11±0.02 ^a

t.e.:tespit edilemedi, n.d.:not detected

Her sütun için farklı harflere sahip veri noktaları birbirinden önemli ölçüde farklıdır ($P < 0.05$).

For each column, data points with different letters are significantly different from each other ($P < 0.05$).

c.	Toplam doymuş y.a. /Total saturated f.a.	Toplam doymamış y.a. /Total unsaturated f.a.	Toplam tekli doymamış y.a. /Total monounsaturated f.a.	Toplam çoklu doymamış y.a. /Total polyunsaturated f.a.	Tekli:Çoklu y.a. oranı /mono:poly unsaturated f.a.ratio
Ayçiçek/ <i>Sunflower</i>	10.18±0.01 ^b	89.82±0.01 ^b	37.62±0.03 ^b	52.20±0.02 ^b	0.72±0.00 ^b
Soya/ <i>Soybean</i>	16.38±0.03 ^a	83.62±0.03 ^c	23.98±0.15 ^c	59.65±0.18 ^a	0.40±0.00 ^c
Fındık/ <i>Hazelnut</i>	7.67±0.11 ^c	92.33±0.11 ^a	80.04±0.13 ^a	12.28±0.02 ^c	6.52±0.02 ^a

Her sütun için farklı harflere sahip veri noktaları birbirinden önemli ölçüde farklıdır ($P < 0.05$).

For each column, data points with different letters are significantly different from each other ($P < 0.05$).

Söz konusu bitkisel yağların başlangıç peroksit değerleri ayçiçek ve soya yağı için benzer şekilde ve 1 meq O₂/kg'ın altında, sırasıyla, 0.97±0.02 ve 0.89±0.17 meq O₂/kg olarak bulunmuştur ($P > 0.05$). Fındık yağının peroksit değeri ise soya ve ayçiçek yağından önemli derecede yüksek ($P < 0.05$), ancak yasal sınırın (10 meq O₂/kg) oldukça altındadır (3.45±0.69 meq O₂/kg).

Yeşil çay ekstraktının renginin koyu olması sebebiyle, çalışma öncesi ön denemelerle bu rengin yağı nasıl etkileyeceği değerlendirilmiştir. Bu amaçla ayçiçek yağına 200, 400 ve 600 mg/kg konsantrasyonlarda katılan çay özütünün meydana getirdiği toplam renk değişimi değeri (ΔE) giderek artmıştır (veriler gösterilmemiştir). Ancak, en düşük konsantrasyonda dahi ayçiçek yağının 100°C'deki indüksiyon periyodu %30'dan fazla artış göstermiştir (veriler gösterilmemiştir). Bu nedenlerle, çalışmada farklı yemeklik bitkisel yağlara (ayçiçek, soya ve fındık yağları) 200 mg/kg yeşil çay ekstraktı (YÇE) katılması uygun bulunmuştur.

Örneklerin görünüşünde ve renginde çay özütü katıldıktan sonra meydana gelen değişim Şekil 1 ve Çizelge 2'de verilmiştir. YÇE katıldıktan sonra yağ renginde meydana gelen değişimin karşılaştırılması adına, 200 mg/kg YÇE eklenmesi sonrası renk değişimi (ΔE^*) değeri hesaplanmıştır. Buna göre ayçiçek, soya ve fındık yağlarındaki renk değişimi sırasıyla, 23.5±0.6, 24.9±0.3 ve 23.3±0.9 olmuştur. Üç yağdaki ΔE^* değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen ($P > 0.05$), fındık yağında nispeten daha belirgin bir renk değişimi meydana gelmiştir. Fındık yağının karotenoid içeriğinin, soya ve ayçiçek yağlarına göre neredeyse 10 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (Nikolova vd., 2012). Fındık yağına eklenen YÇE sonucu optik görünümün karotenoid etkisiyle daha çok göze çarpmakta olduğu düşünülebilir. Ancak, üç yağda da ekstrakt eklenmesi sonucu herhangi bir bulanıklık, koku veya hoş olmayan görüntü meydana gelmemiştir.



YÇE: Yeşil çay ekstraktı, GTE: Green tea extract
 Şekil 1. Yeşil çay ekstraktı (200 mg/kg) ekleme öncesi ve sonrası bitkisel yağlar
 Figure 1. Vegetable oils before and after the addition of green tea extract (200 mg/kg)

Çizelge 2. Bitkisel yağların renk parametreleri
 Table 2. Color parameters for vegetable oils

Bitkisel yağ/ Vegetable oil	L*	a*	b*
Ayçiçek/ Sunflower	92.6±0.1 ^a	-8.7±0.1 ^d	31.8±0.1 ^e
Soya/ Soybean	93.1±0.1 ^a	-10.3±0.0 ^e	42.3±0.1 ^d
Fındık/ Hazelnut	84.5±0.6 ^b	-4.4±0.1 ^b	73.6±0.3 ^a
Ayçiçek+ YÇE/ Sunflower + GTE	71.9±0.6 ^c	-5.8±0.2 ^c	42.5±0.0 ^d
Soya +YÇE/ Soy + GTE	69.7±0.5 ^d	-5.7±0.1 ^c	49.1±0.3 ^c
Fındık + YÇE/ Hazelnut + GTE	62.9±0.2 ^e	0.9±0.0 ^a	66.7±0.1 ^b

YÇE: Yeşil çay ekstraktı, GTE: Green tea extract

Her sütun için farklı harflere sahip veri noktaları birbirinden önemli ölçüde farklıdır ($P < 0.05$).

For each column, data points with different letters are significantly different from each other ($P < 0.05$).

Ransimat yöntemi ile indüksiyon periyodunun belirlenmesi ve Kinetik veri analizi

İndüksiyon periyodu (İP), hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağların oksidatif stabilite değerlendirmesi için önemli bir parametredir. İP'nin Ransimat yöntemiyle ölçümü, katı ve sıvı yağlar yüksek sıcaklıklarda ($\geq 100^\circ\text{C}$) ve hızlandırılmış havalandırma (20 L/saat) altında oksidasyona uğradığında kısa zincirli bileşiklerin oluşumuyla suyun elektriksel iletkenliğinde meydana gelen değişikliklerin ölçülmesine dayanır (Velasco vd., 2004; Upadhyay ve Mishra, 2015a,b). İP ne kadar yüksekse, oksidatif stabilite

de o kadar yüksektir. Yani, antioksidan madde ilave edilen yağların İP'sinde bir artış meydana gelir.

Numunelerin Ransimat cihazı ile farklı sıcaklıklarda elde edilen indüksiyon periyodu sonuçları Çizelge 3'te sunulmuştur. Buna göre tüm sıcaklıklarda İP şu sıra ile azalmaktadır: fındık+YÇE> soya+YÇE> ayçiçek+YÇE> fındık> ayçiçek> soya. Fındık yağının oksidatif stabilitesi daha önce de bahsedildiği gibi yüksek tekli: çoklu yağ asidi oranına bağlanabilir. Aynı şekilde fındık yağının daha az oranda çoklu doymamış yağ asidi içermesi de soya ve ayçiçek

yağına göre daha yüksek oksidatif stabiliteye sahip olmasının bir diğer sebebi olarak gösterilmektedir (Javidipour vd., 2017).

Çizelge 3. Yağ örneklerinin induksiyon periyotları (saat)
Table 3. Induction periods of oil samples (hours)

	100°C	110°C	120°C	130°C
Ayçiçek/ <i>Sunflower</i>	13.79±0.52 ^{cd}	6.75±0.25 ^e	3.40±0.22 ^{cd}	1.89±0.04 ^c
Soya/ <i>Soybean</i>	11.30±0.22 ^c	5.42±0.11 ^f	3.04±0.25 ^c	1.65±0.17 ^c
Fındık/ <i>Hazelnut</i>	16.88±0.08 ^c	7.63±0.04 ^d	3.86±0.08 ^c	2.05±0.11 ^c
Ayçiçek+ YÇE/ <i>Sunflower + GTE</i>	23.01±0.19 ^b	10.88±0.12 ^c	5.17±0.13 ^b	2.58±0.03 ^b
Soya +YÇE/ <i>Soy + GTE</i>	25.49±1.00 ^b	11.81±0.04 ^b	5.82±0.12 ^b	2.92±0.16 ^b
Fındık + YÇE/ <i>Hazelnut + GTE</i>	41.49±2.11 ^a	19.25±0.20 ^a	8.95±0.29 ^a	4.38±0.05 ^a

YÇE: Yeşil çay ekstraktı, GTE: *Green tea extract*

Her sütun için farklı harflere sahip veri noktaları birbirinden önemli ölçüde farklıdır ($P < 0.05$).

For each column, data points with different letters are significantly different from each other ($P < 0.05$).

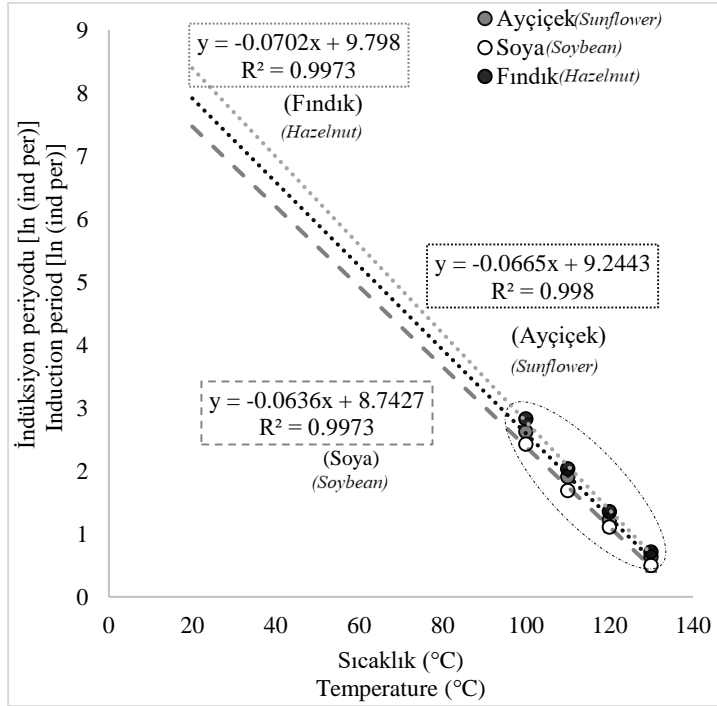
Literatür incelendiğinde, çalışmada kullanılan hava akış hızı (20 L/saat) koşullarında, ayçiçek yağı için İP 100°C'de 2 gram yağ örneği ile 11.95-12.90 saat olarak bulunmuştur (Velasco vd., 2004). Bu çalışmada ise aynı sıcaklıkta, 3 gram yağ örneği ile 13.79 saat bulunmuştur. Kaya vd. (1993), araştırmalarında 5 gram ayçiçek yağı örneğinin 100, 110 ve 120 °C'deki İP'lerini 8.95, 4.38 ve 2.21 saat bulmuştur. Diğer araştırmalarda, yine ayçiçek yağı için İP 5 gram yağ örneği ile 100, 110, 120 ve 130 °C'de sırasıyla 6.03, 2.74, 1.22 ve 0.54 saat (Upadhyay ve Mishra, 2015b) veya 2.5 gram yağ örneği ile 15.0, 7.1, 3.5 ve 2.0 saat olarak bulunmuştur (Kowalski vd., 2004). Bu çalışmada ise Kowalski vd. (2004) ile uyumlu olarak aynı sıcaklıklarda sırasıyla 13.79, 6.75, 3.40 ve 1.89 saat olarak bulunmuştur. Umeda ve Jorge (2021) 3 gram soya yağı için 110°C'de İP'yi 6.65 saat olarak raporlarken bu çalışmada 5.42 saat olarak bulunmuştur. Jebe vd. (1993) soya yağı için 110 ve 130°C'de farklı akış hızında (9 L/saat) İP'leri sırasıyla 8.18 ve 1.75 saat olarak tespit ederken, bu çalışmada kullanılan akış hızında (20 L/saat) bulunan değerler 5.42 ve 1.65 saattir. Çalışmada fındık yağının 100, 110, 120 ve 130°C'de İP'leri sırasıyla, 16.88, 7.63, 3.86 ve 2.05 saat olarak bulunmuştur ve bu değerler daha az miktarda yağ örneği (2.5 g) kullanılarak yapılan başka bir çalışmada sırasıyla, 20.41, 10.05, 5.19 ve 2.69 saatten fazla bulunmuştur (Ciemniewska-Zytkiewicz vd., 2014). Farklı örnek ağırlıklarının,

Ransimat yöntemi ile farklı İP ölçülerine sebep olduğu daha önce literatürde bildirilmiştir (Hill and Perkins, 1995; Farhoosh, 2007a). Araştırma sonuçları ile literatür arasındaki farklılıklar çalışılan örnek ağırlığından ötürü meydana gelmiş olabilir, çünkü çalışılan örnek ağırlığı oksijenle reaksiyonu etkileyen bir faktördür. Çalışmada soya yağının 100, 110 ve 120°C'de İP'leri sırasıyla, 11.30, 5.42 ve 3.04 saat olarak bulunmuştur ve bu değerler birebir aynı koşullarda Li vd. (2019) tarafından yapılan başka bir çalışmada da benzer şekilde sırasıyla, 11.80, 5.87 ve 3.07 saat olarak bulunmuştur.

Beklenildiği üzere, doğal antioksidan olarak YÇE eklenen örneklerin oksidatif stabilitesi daha yüksek bulunmuştur. Yeşil çayın antioksidan özelliği, bulundurduğu polifenollerin serbest radikalleri, demir ve bakır gibi porooksidanları bağlayarak etkisiz hale getirmesine atfedilmektedir (Senanayake, 2013). Literatürde mevcut benzer araştırmalar da, ayçiçek yağına yeşil çay polifenollerini (kateşin, epikateşin ve yeşil çay ekstraktı olarak) eklenmesinin Ransimat metoduyla induksiyon periyodunda önemli derecede bir artış meydana getirdiğini belirlemişlerdir (Gramza vd., 2006; Yin vd., 2012). Yakın zamanda, atık yemeklik yağlardan sentezlenen biyodizellere YÇE eklenmesiyle de İP'de benzer bir artış etkisi tespit edilmiştir (Bharti ve Singh, 2020).

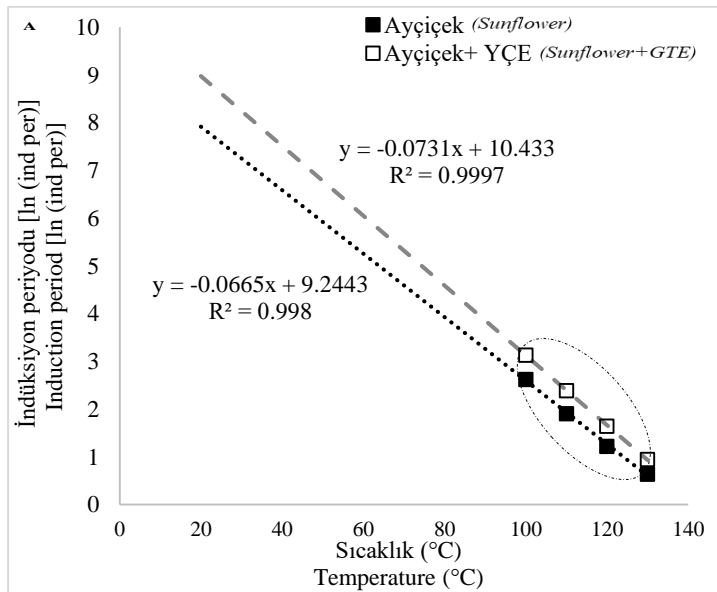
Şekil 2'de bitkisel yağlar için Ransimat cihazıyla yüksek sıcaklıklarda elde edilen YSİ verilerinin, sıcaklığa karşı doğal logaritması ve oda sıcaklığına ekstrapolasyonu görülmektedir. Şekil 3'te ise bitkisel yağlara YÇE ilavesi sonrasında grafikte

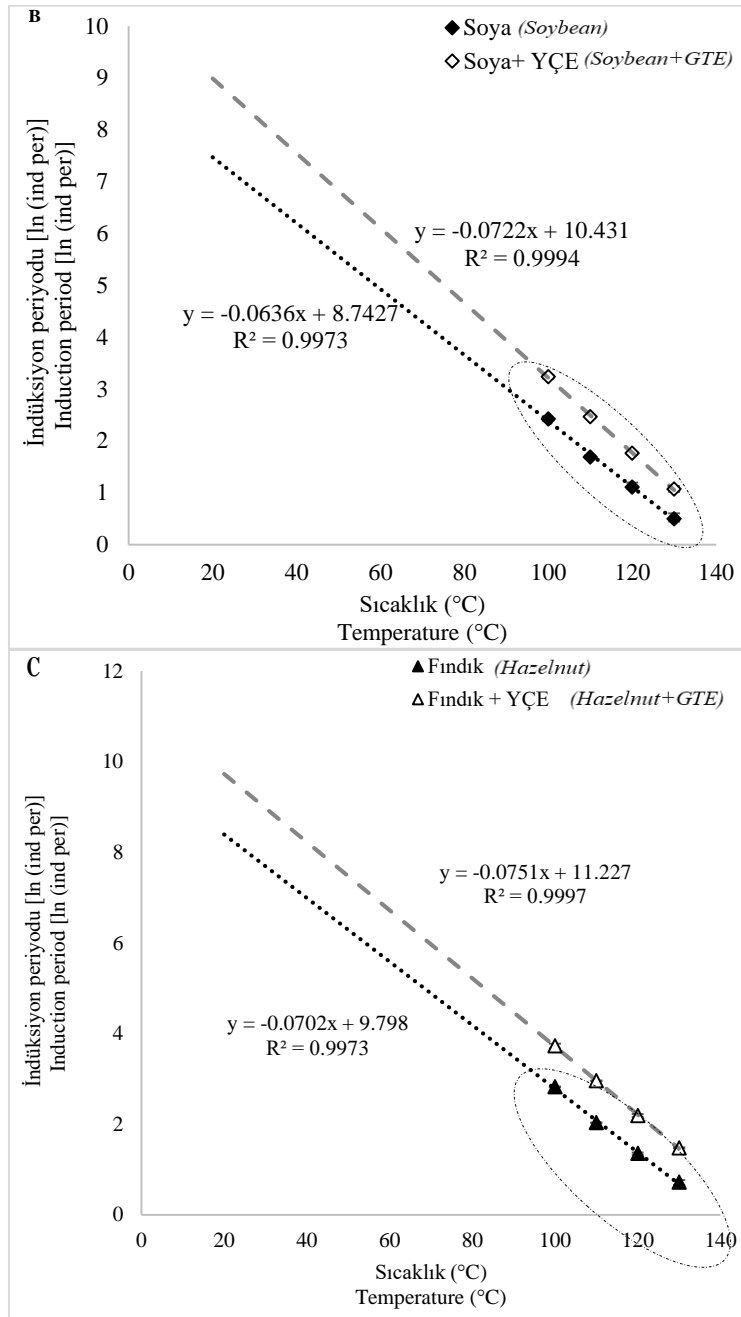
meydana gelen değişimler gösterilmektedir. Çizelge 3'teki sonuçları yansıtan Şekil 2 ve 3 kullanılarak, örneklerin düşük sıcaklıklardaki İP'leri tahmin edilebilmektedir.



Şekil 2. Bitkisel yağların hızlandırılmış koşullardaki indüksiyon periyotlarının daha düşük sıcaklıklara ekstrapolasyonu

Figure 2. Extrapolation of induction periods of vegetable oils under accelerated conditions to lower temperatures





Şekil 3. Bitkisel yağların çay ekstraktı eklenmeden önce ve sonraki hızlandırılmış koşullardaki indüksiyon periyotlarının daha düşük sıcaklıklara ekstrapolasyonu (A. Ayçiçek yağı, B. Soya yağı, C. Fındık yağı)

Figure 3. Extrapolation of induction periods of vegetable oils under accelerated conditions to lower temperatures before and after tea extract is added (A. Sunflower oil, B. Soybean oil, C. Hazelnut oil)

İP'nin doğal logaritması ile sıcaklık arasındaki doğrusal ilişkiden hesaplanan veriler Çizelge 4'te gösterilmektedir. Oda sıcaklığındaki raf ömrünün tahminin yüksek sıcaklıklardaki verilerden ekstrapolasyonla yapılması zamandan oldukça fazla tasarruf sağlayan bir yöntem olarak kullanılsa da bu yönetime karşıt görüşler mevcuttur, çünkü Ransimat, oksidasyonu hızlandırmak için sabit bir hava akışı ve yüksek sıcaklıklar kullanarak ortam depolama koşullarından farklı bir ortamdaki İP'leri ölçmektedir. Bu sıcaklıklarda peroksidasyon mekanizmaları, düşük sıcaklıklardakilerden farklı olabilir (Mendez vd., 1996). Ayrıca, bu yaklaşım, stabilite testi, duyuusal yöntemlerle tespit edilen acılaşmanın ötesinde bir son noktaya dayanıyor olabileceğinden hatalara yol açabilir. Ayrıca, yağların yağ asidi bileşimine bağlı olarak da gerçek raf ömrünün fazla ya da eksik tahmin edilmesine neden olabilir (Kaya vd., 1993; Frankel, 2012; Upadhyay ve Mishra, 2015a). Bu hususlar dikkate alındığında, elde edilen sonuçların, normal olarak depolama koşullarında meydana gelenlerden farklı koşullar altında elde edildikleri için daha düşük sıcaklıklarda (40-60°C) ve daha uzun süre ile (21-30 gün) depolama

yapılan Schaal Fırın testi gibi diğer hızlandırılmış testlere kıyasla daha şüpheli değerlendirilmesi söz konusu olabilir. Kaya vd. (1993), yüksek sıcaklıktaki değerlerin oda sıcaklığına ekstrapolasyonu yaklaşımının, Ayçiçek yağı gibi linoleik asitçe zengin yağların raf ömrünün gerçekten daha düşük, zeytinyağı gibi oleik asitçe zengin yağlarda ise gerçekten daha yüksek tahmin edilmesine sebep olduğunu vurgulamaktadır. Önerildiği gibi, bu çalışmada ekstrapolasyon ile tahmin edilen İP, kontrol Ayçiçek, soya ve fındık yağlarında sırasıyla 3.8, 2.4 ve 6.1 ay olarak tahmin edilmiştir ve bu değerler, bitkisel yağ işleyen firma tarafından verilen Son Kullanma Tarihi (SKT)'nden oldukça düşüktür (18-24 ay). Kısacası, yağların gerçek raf ömrünü belirlemek için oda sıcaklığında depolama deneyleri atlanmamalıdır (Li vd., 2019). Ancak, bu çalışmanın amacı, yüksek sıcaklıklarda alınan İP değerleriyle ortam koşullarındaki raf ömrünün tahmininin yapıp yapılamayacağını tartışılması değil, farklı yağ asidi profiline sahip bitkisel yağların oksidatif stabiliteilerinin ve doğal antioksidan varlığındaki değişimlerin tartışılmasıdır.

Çizelge 4. Ransimat testi ile değerlendirilen İP'nin doğal logaritması ile sıcaklık arasındaki doğrusal ilişkiden hesaplanan sonuçlar

Table 4. The results calculated from the linear relationship between the natural logarithm of the IP assessed by the Rancimat test and the temperature

Bitkisel yağ/ <i>Vegetable oil</i>	IP ₂₀ (saat)	Q ₁₀	T _C (x10 ⁻²)
Ayçiçek/ <i>Sunflower</i>	2736.13	1.62	6.65
Soya/ <i>Soybean</i>	1755.84	1.73	6.36
Fındık/ <i>Hazelnut</i>	4420.46	1.59	7.02
Ayçiçek+ YÇE/ <i>Sunflower + GTE</i>	7871.47	1.50	7.31
Soya +YÇE/ <i>Soy + GTE</i>	7998.43	1.45	7.22
Fındık + YÇE/ <i>Hazelnut + GTE</i>	16730.69	1.36	7.51

YÇE: Yeşil çay ekstraktı, GTE: *Green tea extract*

Sıcaklık etkisinin bitkisel yağların oksidasyon hızı üzerindeki göstergesi olan Q₁₀ değerleri Çizelge 4'te gösterilmektedir. Daha önce soya yağı için Q₁₀ değeri ortalama 2.05 ve 2.18 olarak hesaplanmıştır (Farhoosh, 2007a; Farhoosh, vd. 2008). Bu çalışmada da benzer şekilde 1.73 olarak hesaplanan Q₁₀ değeri, sıcaklıktaki 10°C'lik bir artışın soya yağının İP'sini yaklaşık olarak yarıya indirdiği anlamına gelmektedir. Ayçiçek yağı için Q₁₀ değeri ise daha önce 2.0 ve 2.15 olarak

bildirilmekle beraber (Kaya vd., 1993; Farhoosh vd., 2008) bu çalışmada 1.62 olarak bulunmuştur. Fındık yağı için Q₁₀ değeri daha önce 2.05 olarak bildirilirken (Kochhar ve Henry, 2009) bu çalışmada 1.59 olarak hesaplanmıştır. Yağ numunesi örnek boyutu, hava akış hızı ve sıcaklık, Ransimat çalışmalarında Q₁₀ değerinin belirlenmesini etkileyen operasyonel parametrelerdir (Farhoosh, 2007b). Bu nedenle bu değerlerdeki farklılıklar çalışmalarda kullanılan

farklı parametrelerden kaynaklanıyor olabilir. Genel olarak, daha yüksek bir Q_{10} değeri, lipit oksidasyonu hızlandırmak için daha küçük bir sıcaklık değişikliğinin gerekli olduğu anlamına gelir (Farhoosh vd., 2008). YÇE eklenen örneklerle ait Q_{10} değerleri, YÇE eklenmemiş olan bitkisel yağlara kıyasla daha düşüktür.

Reaksiyon hız sabiti (k), indüksiyon süresinin tersi ile belirtilir, çünkü bitkisel yağların oksidasyonu, numunedeki yağ miktarına kıyasla oksijen konsantrasyonunun yüksek olması nedeniyle birinci dereceden bir reaksiyon olarak ele alınabilir (Tan vd., 2001; Kowalski vd., 2004). Çalışılan sıcaklıklarda bitkisel yağ örneklerinin lipit oksidasyonu için reaksiyon hız sabiti (k) değerleri Çizelge 5'te ve bitkisel yağların lipit oksidasyonu için k ve T değerleri arasındaki yarı logaritmik ilişki ise Şekil 4'te verilmiştir. Şekil 4'te gösterildiği gibi, tüm bitkisel yağlarda k ve T değerleri arasındaki yarı logaritmik ilişki, artan sıcaklıkla lipit oksidasyonu arasında doğrusal bir artış göstermiştir ($R^2 > 0.99$). Sıcaklıktaki artış oksidasyon işleminin reaksiyon hızı sabitinde (k) artışa yol açar (Çizelge 5); yani bu iki değişken arasında doğrusal bir korelasyon mevcuttur

(Gülmez ve Şahin, 2019). Ancak, yüksek sıcaklıklardaki hızlandırılmış testlere dayalı olarak düşük sıcaklıklarda kinetik hız sabitlerinin tahmininin hatalara yol açabileceğini ve yalnızca yaklaşık değerler olarak kabul edilebileceğini unutmamak gerekir (Farhoosh vd., 2008).

Arrhenius denklemi, reaksiyon hız sabiti (k) ile sıcaklık arasındaki ilişkiyi tanımlamak için kullanılır (Gülmez ve Şahin, 2019). Çizelge 6, bitkisel yağlara ait Arrhenius değerleri ile hesaplanan aktivasyon enerjilerini (E_a) göstermektedir. E_a , bir kimyasal reaksiyonun oluşması için gerekli olan minimum enerji miktarıdır. Ayçiçek yağı için bulunan E_a değeri yaklaşık 83.2 kJ/mol olup literatürde belirtilen aralıkla (86.8-90.7 kJ/mol) benzer şekildedir (Kaya vd., 1993; Kowalski vd.; 2004, Farhoosh vd., 2008). Soya yağı için bulunan E_a değeri yaklaşık 79.6 kJ/mol olup literatürde belirtilen aralıkla (78.2-92.4 kJ/mol) uyumludur (Tan vd., 2001; Kowalski vd.; 2004; Farhoosh vd., 2008). Fındık yağı için bulunan E_a değeri yaklaşık 87.8 kJ/mol olup literatürde belirtilen aralıktadır (84.7-94.8 kJ/mol) (Ciemniewska-Zytkiewicz vd., 2014; Gülmez ve Şahin, 2019).

Çizelge 5. Bitkisel yağların farklı sıcaklıklarda reaksiyon hız sabitleri (k) (saat⁻¹)

Table 5. The reaction rate constants (k) of the vegetable oils at different temperatures (hr⁻¹)

Bitkisel yağ/ Vegetable oil	100°C	110°C	120°C	130°C
Ayçiçek/ Sunflower	0.38	0.52	0.82	1.57
Soya/ Soybean	0.41	0.59	0.90	2.01
Fındık/ Hazelnut	0.35	0.49	0.74	1.40
Ayçiçek+ YÇE/ Sunflower + GTE	0.32	0.42	0.61	1.06
Soya +YÇE/ Soy + GTE	0.31	0.41	0.57	0.94
Fındık + YÇE/ Hazelnut + GTE	0.27	0.34	0.46	0.68

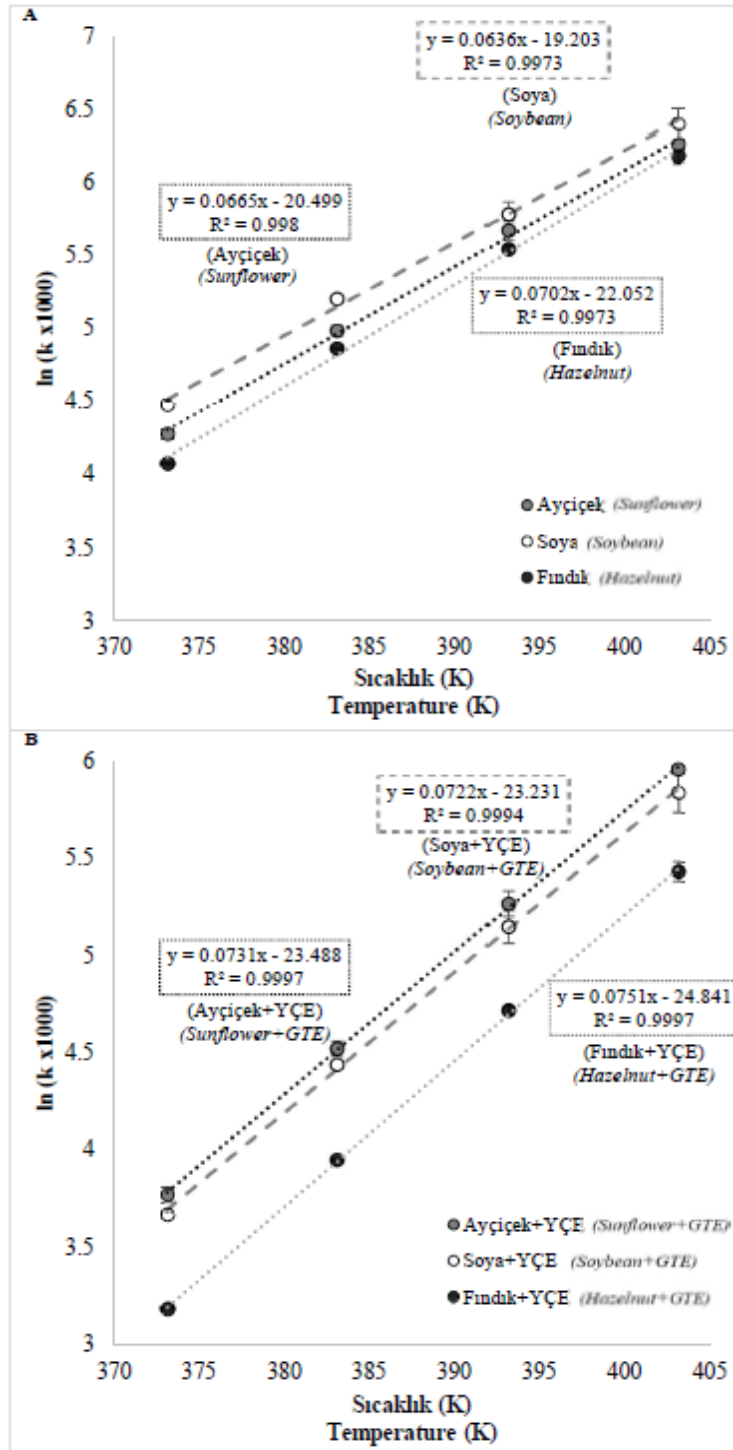
YÇE: Yeşil çay ekstraktı. GTE: Green tea extract

Çizelge 6. Arrhenius parametreleri

Table 6. Arrhenius parameters

Bitkisel yağ/ Vegetable oil	ln k = A (1/T) + B			E_a (kJ/mol)
	A	B	R^2	
Ayçiçek/ Sunflower	-10009	31.118	0.9994	83.218
Soya/ Soybean	-9570.9	30.155	0.9988	79.575
Fındık/ Hazelnut	-10561	32.409	0.9992	87.807
Ayçiçek+ YÇE/ Sunflower + GTE	-10994	33.229	0.9999	91.407
Soya +YÇE/ Soy + GTE	-10856	32.765	1.0000	90.260
Fındık + YÇE/ Hazelnut + GTE	-11302	33.462	0.9999	93.968

YÇE: Yeşil çay ekstraktı. GTE: Green tea extract



Şekil 4. YÇE eklenmiş (A.) ve eklenmemiş (B.) bitkisel yağların lipit oksidasyonu için k ve T değerleri arasındaki yarı logaritmik ilişki.

Figure 4. Semi-logarithmic relationship between k and T values for lipid oxidation of the GTE added (A.) and pure (B.) vegetable oils.

E_a değeri, bitkisel yağların doymamışlık derecesinden etkilenmektedir (Tan vd., 2001; Farhoosh vd., 2008). Yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) içeriğinin aktivasyon enerjisini düşürdüğü, yüksek oranda tekli doymamış yağ asidi (TDYA) ve doymuş yağ asidi (DYA) içeriklerinin ise lipit oksidasyonu aktivasyon enerjisini artırdığı bildirilmiştir (Adhvaryu vd., 2000). Benzer şekilde bu çalışmada da, E_a değeri fındık yağı > ayçiçek yağı > soya yağı olarak azalırken (Çizelge 6), ÇDYA fındık yağı < ayçiçek yağı < soya yağı olarak artmakta ve TDYA ve DYA da fındık yağı > ayçiçek yağı > soya yağı olarak azalmaktadır (Çizelge 1). Yüksek E_a değeri, lipit oksidasyonuna karşı direncin yüksek olduğu anlamına gelmektedir (Farhoosh vd., 2008). Bu nedenle YÇE eklenmiş bitkisel yağların aktivasyon enerjilerinin de arttığı görülmektedir.

Bitkisel yağların lipit oksidasyonu için aktifleştirilmiş kompleks teorisine ve karşılık gelen regresyon parametrelerine dayalı olarak tahmini yapılmış olan aktivasyon entalpileri (ΔH^{++}) ve

entropileri (ΔS^{++}) Çizelge 7'de verilmiştir. Belirlemenin yüksek korelasyonu ($R^2 > 0.99$), aktifleştirilmiş kompleks teorisi kullanılarak lipit oksidasyonunun sıcaklığa bağımlılığını göstermektedir. Pozitif entalpi değişimi miktarı, kimyasal reaksiyonun endotermik olacağını göstermektedir. Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar da farklı bitkisel yağların lipit oksidasyonu sırasında benzer bulgular gözlemlemiştir (Tan vd., 2001; Kowalski vd., 2004; Farhoosh vd., 2008; Gülmez ve Şahin, 2019). Ayrıca, Gülmez ve Şahin (2019)'ün gallik asit ve β -karoten ilavesi yapılan bitkisel yağlarla yaptıkları çalışmalarına benzer şekilde, antioksidan özellikteki YÇE eklenmesi ile bitkisel yağların entalpilerinde artış meydana gelmiştir (lipit oksidasyonu yavaşlar). Pozitif entalpi ile birlikte entropinin negatif değerde olması, kendiliğinden gerçekleşmeyen reaksiyonun işaretidir. Tan vd. (2001)'in de belirttiği gibi, yüksek doymamışlık derecesine sahip bitkisel yağların entropi ve entalpileri daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 7. Bitkisel yağların lipit oksidasyonu için aktivasyon entalpileri (ΔH^{++}) ve entropileri (ΔS^{++})

Table 7. Activation enthalpies (ΔH^{++}) and entropies (ΔS^{++}) for lipid oxidation of the vegetable oils

Bitkisel yağ/ <i>Vegetable oil</i>	$\ln(k/T) = a(1/T) + b$			ΔH^{++} (kJ/mol)	ΔS^{++} (J/mol K)
	a	b	R^2		
Ayçiçek/ <i>Sunflower</i>	-9621.3	17.249	0.9994	79.994	-54.13
Soya/ <i>Soybean</i>	-9183.2	16.287	0.9986	76.352	-62.13
Fındık/ <i>Hazelnut</i>	-10174	18.541	0.9991	84.590	-43.39
Ayçiçek+ YÇE/ <i>Sunflower + GTE</i>	-10607	19.360	0.9999	88.190	-36.58
Soya+YÇE/ <i>Soy + GTE</i>	-10468	18.896	1.0000	87.034	-40.44
Fındık + YÇE/ <i>Hazelnut + GTE</i>	-10941	19.594	0.9999	90.967	-34.64

YÇE: Yeşil çay ekstraktı. GTE: *Green tea extract*

Sonuç olarak, yeşil çay doğal bir antioksidan olarak yaygın tüketilen bitkisel yağlara doğal antioksidan olarak eklenerek yağların oksidatif stabilitelerini artırabilir. Bitkisel yağların, Ransimat yöntemiyle 100°C ve üzerindeki sıcaklıklarda hızlandırılmış şekilde elde edilen indüksiyon periyodu değerlerinin düşük sıcaklıklara ekstrapolasyonu, oda sıcaklığındaki indüksiyon periyodunun belirlenmesinde hatalara sebep olabilir. Ancak, bitkisel yağların lipit oksidasyonunun sıcaklığa bağımlılığı, Arrhenius

denklemini ve aktifleştirilmiş kompleks teorisinden mutlak reaksiyon oranları ile değerlendirilebilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazar, bu çalışmada başka kişi ya da kurum ve kuruluşlar ile bir çıkar çatışması olmadığını bildirmektedir.

KAYNAKLAR

Adhvaryu, A. T. A. N. U., Erhan, S. Z., Liu, Z. S., Perez, J. M. (2000). Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential

- scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Thermochimica Acta*, 364(1-2), 87-97, doi: 10.1016/S0040-6031(00)00626-2.
- Anonymous. (1987). International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Standard methods for analysis of oils, fats and derivatives. 7th ed. Blackwell Scientific Publications, Boston.
- Anonymous. (1989a). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, Method Cd 8-53.
- Anonymous (1989b). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, Method Cc 13e-92.
- Bharti, R., Singh, B. (2020). Green tea (*Camellia assamica*) extract as an antioxidant additive to enhance the oxidation stability of biodiesel synthesized from waste cooking oil. *Fuel*, 262, 116658, doi: 10.1016/j.fuel.2019.116658.
- Ciemińska-Żytkiewicz, H., Ratusz, K., Bryś, J., Reder, M., Koczoń, P. (2014). Determination of the oxidative stability of hazelnut oils by PDSC and Rancimat methods. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 118(2), 875-881, doi: 10.1007/s10973-014-3861-9.
- Farhoosh, R. (2007a). The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(3), 205-209, doi: 10.1007/s11746-006-1030-4.
- Farhoosh, R. (2007b). Shelf-life prediction of edible fats and oils using Rancimat. *Lipid technology*, 19(10), 232-234, doi: 10.1002/lite.200700073.
- Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., Sarabi, M. (2008). Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(6), 587-592, doi: 10.1002/ejlt.200800004.
- Frankel, E. N., Huang, S. W., Prior, E., Aeschbach, R. (1996). Evaluation of antioxidant activity of rosemary extracts, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oil and their emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72(2), 201-208, doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199610)72:2<201::AID-JSFA632>3.0.CO;2-Q.
- Frankel, E.N. (2012). Chapter 7 - Stability methods. In: *Lipid Oxidation*, Editor: Edwin N. Frankel, Second Edition, Woodhead Publishing, the UK, pp. 165-186, ISBN 9780953194988, doi: 10.1533/9780857097927.165.
- Gerde, J.A., Hammond, E. G., Johnson, L. A., Su, C., Wang, T., White, P. J. (2021). Soybean oil. In: *Bailey's industrial oil and fat products*, Editor: F. Shahidi, John Wiley Sons, Ltd. , pp. 1-68, ISBN: 9780471384601, doi: 10.1002/047167849X.bio041.pub2.
- Gramza, A., Khokhar, S., Yoko, S., Gliszczynska-Swiglo, A., Hes, M., Korczak, J. (2006). Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(4), 351-362, doi: 10.1002/ejlt.200500330.
- Gülmez, Ö., Şahin, S. (2019). Evaluation of oxidative stability in hazelnut oil treated with several antioxidants: Kinetics and thermodynamics studies. *LWT - Food Science and Technology*, 111, 478-483, doi: 10.1016/j.lwt.2019.05.077.
- Ivanov, D. S., Lević, J. D., Sredanović, S. A. (2010). Fatty acid composition of various soybean products. *Food and Feed Research*, 37(2), 65-70.
- Javidipour, I., Erinc, H., Baştürk, A., Tekin, A. (2017). Oxidative changes in hazelnut, olive, soybean, and sunflower oils during microwave heating. *International Journal of Food Properties*, 20(7), 1582-1592, doi: 10.1080/10942912.2016.1214963.
- Jebe, T. A., Matlock, M. G., Sleeter, R. T. (1993). Collaborative study of the oil stability index analysis. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(11), doi: 1055-1061, 10.1007/BF02632142.
- Karabulut, I., Topcu, A., Yorulmaz, A., Tekin, A., Ozay, D. S. (2005). Effects of the industrial refining process on some properties of hazelnut

- oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(7-8), 476-480, doi: 10.1002/ejlt.200501147.
- Kaya, A., Tekin, A. R., Öner, M. D. (1993). Oxidative stability of sunflower and olive oils: comparison between a modified active oxygen method and long term storage. *LWT - Food Science and Technology*, 26(5), 464-468, doi: 10.1006/fstl.1993.1091.
- Kochhar, S. P., Henry, C. J. K. (2009). Oxidative stability and shelf-life evaluation of selected culinary oils. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (sup7), 289-296, doi: 10.1080/09637480903103774.
- Kowalski, B., Ratusz, K., Kowalska, D., Bekas, W. (2004). Determination of the oxidative stability of vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat measurement. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(3), 165-169, doi: 10.1002/ejlt.200300915.
- Lee, K. W., Lee, H. J., Lee, C. Y. (2002). Antioxidant activity of black tea vs. green tea. *Journal of Nutrition*, 132(4), 785-785, doi: 10.1093/jn/132.4.785.
- Li, X., Li, Y., Yang, F., Liu, R., Zhao, C., Jin, Q., Wang, X. (2019). Oxidation degree of soybean oil at induction time point under Rancimat test condition: Theoretical derivation and experimental observation. *Food Research International*, 120, 756-762, doi: 10.1016/j.foodres.2018.11.036.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1.
- Pike, O. A. (2001). Assessment of oxidative stability for lipids. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (1), D2-3. 254-1255.
- Méndez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., Valenzuela, A. (1996). Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(8), 1033-1037, doi: 10.1007/BF02523412.
- Mildner-Szkudlarz, S., Zawirska-Wojtasiak, R., Obuchowski, W., Gośliński, M. (2009). Evaluation of antioxidant activity of green tea extract and its effect on the biscuits lipid fraction oxidative stability. *Journal of Food Science*, 74(8), S362-S370, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01313.x.
- Nikolova, K., Eftimov, T., Perifanova, M., Brabant, D. (2012). Quick fluorescence method for the distinguishing of vegetable oils. *Journal of Food Science and Engineering*, 2, 674-684.
- Senanayake, S. N. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications—A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1529-1541, doi: 10.1016/j.jff.2013.08.011.
- Tan, C. P., Man, Y. C., Selamat, J., Yusoff, M. S. A. (2001). Application of Arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(11), 1133-1138, doi: 10.1007/s11746-001-0401-1.
- Tzima, K., Brunton, N. P., Choudhary, A., Rai, D. K. (2020). Chapter 10- Potential Applications of Polyphenols from Herbs and Spices in Dairy Products as Natural Antioxidants. In: *Herbs, Spices and Medicinal Plants: Processing, Health Benefits and Safety*, Editors: Hossain, M.B., Brunton, N.P., Rai, D.K., John Wiley Sons Ltd, pp. 283-299, ISBN 9781119036616, doi: 10.1002/9781119036685.ch10.
- Umeda, W. M., Jorge, N. (2021). Oxidative stability of soybean oil added of purple onion (*Allium cepa* L.) peel extract during accelerated storage conditions. *Food Control*, 127, 108130, doi: 10.1016/j.foodcont.2021.108130.
- Upadhyay, R., Mishra, H. N. (2015). Predictive modeling for shelf life estimation of sunflower oil blended with oleoresin rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and ascorbyl palmitate at low and high temperatures. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 42-49, doi: 10.1016/j.lwt.2014.09.029.
- Upadhyay, R., Mishra, H. N. (2015). Multivariate analysis for kinetic modeling of oxidative stability and shelf life estimation of sunflower oil blended with sage (*Salvia officinalis*) extract under Rancimat conditions. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4), 801-810, doi: 10.1007/s11947-014-1446-z.
- Velasco, J., Andersen, M. L., Skibsted, L. H. (2004). Evaluation of oxidative stability of

vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 85(4), 623-632, doi: 10.1016/j.foodchem.2003.07.020.

Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y., Jiang, L. (2016). Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 80, 141-147, doi: 10.1016/j.indcrop.2015.11.044.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M. (2001). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103(11), 752-767, doi: 10.1002/1438-9312(200111)103:11<752::AID-EJLT752>3.0.CO;2-0.

Yin, J. I. E., Becker, E. M., Andersen, M. L., Skibsted, L. H. (2012). Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with α -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems. *Food Chemistry*, 135(4), 2195-2202, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.025.

Zhao, C. N., Tang, G. Y., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Liu, Q., Mao, Q.Q., Shang, A. Li, H. B. (2019). Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas. *Antioxidants*, 8(7), 215, doi: 10.3390/antiox8070215.

**CHARACTERIZATION of THE PHYSICO-CHEMICAL COMPOSITION,
PHYTO-CHEMICAL PROPERTIES, COOKING CHARACTERISTICS and
BIOACTIVE COMPOUNDS of KONURALP RICE**

Emine Aydın*

Duzce University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Biotechnology, Konuralp-Duzce, Türkiye

Received / Geliş: 12.02.2022; Accepted / Kabul: 31.03.2022; Published online / Online baskı: 16.05.2022

Aydın, E. (2021). *Characterization of the physico-chemical composition, phyto-chemical properties, cooking characteristics and bioactive compounds of konuralp rice*. GIDA (2022) 47 (3) 518-530 doi: 10.15237/gida.GD22022

Aydın, E. (2021). Konuralp pirincinin fiziko-kimyasal bileşeni, fito-kimyasal özellikleri, pişme karakteristikleri ve biyoaktif bileşenleri. GIDA (2022) 47 (3) 518-530 doi: 10.15237/gida.GD22022

ABSTRACT

This is the first study conducted on a variety of rice (*Oryza sativa* L.) traditionally grown in the Konuralp region of the Duzce province, in the West Black Sea region of Türkiye. It investigated the physico-chemical composition, phyto-chemical properties, cooking characteristics and bioactive compounds (total phenolic content, antioxidant activity determined with the methods of ABTS⁺, CUPRAC, DPPH[•] and FRAP) of Konuralp Rice (KR) as well as *in-vitro* bioaccessibility. The proximate chemical composition of the rice was found to be as follows: the moisture content was 13.89%, the protein content was 6.48%, the total dietary fiber was 0.82%, the energy value was 323.44 kcal and the amount of starch was 59.64%. On the other hand, the phytic acid content of the sample was found to be 258.69 mg/100g. The total phenolic content of KR was found to be 2100 mg GAE/100g. The highest antioxidant capacity was found in the method of DPPH[•] for extractable (12.73 µmol trolox/g) and hydrolyzable phenolics (62.50 µmol trolox/g). The antioxidative bioaccessibility were found to be 80.19% (ABTS⁺), 27.96% (CUPRAC), 20.63% (DPPH[•]) and 0.92% (FRAP). Due to the its physico-chemical and phyto-chemical properties as well as its high bioactive component content, more attention should be paid to the traditionally produced KR.

Keywords: Antioxidant capacity, bioaccessibility, chemical composition, cooking properties, rice, total phenolics

**KONURALP PİRİNCİNİN FİZİKO-KİMYASAL BİLEŞENİ, FİTO-KİMYASAL
ÖZELLİKLERİ, PIŞME KARAKTERİSTİKLERİ VE BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ**

ÖZ

Bu çalışma, Türkiye'nin Batı Karadeniz bölgesi Düzce ili Konuralp beldesinde geleneksel olarak yetiştirilen pirinç çeşidi (*Oryza sativa* L.) üzerinde yapılan ilk araştırmadır. Çalışma kapsamında Konuralp Pirincinin fiziko-kimyasal bileşimi, fito-kimyasal özellikleri, pişirme özellikleri ve biyoaktif bileşenleri (toplam fenolik içerik, ABTS⁺, CUPRAC, DPPH[•] ve FRAP yöntemleriyle belirlenen antioksidan aktivite) ile *in-vitro* koşullarda biyoalınabilirliği incelenmiştir. Analizler sonucunda Konuralp Pirincinin nem içeriği %13.89, protein içeriği %6.48, toplam diyet lifi %0.82, enerji değeri 323.44 kcal ve nişasta miktarı %59.64 olarak tespit edilmiştir. Öte yandan örneklerin fitik asit içeriği ise 258.69 mg/100g olarak bulunmuştur. Çalışmada Konuralp Pirincinin toplam fenolik madde içeriği

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: emineaydin@duzce.edu.tr

☎: (+90) 380 541 2294

☎: (+90) 380 541 2295

Emine Aydın; ORCID no: 0000-0001-9635-4791

2100 mg GAE/100g olarak tespit edilirken, ekstrakte edilebilir (12.73 μ mol trolox/g) ve hidrolize edilebilir fenolikler (62.50 μ mol trolox/g) için en yüksek antioksidan kapasite DPPH \cdot yönteminde bulunmuştur. Antioksidatif biyoalınabilirlik değerleri ise %80.19 (ABTS $\cdot+$), %27.96 (CUPRAC), %20.63 (DPPH \cdot) ve %0.92 (FRAP) olarak bulunmuştur. Fiziko-kimyasal ve fito-kimyasal özelliklerinin yanı sıra yüksek biyoaktif bileşen içeriğe sahip olan ve geleneksel olarak üretilmeye devam edilen Konuralp Pirincine daha fazla önem verilmelidir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan kapasite, biyoalınabilirlik, kimyasal bileşen, pişme özellikleri, pirinç, toplam fenolikler

INTRODUCTION

Contrast to other cereals, rice is an annual cereal and hot climate cereal grown in water (Akay, 2020). Rice is a valuable seed that belongs to the grass family, and 90% of the world population relies on rice to fulfil their daily nutritional requirements (Devraj et al., 2020). While a very small part of the rice is used as a raw material in food production, most of it is consumed as cooked rice. Processed rice products can be produced in various forms including paddy, brown rice, milled rice, rice, broken rice, dry milled flour, wet-milled flour, starch (Falade and Christopher, 2015) as well as rice hull, rice bran and rice bran oil are used as a raw material in food industry (Akay, 2020).

Rice is a unique grain being colorless, having a soft flavor, a low sodium content, being easily digested carbohydrates and exhibiting hypoallergenic effects (Gujral et al., 2003). It is also a good source of thiamine, riboflavin, niacin and dietary fiber (FAOSTAT, 2010). Since rice starch is highly digestible, it can increase blood sugar satiety, which is a health problem related to diet (Mohan et al., 2010). In addition to contributing to human calorie intake, rice also contains phenolic components with proven benefits for human health (Zhou et al., 2003).

Regarding its nutritional value, traditional rice varieties have been reported to contain high levels of antioxidants, phytochemicals, phytonutrients, vitamin E, proteins and other nutrients which are important for the functioning of the immune system and boosting memory power in children. Also, it provides support against serious diseases like cancer due to their rich antioxidant and anthocyanin contents (Devraj et al., 2020).

It is very difficult to describe the quality in rice because the quality preference varies from country to country and even from region to region. The quality characteristics of rice are grouped under three main headings: physical, chemical and cooking properties. These characteristics of rice change under the influence of heredity and the environment. Physical properties, such as whiteness, grinding degree, transparency, grain sizes, foreign matter and chalking, change depending on the environmental conditions, while the chemical properties and cooking properties of rice change mainly depending on their hereditary properties (Rice Quality, 2014).

Since rice is a grain that needs water in its growing phase, the most suitable region within the Ottoman Sanjacks is the subdistrict of Konuralp. Rice agriculture has become widespread in this region and the rice obtained was classified as the Sultan's special. In the 16th century, rice consumption was very high in Ottoman Palace Cuisine (Taş, 2017). This rice variety is still traditionally grown in a small area by the local people. In this study, the aim was to determine the quality characteristics (physical, chemical and cooking) and total phenol, antioxidant capacity and bioavailability values of Konuralp Rice (KR), which is based on the Ottoman Palace Cuisine. In this way, it is aimed to understand the value of KR which has an important place in the past.

MATERIALS AND METHODS

Materials

For the present study, rice sample was obtained from a native farmer who product the rice in Konuralp-Duzce in Türkiye: 40°53'.51" N and 31°9'.34"E. This rice type called as Kasaba Rice in locally.

Methods

Physical properties

To determine the physical properties, the undamaged rice grains were used in all analyses. Cereal weight is generally represented by 1000-kernel weight (Wu et al., 2018). Thousand kernel weight (TKW) of rice was determined using the method of Singh et al. (2005). For this purpose, milled rice was counted randomly and weighed separately. This procedure was repeated triplicate and mean of three replications was reported. The length (L), width (W) and Length/Width (L/W) ratio were determined using the method of Odenigbo et al. (2014). Accordingly, longitudinal and transverse cumulative (mm) measurements of the rice samples were taken using vernier callipers. The Length/Width (L/W) ratio was calculated by dividing the length over the width of rice grains. In presented study bulk density (BD) of rice were determined based on a protocol described by Fan et al. (1998). Broken rice grains were separated before starting the analysis. To determine the BD, rice grains were poured from a certain height and at a certain speed into a container of known volume. Then the rice grains in the container were weighed. This process was repeated in three repetitions. The bulk (mass) density of the rice samples was calculated in g/mL.

Cooking properties of Konuralp rice

Minimum cooking time was determined by the method as described by Chen et al. (2012) with minor modifications. 2.0 g of whole rice sample was boiled in 20 mL distilled water. During the cooking process, a few rice grains were removed at certain intervals and the cooking level was determined by pressing them between two glass plates. As a result of the compression, it was checked whether there was a white unfired line in the middle. It was determined as the cooking time of the rice grain when the uncooked line (no white core) disappeared. This process was repeated in three repetitions. Solid loss (cooking loss) in cooking water was determined the method as described by Oko et al. (2012) with minor modifications. 2.0 g of whole rice grain was cooked with distilled water in a boiling water bath for the minimum cooking time. The water on the cooked rice grains was removed by draining the

rice grains. This cooking water was transferred to the petri dish (W_2), which was previously brought to a constant weighing weight (W_1). This petri dish was dried in an oven at 98 °C until it reached a constant weighing weight (W_3). The amount of solid in cooking water was calculated as:

$$\text{Solid Loss} = W_3 - W_1$$

W_1 = Weight of empty Petri dish

W_2 = Weight of empty dish + Dry aliquot (W_3)

After cooking, the elongation rate in rice grains was determined according to the method specified by Oko et al. (2012). First of all, 2.0 g of whole rice grains were taken randomly. First of all, the size of these rice grains was measured with a calliper (L_0). Later, the rice grains were cooked with 20 mL of distilled water in boiling water for the minimum cooking time and after the cooking process, the excess water was drained and the size of each cooked rice grain was measured using callipers (L_1).

$$\text{Elongation Ratio} = L_1 - L_0$$

The water absorption (WA) ratio of rice grains was determined according to the method describe by Oko et al. (2012). 2.0 g of rice was cooked in 20 mL of distilled water for the minimum cooking time and the rice grains were filtered and the water on the rice was removed. The cooked rice grains were then carefully weighed. The WA ratio of rice grains was calculated as the ratio of cooked weight to uncooked weight.

Chemical compositions of Konuralp rice

Moisture (AACC Method No:44-15A), ash (AACC Method No:08-01.01), protein (AACC Method No:46-12), fat (AACC Method No:30-25.01) values of rice samples were determined by using AACC methods (AACC, 2009). The total carbohydrate (CHO) and energy values of the rice sample were determined according to FAO (2003) and they were calculated using the Atwater general factor system, according to Equations (1) and (2):

$$\text{Total CHO (\%)} = 100 - [\text{Moisture (\%)} + \text{Ash (\%)} + \text{Protein (\%)} + \text{Fat (\%)} + \text{TDF (\%)}] \quad (1)$$

$$\text{Energy (kcal)} = (9 \times \text{Fat \%}) + (4 \times \text{Protein \%}) + (4 \times \text{CHO \%}) \quad (2)$$

The macro mineral matters include potassium (K), magnesium (Mg), phosphorus (P), iron (Fe), calcium (Ca) as well as the micro mineral matters include copper (Cu), Zinc (Zn), manganese (Mn) of rice samples were determined by using ICP-AES (2100 XL; Perkin Elmer Optima, San Jose, California, USA) (TSI, 2007; NMKL, 2007). The emission intensities were obtained for the most sensitive lines free of spectral interference. The analyses were performed at the following flow rates: (a) plasma gas of 15 L/min, (b) auxiliary gas of 1 L/min, and (c) sample of 0.8 mL/min. The mineral eluates were monitored at different wavelengths: 766.5nm-K, 285.2nm-Mg, 214.9nm-P, 238.2 nm-Fe, 317.9nm-Ca, 327.4 nm-Cu, 206.2 nm-Zn, and 257.6 nm-Mn.

The phytic acid (PA) content of the rice was evaluated by a colorimetric method according to Haug and Lantzsch (1983). The PA in samples was extracted with a solution of HCl (0.2 N) and precipitated with solution of Fe III (ammonium iron (III) sulphate·12 H₂O). The absorbance was measured at 519 nm and distilled water used as blank.

Bioactive compounds of Konuralp rice

Extraction of phenolic compounds: In the presented study extractable and hydrolyzable phenolics of rice samples were extracted using the method reported by Vitali et al. (2009), with slight modifications. Briefly, 20 mL extraction solution (HCl_{conc.}/methanol/water=1/80/10, v/v/v) was mixed with 2.0 g of grounded rice sample and shaken with laboratory rotary shaker (Heidolph Multi Reax-Germany) at 250 rpm for 2 h at room temperature. At the end of the time the extracts were centrifuged at 3500 rpm for 10 min at 20 °C (Eppendorf Centrifuge 5430R-USA). The obtained supernatant was used as *extractable phenolics*. For hydrolyzable phenolics, after extractable phenolic extraction, the residues which combined with 20 mL of methanol/H₂SO_{4conc.} (10:1, v/v) mixtures was placed in water bath at 85 °C for 20 h and then cooled at room temperature. The mixtures were centrifuged at 4 °C for 10 min at 3500g in a

centrifuge (Sigma 3K 30). The supernatants (*hydrolyzable phenolics*) were stored at -20 °C (dark condition) until the analyses carried out. Each extraction was carried out in triplicate.

Determination of total phenolic content:

Extractable and hydrolyzable phenolics were determined based on the Folin-Ciocalteu colorimetric method as described by Xu et al. (2009) with a minor modification. Total phenolic content (TPC) was calculated as the sum of extractable and hydrolyzable phenolic contents. Absorbance of samples were measured spectrophotometrically at 750 nm and the results were expressed as milligrams gallic acid equivalents (GAE) per gram of rice sample. The determination was carried out three times for each extract.

Antioxidant capacity: Due to the complexity of the composition of plant raw materials and possible reactions between them the antioxidant capacity cannot be evaluated using only one method (Valadez-Carmona et al., 2016). For this reason, in this study; the antioxidant capacity of rice sample was studied using the four distinctive methods.

ABTS^{•+}: The estimation of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS^{•+}) cation radical decolorization assay was conducted according to the method of Apak et al. (2007). The matured ABTS^{•+} radical solution of blue-green color was diluted with 96% ethanol at a ratio of 1:10. To 1.0 mL of the radical cation solution, 4.0 mL of ethanol were added, and the absorbance at 734 nm (UV-1800 spectrophotometer-Shimadzu, Kyoto, Japan) was read at the end of the sixth minutes. The procedure was repeated for the unknown extract by adding 1.0 mL of the radical cation solution to (x) mL of antioxidant solution and (4.0-x) mL of ethanol, and recording the absorbance readings at the end of sixth minutes. The absorbance difference was found by subtracting the extract absorbance from that of the reagent blank. This was correlated to trolox equivalent antioxidant concentration with the aid of a linear calibration curve.

CUPRAC: The cupric-reducing antioxidant capacity (CUPRAC) was performed according to method of Apak et al. (2004). Added 1.0 mL 1.10^{-2} M CuCl_2^+ + 1.0 mL 7.5×10^{-3} M neocuproine + 1.0 mL 1 M NH_4Ac + x mL 10^{-3} M antioxidant neutral solution + $(1-x)$ $\text{H}_2\text{O:VT} = 4.0$ mL; measured final absorbance at 450 nm (UV-1800 spectrophotometer-Shimadzu, Kyoto, Japan). Antioxidant activity of phenolic antioxidants was calculated as trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC values) in the CUPRAC method.

DPPH: The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH \cdot) free radical scavenging assay was performed according to the modified method of Brand-Williams et al. (1995). Antioxidant solution in methanol (0.1 mL) was added to 3.9 mL of a 6×10^{-5} mol/L methanol DPPH \cdot solution. The extract at various concentrations was added to the reaction mixture, and the decrease in absorbance was measured at 517 nm (UV-1800 spectrophotometer Shimadzu, Kyoto, Japan) against the blank at 0 min, 1 min and every 5 min until the reaction reached a plateau.

FRAP: The ferric reducing antioxidant capacity (FRAP) assay was conducted according to the method as described by Benzie and Strain (1996). For the FRAP estimation, 3.0 mL of freshly prepared FRAP reagent (incubated at 37 °C) was mixed with 300 μL of distilled water and 100 μL of the test sample (or extraction solvent for the reagent blank). The test samples and blank were incubated at 37 °C for 40 min. At the end of incubation, absorbance was measured immediately at 595 nm (UV-1800 spectrophotometer-Shimadzu, Kyoto, Japan). The FRAP reagent was prepared by mixing 25 mL of 0.3 mol/L acetate buffer (pH 3.6), 2.5 mL of 20 mmol/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and 2.5 mL 10 mmol/L TPTZ solution in 40 mmol/L HCl. Solutions of trolox dissolved in extraction solvent, ranging from 10 to 100 mol/L were used for the preparation of calibration curve. The final result was expressed as equivalent concentration (EC) the concentration (μmol trolox/g sample) of a sample in reaction mixture having the reducing ability equivalent to that of 1.10^{-3} M trolox. It is

important to notice that a lower value indicates higher antioxidant activity in this case.

In-vitro bioaccessibilities of phenolics and antioxidants from Konuralp rice: For the determination of bioaccessible phenolics, the *in-vitro* digestion enzymatic extraction method was used that mimics the conditions in the gastrointestinal tract as previously described by Bouayed et al. (2012) with slight modifications. To summaries briefly, 1.0 g of ground rice sample was mixed with 10 mL distilled water and 0.5 mL of pepsin (20 g/L in 0.1 mol/L HCl) and incubated at 37 °C in a shaking water bath for 1 h. At the end of the time pH was adjusted to 7.2 and in this way simulation of gastric digestion was stopped. Further intestinal-simulated digestion was performed with the addition of 2.5 ml of bile/pancreatin solution (2.0 g/L of pancreatin and 12 g/L of bile salt in 0.1 mol/L NaHCO_3) and 2.5 mL of NaCl/KCl (120 mmol/L NaCl and 5 mmol/L KCl) and incubated in shaking water bath at 37 °C for 2.5 h. The sample was centrifuged at 3500 rpm for 10 min and the supernatant (dialysate) was used for determination of bioaccessible phenolics which were stored -18 °C until the analyses carried out. The TPC analysis was performed in the dialysate obtained as a result of simulated gastrointestinal digestion. Thus, in the dialysate sample obtained from *in vitro* digestion, the TPC content recovered was calculated and represented the bioaccessible phenolics. The percentage of bioaccessibility was also calculated by the ratio of bioaccessible phenolics to the TPC in the rice sample prior to digestion (Anson et al., 2009).

Bioaccessible antioxidant capacity of dialysate sample obtained as a result of simulated gastrointestinal digestion was analyzed by ABTS $^+$, CUPRAC (Apak et al., 2007), DPPH \cdot (Brand-Williams et al., 1995) and FRAP assays (Benzie and Strain, 1996). The results were given as mg GAE/g for phenolic content, μmole TE/g for antioxidant capacity. Thus, the antioxidant capacity recovered in dialysate sample obtained from *in-vitro* digestion was calculated and represented the bioaccessible antioxidant capacity (Anson et al., 2009).

RESULTS AND DISCUSSIONS

Physical properties of Konuralp rice

The physical properties of the local rice samples used in the study are given in Table 1. TKW is considered as a quality characteristic of grains which is an important factor for the estimation of cereal yield, is influenced by genetic factors (Taser, 2011) as well as climatic conditions. Heredity and ecological factors are two important factors affecting TKW. In present study, as a result of the measurements, the average TKW of rice was found to be 27.4 ± 0.08 g. Yazman (2014) determined the average amount of TKW of Baldo and Osmancık rice to be 24.85 g and 20.61 g, respectively. In the present study, TKW (27.40 g) of the rice samples was found to be higher than these values. The reason for this is that the variety investigated in the present study was a larger size than the varieties in the other studies.

Table 1. Physical properties of Konuralp rice

Rice (<i>Oryza sativa</i> L.)	
TKW (g)	27.40 ± 0.08
L (mm)	0.30 ± 0.01
W (mm)	0.66 ± 0.02
L/W	2.19 ± 0.11
BD (g/mL)	0.86 ± 0.22

* Results are given as the average of 10 repetitions.

TKW: Thousand Kernel Weight, L: Length, W: Width, L/W: Length/Width, BD: Bulk Density

In the present study, the length, width and L/W ratios of rice variety was determined as 0.30 ± 0.01 mm, 0.66 ± 0.02 mm and 2.19 ± 0.11 , respectively (Table 1). The rice variety investigated in the present study is classified as C type long grain rice, whose length $6.0 \leq \leq 6.7$ and L/W ratio is $2 \leq \leq 3$ in the TFC (2010). The L/W ratio is used to evaluate the shape of rice (Yazman et al., 2020a). While short and coarse grains are normal, long and fine grains are more fragile, so grain size and shape (L/W) are considered to be a quality feature (Taser, 2011).

In the study by Singh et al. (2005), it was reported that for 23 kinds of rice, the BD varied from a maximum of 0.88 g/mL to a minimum of 0.77 g/mL. When the BD (0.86 g/mL

demonstrated in Table 1) of the rice sample investigated in this current study was compared with their study, the results were found to be similar. All in all, some of the differences in physico-chemical properties could be related to the rice samples' unique distinctive property and region differences. The variation in length, width, and L/W ratio might be due to the difference in size, shape, and moisture content that vary from one variety to another (Devraj, 2020).

Cooking properties of Konuralp rice

Commonly rice is consumed immediately after cooking with this inview its cooking properties are important. When viewed from this aspect, the consumers prefer the cooking time of the rice is short. The cooking time of the rice grain is generally determined by the loss of the opaque center in 90% of the starch in the grain (Dipti et al., 2003). In the present study, the optimum cooking time in rice sample was determined to be between 15 and 20 minutes. In a similar study, Koca and Anil (1997) reported that the optimum cooking time in rice samples varied between 19 and 24.5 minutes. The minimum cooking times of Osmancık and Baldo varieties of rice, which are preferred more by the consumers in Turkey, were reported as 16.81 and 16.11 min, respectively. In another study, Koca and Anil (2001) reported that, there is an important and positive relationship between the quantity of protein and the cooking time. The rice water absorption ratio (WA), elongation ratio and solid loss in KR were depicted in Fig. 1.

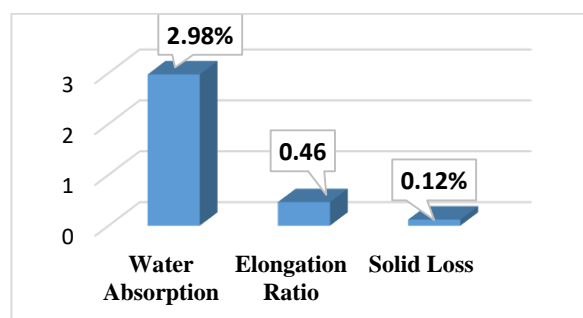


Figure 1. Cooking properties of Konuralp rice

High WA rate is an important quality criterion in terms of cooking properties. Water absorption, water holding capacity, water binding or

rehydration ability can be used to explain the same criteria. The amount of WA of KR was found to be 2.98 % (Fig. 1). The average WA rate of Baldo and Osmancık rice samples was found to be 1.89 (Yazman, 2014). This variation in WA might be depend on loss of starch crystalline structure in rice samples.

In the present study the rice elongation ratio was found to be 0.46 ± 0.05 . In a study reported by Akay (2020), the elongation ratio was found to be 1.77 and 1.99 % in Baldo and Osmancık rice varieties, respectively. The outer layer which include pigments and nutrient components that supports the volume spread rather than the grain elongation can cause the decrease in elongation ratio (Devraj et al., 2020).

Solid loss in rice with cooking is an important indicator of the cooking quality of rice and indicates the amount of solid material passed to the cooking water. From Fig 1, it was observed that the solid loss 0.12% in KR sample. In study which determined the solid loss ratio for Osmancık and Baldo rice types, the values were found to be 3.90-5.16% (Yazman et al. 2020a) and 3.92-4.81% (Yazman et al. 2020b), respectively. The lower solid loss ratio can be also indicates the higher WA ratio.

Chemical properties of Konuralp rice

The chemical composition of KR was analyzed and presented in Table 2. The moisture content of KR was found to be 13.89%. The moisture content of rice is affected by many factors, such as growing conditions, storage conditions and storage time, as well as being affected by whether the product is sold packaged or unwrapped (Yazman, 2014) as well as different harvesting seasons. It has been stated in a Turkish Food Codex Rice Communique (TFC, 2010) that the moisture content of rice can be at most 14.5%. As a result of the analysis, it was determined that the moisture content of the rice investigated in current study was within the legal limits.

The ash content in food samples plays an important role in determining the level of essential minerals (Devraj, 2020). From the Table 2, it was observed that the ash content of 0.43%

was similar to the amount of ash found in Osmancık rice (0.42%) and Baldo rice (0.41%) in the study conducted by Yazman (2014). It is thought that the small differences observed are due to the low or high bran amount, depending on the different degrees of peeling of the paddy sample while being processed into rice (Yazman et al., 2020a).

Table 2. Chemical composition of Konuralp rice

Chemical Composition	Rice (<i>Oryza sativa</i> L.)
Moisture (%)	13.89±0.10
Ash (%)	0.43±0.30
Protein* (%)	7.48±0.34
Fat (%)	0.50±0.14
Total Dietary Fiber (%)	0.82±0.02
Starch (g/100g)	59.64±2.24
Phytic acid (mg/100g)	252.69±3.72
Carbohydrate (%)	74.76±0.42
Energy (kcal)	323.44±0.28

*Calculated on dry matter (N×5.70)

*The results are given as the average of 3 repetitions.

In current study the protein content of KR was determined to be 7.48% (Table 2). This result was similar to the findings of Yazman (2014) who determined the protein content of rice 7.98% and 7.55 %, respectively in Baldo and Osmancık varieties. Contrast to that results, Donduran (2014) reported that the crude protein ratios of paddy varieties varied between 5.64 and 8.86 %. So, it should be taken into account that the protein content may differ depending on the variety and environmental conditions.

The fat content of the KR sample was found to be 0.50% in the present study. Also, Altındag et al. (2015) determined that the fat content of rice 0.69%. The low-fat ratios detected in these studies, may be relevant with the grinding step.

The carbohydrate content of KR was found to be 74.76 % (Table 2). Kraithong et al. (2019) worked with four different rice varieties: Organic White, Brown Yasmin, Colored and Red Yasmin and determined the carbohydrate values of these rice varieties to be 85.58%, 78.19%, 77.06% and 78.07%, respectively. In another study, Reddy et

al. (2017) compared the carbohydrate content of raw and polished rice. They determined the carbohydrate content of the rice to be 74.67% and 82.13%, respectively which shows similarity to this present study. In the present study, the energy value of the KR sample was calculated to be 323.44 kcal (Table 2). A similar result was found by Verma and Srivastav (2017), who calculated the amount of the energy 348.79 kcal/g in an aromatic rice variety.

Elbashir (2005) found the fiber contents of rice samples obtained from America, Pakistan, Thailand, Egypt and Sudan to be 0.48%, 0.22%, 0.35%, 0.32% and 0.30%, respectively. As previously mentioned, the Kraithong et al. (2019) study looked at four different types of rice flour: Organic White, Brown Yasmin, Colored, and Red Yasmin varieties. The researchers reported that the crude fiber amounts in the rice samples were determined to be 0.81%, 0.91%, 1.66% and 1.35%, respectively. Accordingly, the dietary fiber content (0.82%) in the present study (Table 2) was found to be similar to the fiber content of organic white rice.

The starch content of KR was found to be 59.64 % (Table 2). Elbashir (2005) reported that the

starch contents of rice samples supplied from America, Pakistan, Thailand, Egypt and Sudan were 64.22%, 64.27%, 63.16%, 63.57% and 59.82%. The amount of starch in the rice supplied from Sudan (59.82%) was similar to the starch content (59.64%) of the KR in the present study.

The phytic acid is an important anti-nutritional component present in cereals and considered as a significant inhibitor of mineral absorption (Bilgicli, 2002). In the present study the phytic acid content of the KR was found to be 258.69 mg/100g. The phytic acid content of KR was similar with the results reported by Vunain et al. (2020) who determined the phytic acid content between 200.25- 204. 92 mg/100g.

Mineral constituents in Konuralp rice

The mineral constituents of the rice sample are displayed in Table 3. The macro minerals were found to be K (1524 ± 59 mg/kg), P (1042 ± 57 mg/kg), Ca (441 ± 3 mg/kg) and Mg (234 ± 1 mg/kg) in KR. The micro minerals; Zn (19.2 ± 0.9 mg/kg), Fe (13.8 ± 0.6 mg/kg), Mn (4.41 ± 0.01 mg/kg) and Cu (2.24 ± 0.01 mg/kg) were found.

Table 3. Mineral constituents of Konuralp rice

Macro Mineral (mg/kg)	K	P	Ca	Mg
		1524±59	1042±57	441±3
Micro Mineral (mg/kg)	Zn	Fe	Mn	Cu
		19.20±0.09	13.80±0.6	4.41±0.01

* Results are given as the average of 3 repetitions.

In a study conducted by Reddy et al. (2017), K (1606.6 and 566.1 mg/kg), P (2062.1 and 718.5 mg/kg), Ca (136.2 and 53.6 mg/kg), Mg (377.2 and 106.6 mg/kg), Zn (53.9 and 24.6 mg/kg), Fe (88.8 and 26.2 mg/kg), Mn (38.8 and 20.1 mg/kg) and Cu (33.4 and 26.2 mg/kg) were detected in raw and polished rice, respectively. According to the obtained results, it was determined that the amount of some mineral materials was lower than the literature. It is thought that the reason for this is due to the

different peeling processes applied during the processing of rice. In terms of mineral substance composition, it has been reported that mainly P, Mg and Ca minerals are found in rice (Rivero-Huguet et al., 2006). According to the Food and Drug Administration (FDA), the daily intake of macro minerals should be 4700, 1250, 1300 and 420 mg for K, P, Ca and Mg, respectively. This amount should be 11, 18, 2.3 and 0.9 mg for the microelements Zn, Fe, Mn and Cu respectively (FDA, 2019). Considering these amounts, it is seen that the rice used in the present study

provides an important part of the daily macro and microelement needs (Table 3).

Phenolic contents and their *in-vitro* bioaccessibility

Phenolic compounds present in rice have important antioxidant activity, which has subscribed to its potential as a functional food (Rao et al., 2020). The phenolic contents and phenolic bioaccessibility values were analyzed and presented in Table 4. According to the results, the extractable phenolics, hydrolyzable phenolics and TPC were found to be 92.26, 2008.327 and 2100 mg GAE/100g, respectively.

Table 4. Total phenolics and bioavailability of Konuralp rice

	Rice (<i>Oryza sativa</i> L.)
Extractable Phenolics*	92.26±3.66
Hdyrolyzable Phenolics*	2008.33±1.17
Total Phenolics*	2100±1.13
Bioavailable Phenolics*	296.05±3.89
Bioavailability (%)	14.09±2.92

*mg GAE/100g

* Results are given as the average of 3 repetitions.

Adom and Liu (2002) reported that the major portion of phenolics in rice grains (62 %) existed in hydrolyzable form. In this context, results of presented study showed that the level of hydrolyzable phenolics was higher than that of extractable phenolics. Yilmaz (2019) reported that, the total phenolic content of Osmancik rice (334.54 μ g GAE/g) had higher than that of the Baldo rice (301.16 μ g GAE/g). Studies have shown that 70 to 90% of the phenolic substances are separated with the bran layer during the processing of the paddy crop into rice. Moreover, it was reported that the amount of phenolic substances was lower in the light-colored pericarp varieties and the amount of phenolic substance can be affected by many factors, such as the type of paddy, laboratory conditions and sample preparation conditions (Zhou et al., 2003). The bioaccessibility of the phenolic content was observed that 14.10% (Table 4). The processing and storage of food affects the flavonoid and phenolic acid content in the foodstuff.

Antioxidant capacities and *in-vitro* bioaccessibility of antioxidants

Antioxidant substances found in foods are defined as “substances that are in lower concentrations than oxidizable substrates and prevent or delay the oxidation of substrates” (Becker et al., 2004). Four different methods (ABTS^{•+}, CUPRAC, DPPH[•] and FRAP) were used to determine the antioxidant capacity of rice samples in the present study.

As reported by Devraj et al. (2020), traditional rice varieties are rich in antioxidant properties. In the rice sample, the antioxidant capacity (ABTS^{•+}) of extractable phenolic compounds in terms of Trolox Equivalent (TE) was $17.23 \pm 0.61 \mu\text{mol trolox/g}$ (Fig. 2). The ABTS^{•+} value of hydrolyzable phenolics was found to be $36.33 \pm 2.40 \mu\text{mol trolox/g}$. Consequently, the ABTS^{•+} antioxidant capacity of hydrolyzable phenols was approximately double the ABTS^{•+} values for extractable phenols.

According to the results of the CUPRAC method, the antioxidant capacity value of the extractable and hydrolyzable phenols were 3.01 ± 0.10 and $4.39 \pm 1.39 \mu\text{mol trolox/g}$, respectively (Fig. 2).

In the rice sample, the DPPH[•] antioxidant capacity of extractable phenolics was found to be $12.73 \pm 0.31 \mu\text{mol trolox/g}$ (Fig. 2), while that of hydrolyzable phenols was found to be $62.50 \pm 0.39 \mu\text{mol trolox/g}$. According to these results, the DPPH[•] antioxidant capacity of hydrolyzable phenols was found to be approximately 5 times higher than that of extractable phenols. Donduran (2014) reported that the total amount of DPPH[•] of the Edirne paddy variety with high antioxidant capacity was 424.20 EC/IC50 (dw).

In some previous studies, antioxidant capacity results differed between rice varieties. It should be kept in mind that this difference may vary depending on a range of factors such as the rice variety, the harvesting period, the cultivated soil type, germination, the grain processing-polishing methods as well as the laboratory preparation time and storage time (Zhou et al., 2003).

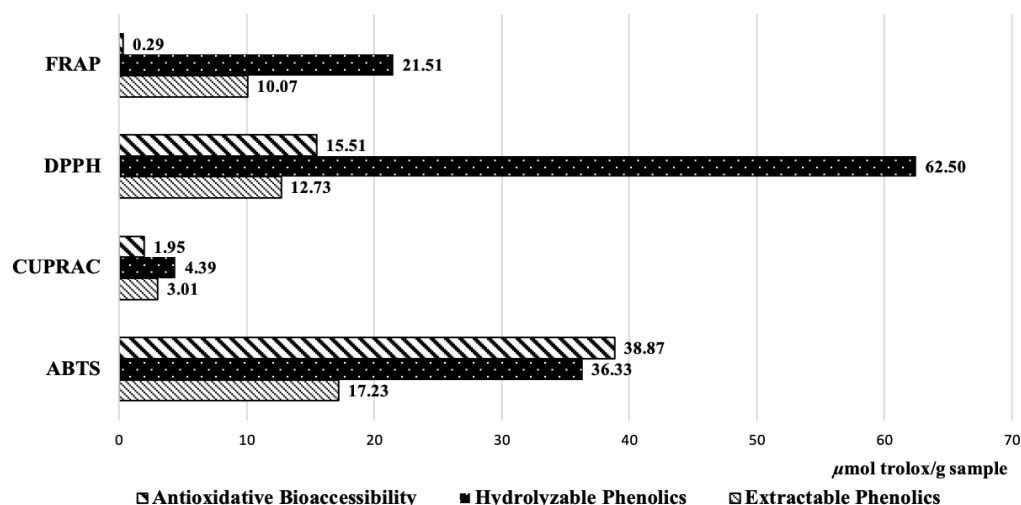


Figure 2. Extractable, hydrolyzable antioxidant capacities and antioxidative bioaccessibility of Konuralp Rice

In presented study, the FRAP antioxidant capacity of the extractable phenolic compounds was found to be 10.07 ± 0.41 $\mu\text{mol trolox/g}$, while that of the hydrolyzable phenols was found to be 21.51 ± 0.32 $\mu\text{mol trolox/g}$ (Fig. 2). The FRAP antioxidant capacity of hydrolyzable phenolics were found to be about double that of extractable phenolics (Fig. 2). Similarly, in previous *in vitro* studies, hydrolyzable phenolics were found to have significantly higher antioxidant capacity than extractable phenolics (Chandrasekara and Shahidi, 2011).

CONCLUSIONS

As a result of the literature reviews, it was determined that there was no study on the physico-chemical composition, nutritional properties and cooking properties (characteristics) of *Oryza sativa* L. type rice based on the Ottoman Palace Cuisine and traditionally grown in the Konuralp-Duzce area, and therefore this study was created to do that. It has been determined that the traditionally grown rice sample has values that can compete with Osmancik and Baldo varieties of rice, which are the most preferred in Turkey, in terms of physico-chemical, phyto-chemical and cooking properties. In this sense, the TKW of the rice samples was found to be higher than Baldo and Osmancik

rices. Moreover, the results obtained from the current study, that the rice used in the present study provides an important part of the daily macro and microelement needs. Besides, the results of the present study can be strong scientific proof to use this traditional rice variety as a beneficial source of antioxidant referments. This rice, which is on the verge of being forgotten and produced by the farmers only to meet their own needs, has been remembered again for the last decade thanks to the initiatives of the local government. As a result, scientific data were obtained about Konuralp Rice, which is traditionally grown in this region and whose chemical, nutritional and *in-vitro* bioaccessibility of antioxidative properties have not been determined until now. It is thought that the data obtained will be beneficial for producers, consumers and the sector.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank Prof. Dr. Duygu GOCMEN for her supervision.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there was no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

FUNDING

This work was supported by the Scientific Research Fund (BAP) of Duzce University, Türkiye [Project Number: 2016.11.05.418].

REFERENCES

- AACC (2009). International Approved Methods of Analysis, 11th ed. AACC International Press, St. Paul, MN, USA.
- Adom, K.K., Liu, R.H. (2002). Antioxidant capacity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6182-6187. doi:10.1021/jf0205099.
- Akay, H. (2020). Determination of physical, chemical and cooking properties of some paddy varieties. *Anadolu Journal of Agricultural Science*, 35, 438-445. doi:10.7161/omuanajas.789227.
- Altindag, G., Certel, M., Erem, F., Konak, Ü.İ. (2015). Quality characteristics of gluten-free cookies made of buckwheat, corn, and rice flour with/without transglutaminase. *Food Science and Technology International*, 21(3), 213-20. doi:10.1177/1082013214525428.
- Anson, N.M., Selinheimo, E., Havenaar Aura, A.M., Mattila, I., Lehtinen, P., Bast, A., Poutanen, K., Haenen, G.R.M.M. (2009). Bioprocessing of wheat bran improves in vitro bioaccessibility and colonic metabolism of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 6148-6155. doi:10.1021/jf900492h.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, E.S., Bektaşoğlu, B.K., Berker, I., Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds and the CUPRAC assay. *Molecules*, 12, 1496-1547. doi:10.3390/12071496.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 7970-7981. doi: 10.1021/jf048741x .
- Becker, E.M., Nissen, L.S., Skibsted, L.H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research Technology*, 219, 561-571. doi:10.1007/s00217-004-1012-4.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76. doi:10.1006/ABIO.1996.0292.
- Bilgicli, N. (2002). The importance of phytic acid from the point of nutrition and the production methods of the food with reduced phytic acid content. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 16 (30), 79-83. (In Turkish with English abstract).
- Bouayed, J., Deuber, H., Hoffmann, L., Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following in vitro digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131, 1466-1472. doi:10.1016/j.foodchem.2011.10.030.
- Brand-Williams, W., Cavalier, M.E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant capacity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Chandrasekara, A., Shahidi, F. (2011). Bioactivities and antiradical properties of millet grains and hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9563-9571. doi:10.1021/jf201849d.
- Chen, H.H., Chen, Y.K., Chang, H.C. (2012). Evaluation of physico-chemical properties of plasma-treated brown rice. *Food Chemistry*, 135 (1), 74-79. doi:10.1016/j.foodchem.2012.04.092.
- Devraj, L., Panoth, A., Natarajan, V. (2020). Study on physicochemical, phytochemical, and antioxidant properties of selected traditional and white rice varieties. *Journal of Food Process Engineering*, 43, e13330. doi:10.1111/jfpe.13330.
- Dipti, S.S., Bari, M.N., Kabir, K.A. (2003). Grain quality characteristics of some beruin rice varieties of Bangladesh. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 242-245. doi:10.3923/pjn.2003.242.245.
- Donduran, D.Ö. (2014). Quality and bioactive properties of some rice cultivars processed in our country. MSc Thesis, Çanakkale Onsekiz Mart University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, 51p. (in Turkish)

- Elbashir, L.T.M. (2005). Physiochemical Properties and Cooking Quality of Long and Short Rice (*Oryza Sativa*) Grains. *Faculty of Agriculture University of Khartoum*, <https://www.osti.gov/etdeweb/servlets/purl/20655574>.
- Falade, K.O., Christopher, A.S. (2015). Physical, functional, pasting and thermal properties of flours and starches of six Nigerian rice cultivars, *Food Hydrocolloids*, 44, 478-490. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.10.005.
- Fan, J., Siebenmorgen, T.J., Gartman, T.R., Gardisser, D.R. (1998). Bulk density of long- and medium-grain rice varieties as affected by harvest and conditioned moisture contents. *Cereal Chemistry*, 75(2), 254–258. doi:10.1094/CCHEM.1998.75.2.254.
- FAO (2003). Food energy-methods of analysis and conversion factors. Report of a technical workshop. FAO Food and Nutrition Paper No. 77, Rome, Italy.
- FAOSTAT (2010). Rice production. Available from <http://faostat.fao.org>. Accessed: 27 February 2015.
- FDA (2019). Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/downloads/Food/Guidance/ceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/LabelingNutrition/UCM513817.pdf>. Accessed: 05 March 2019.
- Gujral, H.S., Guardiola, I., Carbonell, J.V., Rosell, C.M. (2003). Effect of cyclodextrinase on dough rheology and bread quality from rice flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3814-3818. doi:10.1021/jf034112w.
- Haug, W., Lantzsch, H.J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34(12), 1423-1426. doi: 10.1002/jsfa.2740341217
- Koca, A.F., Anıl, M. (1997). Quality characteristics of rice varieties grown in ecological conditions of Samsun. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(2), 61-71.
- Koca, A.F., Anıl, M. (2001). Quality characteristics and its evaluation in rice. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 103-108.
- Kraithong, S., Lee, S., Rawdkuen, S. (2019). Effect of red Jasmine rice replacement on rice flour properties and noodle qualities. *Food Science and Biotechnology*, 28(1), 25-34. doi:10.1007/s10068-018-0452-8.
- Mohan, V., Radhika, G., Vijayalakshmi, P., Sudha, V. (2010). Can the diabetes cardiovascular disease epidemic in India can be explained, at least in part, by excess refined grain (rice) intake? *Indian Journal of Medicinal Research*, 131, 369–372.
- NMKL (2007). Trace elements-As, Cd, Hg, Pb and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion. Newsletter for the nordic committee on food analysis, NordVal International, Method No. 186.
- Odenigbo, A.M., Ngadi, M., Ejebe, C., Woin, N., Ndindeng, S.A. (2014). Physicochemical, cooking characteristics and textural properties of TOX 3145 milled rice. *Journal of Food Research*, 3(2), 82. doi:10.5539/jfr.v3n2p82.
- Okon, N.A.O., Ubi, B.E., Dambaba, N. (2012). Rice cooking quality and physico-chemical characteristics: A comparative analysis of selected local and newly introduced rice varieties in Ebonyi State. *Food and Public Health*, 2(1), 43-49. doi:10.5923/J.FPH.20120201.09.
- Rao, S., Santhakumar, A.B., Chinkwo, K., Snell, P., Oli, P., Blanchard, C.L. (2020). Rice phenolic compounds and their response to variability in growing conditions. *Cereal Chemistry*, 97, 1045-1055. doi: 10.1002/cche.10327.
- Reddy, C.K., Kimi, L., Haripriya, S., Kang, N. (2017). Effects of Polishing on Proximate Composition, Physico-Chemical Characteristics, Mineral Composition and Antioxidant Properties of Pigmented Rice. *Rice Science*, 24(5), 241-252. doi:10.1016/j.rsci.2017.05.002.
- Rice Quality (2014). www.betuco.be/rijst/Rice%20Quality.pdf. (Accessed: 20 March 2019)
- Rivero-Huguet, M., Huertas, R., Francini, L., Vila, L., Darre, E. (2006). Concentrations of As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, and Zn in Uruguayan rice determined by

- atomic absorption spectrometry. *Atomic Spectroscopy*, 27, 48-55. <https://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEK/article/view/79>
- Singh, N., Kaur, L., Sodhi, N.S., Sekhon, K.S. (2005). Physicochemical, cooking and textural properties of milled rice from different Indian rice cultivars. *Food Chemistry*, 89, 253–259. doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.032.
- Taser, E. (2011). The comparison of agronomical and quality Characters of Karacadağ rice landraces with some breeding cultivars in Southeast Anatolia Region ecology. MSc Thesis, Dicle University, Graduate School of Natural Applied Sciences, 57p. (in Turkish)
- Taş, K.Z. (2017). The Backyard of the Ottoman Empire, the Bolu Sanjak. T.R. Ministry of Tourism Certificate No: 33400. Post Release Distribution “Osmanlı'nın Arka Bahçesi Bolu Sancağı. T.C. Turizm Bakanlığı Sertifika No:33400. Post Yayın Dağıtım” pp. 256-269.
- TFC (2010). Turkish Food Codex Rice Communique. No:2010/60.
- TSI (2007). Turkish Standard Institution, Determination of metallic elements-TS 3660, Ankara, Turkey (in Turkish).
- Valadez-Carmona, L., Cortez-García, R.M., Plazola-Jacinto, C.P., Necochea Mondragón, H., Ortiz-Moreno, A. (2016). Effect of microwave drying and oven drying on the water activity, color, phenolic compounds content and antioxidant capacity of coconut husk (*Cocos nucifera* L.). *Journal of Food Science and Technology*, 53 (9), 3495-3501. doi:10.1007/s13197-016-2324-7.
- Verma, D.K., Srivastav, P.P. (2017). Proximate composition, mineral content and fatty acids analyses of aromatic and non-aromatic Indian Rice. *Rice Science*, 24(1), 21–31. doi:10.1016/j.rsci.2016.05.005c.
- Vitali, D., Vedrına Dragojević, I., Sebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114, 1462–1469. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.032.
- Vunain, E., Chirambo, F., Sajidu, S., Mguntha, T.T. (2020). Proximate composition, mineral composition and phytic acid in three common Malawian white grains. *Malawi Journal of Science and Technology*, 12 (1), 87-108.
- Wu, W., Zhou, L., Chen, J., Qiu, Z., He, Y. (2018). GainTKW: A Measurement System of Thousand Kernel Weight Based on the Android Platform. *Agronomy*, 8, 178 doi:10.3390/agronomy8090178.
- Xu, J.G., Tian, C.R., Hu, Q.P., Luo, J.Y., Wang, X.D., Tian, X.D. (2009). Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant capacity in oats (*Avena nuda* L.) during Steeping and Germination, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 10392-10398. doi:10.1021/jf902778j.
- Yazman, M.M. (2014). Determining the rice adulteration according to quality properties and the eligibility to Turkish Food Codex. MSc Thesis, Harran University, Graduate School of Natural Applied Sciences, 106p.
- Yazman, M.M., Köten, M., Atlı, A. (2020a). Comparison of the quality characteristics of rices sold in the market under the name of osmancık variety with the original osmancık variety. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(4), 2583-2594. doi:10.21597/jist.692863.
- Yazman, M.M., Köten, M., Atlı, A. (2020b). Comparison of the quality characteristics of the baldo varieties purchased from the market with the original seed baldo variety. *Food*, 45(4), 721-735. doi:10.15237/gida.GD20014.
- Yılmaz, V.A. (2019). Investigation of bioactive compounds and antioxidant capacities of various cereal products. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University*, 36(1), 10-22. doi:10.13002/jafag4544.
- Zhou, Z., Robarda, K., Helliwell, S., Blanchard, C. (2003). The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chemistry*, 87, 401-406. doi:10.1016/j.foodchem.2003.12.015.

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *MENTHA PIPERITA* VAR. *CITRATA* EXTRACTS OBTAINED BY DIFFERENT EXTRACTION SOLVENTS

Cemil Kürekci^{1*}, Neslihan Beyazıt²

¹ Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

² Department of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

Received / Geliş: 24.12.2021; Accepted / Kabul: 12.04.2022; Published online / Online baskı: 18.05.2022

Kürekci, C., Beyazıt, N. (2022). Chemical composition and antibacterial activity of *mentha piperita* var. *Citrata* extracts obtained by different extraction solvents. GIDA (2022) 47 (3) 531-538 doi: 10.15237/gida. GD21156

Kürekci, C., Beyazıt, N. (2022). *Mentha piperita* var. *citrata*'nın farklı solventler kullanılarak hazırlanan ekstraktlarının kimyasal kompozisyonları ve antimikrobiyal aktiviteleri. GIDA (2022) 47 (3) 531-538 doi: 10.15237/gida. GD21156

ABSTRACT

The main aim of this study was to evaluate the phytochemical composition of extracts of *Mentha piperita* var. *citrata* obtained by using three different solvents as well as their antimicrobial activity against a panel of Gram positive and Gram negative bacteria. The antibacterial activities of the extracts (hexane, chloroform, and 70% aqueous methanol) were tested against a panel of bacteria using broth microdilution method. Rosmarinic acid (10.505 mg/g extract), cynaroside (8.545 mg/g extract) and cosmosiin (8.489 mg/g extract) appeared to be the major components of methanolic extract, whereas acetin was the most abundant (8.438 mg/g extract) component of chloroform extract. *M. citrata* extracts showed significant antimicrobial activity against Gram positive bacteria at different concentrations. Chloroform extract from *M. citrata* showed antimicrobial activity at concentration of 512-4096 µg/mL, whereas hexane and methanolic extracts had activity at 1024-4096 µg/mL and 2048-4096 µg/mL, respectively. This study shows the different chemical composition and antimicrobial activities of *M. citrata* extracts obtained by using different extraction solvents.

Keywords: *Mentha citrata*, antimicrobial activity, phytochemicals, methanol extract

MENTHA PIPERITA VAR. CITRATA'NIN FARKLI SOLVENTLER KULLANILARAK HAZIRLANAN EKSTRAKTLARININ KİMYASAL KOMPOZİSYONLARI VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

ÖZ

Bu çalışma farklı çözücüler kullanılarak *Mentha piperita* var. *citrata* bitkisinden elde edilen ekstraktların fitokimyasal kompozisyonunun belirlenmesi, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesini amaçlamaktadır. Hekzan, kloroform, ve %70'lik metanol ile hazırlanan ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri sıvı mikrodilüsyon metodu kullanılarak test edilmiştir. Rosmarinik asit (10.505 mg/g ekstrakt), sinarosid (8.545 mg/g ekstrakt) ve kosmosiin (8.489 mg/g ekstrakt) metanolik ekstraktta baskın olarak bulunan fitokimyasallar olurken, akasetin

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: ckurekci@mku.edu.tr

☎: (+90) 326 245 5313

☎: (+90) 326 245 5704

Cemil Kürekci; ORCID no: 0000-0002-6442-2865

Neslihan Beyazıt; ORCID no: 0000-0002-5722-2400

(8.438 mg/g ekstrakt) kloroform ekstrakta en fazla bulunan fitokimyasadır. *M. citrata* ekstraktları Gram pozitif bakterilere karşı farklı konsantrasyonlarda antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. *M. citrata* bitkisinden elde edilen kloroform ekstraktının antimikrobiyal aktivite aralığı 512-4096 µg/mL iken, hekzan ve metanolik ekstraktlarının aktivitelelerinin sırasıyla 1024-4096 µg/mL ve 2048-4096 µg/mL olduğu bulunmuştur. Bu çalışma farklı ekstraksiyon çözücüleri kullanıldığında *M. citrata* ekstraktlarının farklı kimyasal kompozisyona ve farklı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Mentha citrata*, antimikrobiyal aktivite, fitokimyasallar, metanol ekstrakt

INTRODUCTION

Antimicrobial resistance has been identified as one of the most serious public health threat worldwide (Tacconelli and Pezzani, 2019). Goff vd., (2017) recently estimated that 700.000 people die from infections globally each year and somberly warned that annual death toll will keep going over 10 million by 2050. Therefore, not surprisingly, it is argued that there is a great need to find effective alternatives to combat with this issue (Stanton, 2013). One of these alternatives is the use of the medicinal plants, which have been widely used and proven as promising alternatives as an ancient practice for thousands of years (Lillehoj vd., 2018; Sumner, 2000). Therefore, in recent years, extracts and essential oils originated from plant sources have gained more urgency for the search of the antimicrobial properties.

Among the potential medicinal plants of antimicrobial properties, the genus *Mentha* (Lamiaceae) is of particular interest due to its essential oil rich characteristics (İşcan vs., 2002). *Mentha piperita* var. *citrata* (Ehrh.) Briq. (*M. citrata*; Orange mint), known as Eau de Cologne mint or bergamot mint, has a citrus fruit scent. Unlike the commercial *Mentha* species such as peppermint, for which the main essential oil patterns are menthol and menthone (İşcan vd., 2002; Singh and Pandey 2018), the predominant essential oil patterns of *M. citrata* consist of mainly linalool and linalyl acetate (Hendawy vd., 2015; Murray and Lincoln 1970). Not only can *Mentha citrata* be used commercially for food, cosmetic and fragrance industries, it can also be used as tea for the treatment of fevers, headaches, digestive disorders and various minor ailments (Hendawy vd., 2015).

Although previous studies have described the phytochemical properties of other *Mentha piperita*

extracts and their antimicrobial and cytotoxic activities (Elansary vd., 2020; Pramila vd., 2012), no detailed investigation on the antimicrobial activity of *M. citrata* extracts has been presented so far. In view of all these, we aimed to establish the concentrations of phytochemicals and antimicrobial activity of *M. citrata* extracts obtained by different extraction solvents against Gram positive and Gram negative bacteria.

MATERIAL AND METHODS

Plant material and extract preparations

M. citrata leaves used in this study were harvested from the wild and species identification was carried out by Assoc. Prof. Dr. Yelda Güzel from Faculty of Arts and Sciences at Hatay Mustafa Kemal University. Before use, fresh leaf material was shade dried and sieved (using a sieve mill) to a particle size 3-5 mm.

Ground leaf material (2.5 g) was extracted with 50 mL of methanol (70% prepared with deionized water), hexane (100%) and chloroform (100%) in a glass beaker as described previously (Kemp and McSweeney, 2010). These mixtures were mixed at room temperature for 3 hours on a shaker machine. Extracts were filtered through paper filter (Wattman No: 2) and the procedure was repeated two times. All collected supernatants were combined and organic phases from the leaf extract was dried with a rotary evaporator under reduced pressure (Heidolph, Germany). Extracts were then freeze-dried (Telstar Lyoquest -85, Austria) and stored in amber glass bottles at 4°C in the dark until microbiological studies.

Qualitative Analysis of Phytochemicals

The qualitative and quantitative analysis of phytochemicals in methanol and chloroform extracts was determined by ultrahigh performance liquid chromatography (UHPLC) according to

the method of as previously described by Yilmaz (2020). The method used herein was previously validated by Yilmaz (2020). The chromatographic system (Shimadzu-Nexera model UHPLC coupled with a tandem mass spectrometer, Japan) was composed of an auto-sampler (SIL-30AC model), a column oven (CTO-10ASvp model), binary pumps (LC-30AD model) and a degasser (DGU- 20A3R model). Briefly, chromatographic separation was conducted on a reversed phase Agilent Poroshell 120 EC-C18 model (150 mm×2.1 mm, 2.7 µm) analytical column. The following MS operating conditions were used: drying gas (N₂) flow, 15 L/min; nebulizing gas (N₂) flow, 3 L/min; DL temperature, 250°C; heat block temperature, 400°C, and interface temperature, 350°C. The temperature of the column was maintained at 40°C. Eluent A (water+5 mM ammonium formate+0.1% formic acid) and eluent B (methanol+5 mM ammonium formate+0.1% formic acid) were used to separate the phytochemicals. The step gradient patterns were 20-100% B for 0-25 min, 100% B for 25-35 min and 20% B for 35-45 min. The solvent flow rate was set at 0.5 mL/min and injection volume was 5 µL. LabSolutions software (Shimadzu,

Japan) was used for LC-ESI-MS/MS data acquisition and processing.

Antimicrobial activity

The antimicrobial activity of extracts against a panel of organisms given in Table 1 was tested by broth microdilution assay as described by Kemp and McSweeney, (2010). The extracts were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO; a stock concentration of 41 mg/mL). Strains were cultured from the glycerol stocks in blood agar plates overnight growth at 37 °C. Bacterial suspensions (10 µL; 1x10⁶ cfu/mL) were subsequently transferred to U bottom 96 well plates with increasing concentrations of extract (from 128 to 4096 µg/mL). Two controls, one with no bacteria (sterility control) and the other without addition of extract (bacterial growth control), were also included in each assay. DMSO concentration used in the test was 2.5% and this concentration did not show any antimicrobial activity for test organisms. After 24 h incubation, 30 µL of resazurin (2.2 mg/mL) was added to each well. The 96-well plate was incubated at 37°C for 30 min, then the color change was observed by visually (Sarker et al. 2007). The experiments were repeated three times.

Table 1. Test microorganisms

Microorganisms	Antimicrobial resistance profile
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	None
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13476	Carbapenemase producer (IMP type)
<i>Escherichia coli</i> NCTC 14476	Plasmid-mediated AmpC beta-lactamase and ESBL producer, also resistant to quinolones, trimethoprim
Gram negative <i>Escherichia coli</i> NCTC 14477	ESBL producer
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13443	Carbapenemase producer (NDM-1 type)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	Carbapenemase producer (KPC-3 type)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13440	Carbapenemase producer (VIM type)
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	None
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	None
<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 13552	Methicillin resistant (MRSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	None
Gram positive <i>Enterococcus casseliflavus</i> ATCC 700327	None
<i>Enterococcus faecium</i> NCTC 10202	None
<i>Enterococcus faecium</i> (RSKK 623)	None
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	Vancomycin resistant
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13061	None

RESULTS AND DISCUSSION

All the phytochemical components of the extracts of *M. citrata* differed significantly between the two organic solvents, methanol and chloroform, as presented in Table 2 and Figure 1. 26 and 17 different phytochemicals (out of 56 tested) were determined in *M. citrata* methanolic and chloroform leaf extracts, respectively (Table 2). Among the different phytochemicals in methanol extracts, the highest concentration was found to be rosmarinic acid (10.505 mg/g extract), that was followed by cynaroside (8.545 mg/g extract) and

cosmosiin (8.489 mg/g extract). Similar observations were reported for other *Mentha* species such as *M. piperita* and *M. longifolia* by Elansary vd., (2020), who reported that the main phytochemical found was rosmarinic acid. The other phytochemicals were also found in high concentrations, hesperidin (2.878 mg/g extract), quinic acid (2.243 mg/g extract), acacetin (1.571 mg/g extract), tannic acid (0.877 mg/g extract), caffeic acid (0.625 mg/g extract) and luteolin (0.555 mg/g extract).

Table 2. Phytochemical composition (mg analyte/g extract) of extracts of *M. citrata* leaf

Analyte	Methanol	Chloroform
Vanillin	0.203	0.259
Coumarin	0.004	0.026
Hesperidin	2.878	0.320
Quinic acid	2.243	N.D.
Fumaric acid	0.204	0.122
Gallic acid	0.051	N.D.
Protocatechuic acid	0.363	0.102
Gentisic acid	0.042	N.D.
Protocatechuic aldehyde	0.048	0.285
Chlorogenic acid	0.125	N.D.
Tannic acid	0.877	N.D.
Vanilic acid	N.D.	0.256
Caffeic acid	0.625	0.079
Syringic aldehyde	N.D.	0.018
p-Coumaric acid	0.194	0.317
Salicylic acid	0.099	0.102
Cynaroside	8.545	N.D.
Miquelianin	0.101	N.D.
isoquercitrin	0.134	N.D.
Rosmarinic acid	10.505	N.D.
Cosmosiin	8.489	0.634
Astragalin	0.151	N.D.
Luteolin	0.555	0.3
Hesperetin	0.136	0.673
Naringenin	0.161	1.013
Kaempferol	0.009	N.D.
Apigenin	0.387	0.628
Acacetin	1.571	8.438

N.D.: Not detected

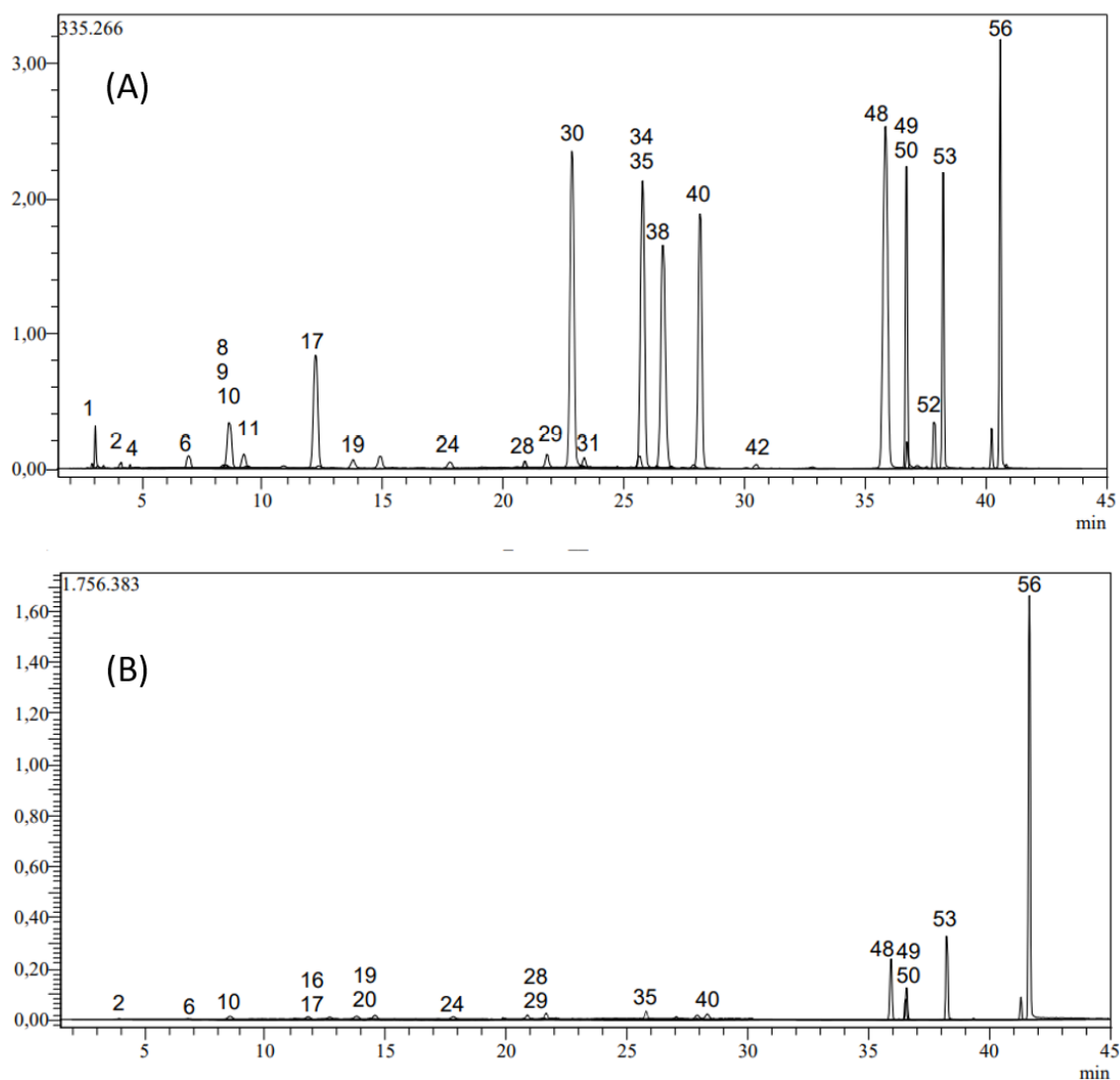


Figure 1. Chromatograms of methanol (A) and chloroform (B) extracts. Peaks: (1: Quinic acid, 2: Fumaric acid, 4: Gallic acid, 6: Protocatechuic acid, 8: Gentisic acid, 9: Chlorogenic acid, 10: Protocatechuic aldehyde, 11: Tannic acid, 16: Vanilic acid, 17: Caffeic acid, 19: Vanillin, 20: Syringic aldehyde, 24: *p*-Coumaric acid, 28: Coumarin, 29: Salicylic acid, 30: Cynaroside, 31: Miquelianin, 34: isoquercitrin, 35: Hesperidin, 38: Rosmarinic acid, 40: Cosmosiin, 42: Astragalin, 48: Naringenin, 49: Hesperetin, 50: Luteolin, 52: Kaempferol, 53: Apigenin, 56: Acacetin)

On the other hand, acacetin was the most abundant (8.438 mg/ g extract) phytochemical in chloroform extract of this plant. The following phytochemicals were also identified; naringenin (1.013 mg/ g extract), hesperetin (0.673 mg/ g extract), cosmosiin (0.634 mg/ g extract), apigenin (0.628 mg/ g extract), hesperidin (0.320 mg/ g extract), *p*-Coumaric acid (0.317 mg/ g extract) and vanillin (0.259 mg/ g extract) in

chloroform extract. It is well known fact that the use of different organic solvents (polar and nonpolar) affected the chemical composition in extracts (Ghosh vd., 2012; Khanam vd., 2015). Thus, the different recoveries of phytochemicals observed in the present study can be explained by the polar characteristics of the solvents and also suggests the importance of using different types of extraction solvent.

As seen from analysis of the MIC results, the growth of Gram-positive bacteria was influenced by all type of extracts (Table 3). Regardless of the species, all *Enterococcus* spp., including vancomycin resistant, exhibited high susceptibility to chloroform extract of *M. citrata*, with a MIC of 512-1024 µg/mL. In contrast, the MICs of methanol (2048->4096 µg/mL) and hexane (1024-4096 µg/mL) extracts for the strains of *Enterococcus* were higher. The MIC of chloroform extract for *B. cereus* was found to be 1024 µg/mL, whereas it was determined to be 2048 µg/mL for methanol and hexane extracts. The respective MICs for the *S. aureus* strains ranged from 1024 to 4096 µg/mL for all extracts. Several studies have confirmed that antimicrobial activity has influenced by the organic solvent used for extraction and these studies shown that the antimicrobial activity of chloroform extracts was superior to aqueous, ethanol and hexane extracts of different plants (Hassan vd., 2011; Yilmaz vd.,

2004), even though there are conflicting data revealing the different antimicrobial activity of polar and non-polar solvent extracts (Gul and Bakht, 2015; Khanam vd., 2015). On the other hand, Gram negative bacteria tested in the current study showed resistant to all extract types at the highest concentration level of 4096 µg/mL. The results of the current study agree with Kurekci vd., (2012) who also reported that Gram negative bacteria such as *E. coli* and *S. Typhimurium* are less susceptible to antimicrobial activity of ethanolic extracts of Australian medicinal plants when compared to Gram positive bacteria like *B. cereus* and *E. faecalis*. In addition, İşcan vd., (2002) reported that the essential oil of *M. piperita* exhibited weaker activity against Gram negative bacteria than Gram positive ones. These differences in sensitivity to the extract was previously attributed to the structural and compositional differences in membranes between the two groups (Friedman vd., 2002).

Table 3. The minimum inhibitory concentration (µg/mL) of extracts of *M. citrata* against microorganism

Microorganisms	MIC (µg/mL)		
	Hexane	Methanol	Cloroform
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	2048	4096	4096
<i>S. aureus</i> NCTC 13552	4096	4096	4096
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	4096	4096	4096
<i>E. casseliflavus</i> ATCC 700327	4096	4096	1024
<i>E. faecium</i> NCTC 10202	4096	NA	512
<i>E. faecium</i> (RSKK)	2048	2048	1024
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	1024	2048	512
<i>B. cereus</i> ATCC 13061	2048	2048	1024

NA: No activity at the highest concentration (4096 µg/mL), The results for Gram negative organisms are not included in the table as there has been no activity obtained at the highest concentration at all.

Extracts and essential oils of *Mentha* species including *M. piperita* and *M. longifolia* have been known to exert antimicrobial and antioxidant activity against a variety of organisms (Elansary vd., 2020; Gholamipourfard vd., 2021; İşcan vd., 2002). The results of the current study are higher than extracts of *M. piperita* and *M. longifolia* (Elansary vd., 2020). It is well-known fact that biological activities of plants are greatly influenced

by external factors such as extraction types and products including whole plant, extracts, essential oils. Additionally, chemical composition alone has a strong impact on the biological activities of plant extracts. For example, rosmarinic acid, acacetin and cosmosiin, highly detected compounds in the current study, have shown to had antioxidant, anticancer and anti-inflammatory properties (Al-Dhabi vd., 2014; Patel, 2021; Singh vd., 2020). A

recent study conducted by Elansary vd., (2020) reported the antiproliferative and antibacterial activities of rosmarinic acid by using *in vitro* studies. Since previous studies demonstrated the effectiveness of *Mentha* leaves to enhance the shelf life of food products due to the reduced microbial growth (Gholamipourfard vd., 2021), *M. citrata* extracts might be beneficial as food preservation agent due to their antimicrobial activity towards Gram positive organisms, though antioxidant activity was not investigated.

CONCLUSION

Our findings suggest that the composition and phytochemical profile of *M. citrata* are somewhat influenced by the polarity of extraction solvent. In addition, the different solvent extracts of *M. citrata* have antibacterial properties against Gram positive bacteria including strains with antibiotic resistance, but also serve polyphenolic chemicals such as rosmarinic acid and hesperidin highlighting the potential of this plant to be used for food preservation.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant of the Hatay Mustafa Kemal University (20.M.046).

CONFLICTING INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Cemil Kürekci designed research, performed antimicrobial activity and wrote the paper; Neslihan Beyazid extracted plant, analyzed HPLC data.

REFERENCES

Al-Dhabi, N.A., Arasu, M.V., Park, C.H., & Park S.U. (2014). Recent studies on rosmarinic acid and its biological and pharmacological activities. *EXCLI Journal*, 13: 1192-1195.

Elansary, H.O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., Klimek-Szczykutowicz, M., El-Ansary, D.O., & Mahmoud, EA. (2020). Polyphenol profile and antimicrobial and cytotoxic activities of natural *Mentha × piperita* and *Mentha longifolia* populations in Northern Saudi Arabia. *Processes*, 8: 479.

Friedman, M., Henika, P.R., & Mandrell, R.E. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*, 65: 1545–1560.

Goff, D.A., Kullar, R., Goldstein, E.J.C., Gilchrist, M., Nathwani, D., Cheng, A.C., Cairns, K.A., Escandón-Vargas, K., Villegas, M.V., Bring, A., van den Bergh, D., & Mendelson, M. (2017). A global call from five countries to collaborate in antibiotic stewardship: united we succeed, divided we might fail. *Lancet Infectious Diseases*, 17(2): e56-e63.

Ghosh, A., Chwdhury, N., & Chandra, G. (2012). Plant extracts as potential mosquito larvicides. *Indian Journal of Medicinal Research*, 135: 581-598.

Gul, P., & Bakht, J. (2015). Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4): 2272–2279.

Hassan, L.E.A., Sirat, H.M., Yagi, S.M.A., Koko, W.S., & Abdelwahab, S.I. (2011). In vitro antimicrobial activities of chloroformic, hexane and ethanolic extracts of *Citrullus lanatus* var. *citroides* (wild melon). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 1338–1344.

Hendawy, F.S., Hussein, M.S., El-Gohary, A.E., & Ibrahim, M.A. (2015). Effect of foliar organic fertilization on the growth, yield and oil content of *Mentha piperita* var. *citrata*. *Asian Journal of Agricultural Research*, 9: 237-248.

Işcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., Baser, K.H.C., & Demirci, F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 3943–3946.

Khanam, Z., Wen, C.S., & Ul Haq Bhat, I. (2015). Phytochemical screening and antimicrobial activity of root and stem extracts of wild *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali). *Journal of King Saud University-Science*, 27: 23-30.

Kemp, G.W., & McSweeney, C.S. (2010). Screening of plants for inhibitory activity against pathogenic microorganisms from the gut of livestock. In *in vitro* screening of plant resources

- for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies, Vercoe PE, Makkar HPS, Schlink AC (eds). Springer: New York, 1–245.
- Kurekci, C., Bishop-Hurley, S.L., Vercoe, P.E., Durmic, Z., Al Jassim, R.A., & McSweeney, C.S. (2012). Screening of Australian plants for antimicrobial activity against *Campylobacter jejuni*. *Phytotherapy Research*, 26: 186-190.
- Lillehoj, H., Liu, Y., Calsamiglia, S., Fernandez-Miyakawa, M.E., Chi, F., Cravens, R.L., Oh, S., & Gay, C.G. (2018). Phytochemicals as potential antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health: a report from the second international symposium on alternatives to antibiotics. *Veterinary Research*, 46: 76–93.
- Murray, M.J., & Lincoln, D.E. (1970). The genetic basis of acyclic oil constituents in *Mentha citrate* Ehrh. *Genetics*, 65: 457–471.
- Patel, D.K. (2021). Biological potential of apigenin in the medicine for the treatment of various forms of inflammatory disorders: Phytotherapeutic approach for respiratory infections. *Annals of Hepato-Biliary-Pancreat Surgery*, 25(1): S302.
- Pramila, D.M., Xavier, R., Marimuthu, K., Kathiresan, S., Khoo, M.L., Senthilkumar, M., Sathya, K., & Sreeramanan, S. (2012). Phytochemical analysis and antimicrobial potential of methanolic leaf extract of peppermint (*Mentha piperita*: Lamiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2): 331-335.
- Sarker, S.D., Nahar, L., & Kumarasamy, Y., (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*, 42: 321-4.
- Singh, P., & Pandey, A.K., (2018). Prospective of essential oils of the genus *Mentha* as biopesticides. *Frontiers in Plant Science*, 9: 1295.
- Sumner, J., (2000). The natural history of medicinal plants, foreword by Mark J. Plotkin, Timber Press, Portland, OR.
- Stanton, T.B., (2013). A call for antibiotic alternatives research. *Trends Microbiology*, 21, 111–113.
- Tacconelli, E., & Pezzani, M.D., (2019). Public health burden of antimicrobial resistance in Europe. *Lancet Infectious Diseases*, 19(1): 4–6.
- Yilmaz, M.A., (2020). Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: a detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation. *Industrial Crops and Products*, 149: 112347.
- Yılmaz, M., Türk, A.Ö., Tay, T., & Kıvanç, M., (2004). The antimicrobial activity of extracts of the lichen *Cladonia foliacea* and its (+)-usnic acid, atranorin, and fumarprotocetraric acid constituents. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59: 249–254.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Aktaş, H., Çetin, B. *Investigation of starter culture properties and antifungal activities of pickle-derived lactic acid bacteria* / Turşu kökenli laktik asit bakterilerinin starter kültür özellikleri ve antifungal aktivitelerinin incelenmesi.....387-398
- Uzun, P., Özünal, A. E., Başkaya, H., Doğan, N., Gülay, S. M., Hantal, B., Üner, M., Barla Demirkoz A. B. *Investigation of flavour permanence of strawberry and watermelon flavoured chewing gums by using retronasal aroma trapping device and sensory analysis techniques* / Çilek ve karpuz aromalı sakızlarda aroma kalıcılığının retronazal aroma-yakalama cihazı ve duyu analizi teknikleri kullanılarak araştırılması.....408-419
- Bıyık, Ş., Turhan, S. *Evaluation of quality and storage stability of beef patties containing different levels of peanut (Arachis hypogaea L.) skin* / Farklı düzeylerde yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.) zarı içeren sığır köftelerinin kalite ve depolama stabilitesinin değerlendirilmesi.....420-433
- Balkır, P. *Functional, rheological and microstructural properties of freeze-dried yogurt powder* / Dondurarak kurutma ile elde edilmiş yoğurt tozunun fonksiyonel, reolojik ve mikroyapısal özellikleri.....457-467
- Dündar-Kırıt, B., Akyıldız, A. *Investigation of thermosonicated strawberry nectar quality during storage and kinetic modelling* / Depolama boyunca termosonikasyon uygulanan çilek nektarı kalite özelliklerinin araştırılması ve kinetik modelleme.....481-492
- Aydın, E. *Characterization of the physico-chemical composition, phyto-chemical properties, cooking characteristics and bioactive compounds of konuralp rice* / Konuralp pirincinin fizikokimyasal bileşeni, fitokimyasal özellikleri, pişirme karakteristikleri ve biyoaktif bileşenleri.....518-530
- Kürekcı, C., Beyazıt, N. *Chemical composition and antibacterial activity of mentha piperita var. Citrata extracts obtained by different extraction solvents* / Mentha piperita var. citrata'nın farklı solventler kullanılarak hazırlanan ekstraktlarının kimyasal kompozisyonları ve antimikrobiyal aktiviteleri.....531-538

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Yıldırım, N., Özden Tuncer, B. *Antimikrobiyel aktiviteye sahip Pediococcus acidilactici ve Pediococcus pentosaceus suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi / Determination of probiotic properties of Pediococcus acidilactici and Pediococcus pentosaceus strains with antimicrobial activity*.....434-446
- Rüzgâr, H., Yazıcı, Ş. (2022). *Alıç meyvesinden sanayiye uygun alıç püresi üretimi / Production of hawthorn puree for industry from hawthorn fruit*447-456
- Aksu, M. İ., Derman, H. *Sığır kıymasının bazı kalite özellikleri ve raf ömrü üzerine Trachystemon Orientalis L. su, metanol ve petrol eter ekstraktlarının etkileri / The effects of water, methanol and petroleum ether extracts of Trachystemon Orientalis L. on some quality properties and shelf life of ground beef*.....468-480
- Tokgöz, H., Çınar, O., Gölükçü, M., Uysal-Bayar, F. *Biberiyenin (Rosmarinus officinalis) karnosik asit ve karnosol içeriğinin hasat zamanı ve lokasyona göre değişimi / Carnosol and carnosic acid content of rosemary (Rosmarinus officinalis) with respect to location and harvesting time*.....493-501
- Gümüş-Bonacina, C.E. *Yeşil çay ekstraktının ayçiçek, soya ve fındık yağında doğal antioksidan olarak kullanımının oksidatif stabilite üzerine etkisinin kinetik ve termodinamik çalışmalarla değerlendirilmesi / Evaluation of the effect of green tea extract utilization as a natural antioxidant in sunflower, soybean and hazelnut oil on oxidative stability by kinetic and thermodynamic studies*.....502-517

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Başkan, S., Kılıç Kanak, E., Öztürk Yılmaz, S. *Borun antimikrobiyel etkileri ve gıdalarda koruyucu olarak kullanım olanaklarının değerlendirilmesi / Antimicrobial effects of boron and evaluation of usage opportunities as a preservative in foods*.....399-407