

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 50

SAYI / NUMBER : 1

YIL / YEAR : 2025

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. İbrahim ÇAKIR

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Editör / Editor-in Chief Çakır, İbrahim; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Türkiye</i>	Danışma Kurulu / Advisory Board Acar Soykut, Esra; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Eskişehir Osman Gazi University, Turkey</i> Baysal, Taner; <i>Ege University, Turkey</i> Bezirtzoglou, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Boyacı, İsmail Hakkı; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Bozdoğan Konuşkan, Dilşat; <i>Mustafa Kemal University, Turkey</i> Candoğan, Kezban; <i>Ankara University, Turkey</i> Coşansu Akdemir, Serap; <i>Sakarya University, Turkey</i> Çapanoğlu Güven, Esra; <i>İstanbul Teknik University, Turkey</i> Dertli, Enes; <i>İstanbul Technical University, Turkey</i> Draughon, Ann; <i>Tennessee University, USA</i> El, Sedef Nehir; <i>Ege University, Turkey</i> Erbay, Zafer; <i>Adana Bilim ve Teknik University, Turkey</i> Erten, Hüseyin; <i>Çukurova University, Turkey</i> Fogliano, Vincenzo; <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C.; <i>National Dairy Research Institute, India</i> Griffiths, Mansel; <i>University of Guelph, Canada</i> Gül, Hülya; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Güneşer, Onur; <i>Uşak University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang; <i>The State University of New Jersey, USA</i> İşleten Hoşoğlu, Müge; <i>Gebze Teknik University, Turkey</i> Kaban, Güzin; <i>Atatürk University, Turkey</i> Karaaslan, Mehmet; <i>Harran University, Turkey</i> Karaca, Hakan; <i>Pamukkale University, Turkey</i> Kuleaşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Küçükçetin, Ahmet; <i>Akdeniz University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J.; <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muhtaba, Mustafa G.; <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özmen Toğay, Sine; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Paalme, Toomas; <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Raspor, Peter; <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M.; <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Selli, Serkan; <i>Çukurova University, Turkey</i> Soyer Küçükşenel, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Tekin, Aziz; <i>Ankara University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Oktay; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yıldırım, Zeliha; <i>Ömer Halis Demir University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Yüceer, Yonca; <i>Çanakkale On Sekiz Mart University, Turkey</i>
Editörler / Editors Avcı, Ayşe; <i>Sakarya University, Türkiye</i> Aydın, Furkan; <i>Aksaray University, Türkiye</i> Çevik, Kutlu; <i>Karamanoğlu Mehmetbey University, Türkiye</i> Çolakoglu, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Türkiye</i> Demirkesen Mert; <i>Ilkem, Ministry of Agriculture And Forestry, Türkiye</i> Demirok Soncu, Eda; <i>Ankara University, Türkiye</i> Erinç, Hakan; <i>Niğde Ömer Halisdemir University, Türkiye</i> Eyiler, Esen; <i>Akdeniz University, Türkiye</i> Kahraman, Kevser; <i>Abdullah Gül University, Türkiye</i> Kuleaşan, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Türkiye</i> Oskaybaş Emlek, Betül; <i>Niğde Ömer Halisdemir University, Türkiye</i> Sarcaoğlu, Furkan Türker; <i>Bursa Technical University, Türkiye</i> Torun, Mehmet; <i>Akdeniz University, Türkiye</i> Yılmaz, Merve Sılanur; <i>Bitlis Eren University, Türkiye</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/ <i>Widely published and peer-reviewed</i>	
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 02 2025	

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

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

İçindekiler / *Content* GIDA (2025)50(1)

Araştırmalar (İngilizce) / *Researches (English)*

Gorgulu A. (2025). *Sustainable agriculture and climate solutions for the future of food security* / Gıda güvenliğinin geleceği için sürdürülebilir tarım ve iklim çözümleri1-14

Kutlu, G., Erol, K. F. (2025). *An in vitro assessment of the bioactive, cytotoxic, and antidiabetic potential of different parts of tumbleweed (Gundelia tournefortii L.)* / Kenger (*Gundelia tournefortii* L.) bitkisinin farklı kısımlarının biyoaktif, sitotoksik ve antidiyabetik potansiyelinin in vitro değerlendirilmesi28-41

Bostancı Selbeş, E., Şabin, Ö., Vural, H. (2025). *Extraction conditions for different parts of melocan (Smilax excelsa L.) using supercritical carbon dioxide* / Melocan'ın (*Smilax excelsa* L.) farklı kısımları için süperkritik karbon dioksit ekstraksiyon koşulları42-55

Araştırmalar (Türkçe) / *Researches (Turkish)*

Erge, A. (2025). *Çörek otu yağı ile zenginleştirilmiş jelatin bazlı ambalaj filmi üretimi ve tavuk eti muhafazasında kullanımı* / *Black seed oil-enriched packaging film made from gelatin and its application in the preservation of chicken meat*15-27

Olum, E., Ata, H., Uzun, A., Sönmez, A. (2025). *Stevia rebaudiana* ekstraktı ile tatlandırılmış vegan dondurmanın fiziksel ve duyu kalite özelliklerinin değerlendirilmesi / *Evaluation of the physical and sensory quality characteristics of vegan ice cream sweetened with Stevia rebaudiana*74-86

Yiğit, C., Aykın Dinçer, E. (2025) Karadut (*Morus nigra*) ve hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktları kullanılarak biyoaktif bileşenlerce zengin ve karmine alternatif olarak renklendirilmiş fonksiyonel et çubuğu üretimi / *Use of black mulberry and hibiscus extracts as an alternative to carmine in coloring snack meat sticks*87-101

Arslan Bayrakçı, H. (2025). *Farklı antioksidan kaynaklarının glutensiz krakerin bazı fiziksel, fonksiyonel ve duyu özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of different antioxidant sources on some physical, functional and sensory properties of gluten-free crackers*102-115

Cerit, İ. (2025). *Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve in vitro sindirimin ayçiçek posası ekstraktının fenolik içerik ve antioksidan aktivitesine etkisi* / *Effects of microwave and in vitro digestion on the phenolic content and antioxidant activity of sunflower meal*116-130

Çiftçi, M., Öncül, N. (2025). *An poleni ile zenginleştirilmiş probiyotik yoğurtların bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi* / *Determination of the physico-chemical properties of probiotic yoghurts fortified with bee pollen*131-145

Reviews (English) / *Derlemeler (İngilizce)*

Özdemir, M., Yıldırım, R., Yurttaş, R., Başargan, D., Hakcı, M. B. (2025). *A review of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee waste* / Kahve atıklarından biyoaktif bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonu56-73



SUSTAINABLE AGRICULTURE AND CLIMATE SOLUTIONS FOR THE FUTURE OF FOOD SECURITY

Ahmet GÖRGÜLÜ*

ETI Food Industry and Trade Co., Eskisehir, Türkiye

Received /Geliş: 18.09.2024; Accepted /Kabul: 02.12.2024; Published online /Online baskı: 30.12.2024

Gorgulu A. (2025). Sustainable agriculture and climate solutions for the future of food security. GIDA (2025) 50 (1) 1-14 doi: 10.15237/ gida.GD24099

Gorgulu A. (2025). Gıda güvenliğinin geleceği için sürdürülebilir tarım ve iklim çözümleri. GIDA (2025) 50 (1) 1-14 doi: 10.15237/ gida.GD24099

ABSTRACT

Due to reasons such as the increasing world population, climate change, changes in eating habits, unbalanced nutrition, and food waste, some precautions need to be taken for the world's food future. The world population, which was 8 billion in 2023, is expected to reach 9.7 billion in 2050. If important measures are not taken, food inadequacies, negative environmental impacts, and sustainable human life will be seriously affected in response to this population increase. Full compliance with the European Green Deal targets is required for a sustainable world life. The European Green Deal includes plans to keep the global temperature increase around 1.5 °C, to reduce greenhouse gas emissions by 55% in 2030 compared to 1990, and to become a climate-neutral continent by 2050. It is known that these targets cannot be achieved if current nutrition habits, food waste, land use, water use, and carbon emission habits continue. If habits are not changed, an additional area twice the size of India will be required to feed the growing population by 2050. Considering that food practices constitute 26% of the world's greenhouse gas emissions, significant changes need to be made, and measures need to be taken in the fields of agriculture, animal husbandry, aquaculture, and food. Foremost among these is the significant reduction of food-related emissions through changes in methods, inputs, and technology. In addition, it becomes necessary to make important changes such as returning 1/3 of the food currently wasted in the world to human consumption, a significant change in eating habits, an orientation towards plant-based inputs, and a balanced diet.

Keywords: Carbon emissions, climate change, food losses, nutrition habits, population growth

GIDA GÜVENLİĞİNİN GELECEĞİ İÇİN SÜRDÜRÜLEBİLİR TARIM VE İKLİM ÇÖZÜMLERİ

ÖZ

Dünya nüfusundaki artış, iklim değişikliği, yeme alışkanlıklarındaki değişiklikler, dengesiz beslenme ve gıda israfı gibi nedenlerden dolayı, dünyanın gıda geleceği için bazı önlemler alınması gerekmektedir. 2023 yılında 8 milyar olan dünya nüfusunun 2050 yılında 9.7 milyara ulaşması beklenmektedir. Bu nüfus artışına karşı önemli tedbirler alınmazsa, gıda yetersizlikleri, olumsuz çevresel etkiler ve sürdürülebilir insan yaşamı ciddi şekilde olumsuz etkilenecektir. Sürdürülebilir bir dünya yaşamı için Avrupa Yeşil Mutabakatı hedeflerine tam uyum sağlanması gerekmektedir. Avrupa Yeşil Mutabakatı, küresel sıcaklık artışını 1.5 °C civarında tutmayı, 2030'a kadar 1990'a kıyasla sera gazı emisyonlarının %55 azaltmayı ve 2050'ye kadar iklim nötr bir kıta olmayı içeren planlar

*Corresponding Author/Sorumlu Yazar:

✉: ahmet.gorgulu@etigrup.com.tr

☎: (+90)533 482 2248

☎: (+90)222 221 2000

Ahmet Görgülü; ORCID no: 0000-0002-7549-15241

sunmaktadır. Bu hedeflerin, mevcut beslenme alışkanlıkları, gıda israfı, arazi kullanımı, su kullanımı ve karbon emisyonu alışkanlıkları devam ederse gerçekleşmeyeceği bilinmektedir. Alışkanlıklar değiştirilmezse, 2050 yılına kadar artan nüfusu beslemek için Hindistan'ın iki katı büyüklüğünde ek bir alan gerekecektir. Gıda uygulamalarının dünya sera gazı emisyonlarının %26'sını oluşturduğu göz önüne alındığında, tarım, hayvancılık, su ürünleri yetiştiriciliği ve gıda alanlarında önemli değişiklikler yapılmalı ve önlemler alınmalıdır. Bunların başında, yöntemlerde, girdilerde ve teknolojiye değişiklikler yapılarak gıdayla ilgili emisyonların önemli ölçüde azaltılması gelmektedir. Ayrıca, dünya genelinde şu anda israf edilen gıdaların 1/3'ünün insan tüketimine geri kazandırılması, yeme alışkanlıklarında önemli bir değişiklik, bitki bazlı girdilere yönelim ve dengeli bir diyet gibi önemli değişikliklerin yapılması zorunlu hale gelmektedir.

Anahtar kelimeler: Beslenme alışkanlıkları, gıda kayıpları, iklim değişikliği, karbon emisyonları, nüfus artışı

INTRODUCTION

For a sustainable human and living life in the world, the world temperature increase must be kept below 1.5 °C. To ensure this, very important and priority measures need to be taken. It is predicted that by 2050, an additional 593 million hectares of agricultural land, approximately twice the size of India, will be needed to meet the 56% increase in food demand caused by the growing population (Hertel, 2011). If the current situation remains unchanged, by 2030, an additional planet twice the size of the Earth will be required to

eliminate emissions and waste. If carbon emissions are reduced by 30% by 2030, this needs to decrease to 1.5 °C world sizes. In addition to carbon dioxide, some other Greenhouse Gases (CHG) also have a significant impact on the equivalent carbon emission calculation. The effectiveness levels of CHG gases are given in Table 1 (Chang-Ke et al, 2013). As shown in Table 1, the greatest impact of CHG gases on global temperature increases comes largely from CO₂ emissions from fossil fuels.

Table 1. Components that affect greenhouse gases and equivalent carbon emission effects

Greenhouse Gases (IPCC2007)		*GWP
Carbon dioxide	CO ₂	1
Methane	CH ₄	25
Nitrogen Oxide	N ₂ O	298
HFC	HFC _s	124-14.800
Perfluorocarbons	PFC _s	7.390-12.200
Sulphur Hexafluoride	SF ₆	22.800
Nitrogen Trifluoride	NF ₃	17.200

*GWP: Global Warming Potential

Figure 1 shows the impact rates of greenhouse gas components on world CHG emissions. Accordingly, approximately 79.5% of emissions are carbon dioxide, 11.3% methane, 6.1% nitrogen oxides, and the rest 3.1% generated from hydrofluorocarbons (Overview of Greenhouse Gases | US EPA, n.d.).

Global temperatures are predicted to increase by 5 °C by 2100 if precautions are not taken. Figure 2 shows the annual carbon emissions of G20

countries in 2023. Accordingly, the highest per capita emissions are as follows; it is seen that it is in countries such as China, the US, India, Russia, and Brazil and the world total emissions are 52.96 Gt for CO_{2e}, and 39.02 Gt for CO₂ generated from fossil fuels. The EU emissions are 3.22 Gt for CO_{2e} emissions and 2.51 Gt for CO₂ emissions from fossil fuels. Türkiye's emissions are 606 Mt for CO_{2e} emissions and 438 Mt for CO₂ emissions coming from fossil fuels (EDGAR

- The Emissions Database for Global Atmospheric Research, n.d.).

Figure 3 shows the annual CO_{2e} and CO₂ emissions per capita from fossil sources for the Global, EU and G20 countries in 2023. As seen from the figure, annual emissions per capita among G20

countries are ranked from largest to smallest as KSA, Canada, Russia, Australia, USA, South Korea and China. While EU27 countries are in 11th place, Türkiye is in 13th place. Per capita greenhouse gas emissions (CO_{2e}) in Türkiye are 7.1 tons/year and CO₂ emissions from fossil sources are 5.1 tons/year (EDGAR - The Emissions Database for Global Atmospheric Research, n.d.).

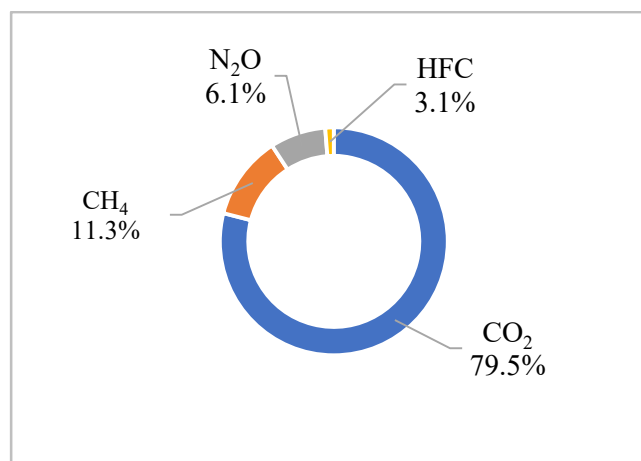


Figure 1. 2023 World greenhouse gas emissions and shares.

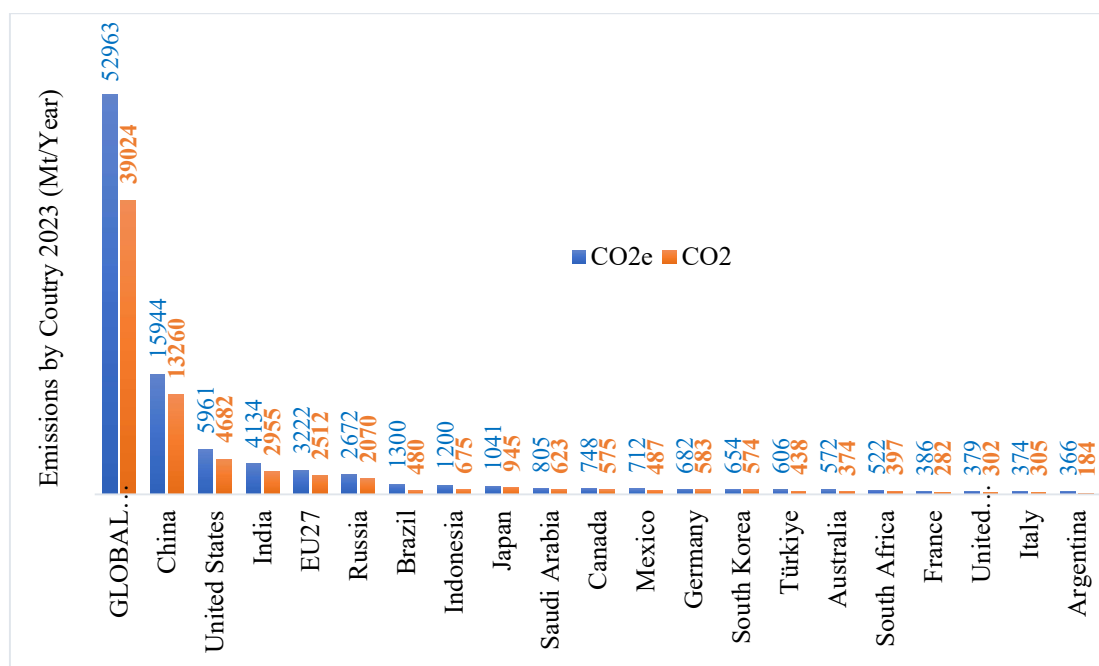


Figure 2. 2023 Annual carbon emissions Global and G20 countries

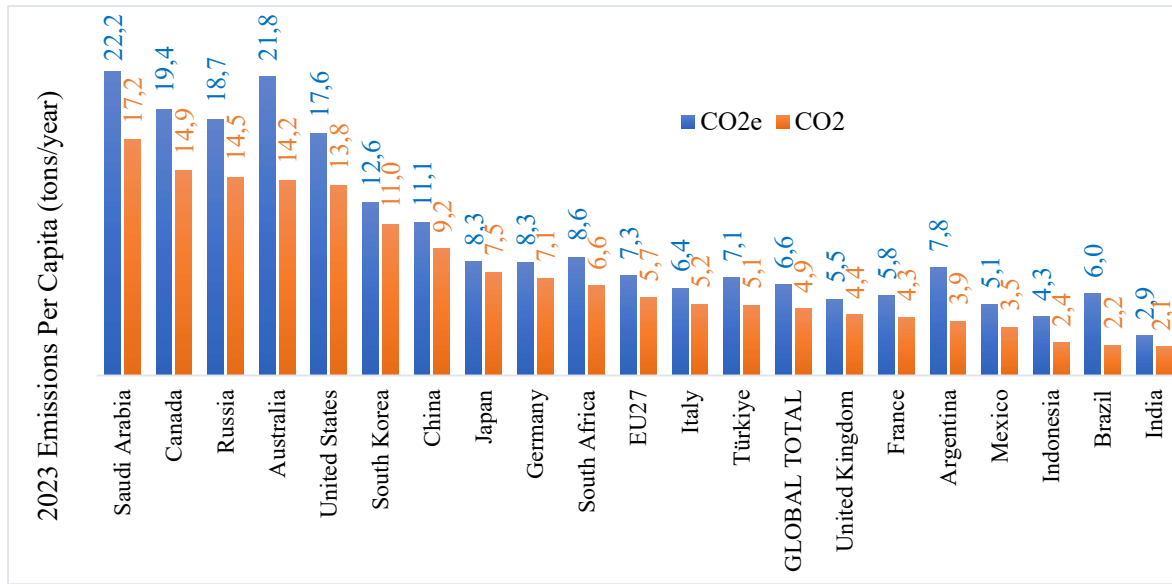


Figure 3. 2023 Annual carbon emissions per capita Global and G20 countries

MATERIALS AND METHODS

In this research, current reports, publications, and statistical data published worldwide and in Türkiye were considered as material. The latest data on food production in the world and Türkiye, food waste, carbon emissions from food, and land used for food were used. As a method, some calculations considered important for the world and Türkiye were made based on the data reported by reliable sources in the world and Türkiye. Türkiye's annual food product production amounts were taken from global and local reports. Most global data in the literature were considered for calculations such as energy, financial values of food, wasted food rates, and carbon footprint. The 26% rate given in the literature was used in the global greenhouse gas emission calculations resulting from total food production. Food quantities produced in Türkiye in 2023 were obtained from the Turkish Statistical Institute (TÜİK) reports. Some data available in the literature were used to distribute Türkiye's food losses based on food type. Some data not yet included in the literature were derived using global data. Examples of these include water consumption corresponding to losses, financial value of food losses, cost of unit lost food, etc. Information about the sources of the data and the calculations is given in the tables for reference. The magnitude of world food losses is described

in Table 2, and the details are summarized below. If food waste were a country, it would be the third highest emitter of greenhouse gases after China and the USA. The global volume of food waste is 1.6 billion tons of "End Product Equivalent," and the consumable part is estimated to be 1.3 billion tons (ESG Report 2023 - IFCO Systems, n.d.). The equivalent of 1.3 billion tons of loss is around 1 trillion USD. Carbon emissions corresponding to food losses are 3.3 billion tons/year, and the total amount of additional water used yearly to produce wasted food is 250,000 tons. Table 2 shows the magnitude of food losses, and their distribution based on food categories. According to this, the highest loss is seen in fruits and vegetables, at a rate of 45%. Aquatic products follow the fruit and vegetable groups at a rate of 35%, dairy products, and meat-poultry products at a rate of 20%. It is seen that 43% of the loss occurs in households, 40% in companies and restaurants, 16% on farms, and 2% in production processes. The life cycle of food is defined in six categories: Agricultural production (e.g., fields), postharvest handling and storage, processing, distribution, consumption, and end-of-life. Recycling of residues after the final stage can also be considered a separate category. This last stage brings a series of processes, such as recycling, reuse, upcycling, etc., which need the most work.

Table 2. Distribution of world food wastes by source

Total World Foods		Total Food Losses			Houses			Companies, Restaurants, Shops			Farms			Producers		
Billion Tons	Trillion USD	%	Billion Tons	Trillion USD	%	Billion Tons	Trillion USD	%	Billion Tons	Trillion USD	%	Billion Tons	Trillion USD	%	Billion Tons	Trillion USD
3.9	1.0	33	1.30	0.33	43	0.55	0.14	40	0.515	0.132	16	0.207	0.053	2	0.026	0.007
					Fruits and Vegetables		Fish and Seafood		Cereals		Dairy Products		Meat and Poultry			
					%		%		%		%		%			
					45		35		30		20		20			

1.4 billion hectares of land, corresponding to 28% of agricultural areas, is used to produce wasted food, food waste alone accounts for approximately 8-10% of global greenhouse gas emissions, produced but never consumed foods that can feed 2 billion people. This size is more than twice the number of malnourished people worldwide. The world is losing an important resource for food production (one-third in 40 years, 75 billion tons of soil loss per year), and it is predicted that food production will need to increase by 56% in 2050 to feed the growing

world population (The Unpalatable Truth about Food Waste: It's Everywhere | WRAP, n.d.; UNEP, 2021). Figure 4 shows the carbon emissions of some important foods along the supply chain per kg of product. In summary, it is necessary to develop alternative plant sources (especially protein) for the consumption of animal products and to reduce the carbon emission effects by making method and recipe changes in overly processed cocoa and coffee products obtained from tropical plants in high demand (Dwyer, 2023).

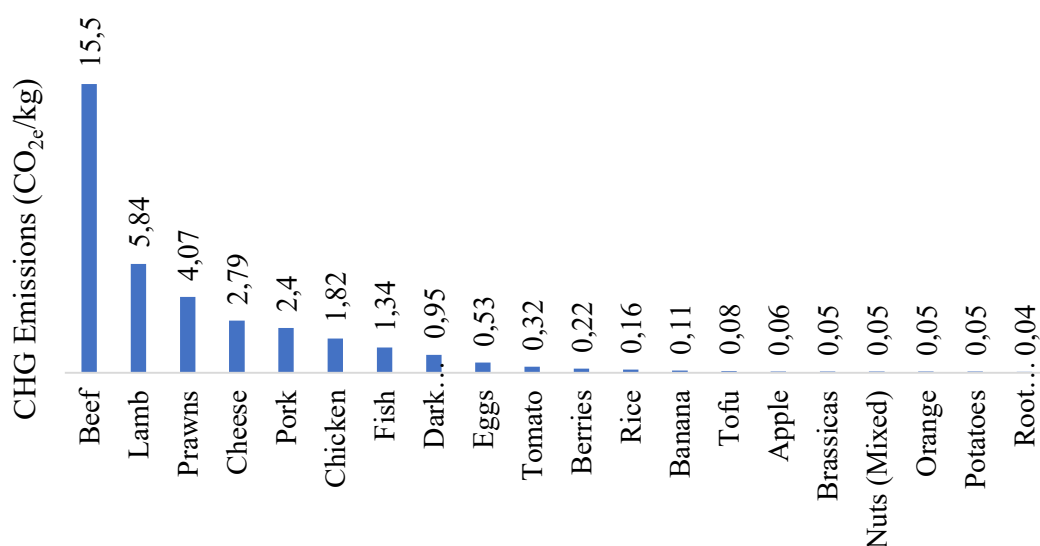


Figure 4. Carbon emissions per unit product of some foods

An example showing the effects of small changes in current consumption habits and food ingredients on carbon emissions can be seen in Figure 5. As can be seen from the figure, carbon

emissions decrease by 2/3 when milk is converted from animal to vegetable sources (Mark Maslin, 2021).

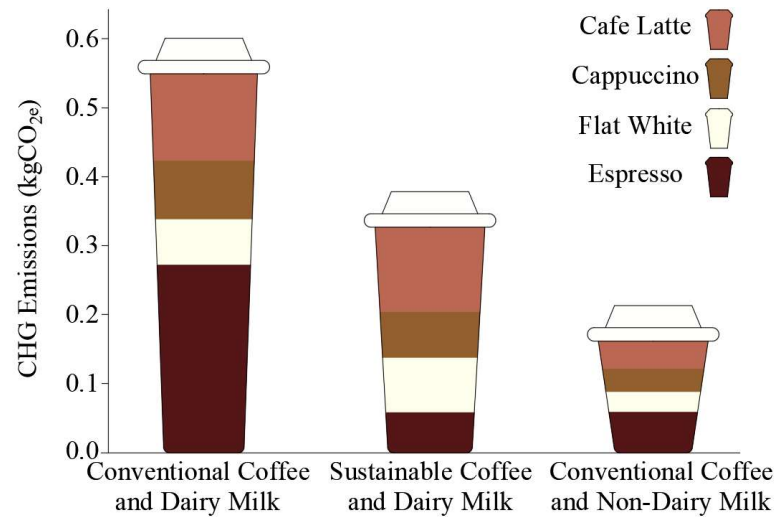


Figure 5. Carbon emissions of some coffee combinations

As seen from the example in Figure 5, considering carbon emissions when making personal food choices can significantly affect world carbon emissions. Based on the result in Figure 4 and as seen from Figure 6, animal resources use a large

amount of land for 1,000 kcal of energy needs. Alternative animal husbandry practices, alternative animal feeding systems (pastures, peatlands, etc.), and consumption reduction solutions should also be considered.

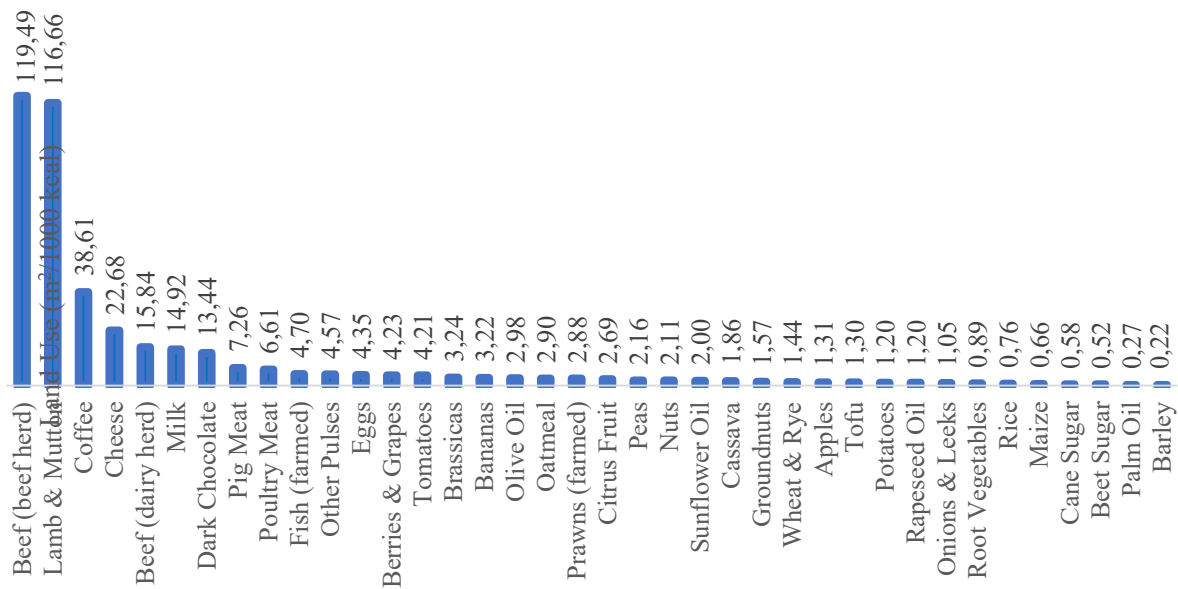


Figure 6. Land uses of some food products per 1,000 kcal

26% of total carbon emissions come from agriculture, food, aquaculture, and livestock processes. The necessary solutions should be considered in the distributions in the graph in Figure 7. As seen from the figure, new approaches need to be implemented for producing, transporting, storing, distributing, and

using food products, which are responsible for approximately 1/4 of total carbon emissions. Priority measures include taking many measures, such as preventing waste throughout the food chain, changing eating habits, and increasing efficiency with new methods and technologies.

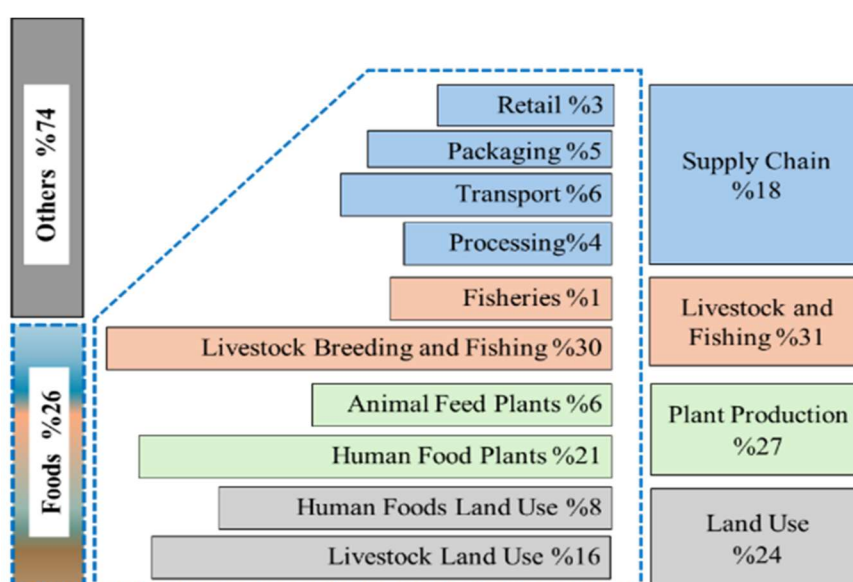


Figure 7. Food products' carbon emissions and sources

RESULTS AND DISCUSSION

Food and nutrition paradoxes

For a sustainable world life, it is recommended that 3 paradoxes be considered. A global consensus should be achieved regarding these paradoxes and necessary measures should be taken accordingly. It is estimated that 55% of adults in Türkiye will be obese or overweight by 2035 (Lobstein et al., 2023). It is estimated that 55% of adults in Türkiye will be obese or overweight in 2035 (Lobstein et al., 2023). 821 million people in the world are facing hunger or malnutrition. 47% of the total plant production in the world is used for human consumption, 40% of the total plant consumption is used for animal consumption or biofuel, 1/3 of the total food (1.3 billion tons/year) is thrown away and the amount of food thrown away is enough to feed 3 times the hungry population of 821 million in the world. Based on these data, three basic food paradoxes can be summarized as follows (Barilla Center FoodandNutrition, 2012).

- Should death from starvation or obesity be preferred?
- Should people, animals, or vehicles be fed with food sources?
- Should food be thrown away, or should malnourished people be fed?

Sustainable food future and human quality of life

Considering some issues such as the increasing world population, adverse environmental effects, and nutritional habits, three important headings of feeding the world population in the future can be summarized as follows:

- Efficiency, savings, new methods,
- Preventing all losses, balanced nutrition,
- Sustainable population growth and fair sharing.

Just as resources are not evenly distributed around the world today, it is stated that the distribution of the growing global food supply by 2050 will probably be unbalanced. Therefore, efforts to increase food supply by 2050 should be paired

with policy initiatives to ensure that benefits are distributed equally to everyone regardless of socioeconomic status.

While global food consumption was 2.65 billion in 2023, it will reach 2.93 billion tons in 2027. The following inferences can be made regarding food and nutritional habits, 2023 average amount of food per capita was 341 kgs/year, western eating habits are depleting the planet faster, and everyone can't become a vegetarian, even if everyone agreed to become vegetarian, the world's agricultural land could not feed more than 10 billion people (Ranganathan et al., 2018), if everyone consumed the average American's diet, the world could feed just 2.5 billion people, it is stated that it is necessary to spend 54 calories of energy to produce 1 calorie of protein from beef (Ritchie, 2020). In summary, significant changes in eating habits and diet systems are required for a sustainable food future, in addition to the measures mentioned above. For a sustainable world and food future, dealing with climate change should be considered a priority issue. Eliminating all factors that cause climate change within a plan is one of the important issues for the world and human life. Some other important topics can be summarized as follows: taking measures to keep the world temperature increase at 1.5 °C, controlling population growth, especially in developing countries, orientation towards renewable energy sources, reducing food losses, removing waste and residues, changing eating habits, preventing unbalanced nutrition, protection of clean water resources, vegetation and forest areas, productivity increases without increasing agricultural areas. The scientific research clearly shows that global temperature rise must be limited to 1.5 °C above pre-industrial levels to avoid the worst effects of climate change and preserve a habitable planet. The Earth is now about 1.1 °C warmer than it was in the late 1800's, and emissions continue to rise. It is an inevitable fact that to achieve the net zero emission target, breakthroughs must be made in the food sector, which covers approximately 25% of total carbon emissions. One of the most significant handicaps in this process is the increasing world population. Unless serious measures are taken, it is predicted

that by 2050, an additional land area twice the size of India will be needed to meet the world's food needs. For a sustainable food future, important measures such as preventing food waste, changing eating habits, and balancing population growth must be taken.

Priorities for a sustainable food future

At the beginning of all measures, the world's linear economy cycle, which is designed as a Take-Make-Discard, should be transitioned to a waste-free and recyclable model, starting from design, considering reuse at every stage without waste. For a sustainable food future, it is necessary to make plans and studies on the issues summarized as follows, reducing food loss and overconsumption, transition to healthier, more sustainable diets, avoiding converting food and agricultural products into bioenergy, keeping population growth at a certain level, increasing livestock and pasture productivity, seed breeding, effective soil and water management, planting existing lands more frequently, adapting to climate change, linking productivity gains to the protection of natural ecosystems, protection of land and forests, reforestation of unproductive agricultural lands, protecting and restoring peatlands, improving wild fisheries management, improving the productivity and environmental performance of aquaculture, reducing enteric fermentation with new technologies, reducing emissions with improved fertilizers, reducing emissions from released manure, reducing emissions from fertilizers by increasing nitrogen use efficiency, increasing agricultural energy efficiency and switching to non-fossil energy sources, implementation of new methods to sequester carbon in soil. Preferences for natural products with high health perception and biodiversity are increasing in the world. Considering the negative effects of climate change, it is inevitable for food systems to be more sustainable and highly efficient in economic, social, and environmental terms. Additionally, reducing the use of pesticides, antimicrobials, and fertilizers comes to the fore. Developing biological methods and disseminating biotechnical control methods are necessary to reduce these materials. In addition to these, the

expansion of organic agriculture, the consolidation of agricultural lands, the use of geothermal energy in agriculture (geothermal greenhouse), the expansion of agricultural specialization in Organized Industrial Zones, and the support of the use of geothermal resources in plant production, the use of other renewable energy resources in agricultural production, the research for the reuse of waste and residues in agricultural production. Supporting priority projects, raising awareness for the recycling of food waste and residues increasing consumer awareness, and improving farm-to-table and biodiversity come to the fore (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, n.d.).

World figures

CHG emissions, food losses and their amounts and costs were calculated using the reports, articles and statistical data published worldwide and in Türkiye. Table 3 shows world CHG gas emissions and CHG emissions from food production in 2023. Food losses and resource

uses such as carbon emissions, water consumption, land use, and financial provisions corresponding to these losses were calculated collectively and per capita. As seen in Table 3, there is a global food loss of 161 kg per person, and the financial value of this is approximately 41 USD per person. When considered as edible foods and based on the total cost of food loss in the reports, it is seen that the unit cost of lost food is around 256.4 USD/kg. It is seen that the electrical energy generated by food losses is around 2,171 terawatt hours. When a calculation is made based on the current average electrical energy unit prices in the European Union, its financial value is 667 billion USD. It is stated that 3.3 billion tons/year of greenhouse gas emissions are generated in return for the energy used for lost food. It is also stated in the reports that the amount of water used in the life cycle of lost food is 250 million tons. This size is equivalent to the capacity of approximately 100 Olympic pools, each of which is 2.5 million tons.

Table 3. World CHG emissions, food losses, and figures

2023 Figures-World	Volume		Cost	
	Value	Unit	Value	Unit
CHG Emissions	57.4	Gt	5.166	
Food Based CHG (26%)	14.9	Gt		
Total Food Production	3.9	Billion tons	1.00	Trillion USD
Food Losses primary product equivalents	1.6	Billion tons		
Food Losses Edible	1.3	Billion tons	0.33	Trillion USD
Edible Food Losses per capita	0.16	tons/year	41	USD/year
Edible Food Losses unit price			256.4	USD/ton
Water Losses per year	250	Million tons		
Electric Energy Losses per year*	2171	Billion kWh	667	Billion USD
CO _{2e} Emission per year	3.3	Billion Tons		
Land use (28% of World Agricultural lands)	1.4	Billion hectares		
Population	8.05	Billion		
25% Loss Reduction (Assumption)	0.325	Billion tons	83.3	Billion USD
Food Deficit (9.7 billion 2050)	44	%		
Additional Agricultural Land decrease (2050)	16.8	%		

*Average Electric Energy cost for the EU (0.3071 USD/kWh) (Eurostat, 2024).

Türkiye figures

The European Green Deal and Türkiye's Green Transformation Action Plan prepared in parallel with it include a total of 32 targets and 81 actions under 9 main headings (T.C. Ticaret Bakanlığı, 2021). 9 main headings are summarized below.

Carbon tax regulations at the border, a green and circular economy, green financing, clean, economical, and safe energy supply, sustainable agriculture, sustainable smart transportation, combating climate change, diplomacy with European Green Deal information and awareness

activities. Distribution of our installed capacity by resources as of the end of May 2024; 29.2% is hydraulic energy, 22.4% is natural gas, 19.8% is coal, 11.1% is wind, 13.6% is solar, 1.5% is geothermal and 2.4% is from other sources (Elektrik - T.C. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı, n.d.). The decline in the share of non-renewable resources in electricity production continues (Gorgulu, 2022). Türkiye is one of the countries that meets the food needs of its population and exports food products. It ranks 4th in the world in total food production. Türkiye's place in the world food trade can be given in the following order based on some important products; Türkiye alone produces 67% of hazelnuts, 26% of cherries, 27% of figs, and 23% of apricots, and ranks first in the world in these products, ranks 2nd among quince, poppy seeds, melon and watermelon, ranked 3rd among lentils, pistachios, chestnuts, cherries, and cucumbers, ranked 4th among walnuts, olives, apples, tomatoes, eggplants, spinach, and peppers, total crop production is approximately 130 million tons (2022), Türkiye is one of the world's leading countries in terms of agricultural production, 2023 Food Exports: 26.49 billion USD; Imports amounted to: 21.13 billion USD and a positive impact of +5.36 billion USD was created (TÜİK, 2024b). Because 1/3 of the world's food is wasted, the following important data emerge when the situation in Türkiye is examined; according to the 2020 waste report of the Turkish Waste Prevention Foundation, the annual amount of waste generated by households in Türkiye is 7.76 million tons, Türkiye ranks 48th among the 113 countries in the world where the most food waste occurs per capita, Türkiye wastes approximately 15% of its national income (Türkiye İsrافی Önleme Vakfı, n.d.). 1.7 million tons of bread (4.9-6 million pieces per day) go to waste every year. This rate corresponds to 7% of the bread produced, 42% of fruits and vegetables, and 41% of milk and dairy products are wasted (Tekiner et al., 2021). Based on the above data, it is seen that Türkiye has significant savings potential in the fields of Agriculture, Food, Livestock, and aquaculture (Türkiye İsrافی Önleme Vakfı, n.d.). When 2023 data, total food losses, and global data are considered, these

figures are seen to be higher. Calculations on this subject are given in detail in the conclusion section. Türkiye's total food product production in 2023 is calculated as 154.5 million tons from TÜİK reports. The distribution of these products is shown graphically based on the main product groups in Figure 8 as tons/year and percentages in total amount. Harvesting, transport, and storage losses of these food products, such as harvesting, storage, and transportation are calculated as approximately 8.65 million tons. These losses are around 6.64% on average. The distribution of these losses is given in the graph in Figure 9. As seen from the graph in the figure, In Türkiye, the highest amount in 2023 was realized in grains with 37.7 million tons, vegetables with 29.1 million tons, dairy products with 21.5 million tons, and sugar beet with 19.3 million tons.

In Figure 9, the loss calculations made by taking Türkiye 2023 data into consideration and the global loss rates of some foods whose loss rates are unknown are given as a pie chart in the form of values. As can be seen from Figure 9; The highest loss in Türkiye in 2023 was in dairy products with 3.22 million tons, grains with 1.86 million tons, and vegetable products with 824 thousand tons.

In Table 4, some calculations have been made and some results have been reached, considering global data such as world carbon emissions, food losses, and land use, as well as some statistical data specific to Türkiye (food production amount, losses, energy unit prices, etc.). In the table, carbon emissions, water use, energy use, and land use data corresponding to food losses are calculated as amounts and financial values. As seen from Table 4, Türkiye's food losses are at the level of 15% of its national income (Türkiye İsrافی Önleme Vakfı, n.d.). By saving this wasted resource, an average cost of 8 b USD, 21 more mega projects (T.C. Ulaştırma ve Altyapı Bakanlığı, 2023) such as "Istanbul Airport" and "Yavuz Sultan Selim Bridge" could be built (Türkiye 2023 National Income 1.118593 trillion USD) (TÜİK, 2024a). Additionally, 1,486 tons of bread per day and 542,455 tons per year are wasted (Türkiye İsrافی Önleme Vakfı, n.d.). Data for Türkiye, calculated by considering reliable

reports and data specific to the world and Türkiye, are summarized in Table 4. Accordingly, approximately 155 million tons of food was produced in Türkiye in 2023, resulting in 178.8 megatons of greenhouse gas emissions. Based on world data, it is calculated that 63 million tons of food loss occurred in Türkiye in 2023 as the Primary Product Equivalent phase, and this amount corresponds to 53 million tons of consumable food. The per capita value of consumable food loss is 603 kgs/year, and based

on world food prices, its financial value is calculated to be 155 USD/year per person. It has been calculated that the electrical energy resulting from food loss is 86 billion kWh and its financial value is around 10.6 billion USD. Greenhouse gas emissions corresponding to food losses were calculated to be 131 million tons. The amount of water used for food losses is calculated as approximately 10 million tons/year. This size corresponds to 4 Olympic swimming pools.

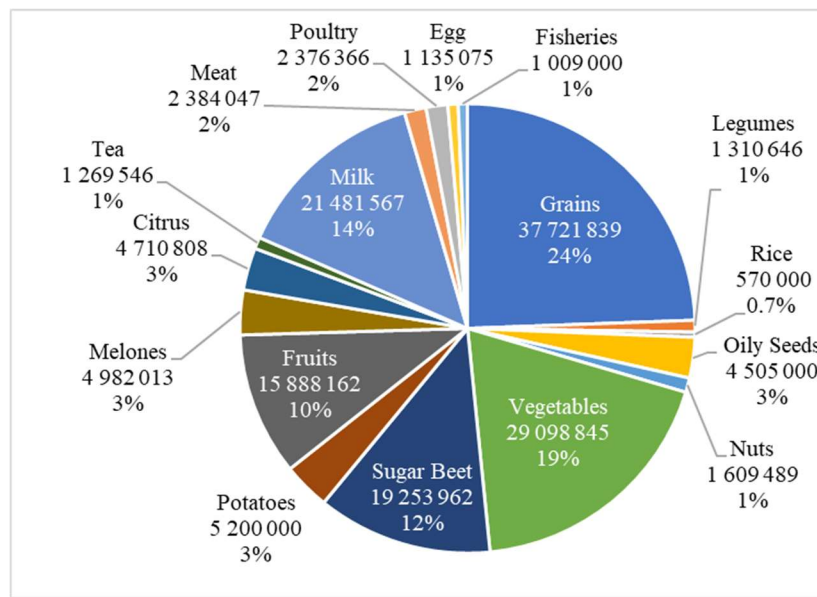


Figure 8. Türkiye food production (kgs) 2023

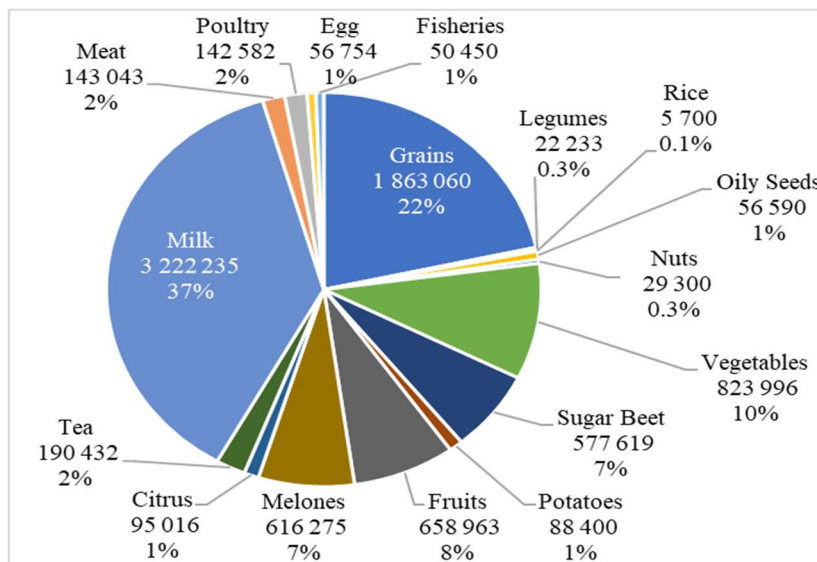


Figure 9. Türkiye food losses (tons) (harvesting, transport, storage, etc.) 2023

Table 4. Türkiye CHG emissions, food losses, and figures

2023 Figures-Türkiye	Volume		Cost	
	Value	Unit	Value	Unit
Gross Domestic Product (GDP)			1.119	Trillion USD
Total Financial Loss (15%) *			0.168	Trillion USD
Mega Investment Average Cost **			8	Billion USD
No of Investment (Mega Project)			21	
CHG Emissions	0.6875	Gt		
Food-Based CHG (26%) ***	0.1788	Gt		
Total Food Production	0.155	Billion tons	39.6	Billion USD
Food Losses Primary Product Equivalents***	0.063	Billion tons	16.3	Billion USD
Food Losses Edible (1/3) ***	0.052	Billion tons	13.2	Billion USD
Edible Food Losses (per capita)	603	kgs/year	155	USD/year
Water Losses per year***	9.9	Million tons		
Electric Energy Losses per year****	86.0	Billion kWh	10.6	Billion USD
CO _{2e} Emission per year***	0.131	Billion tons		
Land use (28% of World Agricultural lands) ***	0.06	Billion hectares		
Population	85.4	Million		

*15% GDP loss assumption (Tekiner et al., 2021).

**Projects cost is changing (0.5 to 22 billion USD) (T.C. Ulaştırma ve Altyapı Bakanlığı, 2023)

***Calculated from global figures

****Türkiye 2023 data (0.1234 USD/kwh) (İnanç, 2024).

CONCLUSION

Considering the data, discussions, and information in the previous sections, the following conclusions can be drawn, considering many variables such as the increasing world population, the increasingly deteriorating world climate, food losses, waste, overconsumption, and operational inefficiencies.

- When a calculation is made considering excessive consumption and wasted food, it can be said that malnourished people have approximately 6 times their food needs.
- By directing food waste to human consumption, the need for additional agricultural land to meet the demands of the growing world population can be largely eliminated. It will also be possible to reduce losses such as labor, energy, carbon emissions, product quality loss, and packaging required for reprocessing.
- Significant productivity increases can be achieved through alternative input, method, and technology changes for foods and their components that cause high carbon emissions.
- By raising awareness about eating habits and balanced nutrition, important health problems

caused by overnutrition, and undernutrition can be reduced, as well as fair distribution of resources, and resources allocated to health expenditures can be directed to areas that create more added value.

- Using digital technologies, artificial intelligence, and advanced sensor applications in agriculture, carbon emissions can be reduced by saving water, fertilizer, pesticides, and fuel.
- Using advanced technologies, harvest storage and transportation losses can be significantly reduced.
- Similarly, significant efficiency can be achieved in livestock and aquaculture production with the use of new methods and technologies.
- By developing new generation and environmentally friendly seeds, a higher amount of product can be obtained from the same area and an advantage in the fight against climate change can be achieved.
- The use of agricultural areas for human consumption, the use of natural resources for animal nutrition, and the use of new technologies as alternatives to biofuels used for vehicle fuels.

- Considering that approximately 1/3 of the energy used in food processes is electricity and the remaining 2/3 is natural gas, the processes that operate on natural gas should be converted to electricity through technology change.
- Carbon emissions can be reduced by producing qualified chemicals through upcycling from the exhaust gases of natural gas-powered processes.
- CO₂ and N₂ can be produced from the exhaust gases of natural gas-powered food processes using food process aids such as ammonium bicarbonate or liquefaction.
- Instead of traditional thermal processes, new methods and technologies that consume less energy and are highly efficient (Radio Frequency, Microwave Heating, Infrared Heating, Ohmic Heating, Inductive Heating, etc.) can be used together or separately with conventional methods.
- Considering other important food losses in Türkiye, they can be significantly reduced through awareness raising and RandD studies. Even some foods with a low shelf life (fruits, vegetables, dairy products, etc.) can be transformed into food inputs with a long shelf life using new methods. Examples of these are fruit-vegetable powders, dried fruit, fruit-vegetable concentrates, dairy products with low water activity, using renewable resources such as the sun, etc. Obtaining food ingredients such as sugar and fiber from fruits with more advanced processing methods may also be possible.

ACKNOWLEDGMENTS

The author declares that he has no conflict of interest. Also, this research received no specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

THE DECLARATION OF ETHICS COMMITTEE APPROVAL

This study does not require ethics committee permission or any special permission.

REFERENCES

Barilla Center Food and Nutrition. (2012). *Eating in 2030: Trends and Perspectives*.
Chang-Ke, W., Xin-Zheng, L., and Hua, Z. (2013). Shares Differences of Greenhouse Gas

Emissions Calculated with GTP and GWP for Major Countries. *Advances in Climate Change Research*, 4(2), 127–132. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1248.2013.127>

Dwyer, O. (2023). *Food waste makes up 'half' of global food system emissions*.

EDGAR - The Emissions Database for Global Atmospheric Research. (n.d.). Retrieved September 21, 2024, from https://edgar.jrc.ec.europa.eu/report_2024#data_download

Elektrik - T.C. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı. (n.d.). Retrieved November 11, 2024, from <https://enerji.gov.tr/bilgi-merkezi-enerji-elektrik>

ESG Report 2023 - IFCO Systems. (n.d.). Retrieved November 11, 2024, from https://www.ifco.com/about-ifco/sustainability/esg-report-2023/?creative=&keyword=&matchtype=&network=x&device=c&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_term=&utm_content=c&utm_campaign=21782252785?gad_source=1&clid=Cj0KCQjwsoe5BhDiARIsAOXVoUtqfPPQ70H7OcBVgkkLDI7ZyXWXYE8kwG7115MGuqTWzhEEvGNLAcaAqN9EALw_wcB

Eurostat. (2024). *Electricity and gas*. https://ec.europa.eu/eurostat/web/main/search/h/search/estatsearchportlet_WAR_estatsearchportlet_INSTANCE_bHvZuVn1SZ8J?text=ELCTR%C4%B0C%C4%B0TY+AND+GAS

Gorgulu, Y. F. (2022). Enerji Krizi ve Yenilenemez Enerji Kaynakları. In C. Karaman (Ed.), *ENERJİ KRİZİ VE YENİLENEMEZ ENERJİ KAYNAKLARI* (pp. 7–18). Efe Akademi Yayıncılık.

Hertel, T. W. (2011). The Global Supply and Demand for Agricultural Land in 2050: A Perfect Storm in the Making. *American Journal of Agricultural Economics*, 93(2), 259–275. <https://doi.org/10.1093/ajae/aaq189>

İnanç, S. (2024). *Güncel Elektrik Birim Fiyatları (Haziran-2024)*.

Lobstein, T., Jackson-Leach, R., Powis, J., Brinsden, H., and Gray, M. (2023). *Compiled by*. www.johnclarksondesign.co.uk

Mark Maslin, C. N. (2021). *Coffee: here's the carbon cost of your daily cup – and how to make it climate-friendly*.

Overview of Greenhouse Gases | US EPA. (n.d.). Retrieved September 21, 2024, from <https://www.epa.gov/ghgemissions/overview-greenhouse-gases>

Ranganathan, J., Waite, R., Searchinger, T., and Hanson Craig. (2018). *How to Sustainably Feed 10 Billion People by 2050*.

Ritchie, H. (2020). *You want to reduce the carbon footprint of your food? Focus on what you eat, not whether your food is local*.

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. (n.d.). *Gıda İsrafi ve Gıda Atığına Genel Bakış*.

T.C. Ticaret Bakanlığı. (2021). *Yeşil Mutabakat Eylem Planı*. <https://ticaret.gov.tr/data/60f1200013b876eb28421b23/MUTABAKAT%20YE%C5%9E%C%B0L.pdf>

T.C. Ulaştırma ve Altyapı Bakanlığı. (2023). *Mega Projeler*. <https://www.uab.gov.tr/uploads/pages/mega-projeler/uab-megaprojeler.pdf>

Tekiner, İ. H., Mercan, N. N., Kahraman, A., and Özel, M. (2021). Dünya ve Türkiye’de gıda israfı ve kaybına genel bir bakış. *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 123–128. <https://doi.org/10.47769/izufbed.884219>

The unpalatable truth about food waste: it's everywhere | WRAP. (n.d.). Retrieved November 11, 2024, from <https://www.wrap.ngo/blog/2021/03/unpalatable-truth-about-food-waste-its-everywhere>

TÜİK. (2024a). *Dönemsel Gayrisafi Yurt İçi Hasıla, IV. Çeyrek: Ekim-Aralık ve Yıllık, 2023*. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=ulusal-hesaplar-113>

TÜİK. (2024b). *TÜİK Dış Ticaret Endeksleri 2023*. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Dis-Ticaret-Endeksleri-Aralik-2023>

Türkiye İsrafi Önleme Vaka. (n.d.). Retrieved October 30, 2024, from <https://israf.org/sayfa/turkiyede-sayilarla-israf/250>

UNEP. (2021). *Food Waste Index Report 2021*. <https://www.unep.org/resources/report/unep-food-waste-index-report-2021>

ÇÖREK OTU YAĞI İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ JELATİN BAZLI AMBALAJ FİLMİ ÜRETİMİ VE TAVUK ETİ MUHAFAZASINDA KULLANIMI

Aydın ERGE*

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu, Türkiye

Geliş / Received 18.09.2024; Kabul / Accepted: 02.12.2024; Online baskı / Published online: 30.12.2024

Erge, A. (2025). Çörek otu yağı ile zenginleştirilmiş jelatin bazlı ambalaj filmi üretimi ve tavuk eti muhafazasında kullanımı. *GIDA (2025) 50 (1) 15-27 doi: 10.15237/ gida.GD24104*

Erge, A. (2025). *Black seed oil-enriched packaging film made from gelatin and its application in the preservation of chicken meat. GIDA (2025) 50 (1) 15-27 doi: 10.15237/ gida.GD24104*

ÖZ

Son yıllarda dünyada çevresel endişeler nedeniyle petrol türevi ambalaj materyalleri yerine doğal ve yenilenebilir polimer alternatifler üzerine birçok araştırma yapılmaktadır. Bu çalışmada doğal bir polimer olan sığır jelatinine farklı oranlarda (%0-3) çörek otu yağı eklenerek aktif, yenilebilir ve biyobozunur bir ambalaj materyali üretimi amaçlanmıştır. Jelatinin yapısını güçlendirmek amacıyla kafeik asit ve rutin kullanılarak çapraz bağ işlemi uygulanmıştır. Karakterizasyon analizleri yapıldıktan sonra filmler, tavuk göğüs eti muhafazasında kullanılmış, ağırlık kaybı ve lipid oksidasyon özellikleri bakımından test edilmiştir. Sonuçta çörek otu yağı kullanımının film parlaklığını azalttığı, opaklığı ise yükselttiği belirlenmiştir. En düşük suda çözünürlük (%30.75) ve en yüksek gerilme direnci (7.57 MPa) değerlerinin %1 çörek otu yağı içeren örnekte olduğu tespit edilmiştir. Tavuk eti muhafazasında çörek otu yağı kullanımının ağırlık kaybını azalttığı, diğer taraftan lipid oksidasyonunu ise geciktirdiği görülmüştür. Sonuç olarak bu çalışma jelatin ve çörek otu yağı kombinasyonundan doğa dostu ve aktif bir ambalaj filmi üretim potansiyeli olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Biyopolimer, aktif ambalajlama, çörek otu yağı, jelatin, doğa dostu ambalaj filmi

BLACK SEED OIL-ENRICHED PACKAGING FILM MADE FROM GELATIN AND ITS APPLICATION IN THE PRESERVATION OF CHICKEN MEAT

ABSTRACT

In recent years, there has been a significant amount of research conducted on natural and renewable polymer alternatives to petroleum-derived packaging materials in response to environmental concerns. The objective of this investigation was to produce a biodegradable, edible, and active packaging material by incorporating black seed oil into bovine gelatin, a natural polymer, at varying concentrations (0–3%). In order to improve the structure of gelatin, cross-linking process was performed using caffeic acid and rutin. Following the characterization analyses of the films obtained in this study, the film's ability to preserve chicken meat freshness was evaluated by testing weight loss and lipid oxidation values. The results showed that the use of black seed oil reduced the film lightness and increased the opacity. It was determined that the lowest water solubility (30.75%) and highest tensile strength (7.57 MPa) values were in the sample with 1% black seed oil. It has been observed that the use of black seed oil in chicken meat preservation reduced weight loss and, on the

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: aydin.erge@ibu.edu.tr

☎: (+90) 374 254 1000-6267

☎: (+90) 374 253 4346

Aydın Erge; ORCID no: 0000-0001-7419-4221

other hand, delayed lipid oxidation. This work has therefore demonstrated that the combination of gelatin and black seed oil has the potential to produce an active and environmentally friendly packaging film.

Keywords: Biopolymer, active packaging, black seed oil, gelatin, environmentally friendly packaging film

GİRİŞ

Günümüzde, gıda ambalaj alanında sürdürülebilirliğin sağlanmasına yönelik olarak plastik materyallere alternatif olabilecek potansiyele sahip doğal ve yenilebilir polimerlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar giderek artmaktadır (Alizadeh Sani vd., 2022). Diğer taraftan doğal biyopolimerlerin gıda ambalajı olarak kullanımlarına ilişkin çeşitli kısıtlar ve dezavantajlar bulunmaktadır. Konvansiyonel plastik materyallere ile kıyaslandığında doğal biyopolimerlerin daha düşük mekaniksel, suya dayanım ve bariyer özellikleri gösterdikleri bildirilmektedir (Azizi-Lalabadi vd., 2020). Bu noktada doğal biyopolimer temelli ambalaj filmlerinin kullanımında uygun biyopolimer seçiminin yapılması veya çeşitli bileşenler ile zenginleştirilerek fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi önem kazanmaktadır (Alizadeh Sani vd., 2022). Kaynağı bakımından karşılaştırıldığında protein temelli filmlerin daha iyi mekaniksel ve bariyer özellik gösterdikleri, polisakkarit temelli filmlerin ise iyi gaz bariyer özelliklerine sahipken, suya dayanımlarının daha düşük olduğu bildirilmektedir (Benbettaieb vd., 2016).

Jelatin, hayvansal bir protein olan kolajenden elde edilen, gıda, kozmetik ve ilaç sanayi gibi çeşitli alanlarda geniş kullanım alanına sahip protein temelli bir biyopolimerdir. Büyük üretim hacmi, kolay ulaşılabilir olması ve diğer doğal biyopolimerlere kıyasla daha ucuz olması nedeniyle jelatin birçok farklı alanda kullanılabilmektedir. Dünyada jelatin büyük oranda domuz ve sığır derisinden üretilmektedir (Erge and Zorba, 2018). Jelatinin tatsız ve kokusuz olması, yüksek seviyede biyoyumumluluk ve biyobozunurluk özelliklerine sahip olması ve toksik özellik göstermemesi, onu önemli bir gıda katkı maddesi yaparken ayrıca yenilebilir film üretimi için de uygun bir hammadde haline getirmektedir (Karim Bhat, 2009). Bu avantajlarının yanında ayrıca jelatinin, çeşitli biyoaktif bileşiklerin taşınımı için iyi bir taşıyıcı

materyal olduğu da bildirilmektedir (Etxabide vd., 2016).

Çörek otu; *Ranunculaceae* familyasındaki otsu bir bitkidir. Akdeniz ülkelerinde yaygın olmakla beraber ülkemizde büyük oranda *Nigella sativa* çeşidi yetiştirilmektedir. Çörek otu tohumu, antioksidan, antienflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklere sahip aktif bileşenler içermektedir (Forouzanfar vd., 2014; Kılıç ve Arabacı, 2016). Bu çalışmada, aktif ambalaj üretimi amacıyla jelatin bazlı ambalaj film solüsyonuna çörek otu yağı eklenmiştir.

Kimyasal çapraz bağ yöntemi, protein bazlı filmlerin fizikokimyasal özelliklerinin geliştirmek amacıyla uygulanan başlıca yöntemlerden birisidir (Santos vd., 2018). Bu noktada insan sağlığına herhangi bir olumsuz etkisi olmayan ve aynı zamanda biyopolimer özelliklerini geliştirecek uygun kimyasalın seçimi önemlidir. Gluteraldehit, formaldehit, transglutaminaz, glioksal ve genipin gibi bazı kimyasalların pahalı ve toksik olmaları gibi dezavantajları çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Tavassoli-Kafrani vd., 2017). Diğer taraftan, çeşitli bitkisel bileşenlerin doğal bir çapraz bağlayıcı olarak güvenilir bir gıda katkısı (GRAS - Generally Recognized as Safe) oldukları bildirilmektedir (Choi vd., 2018). Bu çalışmada, jelatin bazlı ambalaj film özelliklerini iyileştirmek amacıyla doğal çapraz bağ yapıcı olarak kafeik asit ve rutin kombinasyonu kullanılmıştır. Kafeik asit, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip bitkisel bir sekonder metabolittir. Kafeik asitin proteinlerin çapraz bağ işlemi amacıyla kullanımına ilişkin çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Parsaei vd., 2022). Rutin bitkisel bir flavonoid olup aktif ambalaj üretiminde kullanılan doğal bileşiklerden birisidir (Jia vd., 2022). Bir önceki çalışmamızda kafeik asit ve rutin kombinasyonu, tavuk jelatini temelli ambalaj filmi üretiminde optimize edilmiştir. Sonuç olarak en iyi kafeik asit rutin kombinasyonunun sırasıyla %0.96-1.56 ve

%0-1.25 oranları arasında olduğu tespit edilmiştir (Erge vd., 2024).

Son yıllarda, doğal ve yenilenebilir polimerlerin gıda ambalaj endüstrisi için kullanımı, daha temiz ve sürdürülebilir bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Literatür incelendiğinde doğal bileşenler ile modifiye edilmiş jelatin temelli ambalaj film çalışmalarının oldukça sınırlı sayıda olduğu görülmüştür. Diğer taraftan doğal bileşenler kullanılarak modifiye edildikten sonra çörek otu yağı ile zenginleştirilmiş jelatin temelli ambalaj film çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. Dolayısıyla jelatinin kafeik asit ve rutin kombinasyonu ile modifiye edilmesi ve daha sonra film solüsyonuna aktiflik özelliği kazandırmak amacıyla çörek otu yağı eklenmesi, çalışmamızın özgünlüğü olarak değerlendirilebilir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada kafeik asit (Sigma-Aldrich, ABD), rutin (Sigma-Aldrich, ABD), gliserol (Sigma-Aldrich, ABD), Tween 80 (Merck, Almanya) ve sığır jelatini (Merck, Almanya) analitik saflıkta kullanılmıştır. Çörek otu yağı Naturalya Kimya (Antalya/Türkiye) firmasından, tavuk göğüs eti ise Beypiliç A.Ş. (Bolu/Türkiye) firmasından temin edilmiştir.

Film Solüsyonunun Hazırlanması ve Filmlerin Üretimi

Film solüsyonları, toplam polimer (jelatin) oranı %5.5 olacak şekilde hazırlanmıştır. Jelatin solüsyonu için öncelikle 16.5 g jelatin tartılıp üzerine saf su eklendikten sonra hazırlanan jelatin solüsyonu oda sıcaklığında bir saat bekletilmiştir. Daha sonra bu solüsyon 55°C'de su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Bu süre içerisinde solüsyon birkaç defa karıştırılmıştır. Aynı bir yerde %1'lik kafeik asit ve rutin stok çözeltileri hazırlanmış ve pH değerleri 1 M sodyum hidroksit kullanılarak 9'a ayarlanmıştır. Daha sonra jelatin solüsyonuna, kafeik asit ve rutin solüsyondaki oranlarının toplam jelatin miktarının %1'i olacak şekilde kafeik asit ve rutin stok çözeltilerinden ekleme yapılmıştır. Bu arada solüsyon pH değeri 9'a getirilmiştir.

Bu aşamadan sonra çapraz bağ oluşum sürecine geçilmiştir. Bunun için kafeik asit ve rutin eklenmiş jelatin solüsyonu, su banyosunda 52.5°C'de ve 20 dakika süresince, içerisine oksijen verilerek bekletilmiştir (Erge ve Eren, 2021). Bu amaçla oksijen üreticisi cihazı kullanılmıştır (Hikoneb OxyBreath 10 L, Türkiye). Solüsyona verilen oksijen, çapraz bağ reaksiyonlarının başlamasında rol oynamıştır. Çapraz bağ işleminin ardından solüsyona farklı oranlarda (%0-3) çörek otu yağı, çörek otu yağının %30'u kadar Tween 80 (emülsifiye edici olarak) ve plastikleştirici olarak solüsyondaki toplam jelatin miktarının %40'ı olacak şekilde gliserol eklenmiştir. Son olarak elde edilen solüsyon, bir homojenizatör (İKA T25, Almanya) yardımıyla 6.000 rpm'de 5 dakika süresince homojenize edilmiş ve daha sonra oluşan hava kabarcıklarının giderilmesi amacıyla ultrasonik su banyosunda 40°C'de 10 dakika bekletilerek nihai film solüsyonu elde edilmiştir.

Bu aşamadan sonra hazırlanan solüsyonlar 9 cm çapındaki Petri kaplarına 15'er mL olacak şekilde dökülmüş ve oda sıcaklığında 12 saat bekletildikten sonra 38°C'de fanlı etüvde 24 saat süresince kurutulmuştur. Kuruyan filmler spatül yardımıyla Petri kaplarından ayrıldıktan sonra şeffaf kilitli poşetler içerisinde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Film karakterizasyon analizleri öncesi film örnekleri poşetlerden çıkarılarak desikatör içerisinde %50 ± 5 nispi nem ve oda sıcaklığı koşullarında en az 48 saat süresince bekletilerek analizlere hazırlanmıştır. Bu çalışmada 4 farklı oranda çörek otu yağı (ÇOY) içeren jelatin filmleri elde edilmiş ve bu kombinasyonlar ÇOY %0, ÇOY %1, ÇOY %2 ve ÇOY %3 şeklinde kodlanmıştır. Bu kombinasyonlar, daha önce yapılmış olan ön denemeler ışığında belirlenmiştir.

Film Karakterizasyon Analizleri

Kalınlık ve Nem Tayini

Film kalınlık analizleri, bir mikrometre (Loyka, Türkiye) kullanılarak 10 farklı yerden ölçüm alınarak 0.001 mm hassasiyetinde gerçekleştirilmiştir. Nem tayini, etüvde 75°C'de 24 saat bekletilen film örneklerindeki ağırlık değişimine göre belirlenmiştir (Erge vd., 2024).

Renk ve Opaklık Tayini

Filmlerde renk özelliklerinin (L^* - parlaklık, a^* - kırmızılık/yeşillik, ve b^* - sarılık/mavilik) belirlenmesi için renk tayin cihazı kullanılmıştır (Minolta CR-400 Chroma Meter, Konica Minolta, Japonya). Ölçümler öncesi renk tayin cihazı, standart beyaz plaka yardımıyla kalibre edilmiştir. Renk ölçümleri, 5 farklı noktadan okuma yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Film örneklerinde opaklık testleri, spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir (UV, Shimadzu, Japonya). Film örneği, ölçüm küveti içerisine aynı boyutta olacak şekilde kesilerek yerleştirilmiş ve 600 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Örnek içermeyen boş kap ölçümü kontrol olarak belirlenmiştir (Nur Hanani ve Aelma Husna 2018). Opaklık değeri, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$Opaklık = \frac{Abs\ 600}{x} \quad (1)$$

Abs 600: 600 nm'de okunan absorpsiyon değeri, x: Film kalınlığı (mm).

Suda Çözünürlük Analizi

Suda çözünürlük testleri, nem tayini sonrası kurutulmuş film örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Nur Hanani vd., 2013). Kurutulmuş film örnekleri, içerisinde 30 mL saf su bulunan kapaklı silindirik kaplarda (çap: 30 mm, yükseklik: 60 mm) 25°C'de 24 saat ağzı kapalı olarak bekletildikten sonra sudan çıkarılmış ve etüvde 75°C'de 24 saat süresince kurtulmuştur. Kuru film örneklerindeki ağırlık kaybı, suya geçen madde olarak değerlendirilmiş ve suda çözünürlük oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$WS (\%) = \frac{(W1-W2)}{(W1*100)} \quad (2)$$

W1: Nem tayini sonrası kurutulmuş film örnek ağırlığı

W2: Suda bekletildikten sonra kurtulan film örnek ağırlığı

Su Buharı Geçirgenliği Analizi

Su buharı geçirgenlik testleri, ASTM E-96 (1990) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Film örnekleri dairesel olarak kesildikten sonra her biri içerisinde 15 g silika jel bulunan silindirik örnek kapları

üzerine güçlü bir yapıştırıcı (Derby 100) kullanılarak sızdırmaz bir şekilde kapatılmıştır. Her bir kap tartıldıktan sonra su dolu desikatör içerisinde 25°C'de 12 saat boyunca bekletilmiştir. Su buharı geçirgenliği değeri, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$SBG = \frac{w.x}{t.A.\Delta P} \quad (3)$$

SBG= Su buharı geçirgenliği, w= ağırlık artışı (g), x=film kalınlığı (mm), t= ağırlık artış süresi, A= Film örnek alanı (m²), ΔP= Örnek kapları dış ortamı buhar basıncı (su dolu desikatör buhar basıncı) ile kap içi buhar basıncı (kuru atmosfer) arasındaki fark (Núñez-Flores vd., 2013). Sonuçlar, g.mm/h.m².kpa birimi olarak ifade edilmiştir.

Mekanik Özelliklere İlişkin Testler

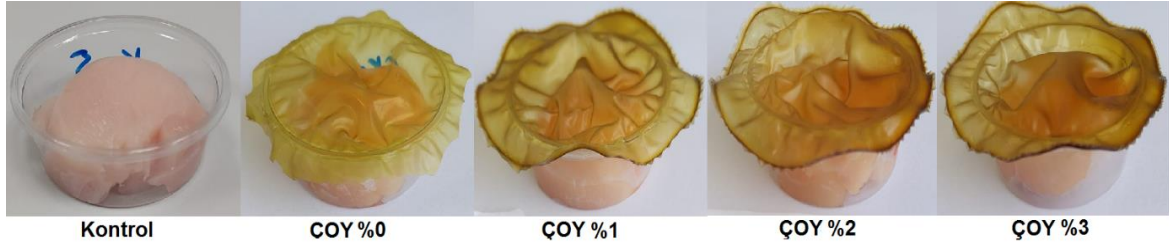
Gerilme direnci (tensile strength), kopma uzaması (elongation at break), delinme direnci (puncture strength) ve delinme uzaması (distance at puncture) testleri tekstür analiz cihazı (Stable Microsystems, TA-XT2i, Birleşik Krallık) kullanılarak ASTM (2002) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Gerilme direnci ve kopma uzama testleri için 10 x 60 mm ebatlarında hazırlanan film örnekleri, ölçüm mesafesi olarak 40 mm olacak şekilde iki ucundan çekme aparatına sabitlendikten sonra 0.5 mm/s hızında kopma noktasına kadar gerdirilmiştir. Kopma noktasındaki uzama oranı (%) ve uygulanan maksimum güç (MPa), sırasıyla kopma uzaması ve gerilme direnci olarak hesaplanmıştır. Delme testleri, 3x3 cm ölçüsünde kare şeklindeki film örneklerinde ucu yuvarlak delme probu kullanılarak, 60 mm/dk delme hızında gerçekleştirilmiştir. Delme mesafesi "mm", delme direnci ise "g" olarak hesaplanmıştır. Mekanik testlerde her film örneği için üç farklı ölçüm yapılmıştır (Choi vd., 2018).

Filmlerin Tavuk Eti Muhafaza Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, tavuk göğüs etleri, her biri yaklaşık 30 g olacak şekilde tartılarak plastik kaplara (60 mm çap ve 40 mm yükseklik) konmuştur. Daha sonra kapların ağzı elde edilen filmler ile yapıştırıcı kullanılarak sızdırmaz bir şekilde kapatılmış ve 12 gün boyunca buzdolabında muhafaza edilmiştir

(Şekil 1). Altıncı ve 12. günlerde ağırlık kaybı, TBARS ve peroksit analizleri gerçekleştirilmiştir. Ağırlık kaybı, 0. Gün ilk tartım ağırlığı ile ölçüm yapılan muhafaza günü tartımı yapılan ağırlık

farkının toplam örnek ağırlığına oranı olarak belirlenmiştir. Bu aşamada ambalajsız olan tavuk eti örneği, kontrol olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 1. Elde edilen jelatin filmlerin tavuk eti muhafazasında kullanımı
Figure 1. Application of the resulting gelatin films for the preservation of chicken meat
ÇOY: Çörek otu yağı / BSO: Black seed oil

Peroksit Tayini

5 g tavuk eti örneği su banyosunda 3 dakika 60°C'de bekletildikten sonra üzerine 30 mL glasiyel asetik asit –kloroform çözeltisi (60:40; v/v) ilave edilerek 5 dakika karıştırılmış ve filtre edilmiştir. Süzüntü üzerine, 0.5 mL doymuş potasyum iyodür (KI) ilave edilerek 1 dakika karıştırılmış ve ağzı kapatılarak 5 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 30 mL saf su ilave edildikten sonra 0.01 N sodyum tiyosülfat ile açık sarı renk elde edilinceye kadar titre edilmiş ve örnekteki peroksit miktarı meq O₂/kg yağ olarak hesaplanmıştır (Gökalp vd., 2010).

Tiyobarbutirik Asit Reaktif Madde (TBARS) Analizi

Tavuk eti örneğinden 5 g tartılarak üzerine 25 mL sıcak saf su eklenmiş ve 2 dakika homojenize edilmiştir. Daha sonra üzerine 23.75 mL saf su eklendikten sonra homojenat cam balona aktarılmış ve üzerine 1.25 mL HCl çözeltisi (%37'lik HCl:Saf su; 1:2) eklenmiştir. Malonaldehitin uçurulabilmesi için ısıtıcı üzerine konulmuş ve soğutuculu cam tüp bağlantısı yapılarak 5 dakika süresince distilasyon yapılmıştır. Kapaklı tüplerde 2.5 mL distilat alınarak üzerine 2.5 mL 0.02 N 2-tiyobarbutirik asit ayracından (0.288 g 2-tiyobarbutirik asit 100 mL %90'lık glasiyel asetik asit içerisinde) ilave edilmiştir. Tüpler su banyosunda 45 dakika kaynatıldıktan sonra, soğutulup

spektrofotometrede 538 nm'de absorbanans değerleri belirlenmiştir (Gökalp vd., 2010).

İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada elde edilen 4 farklı kombinasyonda çörek otu yağına (ÇOY %0, ÇOY %1, ÇOY %2, ÇOY %3) ait değer ortalamaları arasındaki önemli bulunan farklılıkları ($P < 0.05$) analiz etmek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Film kombinasyonları ortalama değerlerini karşılaştırmak için Duncan çoklu test yöntemi kullanılmıştır. Program olarak Windows yazılım program 17.0 SPSS (SPSS Inc., Chicago, ABD) kullanılmıştır. Tüm testler 3 paralelli ve 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Film Karakterizasyon Analiz Sonuçları

Kalınlık ve Nem

Film örneklerinin kalınlıkları 0.110 ile 0.201 mm arasındadır. En yüksek kalınlık değerinin ÇOY %2 örneğinde olduğu, en düşük kalınlığın ise ÇOY %0 örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Burada çörek otu yağı kullanımının film kalınlığını artırdığı söylenebilir. Film kalınlığındaki artışın, film kompozisyonuna haricen eklenen komponent nedeniyle farklı ve daha yüksek konsantrasyonda bir formülasyon meydana gelmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan film solüsyonuna, düşük molekül ağırlığına sahip yağın eklenmesi ile jelatin molekülleri arasındaki

etkileşimlerin ve üçlü heliks yapının bozulduğu, moleküller arası boşlukların arttığı ve dolayısıyla film kalınlığının arttığı söylenebilir (Haghighi vd., 2019). Benzer sonuçlar Ojagh vd., (2010) tarafından da rapor edilmiştir.

Film örneklerinin nem değerleri %7.09 ile %10.10 arasındadır. En yüksek nem oranının ÇOY %0 örneğinde olduğu, en düşük nem oranının ise ÇOY %3 örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Film nem değerleri

bakımından çörek otu yağı kullanımının film nem oranında bir azalmaya neden olduğu söylenebilir. Hidrofobik bir karaktere sahip çörek otu yağı komponentleri ile jelatine ait hidroksil grupları arasındaki etkileşimler buna neden olmuş olabilir. Jelatin hidroksil gurupları ile su molekülleri arasındaki etkileşim bu koşullarda sınırlanacağı için film nem oranında çörek otu yağı etkisiyle azalma olduğu düşünülmektedir (Haghighi vd., 2019).

Çizelge 1. Jelatin filmlere ait fiziksel ve geçirgenlik özellikleri

Table 1. Physical and permeability characteristics of gelatin films

	Kalınlık (mm) <i>Thickness (mm)</i>	Nem (%) <i>Moisture (%)</i>	L*	a*
ÇOY %0 BSO 0%	0.110±0.033 ^c	10.10±1.18 ^a	74.93±2.78 ^a	-4.40±0.85 ^c
ÇOY %1 BSO 1%	0.172±0.063 ^{ab}	8.31±0.89 ^b	68.52±7.06 ^b	0.86±2.75 ^b
ÇOY %2 BSO 2%	0.201±0.15 ^a	8.15±0.97 ^b	67.09±9.48 ^b	4.17±4.18 ^a
ÇOY %3 BSO 3%	0.159±0.07 ^b	7.09±0.91 ^b	66.17±7.92 ^b	3.96±2.94 ^a
	b*	Opaklık <i>Opacity</i>	Suda çözünürlük (%) <i>Water solubility (%)</i>	Su buharı geçirgenliği (g.mm/h.m2.kpa) <i>Water vapor permeability (g.mm/h.m2.kpa)</i>
ÇOY %0 BSO 0%	42.37±7.80 ^a	1.40±0.20 ^c	33.00±0.82 ^b	0.0020±0.0005 ^b
ÇOY %1 BSO 1%	40.71±5.32 ^a	8.69±1.69 ^a	30.75±0.96 ^c	0.0030±0.0013 ^{ab}
ÇOY %2 BSO 2%	39.63±7.53 ^{ab}	8.21±2.96 ^a	33.75±1.89 ^{ab}	0.0041±0.00055 ^a
ÇOY %3 BSO 3%	36.22±5.33 ^b	5.73±2.10 ^b	35.00±0.82 ^a	0.0039±0.00045 ^a

ÇOY: Çörek otu yağı; a-c: Aynı sütundaki farklı üstel harflere sahip değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)
BSO: Black seed oil; a-c: Different lower-case letters in the same column of the means of the treatments indicate statistically different ($P < 0.05$).

Renk ve Opaklık

Ambalaj filmi renk özelliği, ürünün pazarlaması ve tüketici tercihi açısından önemli bir kalite kriteridir. Bu çalışmada elde edilen filmlere ait görseller Şekil 2'de verilmiştir. Kafeik asit / rutin kombinasyonu kullanılarak uygulanan çapraz bağ işlemi ve çörek otu yağı eklenmesinin film renk özelliklerini etkilediği görülmüştür. Burada kafeik asit ve rutin kombinasyonunda uygulanan çapraz bağ işlemi sonucuna jelatin filmlerde sarımsı kahverengi bir renk meydana geldiği

görülmektedir. Protein karakterindeki jelatin ve fenolik bileşikler aynı ortamda bulunduğu durumda, alkali ortamda ve oksijen varlığında fenolik maddelerin yapısal komponentleri okside olmakta ve kinon bileşikler meydana gelmektedir. Oluşan kinon bileşikler, jelatin filme koyu sarımsı kahverengi bir renk kazandırmaktadır.

Bu çalışmada L* değerleri bakımından en yüksek parlaklık değerinin ÇOY %0 örneğinde, en düşük parlaklık değerinin ise ÇOY %3 örneğinde olduğu

görülmüştür ($P < 0.05$). Burada çörek otu yağı kullanımının jelatin filmlerde parlaklığı düşürdüğünü tespit edilmiştir. Bu durum, çörek otu yağının koyu olan rengine bağlanmıştır. a^* değerleri bakımından en yüksek a^* değerinin ÇOY %2 örneğinde olduğu, en düşük a^* değerinin ise ÇOY %0 örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Burada çörek otu yağı kullanımının jelatin

filmlerde kırmızılığı artırdığı ifade edilebilir. b^* sarılık değerleri bakımından kontrol örneği ile %1 ve %2 çörek otu yağı içeren örnekler arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı ($P > 0.05$), diğer taraftan %3 çörek otu yağı içeren film örneği b^* değerinin diğerlerinden daha düşük olduğu görülmüştür ($P < 0.05$).



Şekil 2. Elde edilen jelatin filmlere ait görseller
Figure 2. Images of the gelatin films that were obtained

Film ışık geçirgenliği ve opaklık, gıdayı güneş ışınlarından korumada etkili ve gıda muhafazası bakımından önemli bir kalite kriteridir. Bu çalışmada opaklık değerleri bakımından en yüksek opaklık değerinin ÇOY %1 örneğinde olduğu, en düşük opaklık değerinin ise ÇOY %0 örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Burada jelatin filmlerde çörek otu yağı kullanımının opaklığı artırdığı ($P < 0.05$) ifade edilebilir, fakat diğer taraftan çörek otu yağı içeren örnekler kendi aralarında değerlendirildiğinde ÇOY %1 ve ÇOY %2 örnekleri arasında opaklık değeri bakımından istatistiksel bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Literatür incelendiğinde bizim sonuçlarımıza benzer şekilde esansiyel yağ kullanımı ile film opaklığının arttığına ilişkin sonuçlar olduğu görülmüştür (Binsi vd., 2013; Song vd., 2018). Film matriksi içerisindeki yağ damlacıklarının ışık saçılımı (light scattering) özelliği, bu yüksek opaklık değerinin nedeni olabilir. Lipid oksidasyonuna karşı hassas olan gıdalar için iyi bir ışık bariyerine sahip opaklığı yüksek olan filmler daha avantajlı olabilir (Cao vd., 2021).

Suda Çözünürlük

Jelatin filmlerin suya olan dayanımı ve bütünlük özelliğini değerlendirmek amacıyla suda çözünürlük testi yapılmıştır. Gıda muhafaza

sürecinde ambalaj filminin koruyucu olabilmesi için suda çözünürlük değerinin düşük olması beklenir (Yavari Maroufi vd., 2021). Çizelge 1 incelendiğinde, suda çözünürlük değerleri bakımından en yüksek suda çözünürlük değerinin ÇOY %3 örneğinde olduğu, en düşük suda çözünürlük değerinin ise ÇOY %1 örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Bu noktada suda çözünürlük özelliği bakımından jelatin filmlerde %1 çörek otu yağı kullanımı önerilebilir. Shekar vd. (2024) yapmış olduğu çalışmada, karboksil metil selüloz / bamy müsilajı / çörek otu yağı formülasyonunda üretilen filmlerde çörek otu yağ oranı arttıkça film suda çözünürlük değerinin azaldığı bildirilmiştir. Bu sonuç, jelatin ve çörek otu yağı arasındaki moleküler etkileşimler ve jelatinin jel oluşturma kabiliyeti ile ilişkilendirilmiştir. İki bileşik arasındaki bu sinerji, güçlü ve suya karşı dayanıklı bir ağ yapısı oluşturarak suda çözünürlük oranını düşürmektedir. Kaewprachu vd. (2018), sığır jelatinine mikrobiyel transglutaminaz kullanarak çapraz bağ işlemi yapmışlar ve elde ettikleri filmlerde aktif bileşen olarak nisin ve kateşin kullanmışlardır. Sonuçta filmlerdeki suda çözünürlük değerlerinin %90.9-58.7 aralığında olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise balık jelatininden elde edilen filmlerde aktif bileşen olarak epigallokateşin kullanılmıştır. Bu

çalışma neticesinde suda çözünürlük değerleri %99.55-35.36 aralığında rapor edilmiştir (Nilsuwan vd., 2019). Literatürdeki bu sonuçlar ile kıyaslandığında bizim çalışmamızda elde edilen suda çözünürlük değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Bu bakımdan jelatinin kafeik asit/rutin ile çapraz bağ uygulamasının filmin suda çözünürlük bakımından bütünlüğünü korumasına büyük katkı sağladığı ifade edilebilir.

Su Buharı Geçirgenliği

Su buharı geçirgenliği, biyopolimer temelli ambalaj filmlerinin en öne çıkan dezavantajlarından birisi olarak bildirilmektedir. Düşük su buharı geçirgenliğine sahip filmler, ürün ve dış ortam arasında nem geçişini azaltarak muhafaza süresini uzatabilmektedir. Bu çalışmada Çizelge 1 incelendiğinde en düşük geçirgenlik değerinin ÇOY %0 örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Çörek otu yağı içeren film örnekleri arasında su buharı geçirgenliği bakımından istatistiksel bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Diğer taraftan çörek otu yağı kullanımının su buharı geçirgenliğini artırdığı ($P < 0.05$) ifade edilebilir. Film içerisindeki çörek otu yağının film su buharı geçişini artırmasının nedeni, yağın jelatin ağ yapısını bozarak daha düzensiz ve heterojen bir yapı oluşturması olduğu düşünülmüştür. Bu sayede su molekülleri, kesikli ve düzensiz olan film yapısı içerisinde kolayca geçebilmekte ve su buharı geçirgenliği değeri artmaktadır. Benzer şekilde Li vd. (2022)'nin yaptıkları çalışmada balık jelatin filmine zencefil yağı eklenmiş ve yağ oranı artışı ile su buharı geçirgenliğinin de yükseldiği rapor edilmiştir.

Mekanik Özellikler

Bu çalışmada elde edilen filmlerin mekanik özelliklerine ait sonuçlar Çizelge 2'de gösterilmiştir. Gıda ambalajının koruyuculuğu ve kullanıma karşı olan dayanımı, kullanılan ambalaj filminin gerilme direnci ile ilişkilendirilmektedir. Gıda üretim ve nakliye süreçlerinde gıdanın maruz kaldığı dış strese dayanım sağlayabilmesi için ambalaj film gerilme direnci değerinin yüksek olması gerektiği bildirilmektedir (Said ve Sarbon, 2022). Bu çalışmada gerilme direnci değerleri bakımından en yüksek gerilme direnci değerinin ÇOY %1 örneğinde olduğu, en düşük gerilme

direnci değerinin ise ÇOY %3 örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Çizelge 2 incelendiğinde, çörek otu yağı içermeyen ÇOY %0 örneği ile ÇOY %1 örneği karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel bir farklılık olmamakla birlikte sayısal olarak %1 oranında çörek otu yağı kullanımının gerilme direncini 5.75 MPa'dan 7.57 MPa değerine yükselttiği görülmektedir. Diğer taraftan %2 ve %3 çörek otu yağı içeren örnekler değerlendirildiğinde, ÇOY %1 örneğine kıyasla çörek otu oranı arttıkça gerilme direncinin 7.57 MPa'dan sırasıyla 4.73 MPa ve 3.05 MPa değerlerine düştüğü görülmektedir. Burada ÇOY %1 örneği gerilme direncinin ÇOY %3 gerilme direncinden istatistiksel olarak da yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Bu sonuçlara bakılarak çörek otu yağı kullanımının %1 konsantrasyona kadar gerilme direncini yükselttiği, bu konsantrasyonun üzerinde ise gerilme direncini düşürdüğü ifade edilebilir. Bu sonuç, çörek otu yağının %1 konsantrasyona kadar jelatin zincirleri arasındaki etkileşimleri güçlendirmesi ve bunun sonucu olarak yüksek kohezyon gücüne sahip sürekli bir yapı oluşturmaya bağlanmıştır. Bu konsantrasyonun üzerinde ise fazla miktardaki çörek otu yağının jelatin zincirleri arasında düzensizliği artırdığı ifade edilebilir. Literatür incelendiğinde bu konuda farklı sonuçlara rastlanmıştır. Nunes vd. (2021)'nin yaptıkları çalışmada jelatin filmine %1 oranında limon esansiyel yağı nano emülsiyon olarak eklenmiş ve limon esansiyel yağ oranı artışı ile film gerilme direncinin azaldığı rapor edilmiştir. Bhatia vd. (2023)'nin yaptıkları çalışmada domuz jelatin filmine %0.075-0.1 oranlarında nane yağı eklenmiş ve film gerilme direncinin yükseldiği, diğer taraftan aynı çalışmada sığır jelatininden elde edilen filmde ise nane yağı eklenmesi ile gerilme direncinin azaldığı rapor edilmiştir.

Ambalaj filmlerinde analiz edilen diğer önemli mekanik kalite göstergeleri ise uzama oranı, delinme direnci ve delinme mesafesi değerleridir. Uzama oranı, film esnekliğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Said ve Sarbon, 2022). Film delinme karakteristikleri ise ambalajın çevre yüzeylerindeki çıkıntılara veya ambalajın kendi köşelerinin dış etmenlere karşı gösterdiği direncin bir belirtici olarak değerlendirilmektedir

(Fathiraja vd., 2022). Bu çalışmada jelatin film örneklerinde uzama, delinme direnci ve delinme mesafesi değerleri bakımından istatistiksel bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$) (Çizelge 2). Dolayısıyla çörek otu yağı kullanımının film esnekliği, delinme direnci ve delinme mesafesi

üzerinde bir etkisi olmadığı söylenebilir. Sonuç olarak bu çalışma filmlerin mekanik özellikleri bakımından değerlendirildiğinde en iyi sonucun %1 çörek otu içeren ÇOY %1 örneğinde olduğu söylenebilir.

Çizelge 2. Jelatin filmlere ait mekaniksel özellikler

Table 2. Mechanical characteristics of gelatin films

	Gerilme direnci (MPa) <i>Tensile strength (MPa)</i>	Kopma uzama oranı (%) <i>Elongation at break (%)</i>	Delinme direnci (g) <i>Burst strength (g)</i>	Delinme mesafesi (mm) <i>Distance at burst (mm)</i>
ÇOY %0 BSO 0%	5.75±1.48 ^{ab}	392.95±43.66 ^a	1884.18±244.5 ^a	16.64±2.04 ^a
ÇOY %1 BSO 1%	7.57±1.79 ^a	408.28±38.83 ^a	2174.62±105.5 ^a	20.65±3.39 ^a
ÇOY %2 BSO 2%	4.73±0.43 ^{ab}	357.79±23.25 ^a	1588.11±47.24 ^a	19.31±1.32 ^a
ÇOY %3 BSO 3%	3.05±1.42 ^b	369.68±45.35 ^a	1675.32±159.5 ^a	17.78±1.03 ^a

ÇOY: Çörek otu yağı; a-b: Aynı sütundaki farklı üstel harflere sahip değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)
BSO: Black seed oil; a-b: Different lower-case letters in the same column of the means of the treatments indicate statistically different ($P < 0.05$).

Filmlerin Tavuk Eti Muhafaza Özelliklerine Ait Sonuçlar

Ağırlık Kaybı

Gıda muhafazası sırasında oluşan ağırlık kaybı, suyun gıdadan ambalaj iç yüzeyine migrasyonu ve daha sonra ambalajı geçerek dış ortama buharlaşması neticesinde meydana gelmektedir (Wang vd., 2024). Jelatin filmlerin, muhafaza sürecinde tavuk eti ağırlık kaybı değerleri üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 3'te gösterilmektedir. Burada ağırlık kaybı oranının, dolayısıyla gıda nem içeriğindeki azalmanın muhafaza süresi ile birlikte arttığı görülmektedir. 6. ve 12. Gün muhafazası sonucunda tüm örnekler arasında en yüksek ağırlık kaybının filmsiz kontrol örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Altıncı gün muhafazaları sonucunda film ile kaplanmış tavuk eti örnekleri arasında ağırlık kaybı bakımından istatistiksel bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). On ikinci gün muhafazaları sonucunda en düşük ağırlık kaybının ÇOY %2 örneğinde olduğu ve diğer çörek otu yağı içeren örneklerle kıyasla daha düşük bir ağırlık kaybı olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Bu noktada tavuk eti muhafazasında ağırlık kaybının daha düşük olması bakımından ambalaj filminde %2 çörek otu yağı kullanımı önerilebilir. Bu sonuç, çörek otu yağının

hidrofobik olan yapısının jelatin zincirleri ile sıkı bir yapı oluşturarak su buharı geçişini engellemesi şeklinde açıklanabilir. Tam tersine çörek otu yağının jelatin ağ yapısı içerisinde kümelenmiş yağ damlacıkları halinde kalması halinde ise jelatin film yapısı içerisinde boşluk ve çatlaklar oluşmasına ve dolayısıyla su buharı geçişinde artışa neden olabileceği de literatürde bildirilmektedir (Wang vd., 2024).

Peroksit Değerlerindeki Değişim

Peroksit değeri, et ürünlerinde birincil oksidasyon ürünlerinin belirlenmesi esasına dayanan ve lipid oksidasyonunu gösteren bir diğer önemli test parametresidir. Jelatin filmlerin, muhafaza sürecinde tavuk eti peroksit değerleri üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 3'te gösterilmektedir. Altıncı ve 12. gün muhafazaları sonucunda en yüksek peroksit değerinin ambalajsız kontrol örneklerinde olduğu ($P < 0.05$) görülmüştür. Altıncı gün muhafazası sonucunda en düşük peroksit değerinin %2 çörek otu yağı içeren ambalaj filmi ile kaplanmış tavuk örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Diğer taraftan 12. gün muhafazası sonucunda ambalajsız kontrol örneği, ÇOY %1 ve ÇOY %2 örnekleri arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı, en düşük peroksit değerinin ise ÇOY %0 örneğinde olduğu

görülmüştür ($P < 0.05$). Bu sonuçlar özellikle muhafaza sürecinin başlangıç döneminde (6. gün) çörek otu yağı kullanımının tavuk eti peroksit değeri artışında yavaşlatıcı bir etki gösterdiği ve kontrol örneğine kıyasla daha düşük peroksit değerleri gösterdiği ifade edilebilir. Yapılan bir

çalışmada dana köfte formülasyonuna eklenen çörek otu ekstraktı ile peroksit değeri artışında yavaşlama olduğu, en etkili oranın ise %3 çörek otu ekstraktı olduğu bildirilmiştir (Rahman et al., 2021).

Çizelge 3. Jelatin filmlerin tavuk eti muhafaza özellikleri üzerine olan etkileri

Table 3. Effects of gelatin films on the preservation characteristics of chicken meat

	Ağırlık Kaybı (%) <i>Weight loss (%)</i>		Peroksit (meq/kg) <i>Peroxide (meq/kg)</i>			TBARS (mg MDA/kg) <i>TBARS (mg MDA/kg)</i>		
	6. Gün <i>Day 6</i>	12. Gün <i>Day 12</i>	0. Gün <i>Day 0</i>	6. Gün <i>Day 6</i>	12. Gün <i>Day 12</i>	0.Gün <i>Day 0</i>	6. Gün <i>Day 6</i>	12. Gün <i>Day 12</i>
Kontrol (ambalajsız) <i>Control</i> <i>(without film)</i>	5.60±0.63 ^a	11.22±0.48 ^a		2.79±0.26 ^a	6.00±0.083 ^a		0.40±0.006 ^a	0.48±0.005 ^a
ÇÖY %0 <i>BSO 0%</i>	2.71±0.29 ^b	5.24±0.07 ^b	1.594±0.27	1.99±0.57 ^{ab}	3.39±0.28 ^c	0.3302 ± 0.12	0.42±0.006 ^a	0.45±0.011 ^b
ÇÖY %1 <i>BSO 1%</i>	3.16±0.44 ^b	6.06±0.90 ^{bc}		1.29±0.42 ^{bc}	5.81±0.31 ^a		0.39±0.03 ^a	0.43±0.005 ^c
ÇÖY %2 <i>BSO 2%</i>	2.18±0.19 ^b	4.00±0.58 ^c		0.89±0.14 ^c	5.59±0.002 ^a		0.43±0.027 ^a	0.42±0.005 ^{bc}
ÇÖY %3 <i>BSO 3%</i>	2.41±0.14 ^b	4.81±0.56 ^{bc}		1.29±0.14 ^{bc}	4.79±0.56 ^b		0.41±0.04 ^a	0.41±0.054 ^c

ÇOY: Çörek otu yağı; a-c: Aynı sütundaki farklı üstel harflere sahip değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

BSO: Black seed oil; a-c: Different lower-case letters in the same column of the means of the treatments indicate statistically different ($P < 0.05$).

Tiyobarbitirik Asit Reaktif Madde (TBARS) değişimi
TBARS değeri, et ürünlerinde ikincil oksidasyon ürünlerinin belirlenmesi esasına dayanan ve lipidlerdeki oksidatif acılaşmayı gösteren önemli bir test parametresidir. Jelatin filmlerin, muhafaza sürecinde tavuk eti TBARS değerleri üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 3'de gösterilmektedir. Burada 6. gün muhafazası sonucunda TBARS değerleri bakımından tavuk eti örnekleri arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Diğer taraftan 12. gün muhafazası sonucunda TBARS değerleri incelendiğinde ambalaj filmindeki çörek otu yağı oranı artışı ile tavuk eti TBARS değerinin azaldığı, en düşük TBARS değerinin ise %3 çörek otu yağı içeren ambalaj filmi ile kaplanmış tavuk örneğinde olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Bu sonuç, çörek otu yağında bulunan antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşiklerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle timokinon ve karvakrolün gibi bileşenlerin bulundurduğu hidrojen atomları sayesinde serbest radikalleri süpürerek lipid oksidasyonu geciktirdiği söylenebilir (Sakib et al., 2023). Rahman vd. (2021)'nin yaptıkları çalışmada

dana köfte formülasyonuna belirli oranlarda çörek otu ekstraktı eklemişler ve pişmiş köftelerde 15 günlük soğukta muhafaza sürecinde TBARS değerlerindeki artışın çörek otu ekstraktı içeren örneklerde daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada gökkuşuğu alabalığı filetoları, çörek otu yağı ve nane yağı içeren kinoa nişastası temelli kaplama materyali ile kaplanmıştır. Sonuçta çörek otu yağının, nane yağına kıyasla daha yüksek düzeyde antioksidan etki gösterdiği ve balık filetolarının raf ömrünü uzatma potansiyelinde sahip olduğu bildirilmiştir (Güler et al., 2024).

SONUÇ

Bu çalışmada doğal fenolik bileşikler kullanılarak modifiye edilmiş jelatinin belirli oranlarda çörek otu yağı ile zenginleştirilmek suretiyle aktif ve biyobozunur bir ambalaj filmi üretimi, yenilikçi bir yaklaşım olarak öngörülmüştür. Elde edilen sonuçlar, renk ve opaklık özellikleri bakımından çörek otu yağının film parlaklığını azalttığı ve opaklığı yükselttiğini göstermiştir. Bu bakımdan lipid oksidasyonuna karşı hassas olan gıdaların muhafazasında çörek otu yağı kullanımının

avantajlı olacağı sonucuna varılmıştır. Suda çözünürlük özelliği bakımından en düşük çözünürlük ÇOY %1 örneğinde tespit edilmiştir. Su buharı geçirgenliği bakımından ise çörek otu yağı kullanımının su buharı geçirgenliğini artırdığı görülmüştür. Mekanik özellikler bakımından en yüksek gerilme direnci ÇOY %1 örneğinde tespit edilmiştir. Filmlerin tavuk eti muhafazasında ağırlık kaybına olan etkileri bakımından en düşük ağırlık kaybı ÇOY %2 örneğinde tespit edilmiştir. Filmlerin tavuk eti lipid oksidasyonu üzerine olan etkileri değerlendirildiğinde çörek otu yağı artışı ile TBARS değerinin düştüğü ve en düşük TBARS değerinin ÇOY %3 örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Peroksit değerleri incelendiğinde ise 6 günlük muhafaza neticesinde en düşük peroksit değerinin ÇOY %3 örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma jelatin ve çörek otu yağı bileşenleri arasında pozitif bir etkileşim olduğunu, bu kombinasyonun etkili ve doğa dostu bir ambalaj filmi üretimi için kullanılabileceğini göstermiştir. Diğer taraftan bu araştırmada, jelatinin doğal fenolik bileşikler ile modifiye edilmesi neticesinde özellikle mekanik özellikler ve bütünlük gibi film kalite parametrelerinin geliştirilebileceği ortaya konmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

- Alizadeh Sani, M., Tavassoli, M., Salim, S. A., Azizi-lalabadi, M., McClements, D. J. (2022). Development of green halochromic smart and active packaging materials: TiO₂ nanoparticle- and anthocyanin-loaded gelatin/ κ -carrageenan films. *Food Hydrocolloids*, 124(PB), 107324. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107324>
- ASTM. (1990). *Standard test methods for water vapour transmission of materials. Designation: E96-90 Annual book of American standards testing methods standard*.
- ASTM. (2002). *Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard designation: D882 Annual Book of American Standards Testing Methods*.
- Azizi-Lalabadi, M., Alizadeh-Sani, M., Divband, B., Ehsani, A., McClements, D. J. (2020). Nanocomposite films consisting of functional

nanoparticles (TiO₂ and ZnO) embedded in 4A-Zeolite and mixed polymer matrices (gelatin and polyvinyl alcohol). *Food Research International*, 137(August), 109716. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109716>

Benbettaieb, N., Gay, J. P., Karbowiak, T., Debeaufort, F. (2016). Tuning the Functional Properties of Polysaccharide-Protein Bio-Based Edible Films by Chemical, Enzymatic, and Physical Cross-Linking. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 739–752. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12210>

Bhatia, S., Al-Harrasi, A., Jawad, M., Shah, Y. A., Al-Azri, M. S., Ullah, S., Anwer, M. K., Aldawsari, M. F., Koca, E., Aydemir, L. Y. (2023). A Comparative Study of the Properties of Gelatin (Porcine and Bovine)-Based Edible Films Loaded with Spearmint Essential Oil. *Biomimetics*, 8(2). <https://doi.org/10.3390/biomimetics8020172>

Binsi, P. K., Ravishankar, C. N., Srinivasa Gopal, T. K. (2013). Development and Characterization of an Edible Composite Film Based on Chitosan and Virgin Coconut Oil with Improved Moisture Sorption Properties. *Journal of Food Science*, 78(4). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12084>

Cao, C., Feng, Y., Kong, B., Xia, X., Liu, M., Chen, J., Zhang, F., Liu, Q. (2021). Textural and gel properties of frankfurters as influenced by various κ -carrageenan incorporation methods. *Meat Science*, 176(June 2020), 108483. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108483>

Choi, I., Lee, S. E., Chang, Y., Lacroix, M., Han, J. (2018). Effect of oxidized phenolic compounds on cross-linking and properties of biodegradable active packaging film composed of turmeric and gelatin. *Lwt*, 93(December 2017), 427–433. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.065>

Erge, A., Eren, Ö. (2021). Chicken gelatin modification by caffeic acid: A response surface methodology investigation. *Food Chemistry*, 351(December 2020), 129269. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129269>

Erge, A., Güler, B. Z., Eren, Ö. (2024). Optimization and characterization of biodegradable films from chicken gelatin

- crosslinked with oxidized phenolic compounds. *Food Chemistry*, 438(July 2023). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137923>
- Erge, A., Zorba, Ö. (2018). Optimization of gelatin extraction from chicken mechanically deboned meat residue using alkaline pre-treatment. *Lwt*, 97(June), 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.057>
- Etxabide, A., Leceta, I., Cabezudo, S., Guerrero, P., De La Caba, K. (2016). Sustainable fish gelatin films: From food processing waste to compost. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(9), 4626–4634. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00750>
- Fathiraja, P., Gopalrajan, S., Karunanithi, M., Nagarajan, M., Obaiah, M. C., Durairaj, S., Neethirajan, N. (2022). Response surface methodology model to optimize concentration of agar, alginate and carrageenan for the improved properties of biopolymer film. *Polymer Bulletin*, 79(8), 6211–6237. <https://doi.org/10.1007/s00289-021-03797-5>
- Forouzanfar, F., Fazly Bazzaz, B. S., Hosseinzadeh, H. (2014). Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): A review on antimicrobial effects. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(12), 929–938.
- Gökalp, H. Y., Kaya, M., Zorba, Ö. (2010). *Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu* (5th ed.). Atatürk Üniversitesi Yayınları no 751.
- Güler, K., Yanık, T., Alak, G. (2024). Investigations on the shelf life of rainbow trout fillets covered by quinoa biofilms enriched with different essential oils (*Nigella sativa* and *Mentha piperita*). *Food Science and Technology International*, 30(3), 251–259. <https://doi.org/10.1177/10820132221145973>
- Haghighi, H., Biard, S., Bigi, F., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., Siesler, H. W., Licciardello, F., Pulvirenti, A. (2019). Comprehensive characterization of active chitosan-gelatin blend films enriched with different essential oils. *Food Hydrocolloids*, 95(February), 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.019>
- Jia, N., Lin, S., Yu, Y., Zhang, G., Li, L., Zheng, D., Liu, D. (2022). The Effects of Ethanol and Rutin on the Structure and Gel Properties of Whey Protein Isolate and Related Mechanisms. *Foods*, 11(21). <https://doi.org/10.3390/foods11213480>
- Kaewprachu, P., Ben Amara, C., Oulahal, N., Gharsallaoui, A., Joly, C., Tongdeesoontorn, W., Rawdkuen, S., Degraeve, P. (2018). Gelatin films with nisin and catechin for minced pork preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 18(September), 173–183. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.10.011>
- Karim, A. A., Bhat, R. (2009). Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 563–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.002>
- Kılıç, C., Arabacı, O. (2016). Çörek otu (*Nigella sativa* L.)’nda farklı ekim zamanı ve tohumluk miktarının verim ve kalite ve kaliteye etkisi. *Journal of Adnan Menderes University Agricultural Faculty*, 13(2), 49–56.
- Li, X., Tu, Z. C., Sha, X. M., Ye, Y. H., Li, Z. Y. (2022). Flavor, antimicrobial activity and physical properties of gelatin film incorporated with of ginger essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 59(2), 815–824. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05080-x>
- Nilsuwan, K., Guerrero, P., Caba, K. de la, Benjakul, S., Prodpran, T. (2019). Properties of fish gelatin films containing epigallocatechin gallate fabricated by thermo-compression molding. *Food Hydrocolloids*, 97(May), 105236. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105236>
- Nunes, J. C., Melo, P. T. S., Lorevice, M. V., Aouada, F. A., de Moura, M. R. (2021). Effect of green tea extract on gelatin-based films incorporated with lemon essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 58(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04469-4>
- Núñez-Flores, R., Giménez, B., Fernández-Martín, F., López-Caballero, M. E., Montero, M. P., Gómez-Guillén, M. C. (2013). Physical and functional characterization of active fish gelatin films incorporated with lignin. *Food Hydrocolloids*,

- 30(1), 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.017>
- Nur Hanani, Z. A., Aelma Husna, A. B. (2018). Effect of different types and concentrations of emulsifier on the characteristics of kappa-carrageenan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 710–716. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.163>
- Nur Hanani, Z. A., McNamara, J., Roos, Y. H., Kerry, J. P. (2013). Effect of plasticizer content on the functional properties of extruded gelatin-based composite films. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.009>
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006>
- Parsaei, E., Mohammadi Nafchi, A., Nouri, L., Al-Hassan, A. A. (2022). The effects of tannic and caffeic acid as cross-linking agents on the physicochemical, barrier, and mechanical characteristics of cold-water fish gelatin films. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 3926–3934. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01495-y>
- Rahman, M. H., Alam, M. S., Monir, M. M., Ahmed, K. (2021). Comprehensive effects of black cumin (*Nigella sativa*) and synthetic antioxidant on sensory and physicochemical quality of beef patties during refrigerant storage. *Journal of Agriculture and Food Research*, 4(January), 100145. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100145>
- Said, N. S., Sarbon, N. M. (2022). Physical and Mechanical Characteristics of Gelatin-Based Films as a Potential Food Packaging Material: A Review. *Membranes*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/membranes12050442>
- Sakib, R., Caruso, F., Aktar, S., Belli, S., Kaur, S., Hernandez, M., Rossi, M. (2023). Antioxidant Properties of Thymoquinone, Thymohydroquinone and Black Cumin (*Nigella sativa* L.) Seed Oil: Scavenging of Superoxide Radical Studied Using Cyclic Voltammetry, DFT and Single Crystal X-ray Diffraction. *Antioxidants*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/antiox12030607>
- Santos, J. P., Esquerdo, V. M., Moura, C. M., Pinto, L. A. A. (2018). Crosslinking agents effect on gelatins from carp and tilapia skins and in their biopolymeric films. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 539(September 2017), 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.12.018>
- Shekar, F., Javadi, A., Azadmard-Damirchi, S., hamishehkar, hamed. (2024). Characterization of biocomposite films made from carboxymethyl cellulose, okra mucilage, and black cumin seed (*Nigella sativa*) oil by Response Surface Methodology. *Next Materials*, 5(June), 100264. <https://doi.org/10.1016/j.nxmte.2024.100264>
- Song, X., Zuo, G., Chen, F. (2018). Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(PartA), 1302–1309. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.114>
- Tavassoli-Kafrani, E., Goli, S. A. H., Fathi, M. (2017). Fabrication and characterization of electrospun gelatin nanofibers crosslinked with oxidized phenolic compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1062–1068. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.152>
- Wang, X., Xue, Z., Sun, Y., Peng, B., Wu, C., Kou, X. (2024). Chitosan-ginger essential oil nanoemulsions loaded gelatin films: A biodegradable material for food preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 280(P2), 135791. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135791>
- Yavari Maroufi, L., Ghorbani, M., Tabibiazar, M., Mohammadi, M., Pezeshki, A. (2021). Advanced properties of gelatin film by incorporating modified kappa-carrageenan and zein nanoparticles for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 753–759. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.163>

**AN IN VITRO ASSESSMENT OF THE BIOACTIVE, CYTOTOXIC, AND
ANTIDIABETIC POTENTIAL OF DIFFERENT PARTS OF TUMBLEWEED
(*GUNDELIA TOURNEFORTII*L.)**

Gozde KUTLU*¹, Kubra Feyza EROL²

¹ Ankara Medipol University, Faculty of Fine Arts, Design and Architecture, Department of Gastronomy and Culinary Arts, Ankara, Türkiye

² University of Health Sciences, Hamidiye Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Istanbul, Türkiye

Received/Geliş: 13.09.2024; Accepted/Kabul: 20.12.2024; Published online/Online baskı: 30.12.2024

Kutlu, G., Erol, K. F. (2025). *An in vitro assessment of the bioactive, cytotoxic, and antidiabetic potential of different parts of tumbleweed (Gundelia tournefortii L.)*. GIDA (2025) 50 (1) 28-41 doi: 10.15237/gida.GD24096

Kutlu, G., Erol, K. F. (2025). Kenger (*Gundelia tournefortii* L.) bitkisinin farklı kısımlarının biyoaktif, sitotoksik ve antidiyabetik potansiyelinin in vitro değerlendirilmesi. GIDA (2025) 50 (1) 28-41 doi: 10.15237/gida.GD24096

ABSTRACT

This study aimed to investigate the physicochemical properties, bioactive compounds, cytotoxicity, and antidiabetic potential of the tumbleweed plant's roots (TR), stems & leaves (TSL), and flowers (TF). Results indicated TF as the richest part in bioactive compounds and antioxidant capacity, with the highest crude protein (13.91%), crude oil (15.50%), total phenolic content (214.64 mg GAE/g), total monomeric anthocyanin content (1132.96 mg/g), ABTS (25.48 mg TE/g), CUPRAC (203.92 mg TE/g), and FRAP (32.63 µmol Fe²⁺/g) activities. Mineral contents varied, with Mg, K, and Ca present in significant amounts across all parts. TF also showed the highest α-glucosidase (61.99%) and α-amylase (54.92%) inhibition, suggesting strong antidiabetic potential. Cytotoxicity was weak across samples, with IC₅₀ values ranging from 1049.76 to 1641.08 µg/mL against HEK-293 and Caco-2 cells. These findings highlight TF as the most bioactive and nutritionally rich part of the tumbleweed plant.

Keywords: *Gundelia tournefortii* L., bioactive properties, antidiabetic potential, antiproliferative characteristics, mineral content

**KENGER (*GUNDELIA TOURNEFORTII*L.) BİTKİSİNİN FARKLI
KISIMLARININ BİYOAKTİF, SİTOTOKSİK VE ANTİDİYABETİK
POTANSİYELİNİN IN VITRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

ÖZ

Bu çalışma, kenger bitkisinin kökleri (TR), gövde ve yaprakları (TSL) ile çiçeklerinin (TF) fizikokimyasal özelliklerini, biyoaktif bileşiklerini, sitotoksikite ve antidiyabetik potansiyelini incelemeyi amaçlamıştır. Sonuçlar, en yüksek ham protein (%13.91), ham yağ (%15.50), toplam fenolik içeriği (214.64 mg GAE/g), toplam monomerik antosiyanin içeriği (1132.96 mg/g), ABTS (25.48 mg TE/g), CUPRAC (203.92 mg TE/g) ve FRAP (32.63 µmol Fe²⁺/g) aktiviteleri açısından en zengin kısmının TF olduğunu göstermiştir. Magnezyum, potasyum ve kalsiyum gibi mineraller tüm

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: gozcelk@gmail.com

☎: (+90) 444 2010/8263

Gözde Kutlu; ORCID no: 0000-0001-7111-1726

Kübra Feyza Erol; ORCID no: 0000-0002-6816-8147

bitki kısımlarında belirgin miktarda bulunmuştur. TF, aynı zamanda en yüksek α -glukozidaz (%61.99) ve α -amilaz (%54.92) inhibisyonu göstererek güçlü antidiabetik potansiyele işaret etmiştir. Tüm örneklerde sitotoksitesite zayıf bulunmuş olup HEK-293 ve Caco-2 hücrelerine karşı IC₅₀ değerleri 1049.76-1641.08 μ g/mL arasında değişmiştir. Bu bulgular, kenger bitkisinin biyoaktif ve besin öğeleri açısından en zengin kısmının TF olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Gundelia tournefortii* L., biyoaktif özellikler, antidiyabetik potansiyel, antiproliferatif özellikler, mineral içeriği

INTRODUCTION

Plants are a vital natural resource for humanity, offering a wide range of phytochemicals and producing various secondary metabolites. The therapeutic properties of plants, specific to certain species or groups, align with the idea that the unique composition of secondary metabolites within each plant is taxonomically specific (Diab et al., 2021). Given that current food production will be insufficient to meet future demands, integrating crops from wild edible plants is essential for creating a sustainable food system. This strategy aims to enhance food security and nutrition through innovative and adaptive agricultural practices (Heywood, 2011). Edible flowers have long been associated with traditional cuisines and cultures worldwide. They are commonly incorporated into foods and beverages for their medicinal or pharmaceutical benefits (Yasar et al., 2022).

Tumbleweed (tumble thistle, *Gundelia tournefortii* L.), a member of the Asteraceae (Compositae) family, is native to various regions including Türkiye, Egypt, Iran, Israel, Jordan, Azerbaijan, Turkmenistan, and Syria. This spiny, thistle-like plant naturally grows in Türkiye's sandy and loamy soils, thriving in well-drained, moist conditions and unable to survive in shaded environments (Matthäus and Özcan, 2011; Mehrzadeh et al., 2024). Tumbleweed offers several edible parts, including its leaves, stems, roots, and immature flower buds. The tender, white parts of the young leaves are often utilized in soups. Moreover, the plant's seeds, stems, leaves, and flowers are used as food, underlining its role as a crucial dietary element and a notable medicinal herb in Eastern Anatolia (Coruh et al. 2007; Matthäus and Özcan, 2011; Mehrzadeh et al., 2024). The leaves and stems of tumbleweed are commonly used in soups and salads, while in the Middle East, the young flower buds are sold

in local markets. The seeds are often used in pickling, and the fruits are preserved in vinegar or lemon juice with salt to serve as a garnish. Additionally, leaves, young stems, and the inflorescences are key ingredients in the traditional Palestinian dish known as "Akoob" (Tarhan et al., 2023). Traditionally, this genus has been used to treat various ailments, including kidney stones, bronchitis, infections, and stomach pain. Recent studies have shown that its extracts possess hypolipidemic, hepatoprotective, anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial properties. Additionally, several phytochemicals such as sterols, terpenoids, fatty acids, along with essential minerals and vitamins, have been identified in the genus (Mehrzadeh et al., 2024).

Recent research has increasingly focused on the physicochemical characteristics, phytochemical properties—including phenolic profile, antioxidant activity, and total phenolic content (TPC)—along with antidiabetic and cytotoxic effects, as well as the pharmacological effects of wild tumbleweed plant (Coruh et al. 2007; Haghi et al., 2011; Matthäus and Özcan, 2011; Asghari et al., 2015; Ereifej et al. 2015; Kadan et al., 2018; Saraç et al., 2019; Özaltun and Daştan 2019; Keskin et al., 2021; Tarhan et al., 2023). Although significant studies on these aspects are present in the literature, there is a lack of comprehensive studies examining different plant parts. Moreover, in vitro antidiabetic activity studies are very limited, and cytotoxicity studies on Caco-2 and HEK-293 cell lines have been conducted for the first time in this study. This research aims to fill this gap by evaluating three different parts of the tumbleweed plant: roots (TSL), stems and leaves (TSL), and flowers (TF). The objective of the study is to comprehensively address the physicochemical properties, bioactive compounds, antidiabetic potential, and cytotoxicity of these plant parts.

MATERIALS AND METHOD

Materials

Wild tumbleweed (*Gundelia tournefortii* L.) plants were gathered in June 2023 from the Central Anatolian Region of Türkiye, specifically from İnkişla, Gemerek, Sivas. The study utilized a variety of reagents and materials, including α -amylase, pepsin, and pancreatin, (all Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, USA). Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) was sourced from Gibco Inc. (USA). Other chemicals included bile salts, Folin-Ciocalteu phenol reagent, sodium carbonate (Na_2CO_3), gallic acid, malvidin-3-glucoside, ABTS, Trolox, TPTZ, and potassium persulfate (all Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany), as well as MTT (Serva GmbH, Germany) and 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic) acid (DTNB, Sigma–Aldrich). Additionally, metals such as copper (Cu), zinc (Zn), and iron (Fe) were sourced from Merck, and phosphorus (P) was obtained from Supelco. Ethanol were also provided by Merck. Ultrapure water was prepared

using a Milli-Q purification system (Millipore, France).

Preparation of plants

The plants were thoroughly washed 2 times with running tap water followed by rinsing with distilled water to remove dust and other impurities. The manually harvested plants were then divided into three distinct parts: roots (TR), stems & leaves (TSL), and flowers (TF). The separated plant sections were air-dried at room temperature in ventilated place for 10 days, ensuring they were not exposed to direct sunlight. After drying, the samples were finely ground using a laboratory mill. The powdered samples were stored in beakers sealed with parafilm and kept in a refrigerator (Arçelik, Türkiye) at +4°C for future analyses. In order to increase the clarity and comprehensibility of the analyses carried out within the scope of the study, these analyses are visually summarised in a graphical abstract as presented in Figure 1.

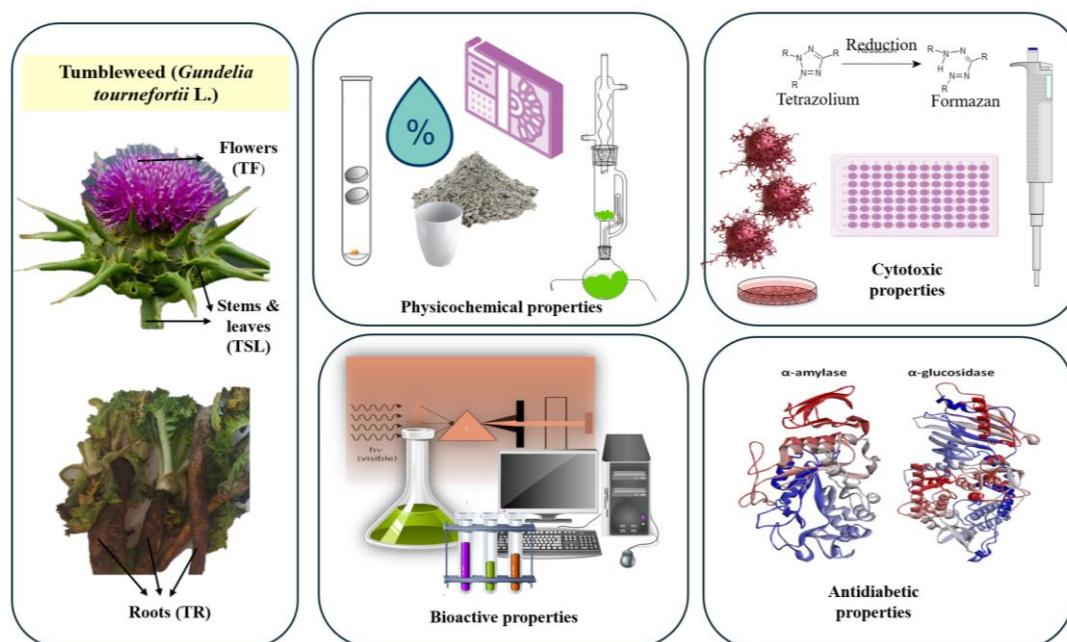


Figure 1. An overview of analysis.

Physicochemical analysis

Determination of moisture content

The moisture content of tumbleweed plant parts was measured using the oven-drying method. Approximately 3 g of the sample were weighed

and placed in an oven (Memmert UF-110, Germany) at 105°C for 3 h. The percentage of moisture content was calculated based on the weight loss recorded after drying, as described by Kutlu et al. (2024a).

Determination of ash content

The ash content of tumbleweed plant parts was determined using an electric muffle furnace (WiseTherm-Daihan FH-03, Korea) with high-temperature capabilities. Porcelain crucibles were initially heated to 650°C to achieve a constant weight. Approximately 2 g of the sample were placed in these crucibles. The samples underwent a pre-ashing process with ethanol, followed by incineration at 650°C until all black residues were eliminated. The ash content percentage was then calculated based on the dry matter, as outlined by Kutlu (2015).

Determination of oil content using the soxhlet method

To measure the oil content in tumbleweed plant parts, approximately 4 g of the sample were weighed and wrapped in filter paper. The filter papers were placed into a cartridge, which was packed with cotton and inserted into an extractor. Hexane was used as the solvent with heating set to achieve a slow boil, and the reflux condenser was activated. The extraction continued for 8 h with continuous hexane flow. After extraction, the hexane was evaporated using a rotary evaporator (BUCHI-Vacuum Controller V-850, Switzerland). Any residual hexane was removed by placing the samples in an oven at 105°C (Mettler UF-110, Germany) until a constant weight was achieved in a desiccator. The final weight of the flask was recorded, and the percentage of oil content was calculated (Kutlu, 2015).

Determination of protein content

Approximately 3 g of the plant samples were weighed and placed into a Kjeldahl flask. Subsequently, 25 mL of concentrated H₂SO₄ and one catalyst tablet (containing a mixture of potassium sulfate (K₂SO₄), sodium sulfate (Na₂SO₄), titanium dioxide (TiO₂), and copper sulfate (CuSO₄) were added. The sample was subjected to a digestion process at 200-250°C for 2 h and then at 350-400°C for 8 h. During the digestion, the color of the samples changed from black to a light, transparent color. After allowing the samples to cool, 5 mL of 40% NaOH and 3 mL of 3% boric acid were added, and the distillation process was initiated (Behr Distillation

Unit-S5, Germany). After 4 min of distillation, titration was performed using 0.1 N HCl, and the volume of HCl consumed was recorded in mL. The percentage of crude protein was then calculated as follows (Kutlu, 2015):

$$\text{Nitrogen (\%)} = \frac{((V_1 - V_0) * N * 0.014) * 100}{m} \quad (1)$$

V_1 is the volume of HCl consumed during titration (mL); V_0 is the volume of HCl consumed in the blank titration (mL); N is the normality of the HCl solution used in titration (0.1 N), 0.014 is the milliequivalent weight of nitrogen, m is the mass of the food sample taken (g).

Mineral content

The concentrations of essential (Mg, P, Ca, Na, and K) and trace elements (Zn, Fe, and Cu) in the tumbleweed plant parts were analysed using an atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer-Analyst 800, Norwalk, CT) following the method outlined by Erol et al. (2024); Erol and Kutlu (2024). 1.0 g of the sample was treated with 1.5 mL of 30% hydrogen peroxide and 6.5 mL of concentrated 69% nitric acid, then subjected to microwave digestion (MD). The MD was conducted under conditions of 220 PSI and 180 °C, with a gradual increase in temperature over 15-25 min, followed by a stabilization period of 10-15 min. After cooling to room temperature, the solution was diluted to 50 mL with high-purity water. Following the digestion, essential and trace elements were determined using an atomic absorption spectrophotometer, with calibration standards prepared from 1000 µg mL⁻¹ stock solutions of the tested elements in deionized water.

Extraction of dried tumbleweed plants

The extraction of dried tumbleweed plant parts was performed following the method described by Sasidharan et al. (2021), with minor modifications. The dried and ground parts of the tumbleweed plant were combined with absolute ethanol at a 1:10 (w:v) ratio and left to stand at room temperature for 5 days. Following this, the mixtures were centrifuged at 5000 rpm for 5 min at 25°C to separate the solid residues. The resulting supernatant was concentrated using a

rotary evaporator (Heidolph Instruments GmbH and Co.KG, Schwabach, Germany). The concentrated extract was then frozen at -18°C for 12 h before being lyophilized (Christ β 1,8-LSC plus, Martin Christ GmbH, Osterode am Harz, Germany) to obtain a dry extract. The lyophilized extract was further pulverized into a fine powder using a porcelain mortar. The prepared extracts were stored in the dark at 4°C in stoppered flasks until further use

Estimation of total polyphenol content (TPC)

The TPC of different parts of tumbleweed plants was determined using the Folin–Ciocalteu (Sigma-Aldrich) method, following the procedure described by Demirkan et al. (2024); Erol and Kutlu (2024). In brief, 0.5 mL of the sample was placed into a 10 mL test tube, and then 0.5 mL of 2 N Folin–Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and 0.5 mL of 7.5% sodium carbonate solution (Sigma Aldrich Co., Singapore) were added. The mixture was shaken vigorously and left to incubate in the dark at room temperature for 30 min. After the incubation period, the absorbance was measured at 760 nm using a SHIMADZU (UV-1800) UV-VIS-NIR spectrophotometer (Japan). A standard curve was prepared with gallic acid, and the TPC results were reported as milligrams of gallic acid equivalents per gram of dried extract (mg GAE g^{-1} dried extract), demonstrating a linear range of 2.5 to 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2 = 0.999$).

Total monomeric anthocyanin content (TAC)

The pH differential method employed for the determination of monomeric anthocyanins was adapted from the protocol described by Ağçam and Akyıldız (2015). This method is based on the principle that, at pH 1, the colored oxonium form of monomeric anthocyanins predominates, while at pH 4.5, the colorless hemiketal form is more prevalent. Accordingly, the difference in absorbance values measured at pH 1 and pH 4.5 is directly proportional to the anthocyanin concentration. To adjust the pH values to the desired levels, 0.025 M potassium chloride (KCl, adjusted to pH 1 with HCl) and 0.4 M sodium acetate ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, adjusted to pH 4.5 with HCl) buffer solutions were utilized. The

volumes of the potassium chloride (pH 1.0) and sodium acetate buffer solutions (pH 4.5) were determined based on the optimal dilution ratio. This dilution ratio was applied to each solution, and readings were taken after allowing 15 min for equilibrium to be established. For the analysis, 0.5 mL of extract was taken into two glass tubes. To the first tube, 7.5 mL of the 0.025 M potassium chloride solution was added, while 7.5 mL of the 0.4 M sodium acetate solution was added to the second tube. Absorbance readings were taken at 700 nm wavelength absorbance (λ_{max}) to determine turbidity. Following the 15-min incubation period, absorbance measurements were performed using a Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS spectrophotometer (Massachusetts, USA, 2005) in 1 cm thick disposable cuvettes. To identify the wavelength absorbance of the tumbleweed plant parts anthocyanins, the absorbance measurements were conducted between 470 and 570 nm. The maximum absorbance was determined to be at 518 nm, and calculations were based on the absorbance values at this wavelength. The amount of monomeric anthocyanins in tumbleweed plant parts was calculated based on the malvidin-3-glucoside using the equation provided below. The results are expressed as a concentration corresponding to 1 g of extract (mg/g). The concentration of monomeric anthocyanins was estimated using the following formula:

$$\text{Monomeric anthocyanin content } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{A \cdot MW \cdot SF}{(\epsilon \cdot L)} * 100 \quad (2)$$

A represents the absorbance difference measured at pH 1 and 4.5, calculated as:

$$A = ((A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700})_{\text{pH}1} - (A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700})_{\text{pH}4.5}) \quad (3)$$

MW is the molecular weight of the anthocyanin of interest (655.6 g/mol); SF is the dilution factor; ϵ is the molar absorptivity coefficient (26,900 $\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$); L represents the path length of the absorbance cuvette (1 cm).

Determination of reducing power of antioxidants by CUPRAC and FRAP method

The cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) of different parts of tumbleweed plants was evaluated according to the method described by Yasar et al. (2022). The assay involved mixing a sample solution (1 g) with a premixed reaction mixture composed of CuCl_2 (1 mL, 0.01 mM), neocuproine (1 mL, 7.5 mM) in 100% ethanol, NH_4Ac buffer (1 mL, 1 M, pH 7.0) in distilled water, and 1 mL of distilled water. If the sample possesses antioxidant properties, it reduces Cu (II) to Cu (I) , with neocuproine forming a yellow chromophore complex with Cu (I) . The mixture was incubated at room temperature for 1 h in the dark within a sealed test tube. After incubation, the absorbance was measured at 450 nm against a reagent blank, and the CUPRAC activity was expressed as milligrams of trolox equivalents per gram of extract (mg TE/g dry extract). The standard curve exhibited a linear range of 25 to 400 μM , with an R^2 value of 0.993.

The ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay was conducted according to the method provided by Kutlu (2024). A sample solution (20 μL) was added to a FRAP reagent mixture (2 mL), which included acetate buffer (300 mM, pH 3.6), TPTZ (10 mM) dissolved in 40 mM HCl, and ferric chloride (20 mM) in a 10:1:1 volumetric ratio. After 30 min of incubation at room temperature, the absorbance was recorded at 593 nm. FRAP activity was expressed as micromoles of Fe^{2+} equivalents per gram of dry weight (mmol $\text{Fe}^{2+}\text{E/g}$). The standard curve demonstrated a range of 0.008 to 0.5 mg/mL, achieving an R^2 value of 0.999.

Determination of scavenging activity by ABTS method

The ABTS assay of various parts of tumbleweed plants was performed as described by Erol et al. (2023). In summary, a mixture of x mL of the sample solution and (4 - x) mL ethanol was prepared, with 4 mL of ethanol serving as the reagent blank. A 1 mL portion of a 1:10 diluted ABTS radical cation solution, which had been prepared by combining a 7-mM ABTS solution

with a 2.45-mM potassium persulfate solution and allowing it to react in the dark at room temperature for 12–16 h, was added to the mixture at 15-sec intervals and mixed thoroughly. Absorbance readings were taken at 734 nm after a 6-min incubation, using ethanol as the reference. The decrease in absorbance (A_0) observed in the presence of antioxidants was proportional to their concentration. The antioxidant capacity of the samples, determined using a Trolox calibration curve, was expressed as milligrams of Trolox equivalents per gram of dry extract (mg TE/g dry extract). Standar curve consisted of a range of 0.008 to 0.5 mg/mL, achieving an R^2 value of 0.999.

Phenolic profile

Phenolic compounds in various parts of tumbleweed plants were identified using high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with a diode array detector (HPLC-DAD, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). Prior to analysis, the extracts were filtered through a 0.45- μm membrane filter, and 1 mL of the filtrate was injected into the HPLC system (equipped with a CMB-20A communications bus module, SPDM20A DAD detector, DGU-20A5R degasser, SIL-20A HT autosampler, LC-20AD pump, and CTO-10ASVP column oven, all from Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). The separation process was performed at 40°C on a reversed-phase Intersil® ODS C-18 column (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm particle size, GL Sciences, Tokyo, Japan). The mobile phases consisted of solvent A (distilled water containing 0.1% acetic acid, v/v) and solvent B (acetonitrile with 0.1% acetic acid, v/v). Gradient elution was programmed as follows: 10% B from 0–2 min, 10%–30% B from 2–27 min, 30%–90% B from 27–50 min, and 90%–100% B from 51–60 min, returning to the initial conditions at 63 min. The flow rate was maintained at 1 mL/min, and chromatograms were monitored at wavelengths between 254 and 356 nm. Identification and quantification of phenolic compounds were achieved by comparing retention times and standard curves, with the results expressed as $\mu\text{g/g}$ for different parts of the tumbleweed plants (Kayacan et al., 2020).

Assessment of antidiabetic activities

To evaluate in vitro antidiabetic activity, α -amylase and α -glucosidase inhibition assays were conducted as per the method described by Kutlu (2024). For the α -glucosidase assay, extracts were combined with the enzyme and para-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (P-NPG), and the absorbance was recorded at 405 nm. In the α -amylase assay, the enzyme was pre-incubated with the samples, followed by the addition of starch and DNSA reagent; absorbance was measured at 405 nm after heating.

Cytotoxic activity

For assessing in vitro cytotoxicity of various parts of tumbleweed plants, Caco-2 and HEK-293 cell lines were cultured in DMEM supplemented with FBS, penicillin-streptomycin, and L-glutamine. The MTT assay was performed by plating the cells in 96-well plates and exposing them to different concentrations of tumbleweed plant extracts. After incubation with MTT and DMSO, absorbance was measured to determine cell viability, which was inferred from the reduction of MTT to formazan crystals (Erol and Kutlu, 2024).

Statistical analysis

Each sample was analyzed in triplicate to ensure accuracy. Results are presented as means $\pm$ standard deviations. Statistical analysis was performed using JMP 6.0 software (SAS Institute, Inc., Cary, USA). Prior to conducting ANOVA, the normality of the data distribution was assessed using the Shapiro-Wilk W test, with a p-value of

≥ 0.05 indicating normal distribution. Tukey's honestly significant difference (HSD) test was used for post-hoc comparisons. Statistical significance was assessed using one-way ANOVA with a significance level using set at $P < 0.05$ (Erol and Kutlu, 2024).

RESULT AND DISCUSSION

Proximate profile

Table 1 provides a summary of the proximate composition, including moisture, protein, total fat, and ash content in different parts of tumbleweed. Moisture content is one of the most commonly measured properties in food materials (Alam et al., 2020). The moisture content was recorded as 9.32% for TR, 13.35% for TSL, and 9.92% for TF. In terms of crude protein, the values for TR, TSL, and TF were 4.05%, 9.12%, and 13.91%, respectively. The crude ash content was 8.89% for TR, 5.85% for TSL, and 8.88% for TF. Additionally, the crude oil content varied, with TR showing the lowest value at 6.16%, followed by 8.95% for TSL, and the highest oil content of 15.50% in TF. These findings align with previous studies, such as Matthäus and Özcan (2011), who reported 8.6% moisture, 16.2% crude oil, 12.6% protein, and 8.7% ash in the ripe flower buds of tumbleweed. Similarly, Ereifej et al. (2015) observed 94.2% dry matter, 14.6% protein, 1.6% fat, and 18.7% ash in the stems and leaves of *G. tournefortii* L. collected from Jordan. These comparisons highlight the variation in physicochemical properties across different parts of the tumbleweed plant, emphasizing its nutritional and functional potential.

Table 1. Some physicochemical properties of tumbleweed parts.

The name of samples	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude ash (%)	Crude oil (%)
TR	9.32 $\pm$ 0.73 ^b	4.05 $\pm$ 0.38 ^c	8.89 $\pm$ 0.40 ^a	6.16 $\pm$ 0.50 ^c
TSL	13.35 $\pm$ 1.30 ^a	9.12 $\pm$ 0.76 ^b	5.85 $\pm$ 0.56 ^b	8.95 $\pm$ 0.49 ^b
TF	9.92 $\pm$ 0.45 ^b	13.91 $\pm$ 0.93 ^a	8.88 $\pm$ 0.62 ^a	15.50 $\pm$ 0.93 ^a

TR: The roots of tumbleweed; TSL: The stems & leaves of tumbleweed; TF: The flowers of tumbleweed

Minerals are essential micronutrients that support bone health, enzyme activity, nerve function, and oxygen transport, making adequate intake crucial for overall health and preventing deficiencies (Kutlu et al., 2024b). The mineral profile (Table 2)

of the tumbleweed plant showed significant variation depending on the part analyzed ($P < 0.05$). For example, the mineral composition of the TR section, ranked from highest to lowest, included Mg (1047 mg/100 g), K (464 mg/100 g),

Ca (340.33 mg/100 g), P (22.33 mg/100 g), Na (12.51 mg/100 g), Fe (3.34 mg/100 g), Zn (2.18 mg/100 g), and Cu (1.27 mg/100 g). In contrast, the TSL section showed the highest mineral concentration for Mg (898.33 mg/100 g), followed by Ca (394 mg/100 g), K (353.67 mg/100 g), P (45.00 mg/100 g), Na (17.65 mg/100 g), Fe (4.81 mg/100 g), Zn (3.49 mg/100 g), and Cu (3.27 mg/100 g). Similarly, the TF section exhibited a mineral content trend similar to the TR section, with Mg (1164.67 mg/100 g) as the dominant mineral, followed by K (528.33 mg/100 g), Ca (376.67 mg/100 g), P (47.67 mg/100 g), Na (22.30 mg/100 g), Fe (7.57 mg/100 g), Zn (5.50 mg/100 g), and Cu (5.04 mg/100 g). According to the recommended dietary allowance (Anonymous, 2017), 100 g of various parts of the tumbleweed plant can fulfill 21.8–55% of the daily Zn requirement, 127–344% of the Cu requirement, 23.86–54.07% of the Fe requirement, 42.54–49.25% of the Ca requirement, 239.56–310.58% of the Mg

requirement, 17.68–26.41% of the K requirement, and 3.19–6.81% of the P requirement. These findings align with previous studies, such as Matthäus and Özcan (2011), who reported P (1,834.02 mg/kg), K (412.08 mg/kg), Ca (316.27 mg/kg), Mg (266.56 mg/kg), and Na (32.44 mg/kg) as the major minerals in the flower buds of tumbleweed. Additionally, Ereifej et al. (2015) identified Ca (31.4 mg/g), Na (15.5 mg/g), K (19.7 mg/g), Cu (0.14 mg/g), Fe (1.7 mg/g), Mg (23.9 mg/g), Mn (0.12 mg/g), Zn (0.4 mg/g), and P (4.6 mg/g) in the stems and leaves of *G. tournefortii* L.. Previously, Rana et al. (2019) reported that the variations in mineral content may be attributed to factors such as soil quality, environmental and climatic conditions, and species. This comparison highlights the notable differences in mineral composition across various plant parts and studies, underscoring the diverse mineral content of tumbleweed based on plant section and geographical location.

Table 2. The mineral content (mg/100 g dw) of tumbleweed parts.

Element type	RDA (mg/ day)	Unit	The name of tumbleweed parts		
			TR	TSL	TF
Zinc (Zn)	10	mg/100 g	2.18±0.32 ^c	3.49±0.48 ^b	5.50±0.65 ^a
Copper (Cu)	1	mg/100 g	1.27±0.20 ^c	3.27±0.35 ^b	5.04±0.64 ^a
Iron (Fe)	14	mg/100 g	3.34±0.19 ^c	4.81±0.21 ^b	7.57±0.40 ^a
Calcium (Ca)	800	mg/100 g	340.33±11.59 ^b	394.00±13.45 ^a	376.67±10.69 ^a
Magnesium (Mg)	375	mg/100 g	1047.00±49.79 ^b	898.33±18.58 ^c	1164.67±31.47 ^a
Sodium (Na)	*	mg/100 g	12.51±1.66 ^c	17.65±1.13 ^b	22.30±1.08 ^a
Potassium (K)	2000	mg/100 g	464.00±10.58 ^b	353.67±11.06 ^c	528.33±17.50 ^a
Phosphorus (P)	700	mg/100 g	22.33±0.58 ^a	45.00±2.00 ^b	47.67±2.08 ^a

TR: The roots of tumbleweed; TSL: The stems & leaves of tumbleweed; TF: The flowers of tumbleweed; RDA: Recommended daily allowance.

Statistical differences within the same row are denoted by lowercase letters (^{a-c}) ($P < 0.05$).

Bioactive properties

Phenolic compounds, a diverse group of secondary metabolites in plants, are known for their biological activities, such as anti-inflammatory, anticancer, antidiabetic, and anti-atherosclerotic effects, primarily due to their antioxidant properties. Antioxidants are essential in neutralizing free radicals, which contribute to

tissue damage. Recently, wild plants have attracted significant interest as natural sources of antioxidants, offering a safer alternative to synthetic options, which may carry health risks (Rana et al., 2019; Alam et al., 2020; Erol and Kutlu, 2024).

The TPC, TAC, and antioxidant activity values (ABTS, CUPRAC, and FRAP) of the tumbleweed plant are presented in Table 3. The TPC of different parts of the tumbleweed plant was quantified, revealing a range from 62.71 to 214.64 mg GAE g⁻¹ of dried extract. Moreover, the TAC levels of the tumbleweed plant were determined to be between 705.01 and 1132.96 mg g⁻¹ in dry weight. The highest TPC and TAC contents were observed in the TF section, while the lowest values were found in the TR section. Moreover the antioxidant activity measurements followed a similar trend to the TPC and TAC values. Specifically, the ABTS activity of the samples ranged from 13.14 to 25.48 mg TE g⁻¹ extract,

CUPRAC activity was measured between 88.03 and 203.92 mg TE g⁻¹ extract, and FRAP activity values were recorded between 15.87 and 32.63 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ E g⁻¹. These findings indicate that the TF section exhibits the highest antioxidant potential, correlating with its elevated phenolic and total monomeric anthocyanin content, whereas the TR section shows the lowest antioxidant capacity. Such variations in antioxidant activity and bioactive compound content highlight the potential of different parts of the tumbleweed plant as sources of natural antioxidants, depending on their phenolic and anthocyanin concentrations.

Table 3. Some bioactive and antidiabetic properties of tumbleweed parts.

The name of sample	Bioactive properties						Antidiabetic properties	
	TPC (mg GAE g ⁻¹ of dried extract)	TAC (mg g ⁻¹ in dry weight)	Antioxidant activities			FRAP activity ($\mu\text{mol Fe}^{+2}$ E g ⁻¹ of dry extract)	α -Glucosidase from <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	α -Amylase from porcine pancreas (%)
			ABTS activity (mg TE g ⁻¹ of dry extract)	CUPRAC activity (mg TE g ⁻¹ of dry extract)				
TR	62.71 $\pm$ 3.20 ^c	705.01 $\pm$ 9.73 ^c	13.14 $\pm$ 1.58 ^c	88.03 $\pm$ 5.91 ^c		15.87 $\pm$ 1.41 ^c	38.46 $\pm$ 1.16 ^c	29.01 $\pm$ 1.08 ^c
TSL	108.13 $\pm$ 6.68 ^b	866.64 $\pm$ 11.74 ^b	17.78 $\pm$ 1.66 ^b	130.09 $\pm$ 4.30 ^b		24.81 $\pm$ 2.04 ^b	50.97 $\pm$ 0.39 ^b	52.80 $\pm$ 0.64 ^b
TF	214.64 $\pm$ 11.40 ^a	1132.96 $\pm$ 28.24 ^a	25.48 $\pm$ 2.12 ^a	203.92 $\pm$ 6.93 ^a		32.63 $\pm$ 3.05 ^a	61.99 $\pm$ 0.66 ^a	53.67 $\pm$ 0.46 ^{ab}
Acorbose	-	-	-	-		-	52.01 $\pm$ 0.68 ^b	54.92 $\pm$ 0.26 ^a

TR: The roots of tumbleweed; TSL: The stems & leaves of tumbleweed; TF: The flowers of tumbleweed; GAE: Gallic acid equivalent; TE: Trolox equivalent

Statistical differences within the same column are denoted by lowercase letters (^{a-c}) ($P < 0.05$).

Similarly, Coruh et al. (2007) found that the TPC was 64.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ in the aerial parts and 105.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ in the seeds of *G. tournefortii* L. Moreover, Ereifej et al. (2015) observed that the stems and leaves of *G. tournefortii* L. contained 375.5 mg GAE/100 g of TPC and 100.1 mg/100 g of anthocyanin concentration. Furthermore, according to the findings of Dalar et al. (2019), the ethanol extract of *Gundelia rosea* seed demonstrated a significant TPC, measuring 55.3 mg GAE per g of extract. Additionally, *G. tournefortii* L. exhibited strong reducing power, with FRAP and CUPRAC values of 1683 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ and 214.1 mg TE per gram of extract, respectively, as well as notable radical scavenging activity, indicated by an ABTS value of 141.2 mg TE per gram of extract. Variations in the TPC among different plant parts are expected and can be attributed to the presence of a diverse range of phenolic compounds and their various derivatives

in each part. Moreover, Karakas et al (2017) noted that the antioxidant properties of phenolic compounds are likely linked to their strong hydrogen-donating capacity, making them highly effective in neutralizing free radicals and preventing oxidative damage.

Phenolic profile

An analysis was conducted to identify and quantify the most prevalent polyphenols across different parts of tumbleweed, as shown in Table 4. The results revealed significant variability in both the profile and concentration of polyphenolic compounds among the studied parts. Notably, gallic acid, protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, syringic acid, kaempferol, rutin, ferulic acid, o-coumaric acid, myricetin, and quercetin were detected in all parts of the plant, whereas chrysin was absent only in the TR. The concentration of phenolic

compounds ranged from 0.93 to 119.98 µg/g, with the highest levels of gallic acid (119.98 µg/g), protocatechuic acid (19.68 µg/g), syringic acid (5.62 µg/g), kaempferol (4.60 µg/g), rutin (80.05 µg/g), chrysin (1.65 µg/g), ferulic acid (13.53 µg/g), o-coumaric acid (8.60 µg/g), myricetin (32.01 µg/g), and quercetin (5.45 µg/g) recorded

in the TF. Conversely, the highest concentration of p-hydroxybenzoic acid (11.85 µg/g) was found in the TSL, and caffeic acid was most abundant in the TR. This comprehensive profiling of polyphenolic compounds highlights the diverse phenolic content across the various plant parts, emphasizing their potential bioactive properties.

Table 4. Phenolic profile of various tumbleweed parts.

Phenolic compounds	TR (µg/g)	TSL (µg/g)	TF(µg/g)
Gallic acid	60.71±0.29 ^c	96.41±0.84 ^b	119.98±0.61 ^a
Protocatechuic acid	9.40±0.15 ^c	14.32±0.32 ^b	19.68±0.38 ^a
p-Hydroxybenzoic acid	7.56±0.41 ^c	11.85±0.40 ^b	9.96±0.53 ^a
Caffeic acid	14.72±0.30 ^a	10.97±0.23 ^c	13.29±0.13 ^b
Syringic acid	2.40±0.13 ^c	3.30±0.12 ^b	5.62±0.25 ^a
Kaempferol	1.57±0.24 ^c	2.99±0.23 ^b	4.60±0.34 ^a
Rutin	48.05±0.20 ^c	52.95±0.18 ^b	80.05±0.51 ^a
Chrysin	NPD	0.88±0.16 ^b	1.65±0.08 ^a
Ferulic acid	7.34±0.07 ^c	9.87±0.36 ^b	13.53±0.19 ^a
o-Coumaric acid	4.54±0.26 ^c	6.49±0.29 ^b	8.60±0.22 ^a
Myricetin	16.80±0.22 ^c	24.78±0.22 ^b	32.01±0.59 ^a
Quercetin	0.93±0.09 ^c	1.46±0.14 ^b	5.45±0.25 ^a

NPD: No peak is detected; TR: The roots of tumbleweed; TSL: The stems & leaves of tumbleweed; TF: The flowers of tumbleweed

Statistical differences within the same row are denoted by lowercase letters (^{a-c}) ($P < 0.05$).

These findings align with earlier research on the phenolic composition of *G. tournefortii* L. For instance, Haghi et al. (2011) conducted a detailed analysis of the phenolic profile of tumbleweed, revealing the presence of several key compounds, including chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, and neochlorogenic acid. Similarly, Asgari et al. (2015) identified chlorogenic and caffeic acids as the predominant phenolics in *G. tournefortii* L. In a more recent study, Tarhan et al. (2023) reported the presence of fumaric acid, gallic acid, protocatechuic acid, gentisic acid, and chlorogenic acid in the root, stem, leaf, and flower of tumbleweed, further expanding the understanding of the plant's diverse phenolic composition. These findings highlight the rich array of bioactive compounds in *G. tournefortii* L., which could be valuable for future research into its antioxidant and therapeutic potential in various applications.

Antidiabetic activity

Alpha-amylase plays a crucial role in the breakdown of polysaccharides and is a key

enzyme in the digestive process, primarily found in saliva and pancreatic juice. Inhibiting this enzyme is a potential strategy to reduce postprandial blood glucose levels. In contrast, α -glucosidase, an enzyme located in the mucosal brush border of the small intestine, is responsible for breaking down complex carbohydrates into absorbable sugars. Its inhibition provides an effective method to slow glucose absorption and regulate postprandial blood sugar, potentially helping to manage diabetes (Mechchate et al., 2021; Erol et al., 2023; Erol and Kutlu, 2024; Kutlu, 2024).

The inhibitory activities of different parts of the tumbleweed plant were assessed at a concentration of 2 mg/mL against α -glucosidase and α -amylase (Table 3). The α -glucosidase inhibition percentages ranged from 38.46% to 61.99%, while α -amylase inhibition varied between 29.01% and 54.92%. Acarbose, a commonly used α -glucosidase inhibitor in the treatment of type 2 diabetes mellitus (Kutlu, 2024), served as a reference. Among the extracts,

the TF section demonstrated the inhibitory activity against α -glucosidase (61.99%) from *Saccharomyces cerevisiae*, although none of the extracts showed inhibitory activity against α -amylase at the level of acarbose (54.92%) from porcine pancreas. The findings suggest that tumbleweed parts (TR, TSL, and TF) do not significantly inhibit α -amylase, indicating that they may not reduce glucose absorption through this pathway. However, it is noteworthy that the α -amylase inhibitory activity of the TF extract was found to be very close to that of acarbose. These results suggest that the TF part of the tumbleweed plant may possess significant potential as a natural inhibitor of α -glucosidase and α -amylase, which could be beneficial for managing hyperglycemia in type 2 diabetes. These findings align with previous research on *Gundelia tournefortii* L. In a study conducted by Keskin et al. (2021), the α -amylase and α -glucosidase enzyme inhibition capacities of ethanol and water extracts from the stalks and roots of *Gundelia tournefortii* L. were determined, revealing that the IC_{50} value of the acarbose standard was lower than those of the extracts. This suggests that the antidiabetic activity of *G. tournefortii* L. is relatively limited. Moreover, Kadan et al. (2018) found that *G. tournefortii* L. methanol extract enhances GLUT4 translocation in muscle cells, suggesting its potential antidiabetic effect through improved glucose metabolism. These studies, together with existing findings on tumbleweed, highlight the potential of plant-based extracts as natural agents in diabetes management.

In vitro antiproliferative activity

The anticancer potential of these ethanolic extracts was assessed using the MTT assay, which relies on the reduction of MTT to formazan crystals by mitochondrial dehydrogenases in living cells, with the activity being dose-dependent (Diab et al., 2021). The cytotoxicity of the extracts was first evaluated against HEK-293 cells, an in vitro model, using various concentrations (1–1000 μ g/mL). The results showed that increasing concentrations of the plant extracts reduced the viability of HEK-293 cells in a dose-dependent manner, with cytotoxicity expressed as IC_{50} values (Table 5). Specifically, the cell viability for TR

decreased from 100% to 75.33%, for the TSL from 100% to 67.67%, and for the TF from 100% to 59.00% over the concentration range. The lower the IC_{50} value, the more potent the extract is at inhibiting cell growth and inducing cytotoxicity. Among the extracts, TF exhibited the highest cytotoxic activity against HEK-293 cells, with the lowest IC_{50} value of 1049.76 μ g/mL (Table 5), followed by TSL (1384.49 μ g/mL) and TR (1641.08 μ g/mL). In addition to HEK-293 cells, the cytotoxicity of the extracts was also assessed against Caco-2 colon cancer cell lines. Some parts of tumbleweed demonstrated potential anticancer activity against colon adenocarcinoma compared to the other parts, as indicated by their low IC_{50} values in the MTT assay. However, the various tumbleweed parts did not exhibit significant toxicity against Caco-2 cells, with IC_{50} values ranging from 820.62 to 889.98 μ g/mL. The cell viability of Caco-2 cells decreased from 100% to 50.00% with TR, from 100% to 47.67% with TSL, and from 100% to 52.67% with TF in the tested concentration range of 1–1000 μ g/mL. These findings suggest that while all parts of tumbleweed exhibit some degree of cytotoxic activity, the flowering part (TF) is the most potent against HEK-293 cells, while TSL shows the strongest effect on Caco-2 cells. This variability in cytotoxic response may be attributed to the different bioactive compounds present in the various plant parts.

These findings align with previous studies evaluating the cytotoxic and antiproliferative effects of tumbleweed extracts. In this regard, Kadan et al. (2018) also evaluated the toxicity of aerial parts of tumbleweed extracts and confirmed that both methanol and hexane extracts were safe for L6-GLUT4myc (rat skeletal muscle) cells at concentrations up to 250 μ g/mL, as determined by MTT and LDH leakage assays. Furthermore, Özaltun and Daştan (2019) observed a reduction in the viability of MCF-7 (breast cancer) cancer cells and HUVEC (human endothelial) cells, which was dependent on both the dosage and exposure time. Additionally, Saraç et al. (2019) found that the aqueous extract of tumbleweed seeds showed moderate antiproliferative activity in cell lines such as MCF-7 (human breast

adenocarcinoma), MKN-45 (human gastric cancer), and PC3 (human prostate cancer), and but weak cytotoxicity in HUVEC (human umbilical vein endothelial) and L929 (mouse fibroblast) cells.

Table 5. Cell viability percentages and half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of different concentrations of tumbleweed parts on HEK-293 and Caco-2 cells.

Name of cell line	Sample name	Control	1 (µg mL ⁻¹)	50 (µg mL ⁻¹)	100 (µg mL ⁻¹)
HEK-293 (%)	TR	100.00±0.00 ^{Aa}	100.00±0.00 ^{Aa}	90.00±2.65 ^{Ab}	83.33±0.58 ^{Ac}
	TSL	100.00±0.00 ^{Aa}	100.00±0.00 ^{Aa}	91.67±1.53 ^{Ab}	81.00±1.00 ^{Bc}
	TF	100.00±0.00 ^{Aa}	100.00±0.00 ^{Aa}	86.00±1.00 ^{Bb}	74.67±1.53 ^{Cc}
Caco-2 (%)	TR	100.00±0.00 ^{Aa}	100.00±0.00 ^{Aa}	91.00±1.00 ^{Ab}	79.00±1.00 ^{Ac}
	TSL	100.00±0.00 ^{Aa}	100.00±0.00 ^{Aa}	92.33±1.53 ^{Ab}	80.67±1.53 ^{Ac}
	TF	100.00±0.00 ^{Aa}	100.00±0.00 ^{Aa}	91.67±1.53 ^{Ab}	74.00±1.00 ^{Bc}

Name of cell line	Sample name	250 (µg mL ⁻¹)	500 (µg mL ⁻¹)	1000 (µg mL ⁻¹)	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
HEK-293 (%)	TR	79.33±1.53 ^{Ad}	75.33±0.58 ^{Ac}	71.33±1.15 ^{Af}	1641.08
	TSL	74.67±0.58 ^{Bd}	71.00±1.00 ^{Be}	67.67±0.58 ^{Bf}	1384.49
	TF	68.67±1.53 ^{Cd}	63.67±0.58 ^{Ce}	59.00±1.15 ^{Cf}	1049.76
Caco-2 (%)	TR	70.67±2.08 ^{Ad}	56.33±2.08 ^{Be}	50.00±1.00 ^{Bf}	837.65
	TSL	67.67±2.08 ^{ABd}	59.67±2.08 ^{ABe}	47.67±1.53 ^{Bf}	820.62
	TF	65.00±1.00 ^{Bd}	61.00±1.00 ^{Ac}	52.67±1.15 ^{Af}	889.98

TR: The roots of tumbleweed; TSL: The stems & leaves of tumbleweed; TF: The flowers of tumbleweed

Differences in cell viability findings among the extract concentrations of various tumbleweed parts are indicated by distinct capital letters within the same column, with significance set at $P < 0.05$. Variations within the same row for different tumbleweed parts are marked by different lowercase letters ($P < 0.05$).

CONCLUSION

This study evaluated the physicochemical properties, bioactive compounds, cytotoxicity, and antidiabetic potential of the roots (TR), stems & leaves (TSL), and flowers (TF) of the tumbleweed plant. The findings indicate the promising potential of TF in regulating blood glucose levels, particularly through α -glucosidase inhibition. Cytotoxicity assays revealed that the inhibition of Caco-2 and HEK-293 cells was concentration-dependent, with higher extract concentrations from different plant parts (TR, TSL, and TF) exhibiting stronger cytotoxic effects. A positive correlation was also observed between the total phenolic content of various tumbleweed parts and their total monomeric anthocyanin content, ABTS, CUPRAC, and FRAP activities. This indicates that phenolic compounds in the roots, stems, leaves, and flowers play a significant role in the plant's antioxidant potential. Given their robust antioxidant properties, these parts hold substantial promise as natural antioxidants for potential application in the food and nutrition industries. Tumbleweed's ability to neutralize free

radicals and prevent oxidative stress positions it as a viable natural alternative to synthetic antioxidants, responding to the increasing demand for plant-based, safer ingredients in food preservation and health-promoting products. Further investigation into its bioactive properties could pave the way for the commercial use of tumbleweed in functional foods and nutraceuticals.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors state that they have no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Gozde KUTLU: Investigation, writing – original draft, review&editing, visualisation; Kubra Feyza EROL: Methodology, validation, investigation.

REFERENCES

Ağçam, E., Akyıldız, A. (2015). Siyah havuç posasından antosiyaninlerin ekstraksiyonuna farklı çözügen ve asit konsantrasyonlarının etkileri. *GIDA*, 40(3), 149-156.

- Alam, M. K., Rana, Z. H., Islam, S. N., Akhtaruzzaman, M. (2020). Comparative assessment of nutritional composition, polyphenol profile, antidiabetic and antioxidative properties of selected edible wild plant species of Bangladesh. *Food chemistry*, 320, 126646.
- Anonymous Turkish Food Codex Regulation on Food Labelling and Informing Consumers, Issue: 29960 (2017).
- Asghari, J., Bagheri, T., Shakeri, A. (2015). Investigation of caffeic and chlorogenic acid, essential oil and fatty acid of *Gundelia tournefortii* L. *fur Arznei- Gewürzpflanzen*, 20, 122–126.
- Coruh, N., Celep, A. S., Özgökçe, F., İşcan, M. (2007). Antioxidant capacities of *Gundelia tournefortii* L. extracts and inhibition on glutathione-S-transferase activity. *Food Chemistry*, 100(3), 1249-1253.
- Dalar, A., Zengin, G., Mukemre, M., Bengu, A. S., İşler, S. (2019). *Gundelia rosea* seed: Evaluation of biopharmaceutical potential and bioactive composition. *South African Journal of Botany*, 125, 505-510.
- Demirkan, E. N., Akyürek, Ş. N., Bayraktar, D., Kutlu, G., Törnük, F. (2024). Potential use of hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell powder in muffin production by partial substitution of wheat flour: Color, bioactive, textural, and sensory properties. *European Food Science and Engineering*, 5(1), 1-7.
- Diab, T. A., Donia, T., Saad-Allah, K. M. (2021). Characterization, antioxidant, and cytotoxic effects of some Egyptian wild plant extracts. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 10, 1-13.
- Ereifej, K. I., Feng, H., Rababah, T., Almajwal, A., Alu'datt, M., Gammoh, S. I., Oweis, L. I. (2015). Chemical composition, phenolics, anthocyanins concentration and antioxidant activity of ten wild edible plants. *Food and Nutrition Sciences*, 6(7), 581-590.
- Erol, K. F., Kutlu, G. (2024). Assessment of antimicrobial, anti-diabetic, anti-Alzheimer and anti-cancer properties, along with bioaccessibility and bioactive potential of *Polygonum cognatum* Meissn extracts from various cities in Türkiye. *Food Bioscience*, 105669.
- Erol, K. F., Kutlu, G., Tornuk, F., Guzel, M., Donmez, I. E. (2023). Determination of antioxidant, anticancer, antidiabetic and antimicrobial activities of Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) bark ultrasound-assisted extract as a functional food additive. *Acta Alimentaria*, 52(1), 102-112.
- Erol, K.F., Kutlu, G., Oktem-Olgun, E., Tornuk, F. (2024). A sustainable innovation: Functionalization of pasta with methanol extract of Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) barks. *Waste & Biomass Valorization*, 1-12.
- Haghi, G., Hatami, A., Arshi, R. (2011). Distribution of caffeic acid derivatives in *Gundelia tournefortii* L. *Food chemistry*, 124(3), 1029-1035.
- Heywood, V. H. (2011). Ethnopharmacology, food production, nutrition and biodiversity conservation: towards a sustainable future for indigenous peoples. *Journal of ethnopharmacology*, 137(1), 1-15.
- Kadan, S., Sasson, Y., Saad, B., Zaid, H. (2018). *Gundelia tournefortii* antidiabetic efficacy: Chemical composition and GLUT4 translocation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018(1), 8294320.
- Karakas, F. P., Turker, A. U., Karakas, A., Mshvildadze, V., Pichette, A., Legault, J. (2017). In vitro cytotoxic, antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant activities and phenolic content in wild-grown flowers of common daisy—A medicinal plant. *Journal of herbal medicine*, 8, 31-39.
- Kayacan, S., Karasu, S., Akman, P. K., Goktas, H., Doymaz, I., Sagdic, O. (2020). Effect of different drying methods on total bioactive compounds, phenolic profile, in vitro bioaccessibility of phenolic and HMF formation of persimmon. *Lwt*, 118, 108830.
- Keskin, M., Kaya, G., Keskin, Ş. (2021). *Gundelia Tournefortii* L.(Kenger): Determination of in vitro Antidiabetic Activities. *Progress in Nutrition*, 23(4).

- Kutlu, G. (2015). Determination of physicochemical, compositional, conformational and rheological properties of gum produced from sage seed (*Salvia sclarea*) at optimum conditions, MsC thesis, Yildiz Technical University, İstanbul, Türkiye (In Turkish).
- Kutlu, G. (2024). Valorization of various nut residues grown in Türkiye: Antioxidant, anticholinesterase, antidiabetic, and cytotoxic activities. *Food Science & Nutrition*.
- Kutlu, G., Yılmaz, S., Karabulut, A. E. (2024a) Development of a new vegan muffin formulation: Assessing its quality and sensory characteristics. *European Food Science and Engineering*, 5(1), 26-34.
- Kutlu, G., Özsüer, E., Madenlioğlu, M., Eroğlu, G., Akbaş, İ. (2024b). Teff: Its applicability in various food uses and potential as a key component in gluten-free food formulations—An overview of existing literature research, *European Food Science and Engineering*, 5 (2), 30-54.
- Matthäus, B., Özcan, M. M. (2011). Chemical evaluation of flower bud and oils of tumbleweed (*Gundelia tournefortii* L.) as a new potential nutrition sources. *Journal of food biochemistry*, 35(4), 1257-1266.
- Mechchate, H., Es-Safi, I., Louba, A., Alqahtani, A. S., Nasr, F. A., Noman, O. M., Farooq, M., Alharbi, A. S., Alqahtani, A., Bari, A., Bakkari, H., Boustia, D. (2021). In vitro alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory activity and in vivo antidiabetic activity of *Withania frutescens* L. Foliar extract. *Molecules*, 26(2), 293.
- Mehrzhadeh, M., Ziaeezadeh, F., Pasdaran, A., Kozuharova, E., Goyal, R., Hamed, A. (2024). A Review of the Ethnobotany, Biological Activity, and Phytochemistry of the Plants in the *Gundelia* Genus. *Chemistry & Biodiversity*, 21(3), e202301932.
- Özaltun, B., Daştan, T. (2019). Evaluation of antimicrobial activities and in vitro cytotoxic activities of *Gundelia tournefortii* L. plant extracts. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 26(4), 436-442.
- Rana, Z. H., Alam, M. K., Akhtaruzzaman, M. (2019). Nutritional composition, total phenolic content, antioxidant and α -amylase inhibitory activities of different fractions of selected wild edible plants. *Antioxidants*, 8(7), 203.
- Saraç, H., Demirbaş, A., Daştan, S. D., Ataş, M., Çevik, Ö., Eruygur, N. (2019). Evaluation of nutrients and biological activities of Kenger (*Gundellia tournefortii* L.) seeds cultivated in Sivas province. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(sp2), 52-58.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 8(1).
- Tarhan, A., Firat, M., Topal, G. (2023). Comprehensive study of all *Gundelia* L. taxa exists in the globe: An insight on LC-MS/MS based phytochemical investigation and bioactivity potential of 22 species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 109, 104672.
- Yasar, B., Kutlu, G., Tornuk, F. (2022). Edible flowers as sources of bioactive compounds: Determination of phenolic extraction conditions. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 30, 100618.

EXTRACTION CONDITIONS FOR DIFFERENT PARTS OF MELOCAN (*SMILAX EXCELSA* L.) USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE

Esra BOSTANCI SELBEŞ^{1*}, Özlem ŞAHİN^{2,3}, Halil VURAL²

¹Department of Food Engineering, Zonguldak Bulent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye

²Department of Food Engineering, Hacettepe University, Ankara, Türkiye

³Food Engineering Department, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Türkiye

Received/Geliş: 02.07.2024; Accepted/Kabul: 30.12.2024; Published online/Online baskı: 17.01.2025

Bostancı Selbeş, E., Şahin, Ö., Vural, H. (2025). Extraction conditions for different parts of melocan (*Smilax excelsa* L.) using supercritical carbon dioxide. *GIDA* (2025) 50 (1) 42-55 doi: 10.15237/ gida.GD24065

Bostancı Selbeş, E., Şahin, Ö., Vural, H. (2025). Melocan'ın (*Smilax excelsa* L.) farklı kısımları için süperkritik karbon dioksit ekstraksiyon koşulları. *GIDA* (2025) 50 (1) 42-55 doi: 10.15237/ gida.GD24065

ABSTRACT

Melocan, which is very important in both traditional Turkish cuisine and traditional medicine, especially in the Black Sea region of Türkiye, is a climbing, thorny and perennial plant that grows naturally in the bushy woodlands. In the study, different melocan parts (sprout, fruit and leaf) have been extracted under two different pressure levels (250 and 350 bar), temperatures (30 and 50 °C), durations (60 and 90 minutes), and two different levels of ethanol concentration (10% and 20%) through supercritical carbon dioxide (Sc-CO₂) extraction method, which is an environmentally-friendly method. It has been observed that the melocan leaf which has been extracted through Sc-CO₂ at 350 bar pressure and 50 °C which has been modified with 20% ethanol for 90 mins has the richest total phenolic substance content (TPC) as 2265.1 mg gallic acid equivalent (GAE)/kg dry weight and total antioxidant capacity (TAC) as 2876.7 mg trolox equivalent (TE)/kg dry weight.

Keywords: Supercritical carbon dioxide, co-solvent, phenolic substances, antioxidant capacity, *Smilax excelsa*

MELOCAN'IN (*SMILAX EXCELSA* L.) FARKLI KISIMLARI İÇİN SÜPERKRİTİK KARBON DİOKSİT EKSTRAKSİYON KOŞULLARI

ÖZ

Özellikle Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde hem geleneksel mutfak kültüründe hem de geleneksel tıpta oldukça önemli yere sahip olan melocan, ormanlık arazilerin çalılık bölgelerinde kendiliğinden yetişen tırmanıcı, dikenli ve çok yıllık bir bitkidir. Bu çalışmada çevre dostu bir yöntem olan süperkritik karbon dioksit (Sc-CO₂) ekstraksiyon yöntemi ile melocan bitkisinin farklı kısımları (filiz, meyve ve yaprak); iki farklı basınç (250 ve 350 bar), sıcaklık (30 ve 50 °C), süre (60 ve 90 dakika (dk)) ve iki farklı etanol konsantrasyonunda (%10 ve %20) ekstrakte edilmiştir. 350 bar basınç ve 50 °C'de, %20 etanol ile 90 dk Sc-CO₂ ekstraksiyonuna tabii tutulan melocan yaprağının; 2265.1 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg kuru ağırlık olarak toplam fenolik madde (TFM) ve 2876.7 mg troloks eşdeğeri

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: esra.bostanci@beun.edu.tr

☎: (+90) 372 291 1541

☎: (+90) 372 257 4023

Esra Bostancı Selbeş; ORCID no: 0000-0003-1756-8949

Özlem Şahin; ORCID no: 0000-0002-4792-1689

Halil Vural; ORCID no: 0000-0001-6758-2912

(TE)/kg kuru ağırlık olarak toplam antioksidan kapasite (TAK) açısından en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Süperkritik karbon dioksit, yardımcı çözücü, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite, *Smilax excelsa*

INTRODUCTION

Dietary habits have an important effect on human health. Some dietary ingredients and habits are beneficial for our health, whereas others are known to have potentially toxic effects and cause health problems (Estévez et al., 2017). Free radicals, derived from oxygen, sulfur, and nitrogen, are highly unstable and active molecules that contain one or more unpaired electrons and go into chemical reactions with other molecules (Lü et al., 2010; Carocho and Ferreira, 2013). Free radicals, derived from normal essential metabolic processes in the human body or external sources such as exposure to X-rays, ozone, cigarette smoking, air pollutants, and industrial chemicals cause oxidative damage in living systems (Bagchi and Puri, 1998). In the human body, oxygen radicals, which can damage DNA, RNA, proteins, and lipids, cause several diseases, including cancer, diabetes, cardiovascular diseases, and ageing (Ozsoy et al., 2008; Lü et al., 2010). Oxidative damage caused by these reactive oxygen species is called oxidative stress (Sies, 1986). Oxidative stress can also lead to the development of neurodegenerative disorders, such as Alzheimer's and Parkinson's diseases (Foy et al., 1999).

Antioxidants are vital substances that possess the ability to repair the oxidative damage caused by free radicals in the human body (Silva et al., 2005). Antioxidants are divided into natural and synthetic ones based on their occurrence (Aziz et al., 2019). In the past, synthetic antioxidants were generally used to repair oxidative damage. Recent studies show synthetic antioxidants have lower antioxidant activity, may show toxicity, have carcinogenic effects, and require higher costs than natural antioxidants. Therefore, there is a growing trend towards natural antioxidants that can be taken in through food (Uzombah, 2022). Natural antioxidants, most of which are phenolic compounds, are found in many foods and medicinal plants (Ho, 1992; Xu et al., 2017). Phenolic compounds, which include phenolic

acids, flavonoids, tannins, stilbenes, curcuminoids, coumarins, lignans, quinones, and so on, are secondary metabolites isolated from plants (Huang et al., 2010). Phenolic compounds offer protection against the development of cancer, cardiovascular diseases, diabetes, osteoporosis and degenerative diseases (Albuquerque et al., 2021).

Smilax, commonly called sarsaparilla, is the genus of the Smilacaceae family. The genus *Smilax* species, characterized as climbers with long, thin, thorny stems, grow in temperate, tropical, and subtropical zones worldwide. Traditionally, plants from the *Smilax* genus are used for the treatment of some diseases such as syphilis, acute bacilli dysentery, acute and chronic nephritis, eczema, dermatitis, cystitis, mercury-silver poisoning, breast cancer, stomach pain, and swelling (Yeşilada et al., 1999; Ivanova et al., 2010). *Smilax excelsa* L. is one of the two species growing in Turkey also known as *Anatolian sarsaparilla*, *melocan*, *diken otu*, *melvotan*, *kırcan*, *citirgi*, *melevcen*, *siraca*, *silcan*, and *mamula* (Yıldız et al., 2018). The leaves of the melocan plant are cordate, and its fruits have a spherical shape (Tanker et al., 1993). The shoots of melocan start to give young shoots in spring, which can be consumed as a vegetable. Known as a medicinal and economic plant, melocan is also used for treating stomach pain, breast cancer, and bloating in folk medicine (Yeşilada et al., 1999; Özbucak et al., 2007). The different parts of melocan are shown in Figure 1. Researchers found that the leaves and shoots of melocan possess flavonoids and anthocyanins, which are the main chemical constituents responsible for antioxidant activity (Ozsoy et al., 2008).

For phenolic compounds to be used both in industrial applications and in scientific research, they must first be extracted from the food. There is no standard and unique method for extracting phenolic compounds (Ignat et al., 2011). One of the traditional extraction methods, Soxhlet

extraction has major disadvantages such as the need for large amounts of raw materials, long processing time required, application at high temperatures, and waste problems (Castro and Priego-Capote, 2010). Therefore, new techniques that minimize the use of organic solvents, shorten

the extraction time, and are environmentally friendly have emerged. Alternative extraction techniques developed for this purpose are ultrasound-assisted, microwave-assisted, and supercritical fluid extraction (Jahromi, 2019).



Melocan shoot (MS)



Melocan leaf (ML)



Melocan fruit (MF)

Figure 1. The different parts of the Melocan

Supercritical fluids have solvating powers like liquid organic solvents but with higher diffusivity, lower viscosity, and lower surface tension. The most widely used supercritical fluid is supercritical carbon dioxide (CO₂) due to its harmless effect on the environment, low toxicity, non-flammability, and compatibility with processed foodstuffs (Ignat et al., 2011). CO₂ is not a suitable solvent for polar compounds due to its non-polar feature. It can be modified with polar organic co-solvents such as ethanol to increase its solubility in polar compounds (Sajadian et al., 2023).

Factors affecting the successful performance of the supercritical carbon dioxide extraction process are sample type, sample preparation method, type of fluid, choice of co-solvent, method of introducing fluid into the system, pressure, temperature, flow rate, and time (Arumugham et al., 2021). Supercritical CO₂ extraction method has many advantages compared with traditional extraction methods (Li

et al., 2021). The advantages of this method are being environmentally friendly, safe (GRAS), inexpensive, and easy to remove, as well as working in mild conditions, and having manageable solvent power and fast diffusion rate (Wang et al., 2021). Temperatures used in various studies to extract phenolic compounds from plant sources using the Sc-CO₂ extraction method varied between 40-60 °C, and pressures varied between 200-500 bar. The most important advantage of this method is that low extraction temperatures can be used to preserve the structure of phenolic compounds (Da Silva et al., 2016). In many studies where phenolic compounds from plant sources were obtained by the Sc-CO₂ extraction method, 250 bar and 350 bar pressure parameters were used (Bimakr et al., 2011; Bitencourt et al., 2014; Monroy et al., 2016a; Monroy et al., 2016b).

In this study, it was aimed to extract melocan leaf (ML), shoots (MS) and fruits (MF) by supercritical

carbon dioxide extraction and to determine the total phenolic content, total antioxidant capacity. For this purpose, extractions were performed in three different plant parts (leaf, shoot and fruit), two different pressures (250 bar and 350 bar), two different ethanol concentrations (10% and 20%), two different temperatures (30 °C and 50 °C) and two different times (60 min and 90 min).

MATERIALS AND METHODS

Sample Preparation and Extraction

The melocan fruit was obtained in October 2018. The shoots and leaves were obtained from Tokat-Niksar and Ordu-Ünye in May 2018. The leaves (until the dry matter content was $93.1 \pm 0.19\%$), fruits (until the dry matter content was $94.5 \pm 0.07\%$), and shoots (until the dry matter content was $93.8 \pm 0.01\%$) were dried at room temperature. Dried samples (ash content of dried leaves, fruits, and shoots are $6.68 \pm 0.04\%$, $4.36 \pm 0.03\%$, and $7.85 \pm 0.04\%$) were packaged and stored until experimentation (Şahin, 2019). The samples were ground and passed through a 2 mm sieve before being used in the extraction, and the part under the sieve was kept in the refrigerator at +4 °C to be used in the extraction. Melocan parts were extracted using Sc-CO₂ extractor (SFE-100-2-FMC10, Thar Instruments, PA, USA) at two different pressures (250 bar and 350 bar), two different ethanol concentrations (10% and 20%), two different temperatures (30 °C and 50 °C) and two different times (60 min and 90 min). Extracts were stored at -18 °C.

Experimental Design

The Sc-CO₂ was performed according to general full factorial design to determine the desirable condition for ML, MS, and MF. Full factorial design consists of all possible combinations of the selected factors and levels (Jankovic et al., 2021). In the present study, a general full factorial design was employed to evaluate the most critical parameters affecting the TPC and TAC values of ML, MS, and MF extracts. Five factors were investigated, including plant parts (Part), pressure (P), temperature (T), extraction time (ti), and

ethanol concentration (EtOH) at different levels (Table 1). These conditions were chosen by taking into account the Sc-CO₂ extraction conditions applied to other plants in the literature because there is no study in the literature in which melocan parts were subjected to the Sc-CO₂ extraction method (Hamburger et al., 2004; Bimakr et al., 2011; Da Porto et al., 2014; Da Silva et al., 2016; ; Monroy et al., 2016a; Monroy et al., 2016b). Since we consider five parameters, the total run with full factorial design is 3×2^4 (48 runs), which is the number of experiments (Table 2). The TPC and TAC values of extracts were determined using two parallels. The dependence of each experimental response (TPC and TAC) on these factors was modeled by applying the equation given in Equation 1 (Box et al., 1978).

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n (\beta_i x_i) + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n (\beta_{ij} x_i x_j) + \varepsilon$$

Equation 1.

In this equation, β_0 is the constant term, β_i and β_{ij} are the regression coefficients, ε is the error, x_i and x_j are the independent variables, and n is the independent variable number.

Total Phenolic Content (TPC) of Extracts

The amount of TPC of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method with some modifications (Shahidi and Naczsk, 2003). 0.5 mL of extract solution (5-fold diluted with ethanol-Sigma, USA) was mixed with 2.5 mL of 0.2 N Folin–Ciocalteu’s phenol reagent (Sigma, USA). After 5 min in a dark place, 2 mL of 7.5% sodium carbonate (Sigma, USA) was added to the mixture and kept in the dark for 1 hour before the absorbance was measured spectrophotometrically (G10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific) at 760 nm. Results were calculated as mg GAE/kg dry weight using a calibration curve ($y=0.0096x-0.052$, $R^2=0.9957$) generated with the gallic acid standard (Sigma, USA).

Table 1. Variables for the experimental procedure

Factors	Levels	Values		
Part	3	ML	MS	MF
P (bar)	2	250		350
T (°C)	2	30		50
ti (min)	2	60		90
EtOH (%)	2	10		20

Total Antioxidant Capacity (TAC) of Extracts

The TAC values of the extracts were measured by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) method (Akdeniz et al., 2018). 0.1 mL of extract solution (20-fold diluted with methanol-Sigma, USA) was mixed with 3.9 mL 25 ppm DPPH (Sigma, USA) solution. After 1 hour in a dark place, absorbance was measured spectrophotometrically (G10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific) at 517 nm. Results were calculated as mg TE/g dry weight using a calibration curve ($y=0.0019x+0.0116$, $R^2=0.9903$) generated with the trolox standard (Sigma, USA).

Statistical Analysis

The results were given as mean $\pm$ standard error. The experimental design (DOE) for data analysis and full factorial runs was obtained with the Minitab 21 statistical program. The analysis of variance (ANOVA) was obtained, and confidence levels of 95% ($P<0.05$) were considered statistically significant effects of the factors and their interaction. Response Optimizer (Minitab 21) was used to determine which melocan part and experiment gave the maximum TPC and TAC values.

RESULTS AND DISCUSSION

The Effects of the Main Factors and their Interactions on TPC Values

The general full factorial design experiments with the determined factors and their respective responses are presented in Table 2. In the experiments obtained, the amounts of TPC varied from 229.37 mg GAE/kg dry weight to 2265.06 mg GAE/kg dry weight. The best conditions obtained for Sc-CO₂ extraction of phenolics from melocan was ML, 350 bar, 50 °C, 90 min, and with a 20% modifier of ethanol, and the TPC value of the extracts obtained under these conditions was measured as 2265.06 mg GAE/kg dry weight. The worst conditions for phenolics extraction

were MS, 250 bar, 30 °C, 60 min, and with a 10% modifier of ethanol, and the TPC value of the extracts obtained under these conditions was measured as 229.37 mg GAE/kg dry weight. Although TPC and TAC values have not been analyzed in melocan parts extracts obtained with this method before, these values have been analyzed in melocan parts extracts obtained with other methods. Ozsoy et al. (2008) reported that TPC value of melocan leaf ethanolic extract was 30100 mg GAE/kg on dry weight basis. Al Yassine et al. (2023) reported that the TPC value on dry weight basis, in the melocan stem and leaf was 11580 and 2938.9 mg GAE/kg for the water and 70 % ethanolic extracts, respectively. Dehghan et al. (2016) reported that the highest TPC value on dry weight mass of the methanolic extracts of melocan leaf was 239000 mg GAE/kg, while that value was 226700 mg GAE/kg on the methanolic extract melocan stem. In the same study, the highest TPC value was found to be 19300 mg GAE/kg on dry weight mass of the melocan leaf hexane extract, and 7100 mg GAE/kg on the melocan stem hexane extract. According to Sarıaltın et al. (2023), the maximum TPC value was observed in the methanolic extract of melocan as 402.94 mg GAE/g of crude extract. Topdas et al. (2021) suggested that the TPC value of fresh and dried melocan shoots' water extracts varied from 18390 mg GAE/kg dry weight to 34860 mg GAE/kg dry weight. Studies have shown that the TPC values in melocan extracts are generally higher than the ones found in this study. According to Şahin (2019), TPC values of melocan leaves, fruits and shoots were found to be 55980, 55250, and 37130 mg GAE/kg dry weight, respectively, with traditional extraction method, 57300, 57120, and 38120 mg GAE/g dry weight with ultrasonic-assisted extraction method, and 67270, 66230, and 50350 mg GAE/kg dry weight with microwave-assisted

extraction method. Studies have shown that the TPC values in melocan extracts are generally higher than the ones found in this study.

Table 2. Experimental design for extraction and TPC, TAC results

Exp.	Part	P	T	ti	EtOH	TPC (mg GAE/kg dry weight)	TAC (mg TE/kg dry weight)
1	ML	350	30	90	20	1012.86±51.56	2139.94±90.61
2	MF	350	30	90	20	671.48±26.50	1824.19±46.63
3	MF	250	30	90	20	618.39±22.08	1761.07±44.63
4	MS	350	30	90	10	333.23±33.34	521.00±44.93
5	MS	350	30	60	20	435.07±4.45	822.09±59.93
6	ML	350	50	60	10	980.31±12.65	604.06±90.24
7	MF	350	50	90	10	726.28±14.34	1258.15±22.30
8	MF	250	30	60	20	425.57±13.18	1084.01±29.60
9	MS	250	30	90	10	380.39±17.78	727.49±22.46
10	ML	350	30	60	10	625.59±44.12	810.13±15.11
11	MF	250	30	60	10	317.80±16.21	808.66±89.34
12	MS	250	50	90	20	490.14±17.89	2550.0±45.19
13	ML	250	50	60	20	1482.97±14.94	828.27±60.38
14	ML	350	30	90	10	648.45±1.11	761.18±22.52
15	MF	250	50	90	10	872.94±5.52	1037.42±22.30
16	ML	350	50	90	10	746.94±42.34	777.10±45.04
17	MF	350	30	90	10	492.25±9.93	1100.49±22.30
18	MS	350	50	90	20	670.20±8.90	1329.07±44.97
19	MF	250	50	90	20	1102.48±48.59	2076.67±44.63
20	MF	350	50	90	20	1378.88±28.71	2076.67±44.63
21	MS	350	50	60	20	528.91±8.94	847.50±30.11
22	MS	250	30	90	20	522.31±8.90	1901.40±44.97
23	ML	250	30	60	20	1068.92±2.99	977.71±30.19
24	MF	250	50	60	20	1274.73±13.24	1573.12±59.48
25	ML	250	50	90	20	883.60±11.10	1674.78±89.72
26	ML	350	50	60	20	985.18±41.41	629.88±89.68
27	ML	250	30	60	10	277.61±18.86	217.35±59.57
28	MS	250	50	60	10	256.66±0.74	910.16±15.00
29	ML	250	30	90	20	939.94±15.69	1178.89±90.61
30	MS	350	50	60	10	463.99±28.21	485.84±105.01
31	ML	250	30	90	10	534.49±34.71	364.88±45.26
32	MF	250	30	90	10	454.02±11.03	1068.96±66.89
33	ML	350	50	90	20	2265.06±2.24	2876.74±45.30
34	MF	350	30	60	10	541.30±8.10	966.60±14.89
35	MF	350	50	60	20	1079.10±22.07	1657.24±59.48
36	MS	350	50	90	10	483.35±32.23	600.42±67.39
37	ML	350	30	60	20	618.00±11.89	760.45±90.12
38	MS	350	30	90	20	657.74±4.47	1016.17±45.19
39	MS	250	30	60	20	238.89±4.43	1724.60±29.82
40	MF	250	50	60	10	385.01±0.74	882.36±14.89
41	MS	250	30	60	10	229.37±9.65	782.87±15.00
42	ML	250	50	90	10	722.15±44.79	508.91±22.63
43	MS	250	50	60	20	445.55±28.17	1817.93±29.96
44	ML	250	50	60	10	701.53±42.36	1189.34±41.43
45	MS	250	50	90	10	367.81±13.34	1235.77±22.46

46	MF	350	50	60	10	420.96±4.42	745.48±29.78
47	MS	350	30	60	10	281.86±28.95	464.63±15.00
48	MF	350	30	60	20	671.19±45.62	1383.84±89.23

The statistical significance of all five factors and their possible two-, three-, four-, and five-way interactions for the TPC values were evaluated for their F- and p-values. If a factor had a higher F-value, its statistical significance was greater. The coefficient of determination (R^2) and adjusted R^2 were also supplied to check the adequacy and fitness of the model (Maran et al., 2015). R^2 refers that the percentage of variation in the response that is explained by the model rather than random error. Adjusted R^2 is adjusted for the number of predictors in the model relative to the number of observations. R^2 should be >80% in a well fitted model, and adjusted R^2 should not be less than 90% to evaluate the model adequacy (Koocheki et al., 2009; Mitić et al., 2019). There is no study in the literature in which melocan parts were subjected to the Sc-CO₂ extraction method. Therefore, the extraction conditions of other plants will be considered when comparing our results. The factorial design's ANOVA results are presented in Table 3. As can be seen in Table 3, the results indicated that the effects of "Part", "P", "T", "ti" and "EtOH" on TPC values of extracts are statistically significant ($P<0.05$). The most important factor was EtOH, followed by the

Part, T, ti, and P. In our study, according to the ANOVA results, the regression model was suitable for explaining the behavior due to the R^2 value of 99.75% and adjusted R^2 value of 99.55% in reduced model, as seen in Table 4. The closer the R^2 value is to 1, the more significant the good model is and the less significant the lack-of-fit is (Noordin et al., 2004). The lack of fit ($P=0.058$) suggested that it is an adequate model to accurately predict the TPC. This represents a better precision and reliability in the experiments that were conducted. Wang et al. (2011) also concluded that all the four parameters- pressure, temperature, time, and modifier - significantly affected the TPC of the *Ampelopsis grossedentata* stem extracts, which were obtained by the Sc-CO₂ extraction method. Rahmawati et al. (2015) also suggest that pressure and temperature significantly affected the TPC of the *Mimosa pudica* Linn extracts, obtained through the Sc-CO₂ extraction method. Many researchers have reported that extraction conditions such as temperature, pressure, time, and ethanol concentration have a significant effect on the TPC value of the extracts (Maran et al., 2015; Uwineza et al., 2021).

Table 3. Full Model ANOVA Results for TPC values

Source	DF	Seq SS	Contribution	Adj. SS	Adj. MS	F-Value	P-Value
Model	47	13830720	99.80%	13830720	294271	499.74	0.000
Linear	6	9210216	66.46%	9210216	1535036	2606.83	0.000
Part	2	3765845	27.17%	3765845	1882922	3197.62	0.000
P	1	309373	2.23%	309373	309373	525.38	0.000
T	1	1880485	13.57%	1880485	1880485	3193.48	0.000
ti	1	437215	3.15%	437215	437215	742.49	0.000
EtOH	1	2817299	20.33%	2817299	2817299	4784.40	0.000
2-Way Interactions	14	1503258	10.85%	1503258	107376	182.35	0.000
Part*P	2	34330	0.25%	34330	17165	29.15	0.000
Part*T	2	486976	3.51%	486976	243488	413.50	0.000
Part*ti	2	2766	0.02%	2766	1383	2.35	0.106
Part*EtOH	2	513292	3.70%	513292	256646	435.84	0.000
P*T	1	24209	0.17%	24209	24209	41.11	0.000
P*ti	1	116372	0.84%	116372	116372	197.63	0.000
P*EtOH	1	2310	0.02%	2310	2310	3.92	0.053
T*ti	1	1212	0.01%	1212	1212	2.06	0.158

T*EtOH	1	302600	2.18%	302600	302600	513.88	0.000
ti*EtOH	1	19191	0.14%	19191	19191	32.59	0.000
<i>3-Way Interactions</i>	16	1825096	13.17%	1825096	114068	193.71	0.000
Part*P*T	2	179290	1.29%	179290	89645	152.24	0.000
Part*P*ti	2	346066	2.50%	346066	173033	293.85	0.000
Part*P*EtOH	2	21556	0.16%	21556	10778	18.30	0.000
Part*T*ti	2	70044	0.51%	70044	35022	59.48	0.000
Part*T*EtOH	2	229220	1.65%	229220	114610	194.63	0.000
Part*ti*EtOH	2	132760	0.96%	132760	66380	112.73	0.000
P*T*ti	1	195837	1.41%	195837	195837	332.58	0.000
P*T*EtOH	1	58888	0.42%	58888	58888	100.01	0.000
P*ti*EtOH	1	590904	4.26%	590904	590904	1003.49	0.000
T*ti*EtOH	1	531	0.00%	531	531	0.90	0.347
<i>4-Way Interactions</i>	9	1197399	8.64%	1197399	133044	225.94	0.000
Part*P*T*ti	2	86150	0.62%	86150	43075	73.15	0.000
Part*P*T*EtOH	2	214762	1.55%	214762	107381	182.36	0.000
Part*P*ti*EtOH	2	512747	3.70%	512747	256374	435.38	0.000
Part*ti*EtOH	2	184470	1.33%	184470	92235	156.64	0.000
P*T*ti*EtOH	1	199269	1.44%	199269	199269	338.40	0.000
<i>5-Way Interactions</i>	2	94751	0.68%	94751	47376	80.45	0.000
Part*P*T*ti*EtOH	2	94751	0.68%	94751	47376	80.45	0.000
Error	48	28265	0.20%	28265	589		
Total	95	13858985	100.00%				
Model Summary	Std. Dev.	R ²		R ² (Adj.)		R ² (Pred.)	
	24.27	99.80%		99.60%		99.18%	

Table 4. Reduced Model ANOVA Results for TPC values

Source	DF	Seq SS	Contribution	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	42	13823901	99.75%	13823901	329141	497.23	0.000
Linear	6	9210216	66.46%	9210216	1535036	2318.95	0.000
2-Way Interactions	10	1496971	10.80%	1496971	149697	226.14	0.000
3-Way Interactions	15	1824564	13.17%	1824564	121638	183.76	0.000
4-Way Interactions	9	1197399	8.64%	1197399	133044	200.99	0.000
5-Way Interactions	2	94751	0.68%	94751	47376	71.57	0.000
Error	53	35084	0.25%	35084	662		
Lack-of-Fit	5	6819	0.05%	6819	1364	2.32	0.058
Pure Error	48	28265	0.20%	28265	589		
Total	95	13858985	100.00%				
Model Summary	Std. Dev.	R ²		R ² (Adj.)		R ² (Pred.)	
	25.7285	99.75%		99.55%		99.17%	

Except for Part*ti, P*EtOH, and T*ti, all two-way interactions of these factors significantly affected the TPC values ($P < 0.05$). While the most important interaction was T*EtOH, the least important one was Part*P. Except for T*ti*EtOH, all three-way interactions of these factors had a significant effect ($P < 0.05$).

According to the F-value, the most important difference was the P*ti*EtOH interaction between all three-way interactions. The least significant difference was in the Part*P*EtOH (18.30) three-way interaction. All four-way interactions had a statistically significant effect on TPC values ($P < 0.05$). Part*P*T*ti*EtOH

interaction of all factors had a statistically significant effect on TPC values ($P < 0.05$). If we consider all factors and their interactions that have statistical significance, EtOH is the one with the most significant level of difference due to its high f-value.

The Effects of the Main Factors and their Interactions on TAC Values

As seen in Table 2, the amounts of TAC obtained in the experiments varied from 217.4 mg TE/kg dry weight to 2876.7 mg TE/kg dry weight. While the experiment factors with the highest TAC value were ML, 350 bar, 50 °C, 90 min, and with a 20% modifier of ethanol; the lowest TAC value was seen in the extract obtained under conditions ML, 250 bar, 30°C, 60 min, and a 10% modifier of ethanol. According to Al Yassine et al. (2023), the TAC value of melocan (mix of leaf and stem) was higher in the water extract (1928 mg TE/kg) than in the 70 % ethanol extract (1547 mg TE/kg) on dry weight basis. In contrast to our study, TAC value of ethanolic extract was lower than the water extract in the same study. In our study, higher TAC values were observed in leaf samples in the best conditions. Our findings indicated that the antioxidant activity of melocan was related to the phenolic compounds significantly.

The factorial design's ANOVA results are in Table 5. It is necessary for R^2 and adjusted R^2 to be more than 80% and 90%, respectively, for the adequacy of the model (Koocheki et al., 2009; Mitić et al., 2019). The closer the R^2 value is to 1, the more significant the good model is and the less significant the lack-of-fit is (Noordin et al., 2004). When all interactions were included in the model, the total variation in the experimental design was completely explained by the model, so there was no Lack of fit value. In our study, R^2 and adjusted R^2 values were found as 99.58% and 99.17% for TAC values of the extracts. This shows that the prediction capacity of the model proposed is high. ANOVA results indicate that the effects of "Part," "P," "T," "ti," and "EtOH" on TAC values of the extracts are statistically significant ($P < 0.05$). The most important difference among these factors is "EtOH" due to its high f-value of 4504.88. F-values of "Part", "P", "T", and "ti" factors are 287.06, 84.64,

360.80, and 1217.17, respectively. Among these factors, "ti" is the one that has the most important effect on the TAC values of the extracts after "EtOH." This is followed by "T," "Part," and "P." Previous studies in which other plants were extracted by the Sc-CO₂ extraction method will be examined, and extraction parameters' effects on antioxidant capacity will be compared with our study. Uwineza et al. (2021) also found the effect of the "T" factor on *Lamium album* extracts TAC value obtained through Sc-CO₂. Ghafoor et al. (2012) suggested that the effects of "T" and "P" factors on antioxidant compounds from grape seeds are statistically significant. Mandana et al. (2011) concluded that all three independent variables (pressure, temperature, and ethanol flow rate) had a significant effect on the antioxidant activity of spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves extracts.

The effect of all two-way interactions of the independent variables on the TAC values of extracts was found to be statistically significant ($P < 0.05$). Part*P is the most important effect on TAC values between other two-way interactions, and this is due to the high f-value of 764.28. This is followed by the ti*EtOH two-way interaction, which has an f-value of 747.82. The interaction with the lowest f-value of 4.21 is Part*T. All three-way interactions of these factors significantly affected the TAC values of the extracts ($P < 0.05$). According to the F-value (233.34), the most important effect on TAC values is the P*ti*EtOH interaction, just as TPC values. The least significant difference was found in the Part*P*T (5.45) three-way interaction. All four-way interactions of these factors also significantly affected the TAC values of extracts ($P < 0.05$). Among these, Part*P*ti*EtOH has a high f-value (75.78). This is followed by Part*T*ti*EtOH (74.86), Part*P*T*ti (38.75), Part*P*T*EtOH (37.28), and P*T*ti*EtOH (17.57). Part*P*T*ti*EtOH interaction of all factors had a statistically significant effect on TAC values ($P < 0.05$) and its f-value is 8.47. If we consider all factors and their interactions that have statistical significance, EtOH is the one with the most significant level of difference due to its high f-value.

Table 5. Full Model ANOVA Results for TAC Values

Source	DF	Seq SS	Contribution	Adj. SS	Adj. MS	F-Value	P-Value
Model	47	32783306	99.58%	32783306	697517	241.18	0.000
<i>Linear</i>	6	19653747	59.70%	19653747	3275624	1132.60	0.000
Part	2	1660427	5.04%	1660427	830214	287.06	0.000
P	1	244776	0.74%	244776	244776	84.64	0.000
T	1	1043480	3.17%	1043480	1043480	360.80	0.000
ti	1	3676375	11.17%	3676375	3676375	1271.17	0.000
EtOH	1	13028688	39.57%	13028688	13028688	4504.88	0.000
<i>2-Way Interactions</i>	14	7910345	24.03%	7910345	565025	195.37	0.000
Part*P	2	4420817	13.43%	4420817	2210409	764.28	0.000
Part*T	2	24379	0.07%	24379	12190	4.21	0.021
Part*ti	2	313627	0.95%	313627	156813	54.22	0.000
Part*EtOH	2	32361	0.10%	32361	16180	5.59	0.007
P*T	1	233923	0.71%	233923	233923	80.88	0.000
P*ti	1	329824	1.00%	329824	329824	114.04	0.000
P*EtOH	1	54680	0.17%	54680	54680	18.91	0.000
T*ti	1	214293	0.65%	214293	214293	74.10	0.000
T*EtOH	1	123659	0.38%	123659	123659	42.76	0.000
ti*EtOH	1	2162782	6.57%	2162782	2162782	747.82	0.000
<i>3-Way Interactions</i>	16	3808368	11.57%	3808368	238023	82.30	0.000
Part*P*T	2	31535	0.10%	31535	15768	5.45	0.007
Part*P*ti	2	993681	3.02%	993681	496841	171.79	0.000
Part*P*EtOH	2	810462	2.46%	810462	405231	140.12	0.000
Part*T*ti	2	94692	0.29%	94692	47346	16.37	0.000
Part*T*EtOH	2	119672	0.36%	119672	59836	20.69	0.000
Part*ti*EtOH	2	1349703	4.10%	1349703	674852	233.34	0.000
P*T*ti	1	72384	0.22%	72384	72384	25.03	0.000
P*ti*EtOH	1	96781	0.29%	96781	96781	33.46	0.000
T*ti*EtOH	1	63623	0.19%	63623	63623	22.00	0.000
<i>4-Way Interactions</i>	9	1361873	4.14%	1361873	151319	52.32	0.000
Part*P*T*ti	2	224116	0.68%	224116	112058	38.75	0.000
Part*P*T*EtOH	2	215644	0.66%	215644	107822	37.28	0.000
Part*P*ti*EtOH	2	438311	1.33%	438311	219155	75.78	0.000
Part*T*ti*EtOH	2	432988	1.32%	432988	216494	74.86	0.000
P*T*ti*EtOH	1	50814	0.15%	50814	50814	17.57	0.000
<i>5-Way Interactions</i>	2	48974	0.15%	48974	24487	8.47	0.001
Part*P*T*ti*EtOH	2	48974	0.15%	48974	24487	8.47	0.001
Error	48	138822	0.42%	138822	2892		
Total	95	32922128	100.00%				
Model Summary	Std. Dev.	R ²		R ² (Adj.)		R ² (Pred.)	
	53.78	99.58%		99.17%		98.31%	

Response Optimizer Results

Extraction conditions that give the maximum TPC and TAC values are seen in Table 6. In both results, the melocan part with the highest value

was found to be the leaf, and the extraction parameters were 350 bar pressure, 50 °C temperature, 90 minutes time, and 20% ethanol concentration.

Table 6. Solution of Response Optimization

Solution	Part	P	T	ti	EtOH	TAC(mg TE/kg dry weight) Fit	TPC(mg GAE/kg dry weight) Fit	Composite Desirability
1	ML	350	50	90	20	2876.74	2265.06	0.993738

CONCLUSION

Overall, phenolic substances of melocan parts have been extracted through Sc-CO₂ extraction method and their TPC and TAC values have been measured for the first time in this study. The extraction parameters on the TPC and TAC values of the Sc-CO₂ extracts from melocan parts have been investigated in this study to find the best extraction conditions. The highest TPC (2265.06 mg GAE/kg dry weight) and TAC (2876.74 mg TE/kg dry weight) of Sc-CO₂ extracts from ML were obtained at 350 bar, 50 °C, 90 min, and 20% ethanol concentration. It was concluded that ML is a good source of antioxidants when extracted with the Sc-CO₂ extraction method. In further studies, extracts of ML obtained under these conditions could be used as a source of natural antioxidants for enhancing food quality and extending shelf life of food.

ACKNOWLEDGMENT AND/OR DISCLAIMERS, IF ANY

This study was supported by Hacettepe University as Scientific Research Project No. FHD-2018-17030.

COMPETING INTERESTS

The authors state no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Esra Bostancı Selbeş: Formal analysis, data curation, methodology, conceptualization, writing-original draft, visualization, Özlem Şahin: Formal analysis, data curation, methodology, conceptualization, Halil Vural: technical support, writing-review & editing.

REFERENCES

Akdeniz, B., Şümnü, G., Şahin, S. (2018). Microencapsulation of phenolic compounds extracted from onion (*Allium cepa*) skin. *Journal of*

Food Processing and Preservation, 42, 13648, doi:10.1111/jfpp.13648.

Albuquerque, B.R., Heleno, S.A., Oliveira, M.B.P., Barros, L., Ferreira, I.C. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & Function*, 12(1): 14-29, doi:10.1039/D0FO02324H.

Al Yassine, D., El Massri, N., Demircan, G., Bulut, G., Akin, D., Tacer-Caba, Z. (2023). Total antioxidant potential, total phenolic profile and cytotoxic activity against brain cancer: Melocan and Galdirik. *Food Technology and Biotechnology*, 61(4): 475-484, doi:10.17113/ftb.61.04.23.8071.

Arumugham, T., Rambabu, K., Hasan, S.W., Show, P.L., Rinklebe, J., Banat, F. (2021). Supercritical carbon dioxide extraction of plant phytochemicals for biological and environmental applications—A review. *Chemosphere*, 271, 129525, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.129525.

Aziz, M.A., Diab, A.S., Mohammed, A.A. (2019). Antioxidant categories and mode of action. In *Antioxidants*, Shalaby, E. (ed.), IntechOpen, doi:10.5772/intechopen.83544.

Bagchi, K., Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease. *East Mediterranean Health Jr*, 4(2): 350-360.

Bimakr, M., Rahman, R.A., Taip, F.S., Ganjloo, A., Salleh, L.M., Selamat, J., Hamid, A., Zaidul, I. (2011). Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Food and Bioproducts Processing*, 89(1): 67-72, doi:10.1016/j.fbp.2010.03.002.

Bitencourt, R.G., Queiroga, C.L., Duarte, G.H.B., Eberlin, M.N., Kohn, L.K., Arns, C.W., Cabral, F.A. (2014). Sequential extraction of bioactive compounds from *Melia azedarach* L. in fixed bed extractor using CO₂, ethanol and water. *The*

- Journal of Supercritical Fluids*, 95, 355-363, doi:10.1016/j.supflu.2014.09.027
- Box, G.E.P., Hunter, W.H., Hunter, S. (1978). *Statistics for experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building*, John Wiley & Sons, Inc., New York. ISBN 0-471-09315-7
- Carocho, M., Ferreira, I.C.F.R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25, doi:10.1016/j.fct.2012.09.021.
- Da Porto, C., Natolino, A., Decorti, D. (2014). Extraction of proanthocyanidins from grape marc by supercritical fluid extraction using CO₂ as solvent and ethanol-water mixture as co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 87, 59-64, doi:10.1016/j.supflu.2013.12.013.
- Da Silva, R.P., Rocha-Santos, T.A., Duarte, A.C. (2016). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 40-51, doi:10.1016/j.trac.2015.11.013.
- De Castro, M. D. L., Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16): 2383-2389, doi:10.1016/j.chroma.2009.11.027.
- Dehghan, H., Sarrafi, Y., Salehi, P. (2016). Antioxidant and antidiabetic activities of 11 herbal plants from Hyrcania region, Iran. *Journal Of Food and Drug Analysis*, 24(1): 179-188, doi:10.1016/j.jfda.2015.06.010.
- Estévez, M., Li, Z., Soladoye, O.P., Van-Hecke, T. (2017). Chapter two: Health risks of food oxidation. In *Advances in Food and Nutrition Research*, Toldrá, F (ed.), Volume 82, Academic Press, pp. 45-81, doi:10.1016/bs.afnr.2016.12.005.
- Foy, C.J., Passmore, A.P., Vahidassr, M.D., Young, I.S., Lawson, J.T. (1999). Plasma chain-breaking antioxidants in Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *Quarterly Journal of Medicine*, 92(1): 39-45, doi:10.1093/qjmed/92.1.39.
- Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F.Y., Choi, Y.H. (2012). Supercritical fluid extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape (*Vitis labrusca* B.) seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67, 407-414, doi:10.1007/s11130-012-0313-1.
- Hamburger, M., Baumann, D., Adler, S. (2004). Supercritical carbon dioxide extraction of selected medicinal plants-effects of high pressure and added ethanol on yield of extracted substances. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 15(1): 46-54, doi:10.1002/pca.743.
- Ho, C.T. (1992). Phenolic compounds in food: An overview. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II*, Huang, M., Ho, C., Lee C. (eds.), Volume 2, ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, pp. 2-7. ISBN: 9780841224759.
- Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Zhang, Y. (2010). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: Potential use for cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, 62(1): 1-20, doi:10.1080/01635580903191585.
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4): 1821-1835, doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.026.
- Ivanova, A., Mikhova, B., Kostova, I., Evstatieva, L. (2010). Bioactive chemical constituents from *Smilax excelsa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(2): 295-297.
- Jahromi, S.G. (2019). Extraction techniques of phenolic compounds from plants. In *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*, Soto-Hernández, M., García-Mateos, R., Palma-Tenango, M (eds.), IntechOpen, doi:10.5772/intechopen.84705.
- Jankovic, A., Chaudhary, G., Goia, F. (2021). Designing the design of experiments (DOE)—An investigation on the influence of different factorial designs on the characterization of complex systems. *Energy and Buildings*, 250, 111298, doi:10.1016/j.enbuild.2021.111298.
- Koocheki, A., Taherian, A.R., Razavi, S.M., Bostan, A. (2009). Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue

- and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids*, 23(8): 2369-2379, doi:10.1016/j.foodhyd.2009.06.014.
- Li, R., Xia, Z., Li, B., Tian, Y., Zhang, G., Li, M., Dong, J. (2021). Advances in supercritical carbon dioxide extraction of bioactive substances from different parts of *Ginkgo biloba* L. *Molecules*, 26(13): 4011, doi:10.3390/molecules26134011.
- Lü, J., Lin, P.H., Yao, Q., Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4): 840-860, doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x.
- Mandana, B., Russly, A., Ali, G., Farah, S. (2011). Antioxidant activity of spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves extracts by Supercritical Carbon Dioxide (SC-CO₂) extraction. *International Food Research Journal*, 18(2): 543-547.
- Maran, J.P., Manikandan, S., Priya, B., Gurumoorthi, P. (2015). Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1): 92-104, doi:10.1007/s13197-013-0985-z.
- Mitić, M., Tošić, S., Pavlović, A., Mašković, P., Kostić, D., Mitić, J., Stevanović, V. (2019). Optimization of the extraction process of minerals from *Salvia officinalis* L. using factorial design methodology. *Microchemical Journal*, 145, 1224-1230, doi:10.1016/j.microc.2018.12.047.
- Monroy, Y.M., Rodrigues, R.A., Sartoratto, A., Cabral, F.A. (2016a). Extraction of bioactive compounds from cob and pericarp of purple corn (*Zea mays* L.) by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol, and water as solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 250-259, doi:10.1016/j.supflu.2015.09.020.
- Monroy, Y.M., Rodrigues, R.A., Sartoratto, A., Cabral, F.A. (2016b). Influence of ethanol, water, and their mixtures as co-solvents of the supercritical carbon dioxide in the extraction of phenolics from purple corn cob (*Zea mays* L.). *The Journal of Supercritical Fluids*, 118, 11-18, doi:10.1016/j.supflu.2016.07.019.
- Noordin, M.Y., Venkatesh, V., Sharif, S., Elting, S., Abdullah, A. (2004). Application of response surface methodology in describing the performance of coated carbide tools when turning AISI 1045 steel. *Journal of Materials Processing Technology*, 145(1): 46-58, doi:10.1016/S0924-0136(03)00861-6.
- Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., Akev, N. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry*, 110(3): 571-583, doi:10.1016/j.foodchem.2008.02.037.
- Özbucak, T.B., Akçin, Ö.E., Yalçın, S. (2007). Nutrition contents of the some wild edible plants in central black sea region of Turkey. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1, 11-13.
- Rahmawati, A., Pang, D., Ju, Y., Soetaredjo, F.E., Ki, O.L., Ismadji, S. (2015). Supercritical CO₂ extraction of phytochemical compounds from *Mimosa pudica* Linn. *Chemical Engineering Communications*, 202(8): 1011-1017, doi:10.1080/00986445.2014.896346.
- Sajadian, S.A., Peyrovedin, H., Zomorodian, K., Khorram, M. (2023). Using the supercritical carbon dioxide as the solvent of Nystatin: Studying the effect of co-solvent, experimental and correlating. *The Journal of Supercritical Fluids*, 194, 105858, doi:10.1016/j.supflu.2023.105858.
- Sarialtın, S.Y., Polat, D.C., Yalçın, C.Ö. (2023). Cytotoxic and antioxidant activities and phytochemical analysis of *Smilax excelsa* L. and *Aegopodium podagraria* L. *Food Bioscience*, 52, 102359, doi:10.1016/j.fbio.2023.102359.
- Shahidi, F., Naczki, M. (2003). *Phenolics in food and nutraceuticals*. CRC Press google schola, 558 p. ISBN:9780367395094.
- Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25(12): 1058-1071, doi:10.1002/anie.198610581.
- Silva, B.A., Ferreres, F., Malva, J.O., Dias, A.C.P. (2005). Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic

extracts. *Food Chemistry*, 90(1-2): 157-167, doi:10.1016/j.foodchem.2004.03.049.

Şahin, Ö. (2019). Melocan (*Smilax Excelsa* L.) bitkisinin farklı kısımlarının ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen bileşenlerinin tanımlanması. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 125 s.

Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. (1993). *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 449 p.

Topdas, E.F., Demirbaş, M., Şengül, M., Şat, İ.G. (2021). Farklı kurutma tekniklerinin *Smilax excelsa* genç sürgünlerinin antioksidan aktivitesi ve bazı fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 52(3): 314-324, doi:10.17097/ataunizfd.816887.

Uwineza, P.A., Gramza-Michalowska, A., Bryła, M., Waśkiewicz, A. (2021). Antioxidant activity and bioactive compounds of lamium album flower extracts obtained by supercritical fluid extraction. *Applied Sciences*, 11(16): 7419, doi:10.3390/app11167419.

Uzombah, T.A. (2022). The implications of replacing synthetic antioxidants with natural ones in the food systems. In *Natural food additives*, Prieto, M.A., Otero, P. (eds.), IntechOpen, doi:10.5772/intechopen.103810.

Wang, Y., Ying, L., Sun, D., Zhang, S., Zhu, Y., Xu, P. (2011). Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from *Ampelopsis grossedentata* stems: Process optimization and antioxidant activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10): 6856-6870, doi:10.3390/ijms12106856.

Wang, W., Rao, L., Wu, X., Wang, Y., Zhao, L., Liao, X. (2021). Supercritical carbon dioxide applications in food processing. *Food Engineering Reviews*, 13, 570-591, doi:10.1007/s12393-020-09270-9.

Xu, D., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J., Li, H. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1) 96, doi:10.3390/ijms18010096.

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(3): 195-210, doi:10.1016/S0378-8741(98)00133-0.

Yıldız, Ö.Ş., Ayanoğlu, F., Bahadır, N.P. (2018). Some morphological and chemical characteristics of sarsaparilla (*Smilax aspera* L., *Smilax excelsa* L.). *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2): 254-261. ISSN:1300-9362.

A REVIEW OF ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM COFFEE WASTE

**Murat ÖZDEMİR*, Rabia YILDIRIM, Rümeysa YURTTAŞ,
Duygu BAŞARGAN, Mustafa Barış HAKCI**

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Gebze Technical University, Gebze, Kocaeli, Türkiye

Received/Geliş: 09.09.2024; Accepted/Kabul: 07.01.2025; Published online/Online baskı: 28.01.2025

Özdemir, M., Yıldırım, R., Yurttaş, R., Başargan, D., Hakci, M. B. (2025). A review of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee waste. GIDA (2025) 50 (1) 56-73 doi: 10.15237/ gida.GD24094

Özdemir, M., Yıldırım, R., Yurttaş, R., Başargan, D., Hakci, M. B. (2025). Kahve atıklarından biyoaktif bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonu. GIDA (2025) 50 (1) 56-73 doi: 10.15237/ gida.GD24094

ABSTRACT

The objective of this paper is to review the effectiveness of ultrasound-assisted extraction, particularly targeting phenolic and flavonoid compounds from coffee waste. The mechanism, advantages, disadvantages and some of the important factors affecting ultrasound-assisted extraction are discussed. Previous studies and current applications of ultrasound-assisted extraction on the extraction of phenolics and flavonoids from various coffee wastes are reviewed. Ultrasound-assisted extraction is easier to use, can be done at the room temperature, increases efficiency, utilizes less solvent and energy, reduces operating costs, and better preserves of the bioactivity of thermosensitive compounds. This review shows that key parameters affecting the extraction of bioactive compounds using ultrasound technology are temperature, contact time, type of solvent, solid to solvent ratio, ultrasonic power and ultrasonic frequency. In conclusion, all the reported applications reveal that ultrasound-assisted extraction stands out as an emerging and green extraction technique to extract phenolic and flavonoid compounds from coffee waste.

Keywords: Coffee waste, ultrasound-assisted extraction, phenolics, flavonoids

KAHVE ATIKLARINDAN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN ULTRASES DESTEKLİ EKSTRAKSİYONUNUN İNCELENMESİ

ÖZ

Bu derleme makalesinin amacı, özellikle kahve atıklarından fenolik ve flavonoid bileşiklerini hedef alan ultrases destekli ekstraksiyonun etkinliğini araştırmaktır. Ultrases destekli ekstraksiyonun mekanizması, avantajları, dezavantajları ve etkileyen bazı önemli faktörler tartışılmaktadır. Çeşitli kahve atıklarından fenolik ve flavonoidlerin ekstraksiyonu üzerine ultrases destekli ekstraksiyon ile ilgili çalışmalar ve mevcut uygulamalar verilmektedir. Ultrases destekli ekstraksiyonun kullanımı daha kolaydır, oda sıcaklığında yapılabilir, verimliliği artırır, daha az çözücü ve enerji kullanır, işletme maliyetlerini azaltır ve ısıya duyarlı bileşiklerin biyoaktivitesini daha iyi korur. Bu derleme çalışması,

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: ozdemirm@gtu.edu.tr

☎: (+90) 262 605 2109

☎: (+90) 262 605 2105

Murat Özdemir; ORCID no: 0000-0001-9025-3068

Rabia Yıldırım; ORCID no: 0009-0007-0716-2597

Rümeysa Yurttaş; ORCID no: 0009-0006-9582-1101

Duygu Başargan; ORCID no: 0009-0006-9569-6216

Mustafa Barış Hakci; ORCID no: 0009-0007-7043-3556

ultrases teknolojisi kullanılarak biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunu etkileyen temel parametrelerin sıcaklık, temas süresi, çözücü türü, katı-çözücü oranı, ultrasonik güç ve ultrasonik frekans olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, mevcut tüm uygulamalar, ultrases destekli ekstraksiyonun kahve atıklarından fenolik ve flavonoit bileşiklerin ekstraksiyonu için yeni ve yeşil bir ekstraksiyon tekniği olarak öne çıktığını ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Kahve atığı, ultrases destekli ekstraksiyon, fenolikler, flavonoitler

INTRODUCTION

Coffee, discovered in what was then known as Abyssinia, present-day Ethiopia, around 700-800 AD, belongs to the *Rubiaceae* family under the Coffee genus (Worku, 2023). Gaining immense popularity worldwide, coffee is distinguished by two main types: *Coffea arabica* L. and *Coffea canephora*, known as Arabica and Robusta, respectively (Mensah et al., 2024). Arabica, constituting 75% of global coffee production, is favored for its unique flavor profile while Robusta, accounting for 23-24% of global coffee production, has a stronger taste, and holds significant importance in international coffee trade (Arya et al., 2022). Coffee, beyond being a beverage, has played a crucial role throughout history as a cultural symbol, a meeting point for communities and an economic powerhouse. The coffee culture, originating in Ethiopia and spreading globally, has evolved with diverse variations in different regions and cultures, becoming an indispensable beverage contributing to the global economy (Alves et al., 2017). Today, coffee continues to be one of the most consumed products in the world, and the popularity of coffee is predicted to increase more in the future (McNutt and He, 2019).

An often-overlooked fact is the vast and often unused waste produced by the coffee industry (McNutt and He, 2019). These wastes include large amounts of by-products, including waste from post-harvest processing, coffee roasting and coffee consumption such as immature/defective beans, coffee husk, pulp, mucilage, parchment, silverskin and spent coffee grounds (Alves et al., 2017; Hoseini et al., 2021). Due to the high production rate in the coffee industry, the amount of these wastes is also high (Janissen and Huynh, 2018). The most abundant by-product of coffee is spent coffee grounds, produced by consumers in homes and cafeterias as well as during industrial

production of the instant coffee industry (Martinez-Saez et al., 2017; Bondam et al., 2022).

Since coffee and coffee waste are rich in bioactive compounds, they have high antioxidant activity, and these compounds are extracted and used in the food and pharmaceutical industries (Panusa et al., 2013; Serna-Jiménez et al., 2022). Utilization of coffee waste will both enable the recovery of high value-added compounds from these wastes, reduce the environmental impact of coffee waste and contribute to the global economy (Johnson et al., 2022). For this reason, studies and practices aimed at reusing coffee waste are of great importance. Phenolic and flavonoid compounds have various physiological activities such as antioxidant, antimicrobial, antimutagenic, anti-inflammatory and antiallergenic and are used in food, nutraceutical, cosmetic and pharmaceutical industries (Nurzyńska-Wierdak, 2023).

Bioactive compounds from coffee waste including polyphenols and flavonoids are usually extracted using conventional extraction methods, the most common of which is solid-liquid extraction (Bondam et al., 2022; Lee et al., 2023). Traditionally, solid-liquid extraction is usually performed at high temperatures and pressures to extract phenolics and flavonoids from various coffee wastes. The use of high temperature with and without high pressure degrades heat-sensitive compounds such as phenolics and flavonoids (Bondam et al., 2022). Solid-liquid extraction is also characterized by low extraction yield, long extraction time, low selectivity and excess solvent consumption (Bouhzam et al., 2023; Hu et al., 2023). Supercritical fluid extraction, microwave-assisted extraction, pulsed electric field and ultrasound-assisted extraction are commonly used emerging and eco-friendly techniques for the recovery of bioactive compounds (Buvaneshwaran et al., 2023). Ultrasound-assisted extraction steps ahead among the aforementioned

extraction techniques (Lee et al., 2023). It is simple, fast, low-cost and effective technique with high reproducibility rate, high extraction efficiency in a short time, lower energy output and applicability to diversified samples (Yang et al., 2024). The mechanism of this method depends on the effect of ultrasonic energy generated with frequencies higher than 20 kHz, where high-intensity sound waves induce the formation of microbubbles. These microbubbles create cavitation in the liquid medium, providing a high shear force, and when the bubbles burst, they cause micro-mixing and macro turbulence, providing a higher level of contact between solid and liquid (Hassan and Al-Yaqoobi, 2023). This causes a variety of effects such as erosion of the solid in contact, particle fragmentation, capillary action, surface peeling, tissue disruption and ultrasound perforation, thus all accelerating cell destruction and mass transfer (Chemat et al., 2017; Zahari et al., 2020).

Extracting valuable bioactive compounds from coffee waste is critical to improve the use of bioactive compounds in other foods, increase the valorization of coffee waste, develop more sustainable food processes, and implement new alternatives to manage coffee wastes and by-products derived from coffee processing. Therefore, the main objective of this study is to provide information on the mechanism, advantages and disadvantages of the ultrasound-assisted extraction, important factors affecting the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds and current applications of ultrasound-assisted extraction in extraction of phenolics and flavonoids from various coffee wastes. This review is believed to increase awareness of the recovery of phenolic and flavonoid compounds from coffee waste, ensure the valorization of various coffee wastes, and contribute to sustainability.

BY-PRODUCTS OF COFFEE PRODUCTION

Coffee industry mainly produces three types of coffee product: instant coffee, coffee drink and coffee bean while harvesting, post-harvest and by-products resulting from the roasting process and

coffee consumption generate coffee waste (Figure 1). The coffee harvesting and roasting processes yield immature and defective beans, respectively. These low-grade coffee beans must be separated from the mature and non-defective beans because they reduce the quality of the final products. The defective green coffee beans had the total phenolic content (TPC) of 65.4 mg chlorogenic acid equivalent (CGAE)/g of dry weight (Machado et al., 2023), which was approximately 30% lower than the TPC of non-defective green coffee beans (94.2 mg CGAE/g of dry weight) (Pimpley and Murthy, 2021). The total flavonoid content (TFC) of defective green coffee beans was reported to be 52.3 mg catechin equivalent (CE)/g of dry weight (Machado et al., 2023), which was identical to the TFC of non-defective green coffee beans (52.1 mg CE/g of dry weight) (Abdeltatif et al., 2018).

The pulp, mucilage and parchment surround the coffee bean, and they are rich in various components such as proteins, carbohydrates, fats, minerals and caffeine (Alves et al., 2017; Oliveira et al., 2021). The coffee pulp is covered by an outer skin that resembles that of a cherry. The outer skin is normally removed from the coffee fruit after it has been picked. Coffee pulp is a by-product of the wet processing method in coffee hulling process (Oliveira et al., 2021). Coffee pulp has a high moisture content due to the inclusion of water during the washing of coffee cherries before pulping, and mainly rich in carbohydrates, proteins and minerals, and contains significant amounts of tannins, polyphenols, dietary fiber and caffeine (Murthy and Naidu, 2012; Kovalcik et al., 2018). Geremu et al. (2016) determined that the TPC recovered from different coffee pulp extracts varied from 489.5 to 1809.9 mg gallic acid equivalent (GAE)/g of wet weight depending on the source of the pulp, solvent type and solvent concentration. Similarly, the TFC values of the coffee pulp ranged from 0.79 to 25.1 mg CE/g of dry weight, with the lowest TFC using ethyl acetate and the highest TFC using ethanol as the extraction solvent, respectively (Chen et al., 2021). The fruity layer of the coffee cherry that lies between the outer skin and the parchment layer enclosing the coffee bean is known as mucilage.

Mucilage contains both simple and complex sugars that can be used in fermentation. Mucilage is also rich in polyphenols and flavonoids where it has the TPC of 1618 mg GAE/g of dry weight and TFC of 532 mg quercetin equivalent (QE)/g of dry weight (Kc et al., 2021). Fibrous endocarp, known as parchment, covers both hemispheres of the coffee bean and separates them from each other (Iriondo-DeHond et al., 2019). It is rich in

cellulose, hemicellulose and lignin (Klingel et al., 2020). It was reported that the TPC of the coffee parchment ranged from 1.2 to 3.1 mg GAE/g of dry weight (Benitez et al., 2019). Aguilera et al. (2019) determined that the TPC and TFC of coffee parchment varied from 0.72 to 2.04 mg GAE/g of dry weight and 0.15 to 1.61 mg CE/g of dry weight, respectively. In wet coffee processing, the parchment is removed after drying and hulling processes (Janissen and Huynh, 2018).

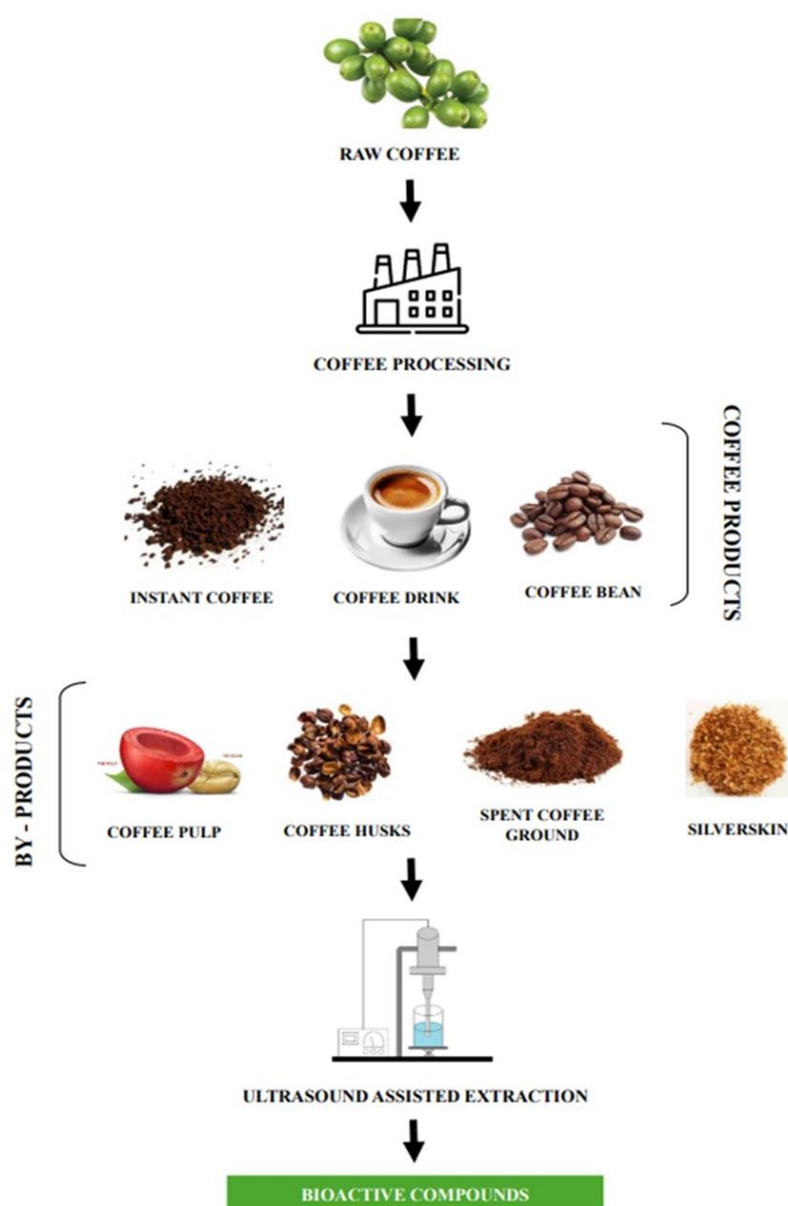


Figure 1. Coffee products and by-products

Coffee husk is a by-product of the dry processing method in coffee hulling process (Oliveira et al., 2021). The coffee husk contains pulp, pectin and parchment. Therefore, carbohydrates are higher than those of the coffee pulp (Hoseini et al., 2021). Approximately 0.18 tons of coffee husks are obtained from one ton of coffee fruit (Oliveira et al., 2021). The TPC of the coffee husk varied between 15.6 mg CGAE/g of dry weight (Iriundo-DeHond et al., 2019) and 97.9 mg CGAE/g of dry weight (Silva et al., 2020) while the TFC of the coffee husk changed from 0.2 to 15.7 mg CE/g of dry weight (Silva et al., 2020). The variations in the TPC and TFC values are due to various factors, including the measurement method, extraction method, extraction solvent, and geographical origin or species of the coffee beans.

Coffee silverskin, a by-product obtained during roasting of green coffee beans, is an extremely thin layer sticking to the coffee beans and is separated during coffee roasting. One ton of coffee silverskin is produced from every 120 tons of roasted coffee (Martuscelli et al., 2021) and considering that coffee consumption is constantly increasing, coffee silverskin can be considered to have great potential for the extraction of bioactive compounds. Coffee silverskin contains melanoidins and phenolic compounds resulting from Maillard reactions during roasting, so it exhibits antioxidant activity and it is used as a functional ingredient in the food industry (Narita and Inouye, 2014). Costa et al. (2014) extracted the total phenolic compounds from the coffee silverskin using different combinations of solvents, temperatures and extraction times, and reported a TPC of 16 mg GAE/g of dry weight. The TFC of the coffee silverskin changed from 1.9 to 8.6 g CE/g of dry weight for different varieties and roasting times where longer roasting times resulted in coffee silverskin with higher TFC (McDonald et al., 2022).

To obtain a high-end coffee experience, roasted coffee powder is contacted with hot water or steam to release various volatile and non-volatile compounds that give the flavor, aroma and taste to the coffee appreciated by the coffee drinkers

worldwide (Zuorro and Lavecchia, 2013). Regardless of any extraction method used for coffee brewing, this process produces a solid waste called coffee ground (Severini et al., 2017). Spent coffee grounds are the most abundant by-product obtained as a result of coffee brewing at homes, cafeterias, restaurants, fast-food restaurants and during the extraction process for industrial instant coffee production (Kovalcik et al., 2018). These spent coffee grounds have a dark brown color, coarse texture and high moisture content (Alves et al., 2017). Coffee production generates approximately 6 million tons of coffee grounds each year (Franca and Oliveira, 2022; Yusufoglu et al., 2024). Approximately 650 kg of coffee grounds are produced from one ton of green coffee, and approximately 2 kg of wet coffee grounds are generated per kilogram of soluble coffee produced (Lauberts et al., 2023). Coffee grounds are usually disposed of in landfills or incinerated, and this leads to undesirable consequences in terms of economic and environmental impacts (McNutt and He, 2019; Battista et al., 2020). However, spent coffee grounds can be mixed with other ingredients and especially used in cakes, cookies, muffins, biscuits, breads, yogurts, and fermented and distilled beverages (Martinez-Saez et al., 2017; Arya et al., 2022; Benincá et al., 2023; Dauber et al., 2024). Coffee ground cakes have the potential to be used as a source of fat-soluble vitamins (Hoseini et al., 2021).

There are many natural compounds in spent coffee grounds such as polyphenols, flavonoids, proteins, sugars, lignin, cellulose and hemicellulose (Loarca-Piña et al., 2015). Based on the extraction conditions and coffee variety, the TPC of spent coffee grounds varied from 9 to 29 mg GAE/g of dry weight (Zuorro, 2015; Choi and Koh, 2017; Ramón-Gonçalves et al., 2019). The phenolic composition of spent coffee grounds mainly includes chlorogenic acids (85%) such as 3-O-caffeoylquinic acid, 4-O-caffeoylquinic acid and 5-O-caffeoylquinic acid as well as caffeic acid (6%), and chlorogenic acid is the main substance with antioxidant activity in the spent coffee grounds (Okur et al., 2021). The most important material found in spent coffee

grounds, aside from chlorogenic acid and its derivatives, is caffeine (Janissen and Huynh, 2018). The high concentrations of caffeine found in spent coffee grounds highlight the waste material's great potential as a natural source of phenolic antioxidants (Loarca-Piña et al., 2015). The caffeine in spent coffee ground is completely broken down by *Pleurotus ostreatus* LPB 09 fungal cultures, enabling spent coffee ground to be utilized as a cheap substrate for edible mushrooms and mushroom cultivation without the need for any pre-processing (Carrasco-Cabrera et al., 2019).

ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION

One unique and highly promising extraction technique for obtaining phenolic and flavonoid compounds from coffee and coffee by-products is ultrasound-assisted extraction (Solomakou et al., 2022; Buvaneshwaran et al., 2023; Lee et al., 2023). Its user-friendly application and simple instrumental requirements make ultrasound-assisted extraction a desirable extraction method. This method effectively extracts chemicals from a solid matrix by using high-frequency sound waves and a small amount of solvent. There are two main types of ultrasounds used in industry: high-intensity low-frequency ultrasound ($20 \text{ kHz} < f \leq 100 \text{ kHz}$) and low-intensity high-frequency ultrasound ($f > 100 \text{ kHz}$) (Chávez-Martínez et al., 2020). Low-intensity ultrasound is a technique in which ultrasonic wave propagates without changing the physical or chemical properties of the material. On the other hand, high-intensity ultrasonic waves create a distortion effect within the matrix by forming intense pressure and temperature gradients caused by cavitation bubbles. These bubbles coalesce and grow, and then collapse during the compression phase. As a result, progressive expansions and compressions accelerate or increase the rate of biochemical reactions and facilitate the release of bioactive compounds from plant tissues (Chemat et al., 2017).

Ultrasound-assisted extraction is generally performed using an ultrasonic bath (Figure 2) or ultrasonic probe (Figure 3). The solid matrix is

distributed in a solvent in a stainless-steel tank that is attached to the transducer in the ultrasonic bath method. This method is economical and easy to use, but reproducibility can be low, causing limitations in the extraction process. Another technique is called ultrasonic probing, which involves attaching a transducer to a probe or horn. With little energy loss, the probe produces ultrasonic waves in the medium while submerged in the extraction vessel. Probe-based system is a good tool for the efficient extraction of bioactive compounds because they often have greater ultrasonic intensities. However, in this system, uneven energy distribution and decreasing power over time may reduce efficiency as compared to the bath system. In the probe system, the transmitted energy is focused on a specific sample region to create a more effective cavitation effect (Chemat et al., 2017).



Figure 2. Ultrasonic bath

Advantages and Disadvantages of Ultrasound-Assisted Extraction

Ultrasound-assisted extraction is a promising method to obtain bioactive compounds from various sources. Many advantages (Figure 4) offered by this method have led to its increasing use in industrial and scientific contexts. One of the main advantages of ultrasound-assisted extraction is its ability to greatly increase extraction efficiency. When ultrasonic waves are applied, mass transfer between the solvent and the sample matrix increases, leading to a more

effective extraction than conventional extraction techniques. Additionally, ultrasound-assisted extraction uses less energy and materials, and shorter extraction time contributes to the economic sustainability of the process with improved efficiency. Ultrasound-assisted extraction is safe, inexpensive, reproducible and easy to use. It can be performed at room temperature and atmospheric pressure so heat-sensitive bioactive compounds can be extracted at low temperatures, which is very important in food and pharmaceutical industries to maintain the activity and integrity of heat-labile bioactive compounds. By dissolving cell walls and promoting the release of desired components, the ultrasound-assisted extraction can be tuned to extract specific molecules from complex matrices. On average, ultrasound-assisted extraction uses less solvent than conventional extraction methods, which reduces waste due to solvent generation and increases process sustainability, both of which are consistent with green extraction principles (Carreira-Casais et al., 2021). However, some disadvantages of ultrasound-assisted extraction should also be considered. Firstly, investment cost for the equipment can be high for large-scale industrial operations. Secondly, maintenance cost of the ultrasound equipment is another issue to consider because frequent maintenance is required to ensure that equipment is working properly and to prevent it from becoming unusable. Additionally, careful parameter tuning is required to balance extraction efficiency with compound stability due to the possibility of degradation of bioactive compounds caused by inappropriate or extreme ultrasonic conditions. Another factor to consider is cavitation, which increases mass transfer, but meanwhile it can cause physical damage or change in the chemical structure and bioactivity of the extracted substances. Additionally, in solid or dense matrices the penetration of ultrasonic waves may be limited, leading to insufficient extraction. Therefore, factors affecting the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds should be carefully considered, and responses should be optimized to obtain reliable and reproducible results.



Figure 3. Ultrasonic probe

Parameters Affecting Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds

Solvent type, solid-solvent ratio, extraction temperature, extraction time, ultrasonic power and ultrasonic frequency are important parameters influencing the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds (Figure 5) (Carreira-Casais et al., 2021; Ozdemir et al., 2024).

Solvent selection is crucial to maximize the solubility of the targeted bioactive compounds and optimize extraction efficiency. Many different solvents either alone or in combination with each other can be used in extraction of bioactive compounds where water or organic solvents like ethanol or methanol are frequently utilized. The biological material is usually chopped into small pieces or grinded for size reduction, thus increasing surface area (Shen et al., 2023). After the sample and solvent are mixed in a container, the system is subjected to ultrasonic waves, which allow the solvent to penetrate the material more effectively. It is crucial that the solvents used to extract the bioactive compounds from coffee grounds should be polar because polar solvents extract bioactive compounds much better than nonpolar solvents (Beaudor et al., 2023).

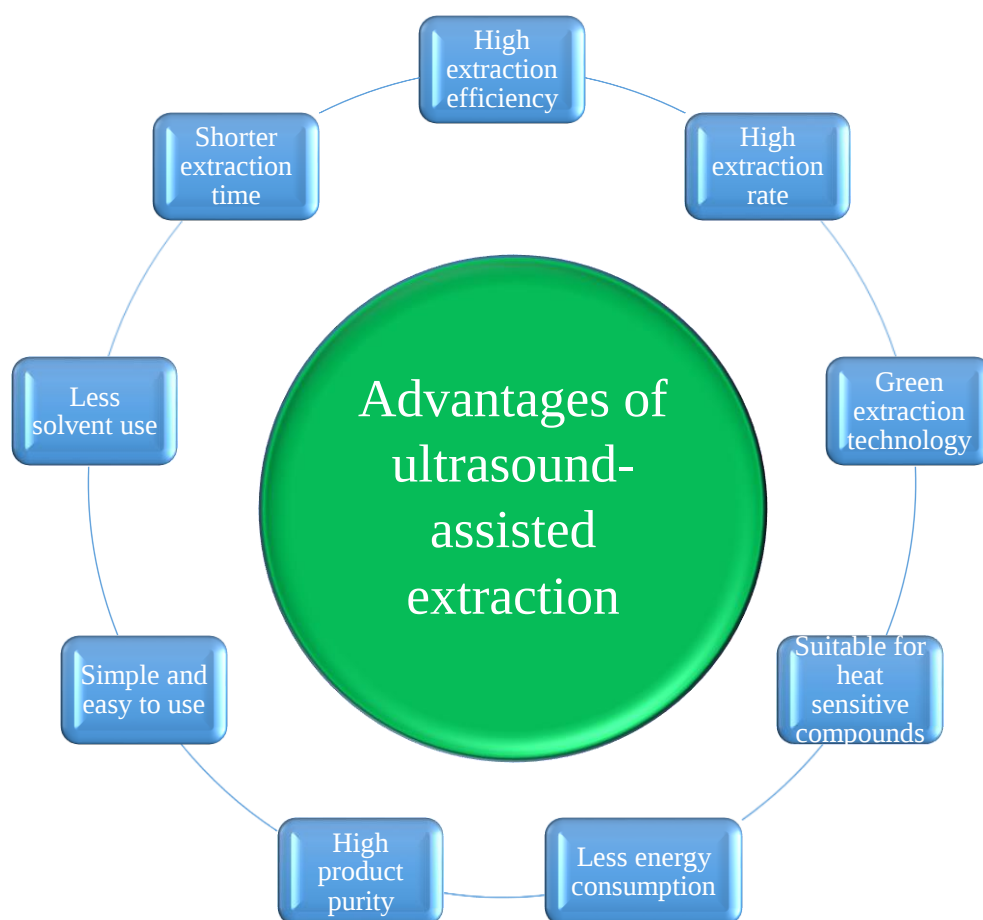


Figure 4. Advantages of ultrasound-assisted extraction

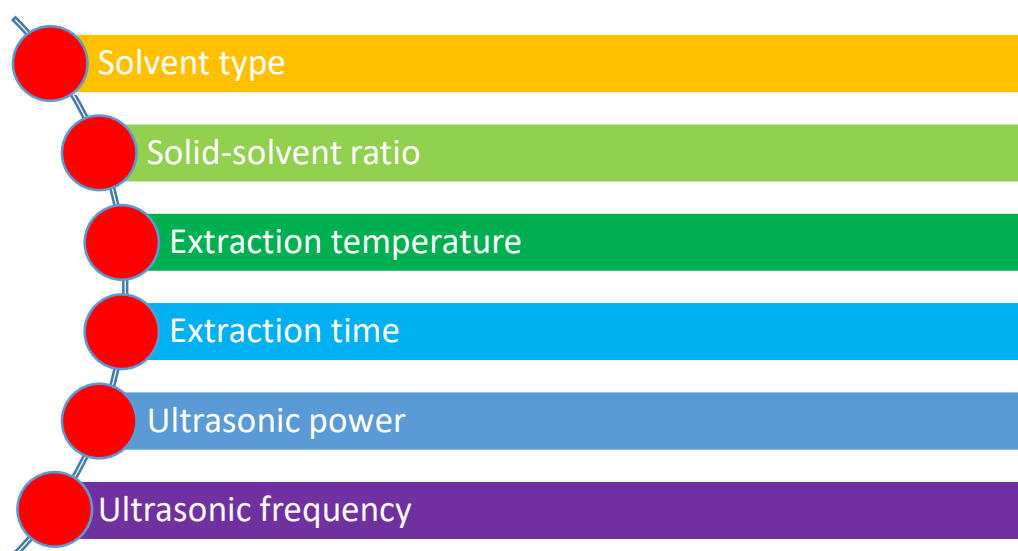


Figure 5. Factors affecting ultrasound-assisted extraction

One important parameter influencing the extraction efficiency is the ratio of solid to solvent. Although the optimized solid to solvent ratio guarantees the use of adequate solvent, using too much solvent might have negative effects on the environment and raise process costs. Therefore, optimizing the amount of solvent is important for the economic feasibility and environmental sustainability of the extraction process (Myo and Khat-Udomkiri, 2022). This ensures an overall improvement in the efficiency of the extraction process, enhances the amount of the extracted material, and improves the quality of the final product. On the other hand, higher solvent concentrations can generally result in higher extraction yields and efficiencies, but excessive concentrations can cause solubility issues and an increase in the viscosity of the solution (Al-Dhabi et al., 2017). Additionally, bioactive compounds may degrade if the solvent concentration is excessive (Beaudor et al., 2023).

Raising the temperature can improve mass transfer by making the target molecules more soluble in the solvent (Zamanipoor et al., 2020). As a result of the increased solubility, more bioactive compounds are dissolved from the wasted coffee matrix, thus improving extraction efficiency. Furthermore, high temperatures also increase the diffusion of bioactive substances into the solvent (Oroian et al., 2020). Higher temperatures lead to higher yields at shorter extraction times and faster extraction rates. Elevating the temperature facilitates the penetration of solvent into the wasted coffee matrix. Higher temperatures provide greater accessibility of the bioactive compounds by facilitating the interaction between the solvent and the target bioactive compounds, hence further enhancing extraction efficiency (Jha and Sit, 2022). On the other hand, excessive temperatures may cause heat-sensitive bioactive substances in the wasted coffee to thermally degrade (Beaudor et al., 2023).

Longer extraction times may increase extraction yield up to some point, but further increase in time usually cause a decrease in extraction yield. Prolonged exposure times may also result in the degradation of bioactive substances (Bhadange et

al., 2022). In order to accommodate longer ultrasonic processing times, it is recommended that the pulse mode be utilized (Shen et al., 2023). This mode entails the generator intermittently activating and deactivating the power of the ultrasonic probe. By intermittently switching the power, the pulse mode effectively prevents the excessive buildup of reaction temperature during extended processing durations. Furthermore, the use of pulsed ultrasound-assisted extraction results in energy savings ranging from 20% to 51%, while enhancing the efficiency of the extraction process (Kobus et al., 2021).

The process of cavitation, in which microbubbles form and implode in the solvent as a result of ultrasonic waves, is enhanced by raising the ultrasonic power level during ultrasound-assisted extraction. Cavitation effect breaks down cell walls in the wasted coffee matrix by creating localized pressure, turbulence and heating. This shortens the amount of time needed for extraction to obtain extracts rich in bioactive compounds by accelerating the mass transfer of bioactive substances from the wasted coffee matrix to the solvent (Zupanc et al., 2019). Higher ultrasonic power levels cause cellular structures to be disrupted more effectively, thereby improving extraction efficiency. Optimal power levels are needed because high power levels usually lead to the thermal degradation of heat-labile components present in coffee waste like antioxidants, polyphenols and flavonoids (Bondam et al., 2022). Therefore, choosing the right power level is crucial to striking a balance between activity of bioactive compounds and extraction efficiency (Okur et al., 2021).

Frequency of ultrasound waves significantly impacts the cavitation effect during extraction. It affects the physical and chemical consequences resulting from disruption of cavitation bubbles during the extraction process. Different frequencies have distinct oscillation cycles. As the ultrasonic frequency declines, the oscillation cycle of cavitation bubbles rises, resulting in a larger bubble radius. This makes mechanical waves more powerful, so the cavitation effect intensifies. There is also a correlation between ultrasonic frequency and ultrasonic intensity. To achieve the

desired cavitation effect, ultrasonic intensity should be amplified by increasing the frequency of ultrasonic waves to overcome the mixture's cohesiveness (Niazi et al., 2014). The energy of high frequency sound waves can be focused into a smaller region, thus providing more efficient solid and solvent interaction. This interaction could enhance microfluidic effects to extract bioactive components from the material into solution more effectively. Furthermore, ultrasonic frequency also affects the permeability of cell membrane and facilitates the passage of bioactive compounds through the cell membrane (Liu et al.,

2020). The extraction efficiency of bioactive substances is also influenced by the frequency of ultrasound. The energy of the ultrasonic waves increases with increasing the ultrasonic frequency, further disintegrating the coffee grounds' cell walls. However, bioactive compounds may degrade if the ultrasonic frequency is too high (Beaudor et al., 2023). Selection of the right ultrasonic frequency is necessary to obtain bioactive compounds with the highest activity. Optimum levels of ultrasound-assisted extraction conditions of bioactive compounds for different coffee wastes are given in Table 1.

Table 1. Optimum ultrasound-assisted extraction conditions of phenolics and flavonoids for various coffee wastes

Coffee Waste	Extracted Compounds	Solvent	Ultrasound-assisted extraction parameters					References
			Frequency (kHz)	Power (W)	Time (min)	Temperature (°C)	Solid Solvent Ratio	
Coffee pulp	Total phenolics	Methanol:water	50	150	30	40	0.2:20 g/mL	Tran et al. (2020)
Coffee pulp	Total phenolics	Ethanol:water	50	250	35	60	5:100 g/mL	Tran et al. (2022)
Coffee parchment	Total phenolics	Distilled water	35	160	30	40	—	Benyelles et al. (2024)
Coffee husk	Total phenolics	Ethanol	55	60	120	20	7:210 g/mL	Andrade et al. (2012)
Coffee husk	Total phenolics, total flavonoids	Ethanol:water	40	220	60	35	1:10 g/mL	Silva et al. (2020)
Coffee silverskin	Total phenolics	Methanol:water	20	500	10	80	1:50 w/v	Wen et al. (2019)
Coffee silverskin	Total phenolics, total flavonoids	Ethanol:water	40	—	120	20	10:50 g/mL	Nzekoue et al. (2020)
Coffee silverskin	Total phenolics	Deionized water	20	60	9	20	—	Biondić Fučkar et al. (2023)
Spent espresso coffee ground	Total phenolics	Methanol:water	37	150	60	20	1:50 g/mL	Severini et al. (2017)
Spent coffee ground	Total phenolics, total flavonoids	Ethanol	20	244	34	40	1:17 g/mL	Al-Dhabi et al. (2017)
Spent coffee ground	Total phenolics, total flavonoids	Methanol:water	40	—	120	20	10:50 g/mL	Zengin et al. (2020)
Spent coffee ground	Caffeine	Distilled water	20	90	30	55	1:20 g/mL	Hassan and Al-Yaqoobi (2023)

Khochapong et al. (2021) homogenized the coffee pulp and used water extraction at the ratio of 1:2 (w/v) to extract phenolics from the coffee pulp at room temperature via solid-liquid extraction technique. The TPC recovered from the coffee pulp was found to be 11.3 mg GAE/g extract of dry weight. Solid-liquid extraction was done with hot water at 85 °C for 15 min to increase the extraction efficiency and recovery of phenolic compounds from the coffee pulp, but high temperatures lowered the TPC of coffee pulp extract to 9.2 mg GAE/g extract of dry weight (Heeger et al., 2017). Tran et al. (2022) employed the ultrasound-assisted extraction technique to extract phenolics and flavonoids from the coffee pulp, and the optimal conditions for the maximum recovery of total phenolic and flavonoid compounds yielded at a temperature of 60 °C, an ultrasonic time of 35 min and an ultrasonic power of 250 W, where the TPC and TFC reached 20.9 mg GAE/g extract of dry weight and 18.8 mg CE/g extract of dry weight, respectively. This demonstrated that, in comparison to the solid-liquid extraction method, the recovery of bioactive chemicals from the coffee pulp was nearly doubled by the ultrasound-assisted extraction method.

The phenolic and flavonoid compounds from the coffee parchment were extracted using the solid-liquid extraction technique, where the hot water at 100 °C for 90 min yielded the maximum TPC of 2.04 mg GAE/g of dry weight and the maximum TFC of 1.61 mg CE/g of dry weight (Aguilera et al., 2019). Benyelles et al. (2024) used ultrasonic-assisted extraction to recover total phenolics from coffee parchment using distilled water, where they used an ultrasonic power of 160 W, a frequency of 35 kHz, a temperature of 40 °C and an ultrasonic period of 30 min, yielding a TPC of 79.5 mg GAE/g of dry weight. These results revealed that the ultrasonic-assisted extraction considerably increased the recovery of TPC from the coffee parchment.

Hot water extraction of phenolics and flavonoids at 100 °C for a duration of 90 min from the coffee husk gave the maximum recoveries for TPC and TFC, which are 6.31 mg GAE/g of dry weight

and TFC of 11.01 mg CE/g of dry weight (Rebollo-Hernanz et al., 2021). The extraction of TPC from the coffee husk in presence of ethanol was carried out using the ultrasound-assisted extraction at a power of 60 W and a frequency of 55 kHz for 120 min at 20 °C, and the TPC of 133.4 mg CGAE/g of dry weight from the coffee husk was obtained (Andrade et al., 2012). TPC of 97.9 mg CGAE/g of dry weight was extracted from the coffee husk with ethanol-water solution using ultrasound-assisted extraction, which was performed at 35 °C for 60 min at a frequency of 40 kHz and a power of 220 W (Silva et al., 2020). These findings showed that ultrasound-assisted extraction is a more powerful technique for extracting phenolic compounds from coffee husk than hot water extraction.

The solid-liquid extraction of the phenolic compounds from the coffee silverskin using different combinations of solvents (water, ethanol and aqueous solutions of ethanol), temperatures and contact times gave a maximum TPC of 16 mg GAE/g of dry weight (Costa et al., 2014). The ultrasound-assisted extraction of the phenolics from the coffee silverskin at 20 °C for 120 min at an ultrasonic frequency of 40 kHz varied with respect to solvent type and solvent concentration, where water yielded the lowest TPC of 40.4 mg GAE/g extract of dry weight while ethanol:water (70:30) solution gave the highest TPC of 73.4 mg GAE/g extract of dry weight (Nzekoue et al., 2020). In contrast, Wen et al. (2019) and Biondić Fučkar et al. (2023) found lower TPC values for the ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from the coffee silverskin. This is mostly likely due to short extraction times, which do not allow complete recovery of phenolics from the coffee silverskin.

The solvent extraction of spent espresso coffee ground with ethanol-water (60:40) solution yielded a TPC of 24.25 mg GAE/g of dry weight (Zuorro, 2015). The TPC of spent coffee ranged from 19.3 to 25.5 mg GAE/g of dry weight when the spent coffee was extracted with methanol-water (60:40) solution at 60 °C for 90 min (Choi and Koh, 2017). In a similar study, the TPC values of spent coffee grounds varied between 9 and 29

mg GAE/g of dry weight depending on the coffee variety, where the solvent extraction was conducted at 60 °C for 15 min using ethanol-water (25:75) solution as the solvent (Ramón-Gonçalves et al., 2019). For the spent coffee ground extracts, the highest TPC value (587.7 mg CAE/g of dry weight) was obtained by the ultrasound-assisted extraction with ethanol as compared to the TPC value (119.5 mg CAE/g of dry weight) of the spent coffee ground extract obtained by the Soxhlet extraction (Andrade et al., 2012). An ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from spent espresso coffee ground was achieved at 20 °C for 60 min using methanol-water (45:55) solution, which yielded a TPC of nearly 25 GAE/g of dry weight where the ultrasonic pulse time was less than 7.5 min (Severini et al., 2017). The low treatment temperature and short ultrasonic pulse time considerably reduced the recovery of phenolic compounds from the spent espresso coffee ground. A TPC of 36.17 mg GAE/g of dry weight and a TFC of 4.47 mg QE/g of dry weight from spent espresso coffee ground were obtained by using ultrasound-assisted extraction at an ultrasonic power of 244 W, a frequency of 20 kHz and 40 °C for the contact time of 34 min using ethanol as a solvent (Al-Dhabi et al., 2017). The ultrasound-assisted extraction of the phenolics and flavonoids from spent coffee ground at an ultrasonic frequency of 40 kHz and 20 °C for 120 min varied with respect to solvent type and solvent concentration, where methanol:water (50:50) solution yielded the highest TPC of 93.26 mg GAE/g extract of dry weight while methanol and ethanol:water (70:30) solution gave the highest TFC of 4.37 mg rutin equivalent (RE)/g extract of dry weight (Zengin et al., 2020). In a recent study, Hassan and Al-Yaqoobi (2023) compared the extraction efficiencies of ultrasonic probe and ultrasonic bath in extraction of caffeine from spent coffee ground, and determined that if the extraction time was 30 min, the ultrasonic probe was more efficient than the ultrasonic bath whereas if the extraction time increased to 60 min, the ultrasonic bath was better than the ultrasonic probe because after 30 min, the ultrasonic probe causes the degradation of caffeine.

Results showed that the ultrasound-assisted extraction ensures better recovery of phenolics and flavonoids from different coffee wastes than the solid-liquid extraction. Regarding the extraction efficiency of the ultrasound-assisted extraction on the recovery of phenolic and flavonoid compounds from various coffee wastes, studies compiled show that ultrasound-assisted extraction technique is highly efficient and beneficial method of extraction in the extraction of bioactive compounds from coffee wastes.

CONCLUSION

Coffee has a great importance and consumption rate throughout the world. The coffee industry produces significant amounts of waste, and these wastes include waste from post-harvest processing, coffee roasting, immature/defective beans, coffee husk, pulp, mucilage, parchment, silverskin and spent coffee grounds. Coffee waste is rich in phenolics and flavonoids, and extraction of bioactive compounds from coffee waste not only contributes to the recovery of valuable compounds but also reduces environmental concerns associated with high coffee waste produced by the coffee industry. Ultrasound-assisted extraction stands out as an effective extraction technique for obtaining phenolic and flavonoid compounds from coffee waste. Solvent type, solid-solvent ratio, extraction temperature, extraction time, ultrasonic power and ultrasonic frequency are important parameters influencing the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds. Optimizing the ultrasound-assisted extraction conditions of phenolics and flavonoids from coffee waste will provide phenolics and flavonoids with higher antioxidant activity and higher efficiency. The ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from coffee waste will also reduce environmental concerns associated with high coffee waste produced by the coffee industry.

CONFLICT OF INTEREST

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

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Murat Özdemir contributed to the planning, writing-original draft, writing-review and editing, proofreading and supervision. Rabia Yıldırım, Rümeyya Yurttaş, Duygu Başargan and Mustafa Barış Hacı equally contributed to the writing of the manuscript.

REFERENCES

- Abdelatif, S.A., SirElkhatim, K.A., Hassan, A.B. (2018). Estimation of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity of spent coffee and black tea (processing) waste for potential recovery and reuse in Sudan. *Recycling*, 3(2): 27. <https://doi.org/10.3390/recycling3020027>
- Aguilera, Y., Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Martín-Cabrejas, M.A. (2019). Response surface methodology to optimise the heat-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from coffee parchment and their comprehensive analysis. *Food and Function*, 10(8): 4739–4750. <https://doi.org/10.1039/c9fo00544g>
- Al-Dhabi, N.A., Ponmurugan, K., Jeganathan, P.M. (2017). Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.05.005>
- Alves, R.C., Rodrigues, F., Nunes, M.A., Vinha, A.F., Oliveira, M.B.P. (2017). State of the art in coffee processing by-products. In: *Handbook of Coffee Processing By-Products Sustainable Applications*, Galanakis, C.M. (ed.), Academic Press, UK, pp. 1–26. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811290-8.00001-3>
- Andrade, K.S., Gonçalves, R.T., Maraschin, M., Ribeiro-do-Valle, R.M., Martínez, J., Ferreira, S.R. (2012). Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. *Talanta*, 88: 544–552. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.031>
- Arya, S.S., Venkatram, R., More, P.R., Vijayan, P. (2022). The wastes of coffee bean processing for utilization in food: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 59: 422–429. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05032-5>
- Battista, F., Zanzoni, S., Strazzera, G., Andreolli, M., Bolzonella, D. (2020). The cascade biorefinery approach for the valorization of the spent coffee grounds. *Renewable Energy*, 157: 1203–1211. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.113>
- Beaudor, M., Vauchel, P., Pradal, D., Aljawish, A., Phalip, V. (2023). Comparing the efficiency of extracting antioxidant polyphenols from spent coffee grounds using an innovative ultrasound-assisted extraction equipment versus conventional method. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 188: 109358. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2023.109358>
- Benincá, D.B., do Carmo, L.B., Grancieri, M., Aguiar, L.L., Lima Filho, T., Costa, A.G.V., da Silva Oliveira, D., Saraiva, S.H., Silva, P.I. (2023). Incorporation of spent coffee grounds in muffins: A promising industrial application. *Food Chemistry Advances*, 3: 100329. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100329>
- Benitez, V., Rebollo-Hernanz, M., Hernanz, S., Chantres, S., Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M.A. (2019). Coffee parchment as a new dietary fiber ingredient: Functional and physiological characterization. *Food Research International*, 122: 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.002>
- Benyelles, M., Merzouk, H., Merzouk, A.Z., Imessaoudene, A., Medjdoub, A., Mebarki, A. (2024). Valorization of encapsulated coffee parchment extracts as metabolic control for high fructose diet-induced obesity, using Wistar rat as animal model. *Waste and Biomass Valorization*, 15(1): 265–281. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2327126/v1>
- Bhadange, Y.A., Saharan, V.K., Sonawane, S.H., Boczkaj, G. (2022). Intensification of catechin extraction from the bark of *Syzygium cumini* using ultrasonication: Optimization, characterization, degradation analysis and kinetic studies. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 181: 109147. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.109147>

- Biondić Fučkar, V., Nutrizio, M., Grudenčić, A., Djekić, I., Režek Jambrak, A. (2023). Sustainable ultrasound assisted extractions and valorization of coffee silver skin (CS). *Sustainability*, 15(10): 8198. <https://doi.org/10.3390/su15108198>
- Bondam, A.F., Da Silveira, D.D., Santos, J.C.D., Hoffmann, J.F. (2022). Phenolic compounds from coffee by-products: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. *Trends in Food Science and Technology*, 123: 172–186. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.013>
- Bouhzam, I., Cantero, R., Margallo, M., Aldaco, R., Bala, A., Fullana-i-Palmer, P., Puig, R. (2023). Extraction of bioactive compounds from spent coffee grounds using ethanol and acetone aqueous solutions. *Foods*, 12(24): 4400. <https://doi.org/10.3390/foods12244400>
- Buvaneshwaran, M., Radhakrishnan, M., Natarajan, V. (2023). Influence of ultrasound-assisted extraction techniques on the valorization of agro-based industrial organic waste—A review. *Journal of Food Process Engineering*, 46(6): e14012. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14012>
- Carrasco-Cabrera, C.P., Bell, T.L., Kertesz, M.A. (2019). Caffeine metabolism during cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with spent coffee grounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103: 5831–5841. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09883-z>
- Carreira-Casais, A., Carpena, M., Pereira, A.G., Chamorro, F., Soria-Lopez, A., Perez, P.G., Otero, P., Cao, H., Xiao, J., Simal-Gandara, J., Prieto, M.A. (2021). Critical variables influencing the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds—a review. *Chemistry Proceedings*, 5(1): 50. <https://doi.org/10.3390/CSAC2021-10562>
- Chávez-Martínez, A., Reyes-Villagrana, R.A., Rentería-Monterrubio, A.L., Sánchez-Vega, R., Tirado-Gallegos, J.M., Bolívar-Jacobo, N.A. (2020). Low and high-intensity ultrasound in dairy products: applications and effects on physicochemical and microbiological quality. *Foods*, 9(11): 1688. <https://doi.org/10.3390/foods9111688>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chen, C.Y., Shih, C.H., Lin, T.C., Zheng, J.H., Hsu, C.C., Chen, K.M., Lin, Y.S., Wu, C.T. (2021). Antioxidation and tyrosinase inhibitory ability of coffee pulp extract by ethanol. *Journal of Chemistry*, 2021(1): 8649618. <https://doi.org/10.1155/2021/8649618>
- Choi, B., Koh, E. (2017). Spent coffee as a rich source of antioxidative compounds. *Food Science and Biotechnology*, 26(4): 921–927. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0144-9>
- Costa, A.S.G., Alves, R.C., Vinha, A.F., Barreira, S.V.P., Nunes, M.A., Cunha, L.M., Oliveira, M.B.P.P. (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53: 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.006>
- Dauber, C., Romero, M., Chaparro, C., Ureta, C., Ferrari, C., Lans, R., Frugoni, L., Echeverry, M.V., Sánchez Calvo, B., Trostchansky, A., Miraballes, M., Gámbaro, A., Vieitez, I. (2024). Cookies enriched with coffee silverskin powder and coffee silverskin ultrasound extract to enhance fiber content and antioxidant properties. *Applied Food Research*, 4(1): 100373. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100373>
- Franca, A.S., Oliveira, L.S. (2022). Potential uses of spent coffee grounds in the food industry. *Foods*, 11(14): 2064. <https://doi.org/10.3390/foods11142064>
- Geremu, M., Tola, Y.B., Sualeh, A. (2016). Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3: 25. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0077-1>

- Hassan, S.R., Al-Yaqoobi, A.M. (2023). Assessment of ultrasound-assisted extraction of caffeine and its bioactivity. *Journal of Ecological Engineering*, 24(3): 126–133. <https://doi.org/10.12911/22998993/157540>
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., Andlauer, W. (2017). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221: 969–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>
- Hoseini, M., Cocco, S., Casucci, C., Cardelli, V., Corti, G. (2021). Coffee by-products derived resources-A review. *Biomass and Bioenergy*, 148: 106009. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106009>
- Hu, S., Gil-Ramírez, A., Martín-Trueba, M., Benítez, V., Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M.A. (2023). Valorization of coffee pulp as bioactive food ingredient by sustainable extraction methodologies. *Current Research in Food Science*, 6: 100475. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100475>
- Iriondo-DeHond, A., Garcia, N.A., Fernandez-Gomez, B., Guisantes-Batan, E., Escobar, F.V., Blanch, G.P., Andres, M.I.S., Sanchez-Fortun, S., del Castillo, M.D. (2019). Validation of coffee by-products as novel food ingredients. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 51: 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.010>
- Janissen, B., Huynh, T. (2018). Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 128: 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.001>
- Jha, A.K., Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 119: 579–591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Johnson, K., Liu, Y., Lu, M. (2022). A review of recent advances in spent coffee grounds upcycle technologies and practices. *Frontiers in Chemical Engineering*, 4: 838605. <https://doi.org/10.3389/fceng.2022.838605>
- Kc, Y., Subba, R., Shiwakoti, L.D., Dhungana, P.K., Bajagain, R., Chaudhary, D.K., Pant, B.R., Bajgai, T.R., Lamichhane, J., Timilsina, S., Upadhyaya, J., Dahal, R.H. (2021). Utilizing coffee pulp and mucilage for producing alcohol-based beverage. *Fermentation*, 7(2): 53. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020053>
- Khochapong, W., Ketnawa, S., Ogawa, Y., Punbusayakul, N. (2021). Effect of *in vitro* digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extract. *Food Chemistry*, 348: 129094. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129094>
- Klingel, T., Kremer, J.I., Gottstein, V., Rajcic de Rezende, T., Schwarz, S., Lachenmeier, D. W. (2020). A review of coffee by-products including leaf, flower, cherry, husk, silver skin, and spent grounds as novel foods within the European Union. *Foods*, 9(5): 665. <https://doi.org/10.3390/foods9050665>
- Kobus, Z., Krzywicka, M., Pecyna, A., Buczaj, A. (2021). Process efficiency and energy consumption during the ultrasound-assisted extraction of bioactive substances from hawthorn berries. *Energies*, 14(22): 7638. <https://doi.org/10.3390/en14227638>
- Kovalcik, A., Obruca, S., Marova, I. (2018). Valorization of spent coffee grounds: A review. *Food and Bioproducts Processing*, 110: 104–119. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.05.002>
- Lauberts, M., Mierina, I., Pals, M., Latheef, M.A.A., Shishkin, A. (2023). Spent coffee grounds valorization in biorefinery context to obtain valuable products using different extraction approaches and solvents. *Plants*, 12(1): 30. <https://doi.org/10.3390/plants12010030>
- Lee, Y.G., Cho, E.J., Maskey, S., Nguyen, D.T., Bae, H.J. (2023). Value-added products from coffee waste: a review. *Molecules*, 28(8): 3562. <https://doi.org/10.3390/molecules28083562>
- Liu, Q., Jiang, J., Tang, L., Chen, M. (2020). The effect of low frequency and low intensity ultrasound combined with microbubbles on the sonoporation efficiency of MDA-MB-231 cells.

- Annals of Translational Medicine*, 8(6): 298. <https://doi.org/10.21037/atm.2020.02.155>
- Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H., Oomah, B.D. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science and Technology*, 45(1): 24–36. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.012>
- Machado, M., Espírito Santo, L., Machado, S., Lobo, J.C., Costa, A.S.G., Oliveira, M.B.P.P., Ferreira, H., Alves, R.C. (2023). Bioactive potential and chemical composition of coffee by-products: from pulp to silverskin. *Foods*, 12(12): 2354. <https://doi.org/10.3390/foods12122354>
- Martinez-Saez, N., García, A.T., Pérez, I.D., Rebollo-Hernanz, M., Mesías, M., Morales, F.J., Martín-Cabrejas, M.A., del Castillo, M.D. (2017). Use of spent coffee grounds as food ingredient in bakery products. *Food Chemistry*, 216: 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.173>
- Martuscelli, M., Esposito, L., Di Mattia, C.D., Ricci, A., Mastrocola, D. (2021). Characterization of coffee silver skin as potential food-safe ingredient. *Foods*, 10: 1367. <https://doi.org/10.3390/foods10061367>
- McDonald, K., Langenbahn, H.J., Miller, J.D., McMullin, D.R. (2022). Phytosterol oxidation products from coffee silverskin. *Journal of Food Science*, 87(2): 728–737. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16042>
- McNutt, J., He, Q. (2019). Spent coffee grounds: A review on current utilization. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 71: 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.11.054>
- Mensah, R.Q., Tantayotai, P., Rattanaporn, K., Chueter, S., Kirdponpattara, S., Kchaou, M., Show, P.L., Mussatto, S.I., Sriariyanun, M. (2024). Properties and applications of green-derived products from spent coffee grounds—Steps towards sustainability. *Bioresource Technology Reports*, 26: 101859. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2024.101859>
- Murthy, P.S., Naidu, M.M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66: 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>
- Myo, H., Khat-Udomkiri, N. (2022). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee pulp using propylene glycol as a solvent and their antioxidant activities. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89: 106127. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106127>
- Narita, Y., Inouye, K. (2014). Review on utilization and composition of coffee silverskin. *Food Research International*, 61: 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>
- Niazi, S., Hashemabadi, S.H., Noroozi, S. (2014). Numerical simulation of operational parameters and sonoreactor configurations for the highest possibility of acoustic cavitation in crude oil. *Chemical Engineering Communications*, 201(10): 1340–1359. <https://doi.org/10.1080/00986445.2013.808999>
- Nurzyńska-Wierdak, R. (2023). Phenolic compounds from new natural sources—Plant genotype and ontogenetic variation. *Molecules*, 28(4): 1731. <https://doi.org/10.3390/molecules28041731>
- Nzekoue, F.K., Angeloni, S., Navarini, L., Angeloni, C., Freschi, M., Hrelia, S., Vitali, L.A., Sagratini, G., Vittori, S., Caprioli, G. (2020). Coffee silverskin extracts: Quantification of 30 bioactive compounds by a new HPLC-MS/MS method and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Food Research International*, 133: 109128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109128>
- Okur, İ., Söyler, B., Sezer, P., Öztö, M.H., Alpas, H. (2021). Improving the recovery of phenolic compounds from spent coffee grounds (SCG) by environmentally friendly extraction techniques. *Molecules*, 26(3): 613. <https://doi.org/10.3390/molecules26030613>
- Oliveira, G., Passos, C.P., Ferreira, P., Coimbra, M.A., Gonçalves, I. (2021). Coffee by-products and their suitability for developing active food packaging materials. *Foods*, 10(3): 683. <https://doi.org/10.3390/foods10030683>

- Oroian, M., Ursachi, F., Dranca, F. (2020). Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time, and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64: 105021. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105021>
- Ozdemir, M., Gungor, V., Melikoglu, M., Aydinler, C. (2024). Solvent selection and effect of extraction conditions on ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from galangal (*Alpinia officinarum*). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 38: 100525. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2023.100525>
- Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17): 4162–4168. <https://doi.org/10.1021/jf4005719>
- Pimpley, V.A., Murthy, P.S. (2021). Influence of green extraction techniques on green coffee: Nutraceutical compositions, antioxidant potential and *in vitro* bio-accessibility of phenolics. *Food Bioscience*, 43: 101284. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101284>
- Ramón-Gonçalves, M., Gómez-Mejía, E., Rosales-Conrado, N., León-González, M.E., Madrid, Y. (2019). Extraction, identification and quantification of polyphenols from spent coffee grounds by chromatographic methods and chemometric analyses. *Waste Management*, 96: 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.009>
- Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Benítez, V., Bartolomé, B., Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M.A. (2021). Revalorization of coffee husk: Modeling and optimizing the green sustainable extraction of phenolic compounds. *Foods*, 10(3): 653. <https://doi.org/10.3390/foods10030653>
- Serna-Jiménez, J.A., Siles, J.A., de los Ángeles Martín, M., Chica, A.F. (2022). A review on the applications of coffee waste derived from primary processing: Strategies for revalorization. *Processes*, 10(11): 2436. <https://doi.org/10.3390/pr10112436>
- Severini, C., Derossi, A., Fiore, A.G. (2017). Ultrasound-assisted extraction to improve the recovery of phenols and antioxidants from spent espresso coffee ground: a study by response surface methodology and desirability approach. *European Food Research and Technology*, 243(5): 835–847. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2797-7>
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H., Ren, X. (2023). A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101: 106646. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106646>
- Silva, M.D.O., Honfoga, J.N.B., Medeiros, L.L.D., Madruga, M.S., Bezerra, T.K.A. (2020). Obtaining bioactive compounds from the coffee husk (*Coffea arabica* L.) using different extraction methods. *Molecules*, 26(1): 46. <https://doi.org/10.3390/molecules26010046>
- Solomakou, N., Loukri, A., Tsafrakidou, P., Michaelidou, A.-M., Mourtzinis, I., Goula, A.M. (2022). Recovery of phenolic compounds from spent coffee grounds through optimized extraction processes. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 25: 100592. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100592>
- Tran, T.M.K., Akanbi, T.O., Kirkman, T., Nguyen, M.H., Vuong, Q.V. (2022). Recovery of phenolic compounds and antioxidants from coffee pulp (*Coffea canephora*) waste using ultrasound and microwave-assisted extraction. *Processes*, 10(5): 1011. <https://doi.org/10.3390/pr10051011>
- Tran, T.M.K., Kirkman, T., Nguyen, M., Van Vuong, Q. (2020). Effects of drying on physical properties, phenolic compounds and antioxidant capacity of Robusta wet coffee pulp (*Coffea canephora*). *Heliyon*, 6(7): e04498. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04498>
- Wen, L., Zhang, Z., Rai, D., Sun, D.W., Tiwari, B.K. (2019). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from coffee silverskin: Impact on phenolic content,

antioxidant activity, and morphological characteristics. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6): e13191. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13191>

Worku, M. (2023). Production, productivity, quality and chemical composition of Ethiopian coffee. *Cogent Food and Agriculture*, 9(1): 2196868. <https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2196868>

Yang, A., Zhang, Z., Jiang, K., Xu, K., Meng, F., Wu, W., Li, Z., Wang, B. (2024). Study on ultrasound-assisted extraction of cold brew coffee using physicochemical, flavor, and sensory evaluation. *Food Bioscience*, 61: 104455. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104455>

Yusufoğlu, B., Kezer, G., Wang, Y., Ziora, Z.M., Esatbeyoglu, T. (2024). Bio-recycling of spent coffee grounds: Recent advances and potential applications. *Current Opinion in Food Science*, 55: 101111. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101111>

Zahari, N.A.A.R., Chong, G.H., Abdullah, L.C., Chua, B.L. (2020). Ultrasound-assisted extraction (UAE) process on thymol concentration from *Plectranthus amboinicus* leaves: Kinetic modeling and optimization. *Processes*, 8(3): 322. <https://doi.org/10.3390/pr8030322>

Zamanipoor, M.H., Yakufu, B., Tse, E., Rezaeimotlagh, A., Hook, J.M., Bucknall, M.P., Thomas, D.S., Trujillo, F.J. (2020). Brewing coffee?—Ultra-sonication has clear beneficial

effects on the extraction of key volatile aroma components and triglycerides. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60: 104796. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104796>

Zengin, G., Sinan, K.I., Mahomoodally, M.F., Angeloni, S., Mustafa, A.M., Vittori, S., Maggi, F., Caprioli, G. (2020). Chemical composition, antioxidant and enzyme inhibitory properties of different extracts obtained from spent coffee ground and coffee silverskin. *Foods*, 9(6): 713. <https://doi.org/10.3390/foods9060713>

Zuorro, A. (2015). Optimization of polyphenol recovery from espresso coffee residues using factorial design and response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 152: 64–69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2015.08.016>

Zuorro, A., Lavecchia, R. (2013). Influence of extraction conditions on the recovery of phenolic antioxidants from spent coffee grounds. *American Journal of Applied Sciences*, 10(5): 478–486. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2013.478.486>

Zupanc, M., Pandur, Ž., Perdih, T.S., Stopar, D., Petkovšek, M., Dular, M. (2019). Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57: 147–165. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>

STEVIA REBAUDIANA EKSTRAKTI İLE TATLANDIRILMIŞ VEGAN DONDURMANIN FİZİKSEL VE DUYUSAL KALİTE ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Emine OLUM^{1*}, Hilal ATA², Arhan UZUN¹, Elvan SÖNMEZ¹

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Güzel Sanatlar Tasarım ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Maysa Gıda Ar-Ge Merkezi, Tuzla-İstanbul, Türkiye

Geliş / Received 26.03.2024; Kabul / Accepted: 14.01.2025; Online baskı / Published online: 28.01.2025

Olum, E., Ata, H., Uzun, A., Sönmez, A. (2025). *Stevia rebaudiana* ekstraktı ile tatlandırılmış vegan dondurmanın fiziksel ve duyuşsal kalite özelliklerinin değerlendirilmesi. *GIDA* (2025) 50 (1) 74-86 doi: 10.15237/ gida.GD24035

Olum, E., Ata, H., Uzun, A., Sönmez, A. (2025). *Evaluation of the physical and sensory quality characteristics of vegan ice cream sweetened with Stevia rebaudiana*. *GIDA* (2025) 50 (1) 74-86 doi: 10.15237/ gida.GD24035

ÖZ

Dondurma besin değeri yüksek bir sütlü tatlı olmasına rağmen veganlar, süt alerjisi olan bireyler ve içerdiği yüksek rafine şeker sebebiyle diyabetik hastalar tarafından tüketilemeyen bir gıdadır. Bu çalışmada, *Stevia rebaudiana* ve bitki sütü alternatifi olarak yulaf kullanılarak şekeriz ve şekeri azaltılmış vegan dondurmalar geliştirmek hedeflenmiştir. Vegan ve şekeriz dondurmalar, chia tohumu, stabilizatör, stevia ve yulaf sütü kullanılarak kabul edilebilir duyuşsal ve tekstürel özellikler elde etmek amacıyla formüle edilmiştir. Analizler, sakkarozun °Brix değerini artırırken erime direncini azalttığını ortaya koymuştur. Stabilizatörlerin hacim artışı ve viskozite üzerinde olumlu etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Ancak stevia'nın tatlandırıcı olarak kullanımının tatlılık ve diğer duyuşsal özellikleri olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Chia tohumu ve stevia kombinasyonunun erime oranı ve hacim artışı üzerinde iyileştirici etkiler sağladığı görülmüştür. Sonuçlar, chia ve stevia'nın duyuşsal kalite üzerinde olumsuz sonuçlar duyurmasına rağmen fiziksel kaliteyi iyileştirdiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Chia tohumu, endüstriyel stabilizatör, hacim artış oranı, erime direnci, duyuşsal analiz

EVALUATION OF THE PHYSICAL AND SENSORY QUALITY CHARACTERISTICS OF VEGAN ICE CREAM SWEETENED WITH STEVIA REBAUDIANA

ABSTRACT

Ice cream is a nutrient-dense dairy dessert, but it is not suitable for vegans, individuals with milk allergies, or diabetic patients due to its high refined sugar content. This study aims to develop sugar-free and reduced-sugar vegan ice creams using *Stevia rebaudiana* and oat milk as a plant-based alternative to dairy. Vegan and sugar-free ice creams were formulated using chia seeds, stabilizers,

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: eolum@medipol.edu.tr

☎: (+90) 0543 381 72 10

Emine Olum; ORCID no: 0000-0002-7188-817X

Hilal Ata; ORCID no: 0009-0002-6093-0245

Arhan Uzun; ORCID no: 0009-0009-5301-598

Elvan Sönmez; ORCID no: 0009-0008-5561-9501

stevia, and oat milk to achieve desirable sensory and textural properties. The analysis revealed that sucrose increased the °Brix value while reducing the melting resistance. Stabilizers had a positive effect on overrun and viscosity. However, the use of stevia as a sweetener decreased the sweetness and other sensory attributes. The combination of chia seeds and stevia ensured improvements in melting rate and overrun. The results indicated that, although chia and stevia had negative effects on sensory quality, they improved the physical quality.

Keywords: Chia seed, industrial stabilizer, overrun, melting resistance, sensory evaluation

GİRİŞ

Son yıllarda dünya genelinde gıda tercihi, yeme içme alışkanlıkları ve beslenme biçimlerinde hızlı değişimler gerçekleşmiştir. Gerek yiyecek ve içecek sektörü gerekse gıda üretimi yapan firmaların bu değişimlere cevap vermeye yönelik yenilikçi ürün geliştirme çalışmaları yapması, değişen tüketici taleplerini karşılamak ve piyasada tutunmak için adeta bir gereklilik haline gelmiştir.

Beslenme alışkanlıklarındaki değişimin temelinde, sürdürülebilirlik kaygısı, hayvan refahı, sağlık endişeleri ve gıda alerjileri gibi faktörler yer almakta ve bu durum geleneksel olan hayvansal gıdaların da yer aldığı diyet alışkanlığının bitki kökenli alternatifler yönünde değişim yaşaması sonucunu doğurmuştur. Hayvansal gıda üretim tesisleri biyoçeşitliliğin tehlikeye girmesi, sera gazı emisyonunun artışı gibi sonuçlar yanında atık yönetiminin yetersizliği sebebiyle yer altı sularının kirlenmesine sebep olarak çevreye büyük oranda zarar vermektedir. Hayvansal gıda üretim tesislerinin sera gazı emisyonunun tüm taşımacılık sisteminin gaz salınımından daha yüksek bir yüzdeye sahip olduğu belirtilmektedir (Judge ve Wilson, 2015; Goldstein vd., 2016; Saari vd., 2021). Alternatif bitki bazlı ürün pazarı tüketicilerin hayvan refahı, çevresel sürdürülebilirlik ve sağlık açısından bilinç düzeylerinin artmasıyla birlikte büyüme göstermiştir (Ulhas vd., 2023). Küresel vegan gıda pazarının büyüklüğü 2023 yılında 27 milyar dolara ulaşırken bunun 2032 ye kadar 64 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (Expert market research, 2023). Artan bu talebe karşın özellikle ülkemizde gerek perakende satış gerekse yiyecek içecek sektörünün diğer kollarında vegan ürün çeşitliliğinin azlığı ve var olan ürünlerin duyu kalitesinin yetersizliği dikkat çekmektedir. Özellikle hayvansal gıdaların önemli bir bileşen olduğu sütü tatlılar, dondurma, peynir, et ve et ürünleri gibi ürünlerde yeterli bitki alternatiflerin

bulunmaması, artan talebi karşılamak adına ürün geliştirme çalışmalarını gerekli kılmaktadır. Son yıllarda bitki bazlı hammaddelerin ve gıda ingrediyenlerinin ürün geliştirme çalışmalarında kullanımı ile vegan ürünlerin pazar potansiyeli ortaya koyulmuştur (Väkeväinen vd., 2020; Shim vd., 2021; Boukid vd., 2022; Kale vd., 2022; Puangwerakul vd., 2022). Popülerleşen bitki bazlı gıda alternatiflerinden biri de vegan dondurmadır. 2025'e kadar dünya genelinde vegan dondurma pazarının 1.2 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Bullock vd., 2020). Pazarın büyüme potansiyeline rağmen vegan dondurma veya donmuş tatlı formülasyonu geliştirilmesine yönelik kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur (Medeiros vd., 2019; Kot vd., 2021; Anwar vd., 2022; Beegum vd., 2022; Craig ve Brothers, 2022; Mendonça vd., 2022; Erem vd., 2023; Hidas vd., 2023).

Tüketici bilicinin artmasıyla insan sağlığını korumaya ve sağlıklı yaşamı sürdürme hedefine yönelik beslenme alışkanlıklarında meydana gelen değişimler, diyetle rafine şeker kullanımını azaltmayı veya tamamen ortadan kaldırmayı da kapsamaktadır. Küresel düzeyde hızla artan ve önemli bir sorun olarak görülen diyabet, yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları ile yakından ilişkilidir. 2030 yılına kadar dünya genelinde diyabetli hasta sayısının 430 milyona ulaşması beklenmektedir (Shaw vd., 2010; Bobiş vd., 2017). Dünya sağlık örgütü dış hastalıkları, diyabet ve kalp-damar hastalıkları riskinin azaltılması açısından diyetle alınan basit şeker miktarının azaltılmasını tavsiye etmektedir (WHO, 2015). Diyetle alınan şeker miktarını azaltmaya yönelik yaklaşımların başında kalorisi olmayan doğal veya yapay tatlandırıcıların kullanımı gelmektedir. 2023 yılı Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınladığı raporda şeker olmayan gıda tatlandırıcılarının (acesulfame K, aspartam, advantame, siklamat, neotame, sakarin, sukraloz, stevia ve stevia türevleri) kilo

alımını azaltma ve bir takım kronik hastalıkları önlemeye yönelik etkisiz veya tersi yönde bir etki göstermesi sebebiyle kullanımını tavsiye edilmemiştir (WHO, 2023). Ancak bu raporda stevia ve stevia glikozitleri hakkında kaynak gösterilen yalnızca iki yayın olmakla birlikte bu iki bilimsel araştırmada stevia kullanımının sağlık açısından olumlu sonuçları ortaya koyulmuştur (Vandana vd., 2017; Cocco vd., 2019). Steviol glikozitleri *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisinin doğal ekstraktı olmakla birlikte E960 kodlu doğal bir tatlandırıcıdır (Edwards vd., 2016). Sakkarozdan 250 kat daha tatlı olan steviol glikozitler FDA tarafından kullanımı güvenli kabul edilmiş (GRAS) ve JECFA tarafından günlük alım limiti kg vücut ağırlığı başına 4 mg olarak belirlenmiştir (Fitch vd., 2012). Steviol glikozitler gibi şeker olmayan kalorisiz doğal tatlandırıcıların metabolizmada herhangi bir toksik etki oluşturmadığı, bağırsaklardaki bakteriler tarafından sindirilebildiği, antioksidan, antimikrobiyel, anti-inflamasyon, antikanser ve antialerjik etkilerinden dolayı diğer yapay tatlandırıcılardan ayrıldığı bilinmektedir (Muñoz - Labrador vd., 2023).

Sağlıklı bir diyet için şeker kullanımının azaltılması amacıyla şeker ilavesiz alternatif doğal veya yapay tatlandırıcılarla tatlandırılmış dondurma formülasyonu geliştirilmesine yönelik bazı çalışmalar mevcuttur (Pintor vd., 2017; Khan vd., 2018; Arseneva vd., 2019; Gençdağ vd., 2021; Swarup vd., 2021; Atallah vd., 2022; Long vd., 2023). Diğer yandan literatürde vegan dondurma üretimine yönelik kısıtlı çalışma bulunmasına rağmen vegan ve şekersiz dondurma formülasyonu geliştirilmesine yönelik yalnızca bir çalışma bulunmaktadır (Velotto vd., 2021). Söz konusu çalışmada chia ve hindistan cevizi yağı ile elde edilen dondurma karışımı stevia ile tatlandırılmıştır. Chia tohumunun soğuk şartlarda kıvam arttırma özelliği gösterdiği bilinmektedir. Ancak endüstriyel dondurma üretiminde tüm bileşenlerin pastörize edilmesi ürünün mikrobiyal güvenliği açısından kritik bir öneme sahiptir. Dolayısıyla chia'nın soğuk ortamda kıvam arttırma özelliğinden faydalanılması endüstriyel üretim için risk doğurabilir.

Bu çalışmada stevia ile tatlandırılmış vegan dondurma formülasyonunun hazırlanmasında yulaftan elde edilen bitki bazlı süt alternatifi tercih edilmiştir. Dondurmadan beklenen fiziksel özellikleri sağlamak için endüstriyel stabilizatör karışımı ile chia tohumu ayrı ayrı kullanılmıştır. Ayrıca, yulaf sütünün düşük kuru madde miktarını dengelemek amacıyla karışıma inülin eklenmiştir. Bu araştırmanın amacı, yulaf sütü temelli hazırlanan vegan dondurmaların reolojik ve duyuşal niteliklerini değerlendirmektir. Ayrıca vegan dondurma karışımlarında sakkaroz yerine doğal tatlandırıcı olarak stevia kullanımının ve kıvam arttırıcı olarak da chia tohumu kullanımının endüstriyel dondurma üretimindeki potansiyel etkileri de incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada şekersiz içerikte bitki bazlı süt alternatifi olarak yulaf sütü (Alpo marka), organik hindistan cevizi yağı (The LifeCo marka), inülin (Orafti®), guar gamı, keçiyoynuzu gamı, karboksil metil selüloz (Maysa Gıda) ve şeker (Migros), sıvı stevia ekstraktı (E960), %100 chia tohumu tozu (İstanbul/Türkiye) kullanılmıştır.

Dondurma üretimi

Dondurma ön karışımları (premix) Maysa Gıda'ya (İstanbul/Türkiye) ait pilot üretim tesisinde hazırlanmıştır. Dondurma reçeteleri 1 kg dondurma karışımı için Çizelge 1'deki gibi oluşturulmuştur. Dört farklı reçete tasarlanmıştır; şeker ve stabilizatör içeren kontrol grubu (K grubu), stevia ve stabilizatör içeren S grubu, stevia ve chia tohumu içeren Ç-1 grubu ve %25 sakkaroz, stevia ve chia tohumu içeren Ç-2 grubu. Dondurma karışımlarının hazırlanmasında bitki bazlı süt alternatifi olarak yulaf sütü, kuru madde miktarını dengelemek amacıyla inülin, bitki bazlı doymuş yağ olarak da hindistan cevizi yağı kullanılmıştır. Endüstriyel stabilizatör karışımı olarak 1 litre dondurma karışımında 0.5 g keçiyoynuzu gamı, 2.5 g guar gamı, 1 g karboksil metil selüloz kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan chia tohumunun oranı daha önce yapılmış çalışmadan elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak %2 olarak seçilmiştir (Velotto vd., 2021). Stevia'nın şekerden 250 kat daha fazla tatlı

olmasından yola çıkarak stevia miktarı şekere ikame olacak şekilde belirlenmiştir. Tüm formülasyonda yer alan sıvı ve katı malzemeler tartıldıktan sonra hepsi Thermomix® (TM5, Vorwerk, Germany) ile 500 d/dk.'da 7 dk. boyunca karıştırılarak homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası Thermomix, 85 °C'ye ayarlanmış ve sıcaklık bu değere ulaştığında kapağı

açık bir şekilde karışım 1.5 dk. pastörize edilmiştir. Ardından sıcaklık 80 °C'ye düşürülmüş ve 1100 d/dk.'da 20 dk. boyunca kapağı açık bir şekilde suyun bir kısmı evapore edilmiştir. Evaporasyon sonrası farklı formüllerde hazırlanmış dondurma karışımları derin kaplara alınmış ve oda sıcaklığına gelene kadar soğutulduktan sonra +4 °C'de 24 saat dinlendirilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada dondurma üretimi için kullanılan farklı dondurma karışımlarına ait formüller

Table 1. Different ice cream formulations used in the study

İngrediyenler (g) Ingredients (g)	GRUPLAR (Groups)			
	K	S	Ç-1	Ç-2
Sakkaroz/ Sucrose	150	-	-	50
Yulaf sütü/Oat milk	760	916	900	850
Chia/ Chia	-	-	20	20
Stevia/ Stevia	-	0.6	0.6	0.4
İnulin/ Inulin	40	40	40	40
Hindistan cevizi yağı / Coconut oil	40	40	40	40
Stabilizatör/ Stabilizer	4	4	-	-

Bekleme sonunda dondurma karışımları Crystal marka 9 kg profesyonel dondurma makinesine aktarılmıştır. -7.8 °C'de çalışan dondurma makinesinde dondurma karışımları yaklaşık 20 dakikada istenilen sertlik değerine ulaşmıştır. Bu işlemin ardından -21 °C'ye alınan dondurma karışımlarından hacim artış oranı için örnekler alındıktan sonra karışımlar hızlıca -40 °C'ye alınıp 30 dakika bekletilmiştir. Ardından dondurmalar -18 °C'de diğer analizler için depolanmıştır.

Duyusal analiz

Duyusal analizler, Maysa Gıda AR-GE merkezi laboratuvarında görev yapan dondurma tadımında deneyimli 8 eğitimli panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Katılımcıların analizden 1 saat öncesinde sigara içmemeleri ve yemek yememeleri istenmiştir. Testten önce Çizelge 2'de verilen duyusal özelliklerin tanımı her bir panelistle paylaşılmıştır. Dondurma örnekleri rastgele kodlanmış olan plastik kaplarla servis edilmiştir. Her bir katılımcıdan Çizelge 2'de yer alan duyusal özelliklere göre dondurma örneklerinin duyusal özelliklerinin yoğunluğunu zayıftan (1) güçlüye (9) değişen ölçekte numaralandırmaları istenmiştir (Velotto vd., 2021).

Hacim artış oranı

Her bir grup dondurmanın hacim artış oranı dondurma karışımının sabit bir kabı tamamen doldurduğundaki ağırlığı ile dondurma makinesinden çıkan dondurmanın aynı sabit kapta tamamen doldurulduğundaki ağırlığı karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Hacim artış oranı aşağıdaki formülle % olarak hesaplanmıştır (Narala vd., 2022).

$$\% \text{Hacim artışı} = \frac{m_0 - m_1}{m_1} \times 100$$

Yukarıdaki formülde m_0 , dondurma karışımının ağırlığını, m_1 ise dondurma makinesinden çıkan dondurmanın ağırlığını ifade eder.

Erime oranı

Erime oranını belirlemek için üretim sonrası 1 gün -18°C'de dinlendirilen dondurma oda sıcaklığında paslanmaz çelikten yapılmış delikli bir ızgara yüzeye konulmuş ve 60. dakikadan itibaren her 10 dk'da bir eriyen dondurmanın ağırlığı ölçülmüştür. Erime oranı %'de olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Narala vd., 2022).

$$\text{Erime oranı (\%)} = \frac{\text{eriyen miktar (gr)}}{\text{dondurma ağırlığı (gr)}} \times 100$$

Toplam çözünür kuru madde

Dondurma içeriğinin toplam çözünür kuru madde miktarını belirlemek için her bir gruptaki dondurma örnekleri eritilerek oda sıcaklığına

getirilmiştir. Refraktometre kullanılarak örneklerin çözünür kuru madde miktarı °Brix olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 2. Duyusal analizde kullanılan duyusal özelliklere ait tanımlar
Table 2. Definitions of sensory attributes used in sensory analysis

Özellik <i>Attribute</i>	Tanım <i>Definition</i>	Ölçek <i>Scale Anchor</i>
Lezzet/ <i>flavor</i>		1 <i>weak</i> 9 <i>strong</i>
Tatlılık/ <i>Sweet</i>	Şekerden gelen birincil his <i>Primary sensation produced by sugar</i>	Zayıf Güçlü
Vanilya/ <i>Vanilla</i>	Vanilya bitkisinden gelen duyular <i>Sensation associated with vanilla bean</i>	Zayıf Güçlü
Sütsü/ <i>Dairy</i>	Sütten gelen aromanın yoğunluğu <i>Intensity of the milky flavor</i>	Zayıf Güçlü
Tadım sonrası/ <i>Aftertaste</i>	Ağız boşluğundan uyarıcı çıkarıldıktan sonraki ağızda kalan his <i>The oral sensations that occur after the stimulus has been removed from the oral cavity</i>	Zayıf Güçlü
Genel tat/ <i>Overall taste</i>	Lezzet/koku özellikleri göz önüne alınarak genel değerlendirilmenin derecesi <i>Degree of the overall assessment considering taste attributes</i>	Zayıf Güçlü
Ağız hissi/ <i>Mouthfeel</i>		Zayıf Güçlü
Hamurumsu/ <i>elastic</i>	Bir kaşıkla dondurmaya kazıdığınızda dondurmanın elastikliği <i>Elasticity of the ice cream as you scoop it with a spoon</i>	Zayıf Güçlü
Kremamsı/ <i>Creamy</i>	Karıştırılmış (stirred) yoğurdun pürüzsüz ağız hissi <i>Smooth mouthfeel of stirred yogurt</i>	Zayıf Güçlü
Pürüzsüzlük/ <i>Smoothness</i>	Çiğneme sırasında örnek içinde algılanan parçacık miktarı <i>The amount of particles perceived in the sample during the chew</i>	Zayıf Güçlü
Dolgunluk/ <i>Bloom</i>	Lezzetin ağız içinde büyüme veya doldurma yeteneğinin değerlendirilmesi, ilk ısırdıktan yutkunmaya kadar. <i>The evaluation of the flavors ability to grow or "fill" the mouth, from the first bite through swallowing</i>	Zayıf Güçlü
Genel doku/ <i>Overall texture</i>	Ağız hissiyatı özelliklerini göz önüne alarak genel değerlendirilmenin derecesi <i>Degree of the overall assessment considering mouthfeel attributes</i>	Zayıf Güçlü

Viskozite

Dondurma makinesine girmeden önce dondurma karışımlarının viskoziteleri reometre (Brookfield , DV 3T) kullanılarak ölçülmüştür. Tüm örnekler 50 d/dk hızda, 11-12 °C sıcaklıkta 3 nolu spindle kullanılarak analiz edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Farklı dondurma formülasyonlarının duyusal, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin farklılığını tespit etmek için SAS (SAS university edition) istatistik programı kullanılmıştır. Tüm çalışmada grup ortalamalarının hesaplanması için one-way ANOVA tekniği kullanılmış olup grup ortalamaları arasındaki farklılığın önemini

belirlemek için Tukey çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır ($P<0.05$). Yalnızca erime oranının istatistiksel analizinde zaman faktörünün etkisinin belirlenmesi için faktöriyel deneme deseni tertip edilmiş two-way ANOVA ile model oluşturulmuştur. Tüm analizler için 2 tekerrürlü çalışılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Farklı reçetelerde hazırlanan vegan dondurma karışımlarının nem, pH, brix ve yağ değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Dondurmaların pH değerleri 6.98 - 7.37 arasında ölçülmüş ve gruplar arasında önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir ($P>0.05$). Benzer pH değerleri Güler-Akin et. al. (2021) tarafından geliştirilen vegan dondurmalar için de elde edilmiştir. Sakkaroz kullanılmayan S ve Ç-1 grup dondurma karışımlarının (premix) nem değeri yaklaşık %81 olarak en yüksek bulunurken ($P<0.05$), sakkaroz kullanılan ve yulaf sütü oranı en düşük olan kontrol grubunda nem miktarı en düşük bulunmuştur, %66.34 ($P<0.05$). Yulaf sütü ve sakkaroz oranı ile ilişkili şekilde Ç-2

grubu kontrol grubundan sonra en düşük nem değerine sahip olmuştur (%75.01); ancak S, Ç-1 ve Ç-2 grupların nem değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$). Çeşitli vegan dondurma formülasyonu geliştirilen çalışmalar incelendiğinde nem değerinin %62-80 arasında olduğu görülmüştür (Gülay-Akin vd. 2021; Mendonça vd. 2022; Narala vd. 2022). °Brix değerleri incelendiğinde benzer sonuçlar ile karşılaşılmış olup °Brix değerleri K, S, Ç-1 ve Ç-2 gruplarında sırasıyla, 27.25, 12, 11.90, 16.95 olarak bulunmuştur. En yüksek °Brix değerini beklenildiği gibi şeker oranı en yüksek olan K grubu alırken ($P<0.05$), bu grubu Ç-2 grubu takip etmiştir. En düşük °Brix değerlerini ise S ve Ç-1 grupları almıştır. Leahu vd. (2022) diyet lifi ve badem unu ile zenginleştirilen agave şurubu kullanılarak tatlandırılmış çeşitli vegan dondurma formasyonları geliştirmiş ve 21-23 aralığında değişen °Brix değerleri elde etmiştir. Tüm örneklerin yağ oranları %3.3-5.2 aralığında değerler alıp gruplar arasında farklılık gözlemlenmemiştir ($P<0.05$).

Çizelge 3. Vegan dondurma karışımlarının pH, nem, °Brix ve yağ değerleri

Table 3. pH, moisture, °Brix, and fat values of vegan ice cream mixes

Gruplar Groups	Nem (%) Moisture(%)	°Brix °Brix	pH pH	Yağ (%) Fat/Oil
K	66.34±2.46 ^b	27.25±1.20 ^a	7.23±0.11	5.2±0.42
S	81.04±2.92 ^a	12.00±0.56 ^c	7.37±0.07	4.8±0.42
Ç-1	81.22±0.09 ^a	11.90±0.71 ^c	7.06±0.06	4.95±0.07
Ç-2	75.01±3.41 ^{ab}	16.95±0.77 ^b	6.98±0.02	3.3±0.71

*Ortalama ± standart sapma

^{a-c}: Her bir sütündeki özellik bakımından farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

*Mean ± standard deviation

^{a-c}: The differences between the group averages with different letters within the same column is significant ($P<0.05$).

Dondurma karışımlarının viskozite değerleri kuru madde miktarı, stabilizatör varlığı, yağ miktarı gibi kimyasal bileşime bağlı olarak değişebilmektedir. Dondurma viskozitesinin değişimi dondurmanın erimeye karşı olan direncini de değiştirmektedir. Bu nedenle viskozitenin yüksek olması arzu edilmektedir (Yavaş Sarıoğlu, 2015). Dondurma karışımlarının viskozite değerleri K, S, Ç-1 ve Ç-2 grupları için sırasıyla, 1981, 1486, 334, 394 Pa.s değerleri almıştır (Çizelge 4). En yüksek viskozite değerine sahip olan grup kuru madde miktarı en yüksek olan ve sakkaroz içeren kontrol grubu

olurken bunu şeker yerine stevia kullanılan ve stabilizatör ile yapının iyileştirildiği S grubu takip etmiştir ($P<0.05$). Ç-1 ve Ç-2 grup dondurmaların viskoziteleri en düşük değeri alırken bu iki grup arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$). Stabilizatörlerin chia tohumuyla ikamesinin viskoziteyi düşürdüğü gözlemlenmiştir. Chia tohumu kullanılan gruplarda kuru madde miktarlarının farklı olmasına rağmen viskozitenin değişmediği görülmüştür. Stabilizatör içeren S grubunun kuru madde miktarı Ç-1 ve Ç-2 gruplarından daha

düşük olmasına rağmen, viskozite değeri, bu iki gruptan daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Dondurma karışımlarının viskozite değerleri stabilizatör varlığına bağlı olarak bir artış göstermiştir. Stabilizatör kullanılan K ve S grupları karşılaştırıldığında ise, kuru madde oranı daha yüksek olan kontrol grubunun viskozitesi daha büyük bulunmuştur. Stabilizatör kullanılmayan Ç-1 ve Ç-2 grubunun kuru madde miktarları farklı olmasına rağmen viskoziteleri arasında fark çıkmaması, chia tohumunun stabilizör olarak iyi

bir ikame olduğunu göstermektedir. Sakkarozun kullanıldığı polisakkaritler ve stabilizatörler ile yapısı iyileştirilen bir vegan dondurma araştırmasında dondurma karışımlarının viskozite değerleri 500-900 mPa.s aralığında değişmiştir (Lumbantobing vd., 2020). Araştırmamızdaki stabilizatör kullanılan grupların viskozite değerleri bu çalışmadan daha yüksek bulunmuş olup bu durum vegan dondurmalarda iyi bir stabilizatör oranı seçimi ile arzu edilen viskozite değerlerinin elde edilebileceğini göstermektedir.

Çizelge 4. Vegan dondurmaların ilk damlama süresi, hacim artış oranı, ve viskozite değerleri

Table 4. First dripping time, overrun and viscosity of vegan ice creams

Gruplar Groups	İlk damlama süresi (dk.) First dripping time (min.)	Hacim artış oranı (%) Overrun (%)	Viskozite (cP) Viscosity (cP)
K	29 ±4.54 ^a	33.35±5.00 ^{ab}	1981±18 ^a
S	40±3.91 ^b	33.89±8.05 ^{ab}	1486±42 ^b
Ç-1	46.25±4.5 ^b	30.34±2.52 ^b	334±11 ^c
Ç-2	44±3.65 ^b	39.18±5.98 ^a	394±28 ^c

*Ortalama ± standart sapma

^{a-c}: Her bir sütündeki özellik bakımından farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

* *Mean±standard deviation*

^{a-c}: The difference between the group means carrying different letters within the same column is significant ($P<0.05$).

Dondurma örneklerinin hacim artışı (%) oranları Çizelge 4'de görülmektedir. Hacim artış oranları K, S, Ç-1 ve Ç-2 gruplarında sırasıyla %33.35, %33.89, %30.34 ve %39.18 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde vegan dondurma benzeri bir ürün geliştiren Narala vd. (2022)'de hacim artış oranını %34 civarında bulmuştur. En yüksek hacim artışı oranı Ç-2 grubunda, en düşük hacim artışı oranı ise Ç-1 grubunda hesaplanmıştır ($P<0.05$). Kontrol, S-1 ve Ç-2 grupları arasında istatistiki olarak önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir ($P>0.05$). Hacim artışı oranının stabilizatör kullanımı ile artması beklenir. Chia tohumunun hacim artışı üzerindeki etkisi stabilizatörlerle benzer bulunmuştur. Ç-1 ve Ç-2 grupları arasındaki farklılığın süt miktarındaki farklılıktan ileri geldiği düşünülmektedir. Ayrıca stabilizatör oranı aynı olan ancak kuru madde miktarları farklı olan kontrol ve S grupları arasında hacim artışı açısından önemli bir farklılığın gözlemlenmemesi de stabilizatörlerin iyi bir ikame oluşturduğunu göstermektedir. K ve Ç-2 grupları kıyaslandığında süt miktarındaki düşüşün, hacim artışı oranını azalttığı görülmektedir. Süt miktarındaki azalmaya

bağlı olarak hacim artış oranındaki azalma benzer şekilde Anver vd. (2022) tarafından da hindistancevizi süt alternatifi kullanarak geliştirilen farklı formasyonlardaki dondurmalarda gözlemlenmiştir. Bu çalışmada hacim artış oranları %47-59 aralığında değerler almış ve şeker oranları sabit olup hindistan cevizi süt alternatifi oranının en düşük olduğu grup en düşük hacim artışı gösterirken, en yüksek süt alternatifi oranına sahip olan grubun ise en yüksek hacim artışı gösterdiği bulunmuştur. Veletto vd. (2021), vegan ve şekersiz dondurma formülü geliştirmek için yaptığı çalışmada hacim artış oranı değerlerini %39-%74 aralığında bulmuştur. Bu çalışmada en düşük hacim artışı %26 oranında şeker kullanılan ve stabilizatör içeren grup alırken en yüksek hacim artışını stevia içeren ve %2 chia ile stabilizasyon sağlanan grup almıştır. Çalışmamızın sonuçları ile kıyaslandığında benzer şekilde chia'nın hacim artışı bakımından olumlu etkileri bu çalışmada da görülmektedir. Çalışmamızın önemli bir bulgusu da soğuk ortamda jelleşme etkisi gösteren chianın dondurma hazırlanması aşamasında diğer

bileşenler ile pastörize edilmesine rağmen hacim artışı üzerinde pozitif etki göstermesidir.

Dondurmanın en önemli kalite göstergelerinden biri de erimeye karşı gösterilen dirençtir. Erime oranı dondurma bileşiminde yer alan maddeler ve bu maddelerin konsantrasyonlarından etkilenmektedir. Dondurmaların erime oranı ile kuru madde miktarı yakından ilişkili olmakla birlikte genel prensip olarak kuru madde miktarı yüksek olan dondurmalar erimeye karşı daha dirençlidir (Yavaş Sarioğlu, 2015). Çizelge 5’de farklı formüllerle hazırlanan vegan dondurmaların erime esnasında gösterdikleri ilk damlanın düşme süreleri yer almaktadır. Çizelge incelendiğinde ilk erime süresinin en kısa 29 dk., en uzun ise 46 dk. olduğu görülmektedir. İlk eriyen dondurmanın sakkaroz içeren ve kuru madde miktarı en yüksek olan kontrol örneğinin, ikinci eriyen dondurmanın ise stabilizatör kullanılan S grubunun, üçüncü eriyen dondurmanın chia tohumu kullanılan ve sakkaroz ilaveli Ç-2 grubu olduğu, en son eriyen dondurmanın ise chia kullanılan ve stevia ile tatlandırılan Ç-1 grubu olduğu görülmektedir. Benzer sonuçlar Yavaş Sarioğlu (2015) tarafından da bulunmuş ve sakkarozun erime dayanımının az olmasından kaynaklı sakkaroz içeren gruplarda erimenin daha hızlı gerçekleştiği ifade edilmiştir.

Farklı formülasyonlarla hazırlanan dondurmaların erime oranı sonuçları Çizelge 5’de ve erime oranı grafiği Şekil 1’de görülmektedir. Erime oranının zamana bağlı olarak değişimi incelendiğinde ise sakkaroz oranı en yüksek olan kontrol grubunun erime oranının 120 dakika boyunca en yüksek olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Sakkarozun erimeye karşı gösterdiği direnç, erime oranı üzerinde kuru madde miktarından daha büyük bir etkiye sahip olmuştur. Erime oranı, stabilizatör içeren S grubunda ve chia ve sakkaroz içeren Ç-2 grubunda zamana bağlı olarak benzer değişim göstermiştir ($P>0.05$). İlk damla süresi en düşük olan kontrol grubunda erime oranı, zamana bağlı olarak en hızlı şekilde artarken, bunu S ve Ç-2 grupları izlemiştir. Ç-1 grubunun erime oranındaki zamana bağlı artış en düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Ç-2 grubunun kuru madde miktarının S grubu ile aynı olmasına rağmen erime oranının S grubundan daha düşük olduğu görülmektedir. Erime oranı açısından chia’nın endüstriyel stabilizatör karışımından daha iyi bir alternatif olduğu görülmektedir. Diğer yandan S ve Ç-2 grubunun kuru madde miktarı Ç-1 grubu ile aynı iken sakkaroz içermeyen Ç-1 grubunun erime oranı daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Dolayısıyla sakkarozun erime oranı üzerindeki negatif etkisi ön plana çıkmaktadır.

Çizelge 5. Vegan dondurma örneklerinin zamana bağlı erime oranında meydana gelen değişim

Table 5. Changes in the melting rate of vegan ice cream samples over time

Zaman (dk.) Time (min.)	Gruplar Groups			
	K	S	Ç-1	Ç-2
60	15.75±0.46 ^{Ga}	3.46±0.08 ^{Db}	1.99±0.82 ^{Fc}	3.56±1.78 ^{Fbc}
70	23.93±0.26 ^{Fa}	8.65±2.22 ^{Cb}	4.37±1.49 ^{EFc}	8.58±2.56 ^{EFb}
80	36.83±3.9 ^{Ea}	13.68±2.86 ^{BCb}	7.59±2.03 ^{DEc}	13.99±3.07 ^{DEb}
90	47.69±4.06 ^{Da}	18.79±4.04 ^{Bb}	11.31±2.54 ^{CDc}	20.18±3.48 ^{Bb}
100	58.24±4.13 ^{Ca}	24.76±4.54 ^{Bb}	15.38±2.99 ^{BCc}	26.49±4.00 ^{BCb}
110	68.57±4.41 ^{Ba}	31.24±5.46 ^{ABb}	19.81±3.22 ^{ABc}	32.85±4.54 ^{ABb}
120	78.94±4.92 ^{Aa}	36.84±5.49 ^{Ab}	23.77±2.77 ^{Ac}	38.69±4.46 ^{Ab}

*Ortalama ± standart sapma

^{A-G}: Aynı grup içindeki farklı zamanlarda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

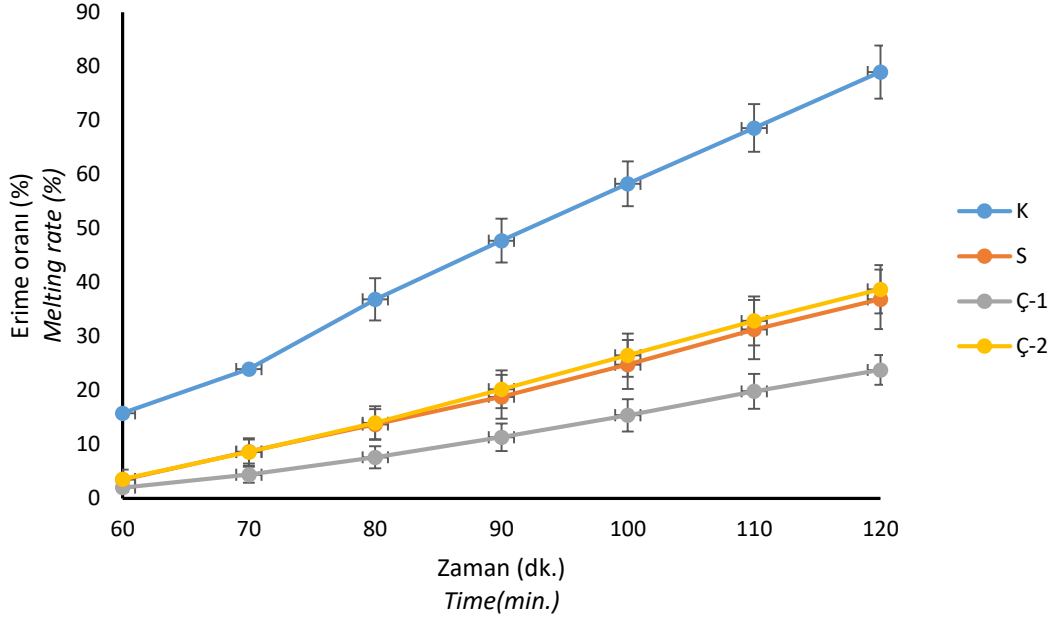
^{a-c}: Aynı zaman içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

* Mean±standard deviation

^{A-G}: The difference between the different times within the same group carrying different letters is significant.

^{a-c}: The difference between the group means carrying different letters within the same time in is significant ($P<0.05$).

Şekil 1. Farklı formülasyonlarla hazırlanan vegan dondurmaların erime oranının zamana bağlı değişimi
 Figure 1. Change in melting rate of vegan ice creams prepared with different formulations over time



*Hata çubukları: standart hata

*Error bars: standart deviation

Geliştirilen farklı vegan dondurma formülasyonlarının duyu analizi sonuçları Çizelge 6'da görülmektedir. Dondurmaların lezzet özellikleri 5 parametre ile değerlendirilmiş (tatlılık, vanilya, sütsü, tadım sonrası, genel tat) ve lezzet puanları 1 ile 7.85 arasında değişen puanlar almıştır. Duyu analizi sonuçları incelendiğinde sakkaroz içeren ve endüstriyel stabilizatör kullanılan kontrol grubunun 3.7-7.85 aralığında değişen en yüksek derecelendirmeye sahip olduğu görülmektedir. Steviol glikozitlerinin tatlılık değerlerinin şekerden 250 kat daha yüksek olduğu bilgisinden yola çıkarak stevia'nın oranı % 0.6 olarak seçilmiştir. Ancak duyu analizi sonuçlarına bakıldığında tatlılık ikamesi için 250 kat oranında azaltmaya gidilmesinin beklenen sonuçları doğurmadığı görülmektedir. Vegan dondurma formülasyonlarında stevia'nın şekere ikame olarak kullanıldığı S ve Ç-2 gruplarının tatlılık değerlerinin kontrol grubundan oldukça düşük olduğu dikkat çekmektedir ($P<0.05$). Sakkarozun 1/3 oranında stevia ile ikame edildiği ve %5 sakkaroz kullanılan Ç-2 grubunda ise

tatlılık değeri, sakkaroz kullanılmayan S ve Ç-1 gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Sonuçlar sakkaroz kullanımının tatlılık üzerinde önemli bir etkisinin olduğunu, ikame tatlandırıcı olarak stevia kullanımının duyu analizi açıcın tatlılık değerini olumsuz etkilediğini göstermiştir. Narala vd. (2022) geliştirdikleri %20 şeker içeren vegan dondurmaların duyu analizi değerlendirmesinde 4-5.5 aralığında değişen puanlar elde etmiştir. Çalışmamızda geliştirilen vegan dondurmalarından yaklaşık %15 oranında şeker içeren kontrol grubunun duyu özellikleri yönünden Narala vd. (2022)'ye göre daha yüksek puanlar aldığı görülmektedir. Örneklerin vanilya oranlarının aynı olmasına rağmen "vanilya hissi" değerlendirmesinde şeker içermeyen S ve Ç-1 gruplarında K grubuna göre oldukça düşük puan aldığı görülmektedir. Diğer yandan tüm örnekler yulaf sütü içermesine rağmen "sütsü" değerlendirmesinde yulaf sütü oranı en düşük olan K ve Ç-2 grupları en yüksek puanları almıştır. Örneklerin lezzet özelliklerini şeker ilavesi olumlu etkilemiş ve şekerin varlığı diğer aromaların da

daha iyi hissedilmesine katkı sağlamıştır. Ağız hissi değerlendirilmesi incelendiğinde ise K grubunun 4.21-5.35 arasında puanlar aldığı, diğer grupların ise 1-3.57 aralığında değişen puanlar aldığı görülmektedir. En yüksek doku ve pürüzsüzlük puanlarının kontrol örneğine ait olduğu, bunu stabilizatör kullanılan sakkaroz içermeyen S ve chia ile stabilize edilerek sakkaroz ve stevia ile tatlandırılan Ç-2 grubunun takip ettiği görülmektedir. Ağız hissi açısından genel olarak S grubunun Ç-1 ve Ç-2 grubundan daha yüksek

puan aldığı söylenebilir. Stabilizatör kullanımının ağız hissini chia kullanımından daha iyi etkilediğini söylemek mümkündür. Leahu vd. (2022) çeşitli vegan ve agave şurubu ile tatlandırılmış dondurma formülleri geliştirerek hazırladıkları dondurmaların duyu analizi genel kabul edilebilirlik açısından 5.3-8.8 aralığında değerler elde etmişlerdir. Sonuç olarak çalışmamızda stevia'nın dondurmaya tatlandırmak için yetersiz olduğu ve diğer duyu özellikleri de olumsuz yönde etkilediği söylenebilir.

Çizelge 6. Farklı formüllerle hazırlanan vegan dondurmaların duyu analiz sonuçları.
Table 6. Sensory Analysis Results of Ice Creams Prepared with Different Vegan Ice Cream Formulations

Özellik Attribute	K	S	Ç-1	Ç-2
Lezzet/Flavor				
Tatlılık/Sweet	7.85±0.77 ^a	2.07±0.61 ^c	1.57±0.51 ^c	5.85±0.36 ^b
Vanilya/Vanilla	7.85±0.66 ^a	2.64±0.84 ^c	2.14±0.77 ^c	6.07±0.82 ^b
Sütsü/Dairy	3.57±1.9 ^a	1.07±0.26 ^b	1.00±0.00 ^b	2.28±1.26 ^a
Tadım sonrası/Aftertaste	7.00±0.55 ^a	1.71±0.76 ^c	1.71±0.91 ^c	5.92±0.61 ^b
Genel tat/Overall taste	6.5±0.5 ^a	1.92±0.47 ^c	1.5±0.51 ^c	5.14±0.53 ^b
Ağız hissi/Mouthfeel				
Hamurumsu/elastic	5.35±0.49 ^a	2.92±0.91 ^c	2.14±0.36 ^c	3.57±0.64 ^b
Kremamsı/Creamy	5.28±1.26 ^a	2.28±0.91 ^c	1.78±0.57 ^c	2.71±0.91 ^b
Pürüzsüzlük/Smoothness	5.78±0.8 ^a	2.57±0.93 ^b	2.14±0.94 ^b	2.57±1.08 ^b
Dolgunluk/Bloom	4.21±0.89 ^a	1.00±0.00 ^b	1.07±0.26 ^b	1.5±0.28 ^b
Genel doku/Overall texture	5.35±0.63 ^a	2.24±0.57 ^{bc}	1.57±0.51 ^c	2.64±0.92 ^b

*Ortalama ± standart sapma

^{a-c}: Her bir satırdaki özellik bakımından farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

*Mean ± standard deviation

^{a-c}: The differences between the group means with different letters within the same line is significant ($P<0.05$).

SONUÇ

Son yıllarda sağlıklı beslenme trendleri ve gıda intoleranslarının artmasıyla birlikte bitkisel süt alternatifleri ile hazırlanan ve rafine şekere alternatif olarak doğal tatlandırıcılar kullanılan ürünlere olan talep artmıştır. Bu talebi karşılamaya yönelik olarak araştırmamızda bitkisel süt alternatifi olarak yulaf sütü ile hazırlanan ve stevia ile tatlandırılan dondurmaların bazı fiziksel ve duyu özellikleri incelenmiştir. Gıda tercihinde en önemli parametre olan lezzet özelliklerinin test edildiği duyu analiz sonuçlarına göre stevia şeker için iyi bir alternatif oluşturmamıştır.

Dolayısıyla stevia ile desteklenen farklı doğal tatlandırıcılar ile hazırlanmış dondurma karışımlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Diğer yandan çalışmamızdan elde edilen sonuçlar gösteriyor ki sakkaroz, dondurmanın erime oranı gibi dayanım özellikleri üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Ayrıca chia tohumunun hacim artışında olumlu etki yaratması gelecekte dondurma formülleri geliştirilmesinde değerlendirilebilecek önemli bir bulgudur. Bu sonuçlar, sağlıklı ve duyu açıdan tatmin edici alternatiflerin geliştirilmesi için önemli bir rehber sağlamaktadır. Bu bağlamda gelecekte yapılacak

vegan ve şekerli dondurma çalışmaları için dondurmanın duyu özelliklerinden özellikle “tatlılık” parametresine odaklanması, Dünya Sağlık Örgütü’nün yapay ve doğal tatlandırıcılar için yaptığı uyarılar çerçevesinde hareket edilmesi tavsiye edilmektedir. Ayrıca doğal tatlandırıcılar ile geliştirilecek olan dondurma formüllerinin indirgen şeker içeriği dikkate alınmalı ve ısı etkisi ile gelişen kimyasal reaksiyon ürünlerinin de değerlendirilmesi önemlidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Maysa Gıda Ar-Ge Merkezi ve TÜBİTAK 2209-B tarafından desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili başka kurum ve kişiler ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Emine Olum: Çalışmanın tasarımı, denemelerin ve analizlerin gerçekleştirilmesi, verilerin analizi, makalenin yazımı; Hilal Ata: Analizlerin gerçekleştirilmesi ve makalenin incelenmesi; Elvan Sönmez: Ön deneme yapılması, Arhan Uzun: Analizlerin gerçekleştirilmesi konularında katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Anwar, S., Baig, M. A., Syed, Q. A., Shukat, R., Arshad, M., Asghar, H. A., Arshad, M. K. (2022). Dairy ingredients replaced with vegan alternatives: valorisation of ice cream. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(9), 5820-5826, doi: 10.1111/ijfs.15895

Arseneva, T. P., Evstigneeva, T. N., Iakovchenko, N. V., Lugova, M. V., Kurganova, E. V. (2019). The effects of the addition of starter cultures and stevioside on technological low-fat fermented sherbet ice-cream without sugar. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 18(4), 361-371, doi:10.17306/J.AFS.2019.0724

Atallah, A., Morsy, O. M., Abbas, W., Khater, E. S. G. (2022). Microstructural, physicochemical, microbiological, and organoleptic characteristics of sugar-and fat-free ice cream from buffalo milk. *Foods*, 11(3), 490.

Beegum, P. S., Nair, J. P., Manikantan, M. R., Pandiselvam, R., Shill, S., Neenu, S., Hebbar, K. B. (2022). Effect of coconut milk, tender coconut and coconut sugar on the physico-chemical and sensory attributes in ice cream. *Journal of Food Science and Technology*, 59(9), 2605-2616, doi: 10.1007/s13197-021-05279-y

Bobiş, O., Dezmirean, D. S., Moise, A. R. (2018). Honey and diabetes: the importance of natural simple sugars in the diet for preventing and treating different types of diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi:10.1155/2018/4757893

Bullock, K., Lahne, J., Pope, L. (2020). Investigating the role of health halo and reactance in ice cream choice. *Food Quality and Preference*, 80, doi:10.1016/j.foodqual.2019.103826

Boukid, F., Gagaoua, M. (2022). Vegan egg: A future-proof food ingredient. *Foods*, 11(2), 161, doi:10.3390/foods11020161

Cocco, F., Cagetti, M. G., Livesu, R., Camoni, N., Pinna, R., Lingström, P., Campus, G. (2019). Effect of a daily dose of snacks containing maltitol or Stevia rebaudiana as sweeteners in high caries risk schoolchildren. A double-blind RCT study. *Oral Health Preventive Dentistry*, 17(6), 515-22.

Craig, W., Brothers, C. (2022). Nutritional Content of Non-Dairy Frozen Desserts. *Nutrients*, 14, 4150, doi:10.3390/nu14194150

de Medeiros, A., Filho, E., Bolini, H. (2019). Impact of natural and artificial sweeteners compounds in the sensory profile and preference drivers applied to traditional, lactose-free, and vegan frozen desserts of chocolate flavor. *Journal of Food Science*, 84(10), 2973-2982, doi:10.1111/1750-3841.14806

Edwards, C. H., Rossi, M., Corpe, C. P., Butterworth, P. J., Ellis, P. R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: Alternatives for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 158-166, doi:10.1016/j.tifs.2016.07.008

Erem, E., Akdeniz, E., Cayır, M. (2023). Fruit-based vegan ice cream-type frozen dessert with

- aquafaba: effect of fruit types on quality parameters. *Journal of Food Science and Technology*, doi: 10.1007/s13197-023-05885-y
- Expert Market Research (2023). "Global vegan food market". Vegan Food Market Size, Industry Share, Growth 2024-2032. Accessed: 05.12.2023
- Fitch, C., Keim, K. S. (2012). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 112(5), 739-758, doi: 10.1016/j.jand.2012.03.009
- Gençdağ, E., Görgüç, A., Aylan, F., Arı, G., Bilgin, Ö., Yılmaz, F. M. (2021). Techno-functional effect of stevia extract substitution on dry fig-fortified ice cream. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6), e15578, doi: 10.1111/jfpp.15578
- Goldstein, B., Hauschild, M., Fernández, J., Birkved, M. (2016). Testing the environmental performance of urban agriculture as a food supply in northern climates. *Journal of Cleaner Production*, 135, doi: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.004.
- Güler-Akin, M. B., Avkan, F., Akin, M. S. (2021). A novel functional reduced-fat ice cream produced with pea protein isolate instead of milk powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11), e15901, doi: https://doi.org/10.1111/jfpp.15901
- Hidas, K. I., Nyulas-Zeke, I. C., Szepessy, A., Romvári, V., Gerhart, K., Surányi, J., ... Darnay, L. (2023). Physical properties of hemp drink-based ice cream with different plant proteins guar gum and microbial transglutaminase. *LWT*, 182, 114865, doi: 10.1016/j.lwt.2023.114865
- Hooper, L., WHO Steering Group, & Guideline Development Group. (2023). Use of non-sugar sweeteners. WHO guideline.
- Judge, M., Wilson, M. S. (2015). Vegetarian Utopias Visions of dietary patterns in future societies and support for social change. *Futures*, doi:10.1016/j.futures.2015.07.005
- Kale, P., Mishra, A., Annapure, U. S. (2022). Development of vegan meat flavour: A review on sources and techniques. *Future Foods*, 5, doi: 10.1016/j.fufo.2022.100149
- Khan, S., Rustagi, S., Choudhary, S., Pandey, A., Khan, M. K., Kumari, A., Singh, A. (2018). Sucralose and maltodextrin-An alternative to low-fat sugar-free ice-cream. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 11(1), 136-143.
- Kot, A., Kamińska-Dwórznička, A., Galus, S., & Jakubczyk, E. (2021). Effects of different ingredients and stabilisers on properties of mixes based on almond drink for vegan ice cream production. *Sustainability*, 13(21), 12113, doi: 10.3390/su132112113
- Leahu, A., Ropciuc, S., Ghinea, C. (2022). Plant-based milks: Alternatives to the manufacture and characterization of ice cream. *Applied Sciences*, 12(3), 1754, doi: https://doi.org/10.3390/app12031754
- Long, M., Wei, Y., Tao, S., Wu, Y., Wang, J., Zhou, D., Zhan, G. (2023). Ice cream with sucralose, stevioside, and erythritol as sugar substitutes: Sensory profile and customer preference. *Food Science and Technology International*, doi: 10.1177/10820132221150534
- Lumbantobing, E., Tanardi, S., Putra, A. B. N. (2020). Development of vegan ice cream from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed-based milk. In Proceedings of the 16th ASEAN Food Conference (16th AFC 2019)-Outlook and opportunities of food technology and culinary for the tourism industry (pp. 66-71). Bali: SciTePress
- Mendonça, G., Oliveira, E., Rios, A. O., Pagno, C. H., Cavallini, D. C. (2022). Vegan ice cream made from soy extract, soy kefir and jaboticaba peel: Antioxidant capacity and sensory profile. *Foods*, 11(19), 3148, doi: 10.3390/foods11193148
- Muñoz-Labrador, A., Hernandez-Hernandez, O., Moreno, F. (2023). A review of the state of sweeteners science: the natural versus artificial non-caloric sweeteners debate. Stevia rebaudiana and Siraitia grosvenorii into the spotlight. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-23, doi: 10.1080/07388551.2023.2254929
- Narala, V. R., Orlovs, I., Jugbarde, M. A., Masin, M. (2022). Inulin as a fat replacer in pea protein

- vegan ice cream and its influence on textural properties and sensory attributes, *Applied Food Research*, 2(1), doi: 10.1016/j.afres.2022.100066
- Pintor, A., Escalona-Buendía, H. B., Totosa, A. J. I. F. R. J. (2017). Effect of inulin on melting and textural properties of low-fat and sugar-reduced ice cream: optimization via a response surface methodology. *International Food Research Journal*, 24(4), 1728.
- Puangwerakul, Y., Soithongsuk, S. (2022). Innovation for plant-based foods: Allergen-free vegan meat and egg products from rice processing by-products. *Journal of Current Science and Technology*, 12(2), 358-371.
- Saari, U. A., Herstatt, C., Tiwari, R., Dedehayir, O., Mäkinen, S. J. (2021). The vegan trend and the microfoundations of institutional change: A commentary on food producers' sustainable innovation journeys in Europe. *Trends in Food Science & Technology*, 107, doi: 10.1016/j.tifs.2020.10.003
- Shaw, J. E., Sicree, R. A., Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87(1), 4-14, doi: 10.1016/j.diabres.2009.10.007
- Shim, Y. Y., He, Y., Kim, J. H., Cho, J. Y., Meda, V., Hong, W. S., ... Reaney, M. J. (2021). Aquafaba from Korean soybean I: A functional vegan food additive. *Foods*, 10(10), 2433, doi: 10.3390/foods10102433
- Swarup, V. K., Poonia, A. (2022). Development of technology for the manufacture of functional black rice (*Oryza sativa* L.) ice cream. *Indian Journal of Dairy Science*, 75(1).
- Ulhas, R. S., Ravindran, R., Malaviya, A., Priyadarshini, A., Tiwari, B. K., Rajauria, G. (2023). A review of alternative proteins for vegan diets: sources, physico-chemical properties, nutritional equivalency, and consumer acceptance. *Food Research International*, doi: 10.1016/j.foodres.2023.113479
- Väkeväinen, K., Ludena-Urquiza, F., Korkala, E., Lapveteläinen, A., Peräniemi, S., von Wright, A., Plumed-Ferrer, C. (2020). Potential of quinoa in the development of fermented spoonable vegan products. *LWT*, 120, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108912
- Vandana, K., Reddy, V. C., Sudhir, K. M., Kumar, K., Raju, S. H., Babu, J. N. (2017). Effectiveness of stevia as a mouthrinse among 12–15-year-old schoolchildren in Nellore district, Andhra Pradesh-A randomized controlled trial. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 21(1), 37, doi: 10.4103/jisp.jisp_54_17
- Velotto, S., Parafati, L., Ariano, A., Palmeri, R., Pesce, F., Planeta, D., ... Todaro, A. (2021). Use of stevia and chia seeds for the formulation of traditional and vegan artisanal ice cream. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 26, doi: 10.1016/j.ijgfs.2021.100441
- World Health Organization. (2015). *Guideline: sugars intake for adults and children*. World Health Organization.
- Yavaş Sarioğlu, A. (2015). Düşük kalorili dondurma üretiminde doğal tatlandırıcı olarak stevia ekstraktı kullanımının ürünün kalite kriterleri üzerine etkisi (Master's thesis, Ege üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).

**KARADUT (*Morus nigra*) VE HİBİSKUS (*Hibiscus sabdariffa* L.) EKSTRAKTLARI
KULLANILARAK BİYOAKTİF BİLEŞENLERCE ZENGİN ve KARMİNE
ALTERNATİF OLARAK RENKLENDİRİLMİŞ FONKSİYONEL ET ÇUBUĞU
ÜRETİMİ**

Cem YİĞİT, Elif AYKIN DİNÇER*

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received 28.08.2024; Kabul / Accepted: 04.02.2025; Online baskı / Published online: 06.02.2025

Yiğit, C., Aykın Dinçer, E. (2025) Karadut (*Morus nigra*) ve hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktları kullanılarak biyoaktif bileşenlerce zengin ve karmine alternatif olarak renklendirilmiş fonksiyonel et çubuğu üretimi. *GIDA* (2025) 50 (1) 87-101 doi: 10.15237/ gida.GD24088

Yiğit, C., Aykın Dinçer, E. (2025). Use of black mulberry and hibiscus extracts as an alternative to carmine in coloring snack meat sticks. *GIDA* (2025) 50 (1) 87-101 doi: 10.15237/ gida.GD24088

ÖZ

Atıştırmalık et çubukları, genel olarak tuz ve çeşitli baharatları içeren et hamurunun doğal kuzu bağırsaklarına doldurulduktan sonra pişirilmesiyle elde edilen bir et ürünüdür. Bu çalışmada, et çubukları üretiminde karmine alternatif olarak karadut ve hibiskus ekstraktlarının renklendirici olarak kullanımının, çubukların renk stabilitesi, lipid oksidasyonu ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Karadut ekstraktı içeren et çubuklarının pH ve su aktivitesi (a_w) değerleri, karmin ve hibiskus ekstraktı içeren çubuklardan daha düşük ($P<0.05$) tespit edilmiştir. Toplam fenolik miktarı, en yüksek hibiskus ekstraktı içeren çubuklarda (1118.36 mg/kg GAE) tespit edilirken, örneklerin antioksidan aktiviteleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır. Karmin kullanılan çubukların daha düşük L^* ve b^* değerleri ($P<0.05$; $P<0.01$) ve daha yüksek a^* değeri ($P<0.01$) ile daha koyu kırmızı renkli olduğu belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmede ise, en yüksek lezzet ve genel beğeni puanına hibiskus içeren çubuklar sahip olmuştur. Bu çalışmada, atıştırmalık et çubuklarının hem renklendirilmesi hem de zenginleştirilmesinde hibiskus ekstraktının başarıyla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Atıştırmalık et çubukları, doğal boya, hibiskus, karadut

**USE OF BLACK MULBERRY AND HIBISCUS EXTRACTS AS AN
ALTERNATIVE TO CARMINE IN COLORING SNACK MEAT STICKS**

ABSTRACT

Snack meat sticks are meat product obtained by stuffing natural lamb intestines with meat paste, which generally contains salt and various spices, and then cooking it. This study investigated the effect of mulberry and hibiscus extracts as natural colorants on the color stability, lipid oxidation, and sensory properties of snack sticks. pH and water activity (a_w) values of snack sticks containing mulberry extract were lower ($P<0.05$) than those containing carmine and hibiscus extracts. The highest total phenolic was in sticks containing hibiscus (1118.36 mg/kg GAE), while no statistically significant differences were in antioxidant activity among samples. Carmine-containing sticks were

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: elifaykin@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 310 4345

☎: (+90) 242 227 4564

Cem Yiğit; ORCID no: 0009-0007-2543-6395

Elif Aykın Dinçer; ORCID no: 0000-0003-4427-9819

darker red with lower L^* and b^* values ($P<0.05$; $P<0.01$) and a higher a^* value ($P<0.01$). In sensory evaluation, sticks containing hibiscus had the highest flavor and overall acceptability scores. In this study, it was concluded that hibiscus extract could be successfully used for both coloring and enriching snack meat sticks.

Keywords: Snack meat sticks, natural dye, hibiscus, black mulberry

GİRİŞ

Et ve et ürünleri protein, yağ, esansiyel amino asitler, mineraller, vitamin ve diğer besin maddeleri açısından önemli kaynaklardır (Zhang vd., 2010). Et ürünlerinin üretim ve muhafazasındaki yeni teknolojik gelişmeler, bu ürünlerin küresel pazarda rekabet gücünü artırmakta ve kırmızı et üretimindeki artışta önemli rol oynamaktadır. Dünyadaki toplam et üretimi yaklaşık 337 milyon ton/yıl olup, bunun 206 milyon tonunu kırmızı et, 131 milyon tonunu beyaz et ve işlenmiş et üretimi ise 27 milyon tonunu oluşturmaktadır (Alfaifi vd, 2023).

Atıştırmalıklar; çalışan bireyler, okul çağındaki çocuklar ve seyahat edenler için kısa süreli açlığı gidermek üzere üretilmiş küçük boyutlu, pratik gıda ürünleridir. Günümüzde nüfusun çoğunluğu, bazı spesifik özelliklere sahip, doğal içerikler veya bileşenler kullanılarak hazırlanmış atıştırmalık gıdaları tercih etmektedir. Atıştırmalıklar, genel olarak hazırlanmaya hazır (Ready to prepare, RTP) veya yemeye hazır (Ready to eat, RTE) olarak ifade edilen ve genellikle açlığı kısmen gidermenin yanı sıra enerji ve besin sağlamak amacıyla öğünler arasında tüketilen gıdalardır (Macrae vd, 1993). Bunlar, daha kolay taşıma için genellikle küçük miktarlarda ve kompakt bir şekilde paketlenen kullanışlı gıda ürünleridir. Çok çeşitli olmaları ve karakteristik tat ve lezzetleri nedeniyle çocuklardan gençlere, çalışanlardan yaşlılara kadar toplumun her kesimi tarafından sevilerek tüketilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, toplam satış hacmi esas alındığında, et çubuklarının en popüler etli atıştırmalıklar olduğu ve toplam etli atıştırmalık satışının %55'ini oluşturduğu bildirilmiştir (Kumar vd., 2019).

Karadut (*Morus nigra*), içerdiği aroma bileşenleri ve şeker/asit oranı nedeniyle şekerli-ekşi tadı olan, ferahlatıcı özelliğe sahip lezzetli bir meyvedir. Bu özelliği sayesinde taze meyve, kuru meyve, pekmez, meyve suyu ve alkollü içecek gibi farklı

şekillerde tüketilen bir dut türüdür. (Kutlu vd., 2011). *M. nigra*'dan izole edilen çeşitli biyoaktif bileşikler aynı zamanda bitkisel ilaç olarak da hayvanlar ve insanlar üzerinde analjezik ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı kullanılmıştır (Lim ve Choi, 2019). Karadut (*M. nigra*) meyvesi resveratrol ve oxyresveratrol bileşikleri bakımından zengin olduğundan güçlü bir antioksidan kaynağıdır (Ahlawat vd., 2016). Karadut meyvesinin antidiyabetik, antioksidatif, antiinflamatuvar ve antihiperlipidemik gibi sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin de, esas olarak bu antioksidan bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Kutlu vd., 2011).

Hibiscus sabdariffa L., roselle olarak da bilinen, nispeten yetiştirilmesi kolay olduğu, çoklu ekim sistemlerinin bir parçası olarak yetiştirilebildiği ve gıda ve lif olarak kullanılabildiği için gelişmekte olan ülkeler için ideal bir üründür. Çin'de tohumları yağı için ve bitki kısmı ise tıbbi özellikleri için kullanılırken, Batı Afrika'da yaprakları ve toz tohumları yemeklerle birlikte tüketilir (Rocha vd., 2014). Özellikle içerdiği antosiyaninlerden delphinidin-3-sambubioside ve siyanidin-3-sambubioside'nin karaciğer bozuklukları, hipertansiyon, diyabet, iltihaplanma ve metabolik sendromu tedavi edici özelliklerinin olduğu tespit edilmiştir (Naji vd., 2021). Aykın-Dinçer vd. (2021) yaptıkları bir çalışmada, kırmızı pancar ekstrakt ve tozunun sosislerde doğal renklendirici olarak kullanımını araştırmışlardır. Pancar ekstrakt ve tozunun, sadece renk gelişimini korumakla kalmayıp aynı zamanda sığır sosislerinde lipit oksidasyonunu da geciktirerek karmine alternatif olarak kullanım potansiyeli gösterdiğini raporlamışlardır. Feifei vd. (2022) doğal renk maddelerini (kırmızı pirinç tozu ve pancar tozu) farklı oranlarda tavuk sosisine ekleyerek en iyi kırmızı rengi sağlayan formülasyonu belirlemişler ve bu ürünlerin kalite özellikleri üzerine doğal renklendirici ilavesinin olumsuz bir etkisinin olmadığını raporlamışlardır. Aditya vd. (2020) ise, balık sosisi formülasyonuna

turuncu renk veren fukoksantini eklemişler ve 21 gün depolama süresince kalite özelliklerindeki değişimi incelemişlerdir. Balık sosislerinin doğal boya ile renk özellikleri iyileştirilirken, pH ve peroksit değerlerinin ise azaldığı tespit edilmiştir.

Kırmızı et ürünlerinin renklendirilmesinde yaygın olarak karmin kullanılmaktadır. Böcekten elde edilen bir boya olduğu için tüketici endişelerini önlemek amacıyla et ürünlerinin üretiminde doğal renklendiricilerin kullanılması konusu önem kazanmıştır. Doğal ekstraktlar, stratejik olarak ürünü kırmızı renkli görünüme kavuştururken, biyoaktif bileşenlerce de zenginleştirilerek daha sağlıklı bir ürüne dönüştürmektedir. Bu çalışmada, karmine alternatif olarak karadut ve hibiskus ekstraktları kullanılarak atıştırıcılık et çubuklarının renklendirilmesi ve böylece yeni bir fonksiyonel et ürününün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Literatürde et çubuklarıyla ilgili sınırlı sayıda çalışma olup, fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla farklı ekstraktların üretimde kullanıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Üretilen fonksiyonel atıştırıcılık et çubuklarında karmine alternatif olarak karadut ve hibiskus ekstraktlarının kullanımı araştırılmış ve organik asit, fenolik ve antioksidan bakımından zengin olan bu renk maddelerinin son üründe nem, pH, a_w , renk, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve duyuşsal kalite üzerine etkisi yapılan analizlerle incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan orta yağlı kıyma, Antalya'da bulunan yerel bir kasaptan orta yaşta kesilmiş ve olgunlaşmış sığır karkaslarının kaburga ve döş etlerinden kıyma çektilerle temin edilmiştir. Kıyma örneği, et çubuğu üretimi yapılacağı zaman soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. Et çubuklarının üretimi için, aktardan temin edilen toz kırmızıbiber, kimyon, karabiber, tuz, karmin tozu, karadut ekstraktı ($\approx 75^\circ\text{Bx}$) ve hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) bitkisinin kurutulmuş yaprakları kullanılmıştır. Karadut meyvesi, genellikle ilkbahar ve yaz aylarında hasat edildiği ve çok hassas bir yapıya sahip olduğu için, yaygın olarak ekstrakt, pekmez ve şurup gibi çeşitli ürünlere işlenerek muhafaza edilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada meyveye

göre daha stabil bir ürün olan karadut ekstraktının kullanımı tercih edilmiştir. Kuru hibiskus yaprakları da, stabil bir ürün olup, ürünlerine göre daha yaygın ve kolay ulaşılabilir olduğundan bu çalışmada kullanılmıştır. Çalışma kapsamında 3 farklı renklendirici (karmin, karadut, hibiskus) kullanıldığından, kıyma 3 gruba ayrılmıştır. Her bir grupta yaklaşık 1 kg dana kıyma bulunmaktadır. Bir tekerrür için 3 kg kıyma ($1\text{ kg} \times 3\text{ grup}$) kullanılmıştır. Çalışma 2 tekerrürlü ve tekerrürler aynı zamanda üretilerek yürütüldüğünden toplam 6 kg dana kıymadan ($3\text{ kg} \times 2\text{ tekrar}$) atıştırıcılık et çubuğu üretilmiştir.

Metot

Renklendirici ekstraktların hazırlanması

Çalışmada kullanılan hibiskus ekstraktı için, öncelikle kurutulmuş hibiskus yaprakları blenderda (Beko BKK-2155 Maxi El Blenderı, Türkiye) öğütülmüştür. Öğütülmüş örneklerden 50 g tartılmış ve üzerine 450 mL kaynar su ilave edilerek laboratuvar tipi öğütücü (Waring, LB20EG, ABD) içerisinde 15 dk boyunca ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir (Dinçer, 2022). Ekstrakte edilen örnek, önce ev tipi bir süzgeçten süzülüp, daha sonra $106\text{ }\mu\text{m}$ 'lik filtre kağıdından da süzöldükten sonra, saf su ile 5°Bx 'e seyreltilmiştir. Karadut ekstraktı ise, et çubuklarında renklendirme amacıyla ticari üründen direkt tartılarak kullanılmıştır. Renklendirici ekstraktlarda (karadut ve hibiskus) toplam fenolik, antioksidan aktivite ve toplam monomerik antosiyanin miktarı ile renk analizleri gerçekleştirilmiştir.

Et çubuklarının üretimi

Çalışmada 3 farklı formülasyonla (karmin, karadut ve hibiskus içeren) atıştırıcılık çubuk üretimi gerçekleştirilmiştir. Formülasyon Aykın Dinçer vd (2021) tarafından yapılan kırmızı pancar ekstraktı ilave edilmiş sosislerin formülasyonu revize edilerek belirlenmiştir. Bu amaçla, 3 farklı karıştırma kabına orta yağlı dana kıyma (949 g), sodyum tripolifosfat (3 g), tuz (7 g) ve baharat karışımı (Üretimden önce karabiber, kırmızı toz biber ve kimyon baharatları 1:1:1 oranında karıştırılmıştır) (10 g) eklenmiştir. Karminin renklendirici olarak kullanıldığı gruba, 1 g toz karmin ve 30 mL destile su eklenirken (5.6°Bx), karadut ve hibiskus ekstraktlarının kullanıldığı

gruplara ise sadece 50 mL ekstrakt ilavesi yapılmıştır. Kullanılan miktarlar, önceki çalışma (Aykın Dinçer vd., 2021) ve ön denemeler dikkate alınarak belirlenmiştir. Her bir kapta bulunan et çubuğu harcı manuel olarak 7 dk boyunca yoğurulmuştur. Homojen hale getirilen et çubuğu hamuru, 16 mm dolum başlığına sahip dolum makinesi (Laviaton sosis doldurma makinesi, HR-7L-V, Çin) kullanılarak doğal kuzu bağırsaklarına

doldurulmuş ve 70°C'lik fırında 2 saat pişirilmiştir. Bu pişirme koşulunun tercih edilmesinde en önemli sebep ise; daha yüksek sıcaklıkların çubuklarda neden olabileceği zararları (fenolik bileşiklerin kaybı, yanma, kılıflarda aşırı kuruma, yırtılma vb.) önleyerek ürünlerin fonksiyonelliğini koruyabilmektir (Şekil 1, Şekil 2). Üretimlere dair formülasyon Çizelge 1'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Et çubuklarının formülasyonu

Table 1. Formulation of meat sticks

İçindekiler/ (Contents)	Bileşim / (Composition)		
	Karmin içeren grup / (Group containing carmine)	Karadut ekstraktı içeren grup / (Group containing black mulberry extract)	Hibiskus ekstraktı içeren grup / (Group containing hibiscus extract)
Orta yağlı kıyma / (Medium fat ground meat) (g)	949	930	930
Su / (Water) (ml)	30	0	0
Tuz / (Salt) (g)	7	7	7
Baharat karışımı / (Spice mix) (g)	10	10	10
Sodyum tripolifosfat / (Sodiumtripolyphosphate) (g)	3	3	3
Karmin / (Carmine) (g)	1	-	-
Karadut ekstraktı / (Black mulberry extract) (ml)	-	50	-
Hibiskus ekstraktı / (Hibiscus extract) (ml)	-	-	50

Analizler

Nem analizi

Örneklerin % nem içeriği, etüvde (VentLine, Fransa) 105±1°C'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması sonucunda gravimetrik olarak belirlenmiştir (AOAC, 2000).

Su Aktivitesi Analizi

Örneklerin su aktivitesi değerleri su aktivitesi ölçüm cihazında (AquaLab 4TE, ABD) 25°C'de ölçülmüştür.

pH Analizi

Örneklerin pH analizi için, kıyma haline getirilen et çubuklarından 4±0.001 g tartılmış ve üzerine 40 mL saf su eklenmiştir. Ultraturaks (İKA Ultraturax, T18D, Almanya) ile 1 dk süre ile homojen hale getirildikten sonra, oda sıcaklığında dijital pH metre (Mettler Toledo, ABD) kullanılarak pH ölçümleri yapılmıştır. Her çalışma öncesinde pH metre, pH 4 ve pH 7 tamponları kullanılarak kalibre edilmiştir.

Renk Analizi

Renklendirici ekstraktların ve çubukların renk değerleri (L^* , a^* , b^*), CR-400 kromametre (Konica Minolta, Japonya) kullanılarak CIE renk sistemine göre ölçülmüştür. Renklendirici ekstraktlarda analiz cihaza ait şeffaf renkli örnek kabı kullanılarak ve et çubuklarında ise, örnek yüzeyindeki 2 farklı noktadan ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin dış yüzeyine ait renk değerlerini belirlemek için, bağırsak kılıfın üzerinden ölçümler yapılırken, iç yüzeyi için çubuklar tam ortadan ikiye bölünmüş ve elde edilen kesit yüzeylerinden ölçümler gerçekleştirilmiştir. L^* değeri örneklerin parlaklığını, a^* değeri kırmızı-yeşil renk değerlerini ve b^* değeri ise sarı-mavi renk değerlerini ifade etmektedir (Kiliç vd., 2007). Renk cihazı analizlerden önce cihaza ait kalibrasyon plakası ile kalibre edilmiştir.



Etlerin kıyma haline getirilmesi
(*Mincing meat*)



Atıştırma çubuk hamurlarının yoğurulması
(*Kneading snack stick dough*)



Doğal bağırsaklara dolum işlemi
(*Natural intestinal filling process*)



Tüketime hazır et çubukları
(*Ready-to-eat meat sticks*)



Doldurulan bağırsakların kurutulması
(*Drying of stuffed intestines*)

Şekil 1. Et çubuğu üretim aşamaları
Figure 1. Meat stick production stages

Toplam Fenolik Madde Analizi

Toplam fenolik madde, toplam monomerik antosiyanin ve antioksidan aktivite analizleri için ortak ekstrakt hazırlanmıştır. Bu kapsamda, iyice kıyma haline getirilen et çubuklarından 2 ± 0.001 g tartılmıştır. Tartılan örneklerin üzerine %60 etanol - %0.1 HCl içeren çözelti ilave edilip, ultrasonik banyoda (Bandelin, DL510H, Almanya) 40°C'de 1 saat ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen örnekler, analizlere kadar (en fazla 1 gün) +4 °C'de bekletilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla, 0.5 mL örnek üzerine sırasıyla 2.5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (Merck, Almanya) (saf su ile 10 kat seyreltilmiş) ve 2 mL %7.5'lik Na_2CO_3 (Merck, Almanya) çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vorteks (VWR International, 444-1372, Almanya) yardımıyla karıştırıldıktan sonra, 50°C'deki su banyosunda 5 dk bekletilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığına soğutulularak spektrofotometrede (Thermo Scientific Evolution 160 UV-Vis, ABD) 760 nm dalga boyunda absorbans belirlenmiştir. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg örnek cinsinden ifade edilmiştir (Şkerget vd., 2005).

Antioksidan Aktivite Analizi

Antioksidan aktivite 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin inhibisyonuna dayalı olarak Fernández-León vd. (2013) tarafından uygulanan yöntemle göre belirlenmiştir. Bu amaçla uygun oranda seyreltilmiş örnek ekstraktından 50 µL ve üzerine taze hazırlanmış 950 µL 6×10^{-5} M DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 516 nm dalga boyunda absorbans değeri belirlenmiştir. Elde edilen değer ile DPPH çözeltisinin bekleme süresinin başında saf metanole karşı belirlenen absorbans değerine göre farkları alınmıştır. Örneklerin antioksidan aktivitesi bu absorbans farkları kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış troloks ile elde edilen eğri yardımıyla mg troloks eşdeğer (TE)/kg örnek cinsinden hesaplanmıştır.

Toplam Monomerik Antosiyanin Analizi

Örneklerde toplam monomerik antosiyanin tayini pH diferansiyel metodu ile spektrofotometrik (Thermo Scientific Evolution 160 UV-Vis, ABD) olarak belirlenmiştir. Bu kapsamda örnekler pH 1 (0.025 M potasyum klorür) ve pH 4.5 (0.4 M sodyum asetat)'a ayarlı 2 farklı tampon çözelti kullanılarak deney başlangıcında saptanmış olan seyreltme faktörüne uygun olarak seyreltilmiş ve yaklaşık 20 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda her iki seyreltiğin λvis-max (514 nm) ve 700 nm dalga boyundaki absorbansları saf suya karşı ölçülmüştür. Toplam monomerik antosiyanin miktarı aşağıdaki (Eşitlik 1) ve (Eşitlik 2) yardımıyla siyanidin-3-glukozit cinsinden mg/L ve g/kg olarak hesaplanmıştır (Wang ve Xu, 2007).

$$A = (\lambda_{\text{vis-max ve A700}})_{\text{pH 1.0}} - (\lambda_{\text{vis-max ve A700}})_{\text{pH 4.5}} \quad (\text{Eşitlik 1.})$$

$$\text{Monomerik antosiyanin (mg/L)} = \frac{(A) \times (MW) \times (Sf) \times 1000}{(\epsilon) \ell} \quad (\text{Eşitlik 2.})$$

Burada; A: düzeltilerek hesaplanmış absorbans farkı, MW: baz alınacak antosiyanin molekül ağırlığı, Sf: seyreltme faktörü, ε: molar absorptivite (absorpsiyon katsayısı) ve ℓ: spektrofotometrede kuvvet katman kalınlığını ifade etmektedir.

Duyusal Değerlendirme

Duyusal değerlendirme, 12 kişilik deneyimli bir panelist grubu ile ışıklandırılmış ve havalandırılmış bir odada yapılmıştır. Üç farklı formülasyonda üretilen et çubukları 3 cm'lik düzgün parçalar halinde kesilerek panelistlere sunulmuştur. Değerlendirme esnasında bir önceki örnekten ağızda kalan tadı gidermek amacıyla ekmek verilmiştir. Duyusal analizde panelistler örneklerin renk, koku, lezzet, doku ve genel beğeni özelliklerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmede 9'lu hedonik skala (1: çok kötü, 9: mükemmel) kullanılmıştır (Konieczny ve ark., 2007).

İstatistiksel Analiz

Deneme deseninde kullanılan renklendirici (karmin, karadut ekstraktı, hibiskus ekstraktı) faktör olarak alınmış ve araştırma 2 tekerrürlü

olarak yürütülmüştür. Elde edilen verilere SAS (V7, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) bilgisayar programı yardımıyla varyans analizi uygulanmış ve önemli bulunan faktörlere ait ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Tüm analizlerde, $P < 0.05$ (%95 güven aralığı) ve $P < 0.01$ (%99 güven aralığı) değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata şeklinde verilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Renklendirici ekstraktların kimyasal özellikleri

Renklendirici olarak kullanılan karadut ve hibiskus ekstraktlarının toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve toplam monomerik antosiyanin içerikleri değerlendirildiğinde, hibiskus ekstraktının içerdiği yüksek fenolik madde miktarına bağlı olarak antioksidan aktivitesinin de karadut ekstraktına göre daha yüksek ($P < 0.01$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Hibiskusun yapısında bol miktarda ve çeşitli formlarda fenolik bileşikler (elajik asit, etil brevifolinkarboksilat ve galik asit), daukosterol, sterol, triterpen (maslinik, ursolik, oleanolik vb. asitler), antosiyanin (pelargonidin 3-glukozit ve pelargonidin 5-diglukosit) ve flavonoid (punicaflavon) bulunduğu belirtilmiştir (Yıldız, 2022). Mevcut

çalışma kapsamında üretilen hibiskus ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı 788.89 mg/L GAE ve antioksidan aktivitesi ise 5596.92 mg/L TE olarak tespit edilmiştir. Chumsri vd. (2008) yaptıkları çalışmada, farklı ekstraksiyon koşulları oluşturarak hibiskus bitkisinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite (DPPH) değerlerini sırasıyla 29.22 - 43.06 mg/100 g ve 42.15 - 60.82 mg/mL aralıklarında tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, sıcaklığın artması ve ekstraksiyon süresinin uzaması toplam fenolik madde içeriğinin azalmasına neden olmuştur. Zhen vd. (2016) *Hibiscus sabdariffa* türüne ait 22 farklı popülasyonun %70 (v/v) metanol çözeltisi ile hazırlanan ekstraktlarında fenolik madde analizi yapmışlar ve 20.4 – 29.9 mg/g aralığında tespit etmişlerdir. Hibiskus ekstraktının toplam monomerik antosiyanin miktarı ise, 532.36 mg/L olarak tespit edilmiştir. Naji (2018) hibiskus ekstraktının antosiyanin içeriğini 8.47 mg delphinidin-3-sambubioside /g örnek olarak tespit etmiştir. Yiğit vd. (2008) karadut meyvesinden elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğini 0.6-1.6 µg/mL ve DPPH radikal yakalama aktivitesinin 100 µg/mL konsantrasyonunda %1.1 ile %7.1 arasında ve 300 µg/mL'da ise %7.1 ile %21.1 aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 2. Renklendirici ekstraktların toplam fenolik, antioksidan aktivite ve toplam monomerik antosiyanin miktarları

Table 2. Total phenolic, antioxidant activity and total monomeric anthocyanin amounts of coloring extracts

	Toplam fenolik madde (mg/L GAE) (Total phenolic substance (mg/L GAE))	Antioksidan aktivite (mg/L TE) (Antioxidant activity (mg/L TE))	Toplam monomerik antosiyanin (mg/L) (Total monomeric anthocyanins (mg/L))
Renklendirici (Colorant)			
Karadut (Black mulberry)	150.69 ^b $\pm$ 0.23	376.92 ^b $\pm$ 76.92	2.67 ^b $\pm$ 0.00
Hibiskus (Hibiscus)	788.89 ^a $\pm$ 10.19	5596.92 ^a $\pm$ 138.46	532.36 ^a $\pm$ 2.00
Önem seviyesi (Significance)	**	**	**

^{a,b} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir

(^{a,b} Mean values shown with different letters in the column indicate differences ($P < 0.05$)).

** $P < 0.01$

Renklendirici ekstraktların renk değerleri

Karadut ekstraktının L^* , a^* , b^* değerleri sırasıyla 17.53, 1.43 ve 1.73 olarak ve hibiskus ekstraktının L^* , a^* , b^* değerleri ise sırasıyla 18.26, 1.59 ve 1.44 olarak tespit edilmiştir. Renk değerlerinde, b^* değeri dışında, istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.05$) (Çizelge 3). Aykın-Dinçer ve Dinçer (2022) hibiskus ekstraktlarının renk değerleri üzerine konsantrasyon faktörünün (1, 2 ve 4 °Bx) önemli bir etkisinin olmadığını ve

L^* değerinin 12.89-12.95, a^* değerinin 0.74-1.30 ve b^* değerinin 2.51-2.69 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yavaş vd. (2023) ise, karadut suyu konsantrasyonunda 60 gün depolama süresince renk değişimini incelemişler ve L^* , a^* ve b^* değerlerinin sırasıyla 20.78-21.34, 0.28-0.46 ve 1.00-1.75 aralıklarında olduğunu tespit etmişlerdir. Bu değerlerin mevcut çalışmadan farklı olmasının sebebinin uygulanan ekstraksiyon metodu ve süresi olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 3. Renklendirici ekstraktların renk değerleri

Table 3. Color values of coloring extracts

	L^*	a^*	b^*
Renklendirici (Colorant)			
Karadut (Black mulberry)	17.53 ^a ± 0.18	1.43 ^a ± 0.005	1.73 ^b ± 0.03
Hibiskus (Hibiscus)	18.26 ^a ± 0.12	1.59 ^a ± 0.15	1.44 ^a ± 0.02
Önem seviyesi (Significance)	NS	NS	*

^{a,b} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir

(^{a,b} Mean values shown with different letters in the column indicate differences ($P<0.05$)).

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$); * $P<0.05$

(NS Not Significant ($P>0.05$); * $P<0.05$)

Atıştırmalık et çubuklarının nem, pH ve a_w değerleri

Atıştırmalık et çubuklarının nem değeri üzerine farklı renklendirici kullanımının önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilirken, pH ve a_w değerleri kullanılan renklendiriciden önemli düzeyde etkilenmiştir ($P<0.01$) (Çizelge 4). Atıştırmalık et çubuklarının nem içeriği %46.38 ile %52.17 ve a_w değeri 0.94 ile 0.97 arasında değiştiğinden orta nemli gıda sınıfında (%15-50 nem ve 0.60-0.92 a_w değeri) kabul edilebilir. Atıştırmalık et çubukları; kurutma/pişirme, tutsüleme veya her ikisine birlikte tabi tutularak istenen su aktivitesi değerine ulaştırılmaktadır. Ayrıca, bazıları hafif bir fermentasyonla yavaşça kurutularak da üretilmektedir (Huang ve Nip, 2001).

Atıştırmalık et ürünlerinin pH değerleri, karmine kıyasla doğal ekstraktların kullanımına bağlı olarak önemli düzeyde ($P<0.01$) azalmıştır (Çizelge 4). Liu vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada karminele renklendirilmiş surumi, kıyma ve süt

ürünlerinde protein, metal iyonları ve gıda katkı maddelerinin karminik asit ve karminik alüminyum lake rengine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda karmin ile boyanmış kıyma örneklerinde pH değeri 6.55 olarak tespit etmişlerdir. Özbacı vd. (2023) süksinik asit, sitrik asit, malik asit, tartarik asit, asetik asit gibi organik asitlerin karadut meyvesinde mevcut olduğunu bildirmiştir. Dolayısıyla, örneklerin karmin grubuna kıyasla düşük pH değerinin, karadut ve hibiskus ekstraktlarından gelen organik asitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Atıştırmalık et çubuklarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite sonuçları

Atıştırmalık çubukların toplam fenolik içerikleri üzerine, renklendiricilerin önemli ($P<0.05$) düzeyde etkili olduğu, antioksidan aktivite değerlerine ise önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 5.). En yüksek toplam fenolik madde, hibiskus ekstraktı ile renklendirilmiş et çubuklarında tespit edilmiştir. Aykın Dinçer ve

Dinçer (2022) vakum emdirim yoluyla 4°Bx hibiskus ekstraktı ile renklendirilmiş tavuk eti küplerinin toplam fenolik içeriğini 1251.39 mg/kg GAE ve antioksidan aktivitesini ise 4454.31 mg/kg TE olarak tespit etmişlerdir. Quantina vd. (2019) %6 oranında *Hibiscus sabdariffa* içeren sosislerde antioksidan aktiviteyi depolamanın ilk günü 0.239 mg/kg TE olarak ve 30. gün ise 0.365 mg/kg TE olarak tespit etmişlerdir. Bıçakçı vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada etlik piliç göğüs etinin marinasyonunda bazı antioksidan aktivite gösteren marinatlar kullanılmıştır. Karadut ekstraktı kullanılarak marine edilen tavuk göğüslerinde pişirme sonrası toplam fenolik madde 271.23 mg GAE/kg, antioksidan aktivite ise 3746.85 µM Trolox/kg olarak tespit edilmiştir. Karmin ile renklendirilmiş et çubuklarında toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin sırasıyla 794.71 mg/kg GAE ve 792.30 mg/kg TE

olduğu belirlenmiştir. Gonzalez vd. (2010) yaptıkları çalışmada, karminin en az beta karoten, quersetin ve askorbik asit kadar antioksidan aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ekici vd. (2014) ise, karminle renklendirilmiş sucukların 848.91 mg GAE/kg toplam fenolik içerdiğini ve antioksidan süpürme yüzdesinin 28.41 olduğunu bildirmişlerdir. Yukarıda sunulan çalışma sonuçları farklı ürünlere uygulanan hibiskus ve karadut ekstraktlarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteyi arttırdığı yönündedir. Dolayısı ile karmin içeren gruba göre toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite içerikleri bakımından yüksek tespit edilmesi olumlu yorumlanmaktadır. Ayrıca, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite bakımından hibiskus ekstraktı kullanımının karminine göre üstünlük sağladığı ve karadut ekstraktı kullanımının ise karminine eşdeğer olduğu değerlendirilmiştir.

Çizelge 4. Atıştırıcılık et çubuklarının nem, pH, a_w değerleri

Table 4. Moisture, pH and a_w values of snack meat sticks

	Nem (%) (Moisture(%))	pH pH	a_w a_w
Renklendirici (Colorant)			
Karmin (Carmine)	50.79 ^a ± 1.38	6.55 ^a ± 0.00	0.965 ^a ± 0.000
Karadut ekstraktı (Black mulberry extract)	46.38 ^a ± 3.71	6.25 ^c ± 0.01	0.942 ^b ± 0.001
Hibiskus ekstraktı (Hibiscus extract)	52.17 ^a ± 1.25	6.35 ^b ± 0.02	0.966 ^a ± 0.003
Önem Seviyesi (Significance)	NS	**	**

^{a,b,c} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir

(^{a,b,c} Mean values shown with different letters in the column indicate differences ($P < 0.05$)).

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$); ** $P < 0.01$

(NS Not Significant ($P > 0.05$), ** $P < 0.01$)

Atıştırıcılık et çubuklarının iç ve dış yüzey renk değerleri

Örneklerin iç ve dış yüzey L^* , a^* ve b^* değerlerinde, kullanılan renklendiriciye bağlı olarak önemli ($P < 0.05$; $P < 0.01$) bir farklılık tespit edilmiştir (Çizelge 6., Şekil 2). Karminle renklendirilmiş et çubuklarına göre, karadut ve hibiskus ile renklendirilmiş et çubuklarının iç ve dış yüzeyleri daha yüksek L^* değeri ve daha düşük a^* değerine sahip olmuştur. Ayrıca, b^* değeri en düşük karmin içeren et çubuklarında tespit

edilmiştir. Bu farklılığın, karminin yüksek boyama gücünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Karminin ana renk bileşeni, yapıda yaklaşık %50 oranında bulunan ve suda kolay çözünebilen karminik asittir. Et çubuğu gibi nemli bir ortamda, karminik asit gevşek bağlı olduğu karminin yapısından su molekülleri aracılığıyla kolayca ayrılır ve ortama kırmızı rengin hakim olmasını sağlar (Poowakanjana ve Park, 2009). Márquez-Rodríguez vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada hibiskus ekstraktı ile renklendirilen sığır etlerinin

L^* , a^* ve b^* değerlerinin, ekstraktla renklendirilmeyen kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Turan ve Şimşek (2021) liyofilize karadut tozunun sulu ekstraktını kullanarak, depolama koşullarında sığır

köftelerinin kalite özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada aerobik koşullarda paketlenen sığır köftelerinin L^* , a^* ve b^* değerlerini sırasıyla 36.74, 18.27 ve 7.27 olarak tespit etmişlerdir.

Çizelge 5. Atıştırmalık çubukların toplam fenolik ve antioksidan aktivite sonuçları

Table 5. Total phenolic and antioxidant activity results of snack sticks

	Toplam fenolik madde (mg/kg GAE) (Total phenolic (mg/kg GAE))	Antioksidan aktivite (mg/kg TE) (Antioxidant activity (mg/kg TE))
Renklendirici (Colorant)		
Karmin (Carmin)	794.71 ^b ± 65.85	792.30 ^a ± 93.28
Karadut ekstraktı (Black mulberry extract)	918.96 ^{ab} ± 49.63	914.47 ^a ± 152.30
Hibiskus ekstraktı (Hibiscus extract)	1118.36 ^a ± 20.02	792.44 ^a ± 31.80
Önem seviyesi (Significance)	*	NS

^{a,b} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir

(^{a,b} Mean values shown with different letters in the column indicate differences ($P < 0.05$)).

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$); * $P < 0.05$

(NS Not Significant ($P > 0.05$); * $P < 0.05$)

Çizelge 6. Atıştırmalık et çubuklarının iç ve dış yüzeyine ait renk değerleri

Table 6. Color values of the inner and outer surface of snack meat sticks

	L^*	a^*	b^*
İç yüzey / (Inner surface)			
Karmin (Carmin)	33.88 ^b ± 0.11	23.61 ^a ± 1.50	9.64 ^c ± 0.19
Karadut ekstraktı (Black mulberry extract)	43.94 ^a ± 0.42	11.49 ^b ± 0.17	15.82 ^a ± 0.12
Hibiskus ekstraktı (Hibiscus extract)	45.07 ^a ± 0.53	11.00 ^b ± 0.31	15.11 ^b ± 0.05
Önem Seviyesi (Significance)	**	**	**
Dış yüzey / (Outer surface)			
Karmin (Carmin)	25.48 ^b ± 0.41	17.84 ^a ± 0.47	6.67 ^b ± 0.06
Karadut ekstraktı (Black mulberry extract)	33.74 ^a ± 1.08	11.65 ^b ± 0.07	12.66 ^a ± 1.17
Hibiskus ekstraktı (Hibiscus extract)	35.02 ^a ± 1.04	11.55 ^b ± 0.23	12.39 ^a ± 0.54
Önem Seviyesi (Significance)	**	**	*

^{a,b,c} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir

(^{a,b,c} Mean values shown with different letters in the column indicate differences ($P < 0.05$)).

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$



Şekil 2. Karmin (a), karadut ekstraktı (b) ve hibiskus ekstraktı (c) ile renklendirilmiş et çubukları
 Figure 2. Meat sticks colored with carmine (a), black mulberry extract (b) and hibiscus extract (c)

Atıştırma et çubuklarının duysal özellikleri

Yeni bir et ürünü geliştirirken veya mevcut bir et ürününü iyileştirirken verilerin çok önemli olduğu ve et ürününün enstrümantal veya mikrobiyolojik açıdan kabul edilebilir ancak duysal açıdan kabul edilemez olması durumunda bile bu ürünün tavsiye edilemeyeceği açıktır (Hastaoğlu vd., 2021). Duysal değerlendirmede, lezzet ve genel beğeni parametrelerinin farklı renklendiricilerin kullanımından önemli ($P<0.05$) düzeyde etkilendiği, diğer parametrelerde ise istatistiksel olarak bir farklılığın görülmediği tespit edilmiştir (Çizelge 7.). Tüm grupların görünüş ve renk değerleri arasında istatistiksel olarak bir farkın olmaması; bu ekstraktların panelistler tarafından da kabul edilebilir olduğunu ve et ürünlerinin renklendirilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Bozkurt ve Belibağlı (2009) yaptıkları çalışmada kavurmaya hibiskus çiçeği kurusu ekleyerek kavurmanın kalite özelliklerini incelemişlerdir. Bu kapsamda hibiskus çiçeği kurusu kullanılmasının duysal renk açısından kavurma örneklerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı raporlanmıştır. Jung ve Joo (2013)

yaptıkları çalışmada ise hibiskus ekstraktını domuz köftelerinde değerlendirmişlerdir. Başka bir çalışmada, hibiskus ve soya fasulyesi yağıyla üretilen köftelerin en yüksek genel beğeni puanı aldığı bildirilmiştir (Santos vd., 2022). Baez vd. (2021) farklı oranında (%2, 4, 6 ve 8) hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekledikleri frankfurter soslerinin kalite özelliklerini incelemişler ve %6-8 oranında hibiskus içeren örneklerin duysal skorlarının düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Quantina vd. (2019) %2, %4 ve %6 oranında hibiskus eklenmiş soslerde 30 gün depolama çalışması gerçekleştirmişlerdir. Depolamanın sonunda, %4 hibiskus eklenen soslerinin duysal olarak daha çok beğenildiği bildirilmiştir. Mevcut çalışma sonucunda ise, karmin ve karadut içeren gruba kıyasla hibiskus ekstraktı içeren et çubukları panelistler tarafından daha lezzetli bulunmuştur. Buna ek olarak, hibiskus içeren grup genel beğeni açısından da daha yüksek puana sahip olmuştur. Bu farklılığın, karadut ekstraktının tatlı olmasından kaynaklı ete uygun olmadığından ve karminin tada herhangi bir etkisinin olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 7. Et çubuklarının duyuşal değerdendirilmesi
(Table 7. Sensory evaluation of meat sticks)

	Görünüş (Appearance)	Renk (Color)	Koku (Odor)	Lezzet (Flavor)	Doku (Texture)	Genel Beğeni (Overall acceptance)
Renklendiriciler (Colorants)						
Karmin (Carmine)	6.85 ^a ±0.15	6.40 ^a ±0.30	6.80 ^a ±0.00	6.90 ^b ±0.00	6.90 ^a ±0.00	6.65 ^b ±0.05
Karadut (Black mulberry)	7.30 ^a ±0.00	7.30 ^a ±0.00	7.00 ^a ±0.20	6.70 ^b ±0.05	6.80 ^a ±0.10	6.95 ^b ±0.15
Hibiskus (Hibiscus)	7.10 ^a ±0.10	7.25 ^a ±0.15	6.90 ^a ±0.05	7.20 ^a ±0.10	7.00 ^a ±0.05	7.40 ^a ±0.00
Önem Seviyesi (Significance)	NS	NS	NS	*	NS	*

^{a,b} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerdler, farklılıkları göstermektedir

(^{a,b} Mean values shown with different letters in the column indicate differences ($P<0.05$)).

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$); * $P<0.05$

(NS Not Significant ($P>0.05$); * $P<0.05$)

SONUÇ

Bu çalışmada, ticari karadut (75°Bx) ve hibiskus (5°Bx) ekstraktları et çubuklarının renklendirilmesinde kullanılmıştır. Gıda endüstrisinde genellikle renklendirme amacıyla kullanılan hibiskus ve karadut ekstraktları, biyoaktif bileşenlerce zengin olmaları nedeniyle de tüketici tercihlerini olumlu yönde etkilemektedir. Bu çalışma kapsamında, hibiskus ve karadut ekstraktları ile renklendirilmiş et çubuklarının gıda sanayide sıklıkla kullanılan karmine alternatif olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Renklendirme açısından hibiskus ekstraktının et çubuklarına oldukça doğal bir renk sağladığı, karadut ekstraktının içerdiği organik asitler sayesinde ürünün pH değerdinde düşüşe sebep olduğu ve duyuşal olarak hibiskus ekstraktı ile renklendirilmiş et çubuklarının daha lezzetli bulunduğu tespit edilmiştir. Hem renklendirme hem de biyoaktif bileşenlerce zenginleştirme açısından hibiskus ekstraktının et ürünlerinde kullanılabileceğı ve bu konudaki gelecek renklendirme araştırmalarına ışık tutacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

Aditya, N.W., Amin, M.N.G., Alamsjah, M.A. (2020). The effect of fucoxanthin as coloring agent on the quality of catfish sausage. *IOP*

Conference Series: Earth and Environmental Science, 441(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/441/1/012080>

Ahlawat, T., Patel, N.L., Agnihotri, R., Patel, C.R., Tandel, Y. (2016). Black mulberry (*Morus nigra*). *Underutilized fruit crops: Importance and cultivation*, 195:212.

Alfaifi, B.M., Al-Ghamdi, S., Othman, M.B., Hobani, A.I., Suliman, G.M. (2023). Advanced Red Meat Cooking Technologies and Their Effect on Engineering and Quality Properties: A Review. *Foods*, 12(13):1–26. <https://doi.org/10.3390/foods12132564>

AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis 17 th edition. AOAC, Washington DC.

Aykın Dinçer, E. (2020). Soğuk kurutulmuş tavuk eti dilimlerinin bazı kalite özellikleri. *GIDA*, 45(2):262–274.

Aykın Dinçer, E., Dinçer, C. (2022). Vakumlu emdirim ile renkli fonksiyonel tavuk eti küplerinin üretilmesi. *GIDA*, 47(5): 860–873. <https://doi.org/10.15237/gida.gd22056>

Aykın-Dinçer, E., Güngör, K.K., Çağlar, E., Erbaş, M. (2021). The use of beetroot extract and

- extract powder in sausages as natural food colorant. *International Journal of Food Engineering*, 17(1):75–82. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2019-0052>
- Bıçakçı, G., Türker, D.N., Ertaş, E. (2023). Etlik piliç göğüs etinin marine edilmesinde bazı antioksidan içeren marinatlara kullanımı. *GIDA*, 48(4):861-871.
- Bozkurt, H., Belibagli, K. B. (2009). Use of rosemary and *Hibiscus sabdariffa* in production of kavurma, a cooked meat product. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 89, 1168–1173. doi: 10.1002/jsfa.3570
- Perez-Baez, A.J., Camou, J.P., Gonzalez-Aguilar, G., Lucas-Gonzalez, R., Valenzuela-Melendres, M., Viuda-Martos, M. (2021). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts added to Frankfurt-type sausages: Effects on chemical, physicochemical, and sensorial properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10):e15782.
- Chumsri, P., Sirichote, A., Itharat, A. (2008). Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(SUPPL. 1):133–139.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L.—A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165:424–443.
- Dinçer, C. (2022). Modeling of hibiscus anthocyanins transport to apple tissue during ultrasound-assisted vacuum impregnation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6):e15886.
- Erdem, M., Akarsu, S., Pan, E., Kurt, Y. (2014). Bipolar disorder and oxidative stress. *Journal of Mood Disorders*, 4(2):70. <https://doi.org/10.5455/jmood.20131205063815>
- Ekici, L., Ozturk, I., Karaman, S., Caliskan, O., Tornuk, F., Sagdic, O., Yetim, H. (2015). Effects of black carrot concentrate on some physicochemical, textural, bioactive, aroma and sensory properties of sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1):718–726.
- Feifei, S., Kryzhska, T.A., Yan, L., Zhenhua, D., Danylenko, S.H., Stepanova, T.M., Koshel, O.Y. (2022). Effects of different natural food coloring additions on the quality of chicken sausage. *Journal of Chemistry and Technologies*, 30(2):265–274. <https://doi.org/10.15421/jchemtech.v30i2.244538>
- Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., Amodio, M.L., Colelli, G., González-Gómez, D. (2013). Retention of quality and functional values of broccoli “Parthenon” stored in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 31(2):302–313. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.012>
- González, E.A., García, E.M., Nazareno, M.A. (2010). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of cochineal (*Dactylopius coccus* C.) extracts. *Food Chemistry*, 119(1):358–362.
- Huang, T.C., Nip, W.K. (2001). Intermediate-moisture meat and dehydrated meat. In: Meat Science and Applications, Hui, Y.H. (chief ed.), Marcel Dekker Inc., New York, the USA, pp. 403–442.
- Hastaoğlu, E., Vural, H., Can, Ö. P. (2021). Effects of thymol and rosemary essential oils and red beet extract on low-nitrite and carmine-free beef Mortadella. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15855.
- Jiang, N., Xu, B., Zhao, L., Huang, M., Zhou, G. (2016). Effects of high-temperature–short time (HTST) drying process on proteolysis, lipid oxidation and sensory attributes of Chinese dry-cured chicken. *CyTA—Journal of Food*, 14(3):440–448.
- Karabacak, S., Bozkurt, H. (2008). Effects of *Urtica dioica* and *Hibiscus sabdariffa* on the quality and safety of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Meat Science*, 78(3):288–296.
- Kiliç, K., Onal-Ulusoy, B., Boyacı, I. H. (2007). A novel method for color determination of edible oils in $L^*a^*b^*$ format. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(2):157–164. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600211>
- Konieczny, P., Stangierski, J., Kijowski, J. (2007). Physical and chemical characteristics and

- acceptability of home style beef jerky. *Meat Science*, 76(2):253–257. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.11.006>
- Kumar, P., Verma, A.K., Kumar, D., Umaraw, P., Mehta, N., Malav, O.P. (2019). Meat snacks: a novel technological perspective. In *innovations in traditional foods*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814887-7.00011-3>
- Kutlu, T., Durmaz, G., Ateş, B., Yilmaz, I., Çetin, M.Ş. (2011). Antioxidant properties of different extracts of black mulberry (*Morus nigra* L.). *Turkish Journal of Biology*, 35(1):103–110. <https://doi.org/10.3906/biy-0904-22>
- Lemon, D.W. (1975). An Improved TBA Test for Rancidity New Series Circular. No:51. HalifaxLaboratory, Halifax, Nova Scotia.
- Lim, S.H., Choi, C.I. (2019). Pharmacological properties of *Morus nigra* L.(black mulberry) as a promising nutraceutical resource. *Nutrients*, 11(2):437.
- Liu, Q., He, Z., Zeng, M., Qin, F., Wang, Z., Liu, G., Chen, J. (2021). Effects of different food ingredients on the color and absorption spectrum of carminic acid and carminic aluminum lake. *Food Science & Nutrition*, 9(1), 36-43.
- Márquez-Rodríguez, A.S., Nevárez-Baca, S., Lerma-Hernández, J.C., Hernández-Ochoa, L. R., Nevárez-Moorillon, G.V., Gutiérrez-Méndez, N., Muñoz-Castellanos, L.N., Salas, E. (2020). In vitro antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa* L. phenolic extract and its in situ application on shelf-life of beef meat. *Foods*, 9(8):1080.
- Macrae, R., Robinson, R.K., Sadler, M.J. (1993). *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*. Academic Press, London, p. 4167.
- Modi, V.K., Sachindra, N.M., Nagegowda, P., Mahendrakar, N.S., Narasimha Rao, D. (2007). Quality changes during the storage of dehydrated chicken kebab mix. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(7):827–835.
- Naji, A., Berktaş, S., Çam, M. (2021). Mikrokapsüle Hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktı tozu ile soğuk çay üretimi: Antioksidan aktivite ve duyuşal özellikler (Tr). *European Journal of Science and Technology*, 31(31):831–836. <https://doi.org/10.31590/ejosat.991763>
- Naji, A. (2018). *İstant hibiskus çayı üretimi*, Erciyes Üniversitesi, Yüksek lisans tezi, Erciyes, 97 s.
- Jiang, Y., Nie, W.J. (2015). Chemical properties in fruits of mulberry species from the Xinjiang province of China. *Food Chemistry*, 174:460-466. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.083>
- Jung, E., Joo, N. (2013). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and soybean oil effects on quality characteristics of pork patties studied by response surface methodology. *Meat Science*, 94:391–401. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.02.008
- Özbalcı, D., Aydın, E., Özkan, G. (2023). Phytochemical profile and pharmaceutical properties of mulberry fruits. *Food and Health*, 9(1):69–86. <https://doi.org/10.3153/fh23007>
- Pérez-Quintana, M., Silva-Chango, J., Caicedo, W., Bravo-Sánchez, L., Arias-Gutiérrez, R. (2019). Use of *Hibiscus sandariffa* extract as a natural antioxidant in sausages. *Mol2net*, 5:85-93.
- Poowakanjana, S., Park, J. W. (2009). Controlling the bleeding of carmine colorant in Crabstick. *Journal of Food Science*, 74(9):C707-C712.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A.R., Simonič, M., Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2):191–198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025>
- Santos, E. M., Sánchez-Ortega, I., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Munekata, P. E., Falfán-Cortés, R. N., Ibarra, I. S., Rangel-Vargas, E. (2022). Use of *Hibiscus sabdariffa* calyces in meat products. *Frontiers in Animal Science*, 3, 876042.
- 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(April). <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108522>

- Wang, W.D., Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82(3):271–275. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.018>
- Yavaş, O., Sengul, M., Zor, M. (2023). Changes in some physical and chemical properties of Black Mulberry (*Morus nigra* L.) concentrate during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2023/2802241>
- Yiğit, D., Mavi, A., Aktaş, M. (2008). Antioxidant activities of black mulberry (*Morus nigra*). *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1–2:223–232.
- Zhen, J., Villani, T.S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M.H., Ho, C.T., Simon, J.E., Wu, Q. (2016). Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry*, 190:673–680. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>
- Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E.J., Ahn, D.U. (2010). Improving functional value of meat products. *Meat Science*, 86(1):15-31.

FARKLI ANTİOKSİDAN KAYNAKLARININ GLUTENSİZ KRAKERİN BAZI FİZİKSEL, FONKSİYONEL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hilal ARSLAN BAYRAKCI*

Selçuk Üniversitesi, Karapınar Aydoğanlar Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Konya, Türkiye

Geliş / Received 21.10.2024; Kabul / Accepted: 04.02.2025; Online baskı / Published online: 06.02.2025

Arslan Bayrakçı, H. (2025). Farklı antioksidan kaynaklarının glutensiz krakerin bazı fiziksel, fonksiyonel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2025) 50 (1) 102-115 doi: 10.15237/ gida.GD24110

Arslan Bayrakçı, H. (2025). (2025). Effect of different antioxidant sources on some physical, functional and sensory properties of gluten-free crackers. GIDA (2025) 50 (1) 102-115 doi: 10.15237/ gida.GD24110

ÖZ

Bu çalışmada, glutensiz krakerlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla çörek otu, nar çekirdeği, yeşil çay ve keten tohumu gibi antioksidan kaynakları kullanılmıştır. Kontrol krakerler, 40:40:20 oranında pirinç, mısır ve nohut unundan üretilmiştir. Diğer krakerlerde bu karışım, %2, 4 ve 6 oranlarında farklı antioksidan kaynakları ile değiştirilmiştir. Fiziksel (renk, çap, kalınlık, yayılma oranı), fonksiyonel (antioksidan aktivite, serbest, bağlı ve toplam fenolik madde miktarı) ve duyuşal özellikler belirlenmiştir. Yeşil çay ikameli krakerler, tüm analiz yöntemlerinde (DPPH, FRAP, CUPRAC) en yüksek antioksidan aktivite değerini göstermiştir. %4 ve 6 oranında antioksidan kaynağı kullanımı, krakerlerin antioksidan aktivite miktarlarını artırmıştır. Tüm antioksidan kaynakları krakerlerin fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivite değerlerinin artmasını sağlarken, yeşil çay fonksiyonel özelliklerin geliştirilmesinde en etkili antioksidan kaynağı olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, glutensiz-kraker, fenolik madde, çörek otu, nar çekirdeği, yeşil çay, keten tohumu

EFFECT OF DIFFERENT ANTIOXIDANT SOURCES ON SOME PHYSICAL, FUNCTIONAL AND SENSORY PROPERTIES OF GLUTEN-FREE CRACKERS

ABSTRACT

In this study, antioxidant sources such as black cumin, pomegranate seed, green tea, and flaxseed were used to enhance the functional properties of gluten-free crackers. The control crackers were produced from a mixture of rice flour, corn flour, and chickpea flour in a ratio of 40:40:20. In other cracker samples, this mixture was replaced with different antioxidant sources at levels of 2%, 4%, and 6%. Physical (color, diameter, thickness, and spread ratio), functional (antioxidant activity, free, bound, and total phenolic content), and sensory properties were determined. The green tea-substituted cracker samples exhibited the highest antioxidant activity values across all analytical methods (DPPH, FRAP, and CUPRAC). The use of antioxidants at 4% and 6% levels significantly increased the antioxidant activity of the crackers. While all antioxidant sources contributed to the increase in phenolic content and antioxidant activity values, green tea was identified as the most effective antioxidant source for enhancing functional properties.

Keywords: Antioxidant activity, gluten-free-cracker, phenolic substance, black cumin, pomegranate seed, green tea, flaxseed

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: hbayrakci@selcuk.edu.tr

☎: (+90) 332 755 6896

☎: (+90) 332 755 6033

Hilal Arslan Bayrakçı; ORCID no: 0000-0003-0069-4164

GİRİŞ

Glutene duyarlı enteropati olarak da bilinen Çölyak hastalığı, glutensiz bir diyetle ömür boyu sıkı bir bağlılıkla tedavi edilir (Murray vd., 2004; Alvarez-Jubete vd., 2009; Göncü ve Çelik, 2020). Glutensiz bir diyetle hastalar, tipik ishal, yağlı dışkı ve kilo kaybından başka diğer semptomlar da dahil olmak üzere semptomlarda önemli ve hızlı bir iyileşme yaşarlar (Murray vd., 2004). Çölyak hastalığı olan kişilerin ev dışında "güvenli" gıdaya ulaşması oldukça zordur. Bu nedenle, bisküvi, kraker, kek vb. glutensiz paketli atıştırılmalıklardan, yeterli miktarlarda besin almayı talep ederler (Caponio, Summo, Clodoveo, ve Pasqualone, 2008). Küresel glutensiz gıda pazarı büyüklüğü 2023'te 12.3 milyar ABD doları olarak değerlendirildi ve 2024'ten 2032'ye kadar %10.1 bileşik yıllık büyüme oranıyla genişlemesi tahmin ediliyor (Ahuja, 2023). Tüm bunlar gözönüne alındığında glutensiz ürün pazarında farklı formülasyonlara sahip ürün çeşitliliğine ihtiyaç duyulmaktadır (Türk Aslan ve Işık, 2022). Kraker, genellikle şekersiz ve mayasız hamurdan yapılan ince, çtır gofret veya bisküvi olarak tanımlanır (Han vd., 2010). Tahıl bazlı ürünler ticari olarak büyük ölçekte kullanılmakta, önemli bir besin kaynağı ve küresel olarak birçok insanın günlük diyetinin ayrılmaz bir parçasını oluşturmaktadır. Bunlar arasında krakerler, gıda pazarında en hızlı büyüyen popüler atıştırılmalık ürünlerden biridir ve günlük yaşam için uygun gıdalar olarak kabul edilir (Mousavi Khaneghah vd., 2023).

Nar (*Punica granatum* L.), bilinen en eski yenilebilir meyvelerden biridir ve üzerinde çalışılan diğer meyvelerle karşılaştırıldığında en yüksek toplam polifenol konsantrasyonunu içermektedir. Nar, toplam meyvenin %50 ila %70'ini oluşturan taneler açısından zengin olup, %78'i meyve suyu ve %22'si tohumlardan oluşmaktadır (Mohagheghi vd., 2011). Eikani ve arkadaşlarına göre (2012), nar tohumlarının ortalama içeriği yaklaşık 37-143 g/kg meyvedir. Kuru ağırlık bazında tohumun yağ içeriği %12 ile %20 arasında değişmektedir (Al-Maiman ve Ahmad, 2002). Nar çekirdeği yağının antioksidan ve eikosanoid enzim inhibitör özellikleri (Qu, Pan ve Ma, 2010), bağışıklık fonksiyonu ve lipid metabolizması (Yamasaki vd., 2006), östrojen içeriği (Tong,

Kasuga, ve Khoo, 2006), cilt üzerinde yaşlanma karşıtı etkisi (Park vd., 2010), lipoperoksidasyon ve antioksidan enzim aktivitesi (de Melo, de Carvalho, Silva, ve Mancini-Filho, 2010), toksikolojik değerlendirme (Meerts vd., 2009) ve gentamisin kaynaklı nefrotoksisteye karşı koruma (Asadpour, Boroushaki, ve Sadeghnia, 2010) gibi biyolojik özelliklere (Eikani vd., 2012) sahip olduğu bildirilmiştir.

Çörek otu (*Nigella sativa*), *Ranunculaceae* üyesinden, Ortadoğu başta olmak üzere dünyanın birçok yerinde yetiştiriciliği yapılan tek yıllık otsu bir bitkidir (X. Liu, M. Abd El-Aty, ve Shim, 2011; Alu'datt vd., 2017). Ortalama %38.20 yağ, %20-85 protein, %7-94 ham lif, %31.94 karbohidrat, %4 kül ve %5 nemden oluşan bir bileşime sahiptir (Amin ve Hosseinzadeh, 2015; Yimer, Tuem, Karim, Ur-Rehman, ve Anwar, 2019). Son yıllarda çörek otu insanlar üzerindeki gerçek etkileri nedeniyle ciddi sağlık sorunlarını tedavi etmek amacıyla tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda, çörek otu ile antioksidan, antikarsinogenik, antiinflamatuvar, antialerjik, antimikrobiyel ve antifungal özellikler gibi çeşitli nutrasötik özellikler ilişkilendirilmiştir (Xue Liu vd., 2013; Adegbeye vd., 2020; Kesen, 2021).

Lineaceae üyesi olan keten (*Linum usitatissimum*), renkleri altın sarısından kırmızımsı kahverengiye kadar değişen, gevrek bir dokuya ve ceviz aromasına sahip küçük, yassı tohumlar üreten, mavi çiçekli, yıllık bir bitkidir (Morris Diane H. ve Flax Council of Canada, 2007; Rubilar, Gutiérrez, Verdugo, Shene, ve Sineiro, 2010). Son derece yüksek seviyelerde alfa-linolenik asit (ALA), diyet lifi, yüksek kaliteli protein ve fitoöstrojenler içermesi onu cazip bir besin haline getirmiştir. Keten tohumu yaklaşık %55 ALA, %28-30 protein ve %35 lif içermektedir (Carter, 1993; Rubilar vd., 2010; Rabetafika, Van Remoortel, Danthine, Paquot, ve Blecker, 2011). Günümüzde keten tohumu, üstün sağlık yararları olan gıdalara artan tüketici ilgisi nedeniyle fonksiyonel bir gıda olarak yeni beklentilere sahiptir. Mükemmel beslenme profili ve potansiyel sağlık faydaları, keten tohumunu özellikle sağlık yararları için tasarlanmış diyetlerin çekici bir bileşeni haline getirmiştir (Oomah, 2001). Keten tohumu yüksek

düzeyde fenolik bileşikler içerir. Bu fenolik bileşikler anti-kanser ve anti-oksidan özellikleriyle bilinir (Kajla, Sharma, ve Sood, 2015).

Yeşil çay, flavanoller, flavandioller, flavonoidler ve fenolik asitleri içeren polifenoller içerir; bu bileşikler kuru ağırlığın %30'una kadarını oluşturabilir. Yeşil çay polifenollerinin çoğu, genellikle kateşinler olarak bilinen flavonoidlerdir (Vinson, 2000). Hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalar, yeşil çay kateşinlerinin dejeneratif hastalıklara karşı bir miktar koruma sağladığını göstermektedir (Crespy ve Williamson, 2004). Yeşil çay tüketimi akciğer, kolon, yemek borusu, ağız, mide, ince bağırsak, böbrek, pankreas ve meme bezleri dahil olmak üzere birçok kanser türünün önlenmesiyle de ilişkilendirilmiştir (Koo ve Cho, 2004). Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar ve klinik araştırmalar, yeşil çayın (ve daha az ölçüde siyah ve Oolong çaylarının) birçok kronik hastalık riskini azaltabileceğini göstermiştir (Zaveri, 2006). Bu yararlı etki, güçlü antioksidanlar olan yüksek miktardaki polifenollerin varlığına bağlanmıştır. Özellikle yeşil çay kan basıncını düşürebilir ve böylece felç ve koroner kalp hastalığı riskini azaltabilir. Bazı hayvan çalışmaları, yeşil çayın kan şekeri düzeylerini ve vücut ağırlığını azaltarak koroner kalp hastalığının gelişimine karşı koruma sağlayabileceğini öne sürmüştür (Tsuneki vd., 2004).

Bu çalışmada; toz haline getirilmiş farklı antioksidan kaynaklarının (çörek otu, nar çekirdeği, yeşil çay ve keten tohumu) farklı oranlarının (%0, 2, 4, 6) glutensiz krakerlerin bazı fiziksel, fonksiyonel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çörek otu, nar çekirdeği, yeşil çay, keten tohumu, pirinç unu, mısır unu, nohut unu, yağ, tuz, pudra şekeri, kabartma tozu ve maya Konya (Türkiye) piyasasından temin edilmiştir. Çörek otu, nar çekirdeği, yeşil çay ve keten tohumu laboratuvar tipi bir öğütücüde (Arçelik K3104, İstanbul, Türkiye) öğütülerek un haline getirilmiştir.

Kraker Üretimi

Kraker örnekleri (Davidson, 2023)'in belirttiği metotta bazı modifikasyonlar yapılarak hazırlanmıştır. Kontrol glutensiz krakerler 200 g glutensiz un karışımına (pirinç unu:mısır unu:nohut unu, 40:40:20) 40 g şortening, 3.2 g tuz, 3 g pudra şekeri, 3 g kabartma tozu ve 0.4 g yaş maya ilave edilerek hazırlanmıştır. Diğer krakerler için glutensiz un karışımı % 2, 4 ve 6 oranlarında çörek otu, nar çekirdeği, yeşil çay ve keten tohumu ile yer değiştirmiştir (herbir antioksidan kaynağı için ayrı ayrı örnekler hazırlanmıştır). Hazırlanan karışımlar su ile 5 dk boyunca yoğurucuda (Hobart N50, Ontario, Kanada) yoğurulmuştur. Elde edilen hamurlar 30 °C sıcaklıkta %80 bağıl nemde 120 dk fermente edilmiştir. Daha sonra fermente edilmiş hamurlar 1 mm kalınlığında açılmış ardından daire şekillerinde kesilmiş ve 170 °C sıcaklıktaki fırında (Vestel SF8401, Manisa, Türkiye) pişirilmiştir.

Yöntem

Renk Analizi

Hazırlanan glutensiz kraker örneklerinin renk değerleri Minolta CR-400 (Konica Minolta, Osaka, Japonya) cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Hue (renk özü) değeri ve SI (doymunluk indeksi) değeri (Francis, 1994)'de belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.

Fiziksel Analizler

Kraker örneklerinin 5 farklı noktasından kumpas Mitutoyo 500-180-30 (Dijital kumpas 150 mm-Japonya) yardımı ile çap (mm) ve kalınlık (mm) değerleri ölçülmüştür. Yayılma oranı çap değerlerinin kalınlık değerlerine bölünmesi ile hesaplanmıştır.

Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu

Vitali vd. (2009) tarafından belirlenen yöntem kısmen modifiye edilerek örnekler serbest ve bağlı fenolik madde içeriği tespiti için ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla serbest bileşiklerin ekstraksiyonunda 1 g numune üzerine %1 asitlendirilmiş 10 ml (HCl) metanol: su çözeltisi ilave edilmiş, numuneler oda sıcaklığında çalkalamalı su banyosunda (Daihan Wisebath WSB-30, Gangwon, Güney Kore) 2 saat çalkalanmıştır. Ekstrakte edilen bu karışım

santrifüjlenmiş (3000 rpm, Hermle Z 326 K, Wehingen, Almanya) ve ayrılan süpernatantlar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Bağlı fenolik maddelerin ekstraksiyonunda ise serbest fenoliklerin ekstraksiyonundan kalan retentantlar üzerine metanol/H₂SO₄ (10:1) çözeltisinden 20 ml eklenmiş ve bu karışım 20 saat süre ile 80°C'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar soğuduktan sonra santrifüjlenip yine -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Serbest, Bağlı ve Toplam Fenolik Madde Analizi

Ekstraktların serbest, bağlı ve toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemine göre belirlenmiştir (Naczki ve Shahidi, 2004). Fenolik madde miktarı, galik asit eşdeğerleri (mg GAE/kg) cinsinden ifade edilmiştir.

Antioksidan Aktivite Analizi

Kraker örneklerinin ekstraksiyonu için serbest fenolik madde ekstraksiyonundaki prosedür uygulanmıştır (1 g numune 10 mL metanol-su karışımı (metanol/su, 80:10, v/v) ile karıştırılmıştır) (Yılmaz ve Koca, 2017). Örneklerin antioksidan aktiviteleri 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radikalinin inhibisyonu (DPPH) (Gyamfi, Yonamine, ve Aniya, 1999; Beta, Nam, Dexter, ve Sapirstein, 2005), ferrik iyonlarını indirgeme kuvveti (FRAP) (Yılmaz, 2019) ve bakır iyonlarını indirgeme kuvveti (CUPRAC) (Apak, Güçlü, Özyürek, ve Çelik, 2008) metotları kullanılarak belirlenmiştir.

Duyusal Analiz

Glutensiz krakerlerin tat, koku, dış görünüş, tekstür ve genel kabul edilebilirlik özellikleri Selçuk Üniversitesi Karapınar Meslek Yüksekokulu'ndan 12 panelist tarafından gerçekleştirildi. Duyusal özellikler 1'den 9'a kadar olan bir ölçek kullanılarak değerlendirildi (1: Hiç beğenmedim, 5: Ne beğendim ne beğenmedim, 9: Çok beğendim).

İstatistiksel Analizler

Veriler istatistiksel yazılım SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir. Ortalamalar arasındaki anlamlı fark $P < 0,05$ düzeyinde analiz edilmiştir. Kraker denemeleri

antioksidan kaynağı çeşidi (4), antioksidan kaynağı ilave oranı (4) deneme desenine göre iki tekerrürlü olarak (4x4)x2 yürütülmüştür.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Glutensiz krakerlerin renk değerleri

Farklı antioksidan kaynakları kullanılarak elde edilen glutensiz kraker örneklerine ait renk ölçüm değerleri Çizelge 1'de bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Örneklerle ait L*, a*, b*, SI ve Hue° değerleri sırasıyla çörek otu ilaveli glutensiz krakerlerde 76.10 ile 53.59, -3.83 ile -2.02, 38.19 ile 23.56, 95.73 ile 94.90 ve 38.38 ile 23.65 arasında; nar çekirdeği ilaveli glutensiz krakerlerde 76.10 ile 71.00, -3.83 ile 0.38, 38.19 ile 34.82, 95.73 ile 89.37 ve 38.38 ile 34.82 arasında; yeşil çay ilaveli glutensiz krakerlerde 76.10 ile 55.97, -3.83 ile -4.02, 38.19 ile 27.31, 95.73 ile 98.38 ve 38.38 ile 27.60 arasında; keten tohumu ilaveli glutensiz krakerlerde 76.10 ile 68.46, -3.83 ile -1.05, 38.19 ile 33.98, 95.73 ile 91.77 ve 38.38 ile 34.00 arasında değişmiştir (Çizelge 1).

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre örneklerin renk değerleri antioksidan kaynağı açısından değerlendirildiğinde; en yüksek ortalama L* ve b* değerleri nar çekirdeği (sırasıyla 73.41 ile 37.94) ve keten tohumu (sırasıyla 72.78 ile 36.10) kullanılarak elde edilen glutensiz kraker örneklerinde görülmüş, çörek otu ve yeşil çay kullanılan kraker örneklerinin ortalama L* ve b* değerleri azalmış ve (sırasıyla 63.13 ile 30.49 ve 65.29 ile 31.47) aynı grupta yer almıştır (Çizelge 2). Örneklerde en yüksek a* değeri nar çekirdeği kullanılarak elde edilen krakerlerde (-1.01), en düşük a* değeri ise yeşil çay kullanılarak elde edilen krakerlerde (-4.21) tespit edilmiştir (Çizelge 2). Glutensiz kraker örneklerinin hue° değerleri yeşil çay ilave edilen krakerlerde en yüksek (97.79), nar çekirdeği ilave edilen krakerlerde en düşük (91.49) tespit edilmiş; SI değerleri ise nar çekirdeği ve yeşil çay kullanılarak hazırlanan krakerlerde (sırasıyla 37.99 ve 36.19), çörek otu ve keten tohumu kullanılarak hazırlanan krakerlere göre (sırasıyla 30.61 ve 31.77) daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 1. Glutensiz krakerlere ait renk ölçüm değerleri
Table 1. Colour measurement values of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	Oran (%) Ratio(%)	L*	a*	b*	Hue	SI
	0	76,10	-3,83	38,19	95,73	38,38
Çörek otu <i>Black cummin</i>	2	65,57	-3,05	33,29	95,23	33,43
	4	57,27	-1,63	26,93	93,46	26,98
	6	53,59	-2,02	23,56	94,90	23,65
	0	76,12	-3,80	38,23	95,68	38,42
Nar Çekirdeği <i>Pomegranate seed</i>	2	73,86	-1,15	39,50	91,67	39,51
	4	72,66	0,51	39,19	89,25	39,20
	6	71,00	0,38	34,82	89,37	34,82
	0	76,10	-3,83	38,19	95,73	38,38
Yeşil çay <i>Green tea</i>	2	70,67	-4,35	32,78	97,57	33,07
	4	58,43	-4,62	27,64	99,49	28,02
	6	55,97	-4,02	27,31	98,38	27,60
	0	76,18	-3,83	38,19	95,73	38,38
Keten tohumu <i>Linseed</i>	2	74,82	-2,37	37,60	93,60	37,68
	4	71,67	-2,24	34,64	93,70	34,71
	6	68,46	-1,05	33,98	91,77	34,00

Çizelge 2. Glutensiz krakerlerin renk değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları
Table 2. Results of Duncan multiple comparison test on color values of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	L*	a*	b*	Hue	SI
Çörek otu-black cummin	63.13±9.25 ^b	-2.63±0.93 ^b	30.49±6.04 ^b	94.83±0.92 ^b	30.61±6.06 ^b
Nar çekirdeği- pomegranate seed	73.41±2.00 ^a	-1.01±1.86 ^a	37.94±2.01 ^a	91.49±2.78 ^c	37.99±2.02 ^a
Yeşil çay- green tea	65.29±8.94 ^b	-4.21±0.33 ^c	31.47±4.75 ^b	97.79±1.47 ^a	31.77±4.69 ^b
Keten tohumu- linseed	72.78±3.19 ^a	-2.37±1.06 ^b	36.10±1.96 ^a	93.70±1.51 ^b	36.19±2.02 ^a
Oran (%) Ratio					
0	76.13±0.07 ^a	-3.82±0.05 ^c	38.19±0.21 ^a	95.71±0.11 ^a	38.39±0.20 ^a
2	71.23±3.87 ^b	-2.72±1.24 ^b	35.79±3.04 ^a	94.52±2.32 ^{ab}	35.92±2.95 ^b
4	65.01±7.67 ^c	-1.99±1.95 ^{ab}	32.10±5.44 ^b	93.97±3.90 ^{ab}	32.23±5.35 ^c
6	62.26±8.10 ^c	-1.68±1.71 ^a	29.92±5.01 ^b	93.60±3.62 ^b	30.01±4.94 ^c

Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P <0.05).

Means with the different letter within a column are significantly different (P <0.05).

Antioksidan kaynağı ilave oranı açısından Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları değerlendirildiğinde; en düşük L* değeri %4 ve %6 ilave oranlarında tespit edilmiştir (Çizelge 2). İlave oranı arttıkça; krakerlerin a* değerinde de artış gözlemlenmiştir. %0 ve 2 ilave oranında b* örneklerin değerlerinde bir değişim gözlemlenmezken % 4 ve 6 ilave oranında antioksidan kaynağı kullanımı b* değerinde azalmaya neden olmuştur. SI değerleri %2 ilave oranında itibaren; hue° değerleri ise %6 ilave

oranında kontrol gruba göre daha düşük belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çörek otu ve yeşil çayın, yerini aldığı glutensiz unlara (pirinç ve mısır unu) göre daha koyu renge sahip olmasının bu duruma neden olduğu düşünülmektedir. Farklı antioksidan kaynaklarının kullanıldığı çalışmalarda benzer sonuçlara rastlanmıştır. Çörek otunun ekmekte (Ghadarloo, Mansouripour, ve Saremnezhad, 2023) ve bisküvide (AL-Ansi vd., 2019), çörek otu, keten tohumu ve nar çekirdeğinin makarnada (Madenci,

2017), keten tohumunun ekmekte (Wirkijowska vd., 2020) kullanıldığı çalışmalarda örneklerin renk değerlerinde benzer sonuçlara rastlanmıştır.

Glutensiz krakerlerin çap, kalınlık ve yayılma oranı değerleri

Kraker örneklerine ait çap, kalınlık ve yayılma oranı değerleri Çizelge 3'de ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4'de verilmiştir. Örneklerin çap (mm), kalınlık (mm) ve yayılma oranı değerleri sırasıyla çörek otu

ilaveli örneklerde 53.34 ile 52.40, 3.71 ile 3.77 ve 14.37 ile 13.89 aralığında; nar çekirdeği ilaveli örneklerde 53.34 ile 51.26, 3.71 ile 2.41 ve 14.37 ile 21.30 aralığında; yeşil çay ilaveli örneklerde 53.34 ile 52.52, 3.71 ile 3.10 ve 14.37 ile 16.94 aralığında; keten tohumu ilaveli örneklerde ise 53.34 ile 52.31, 3.71 ile 2.29 ve 14.37 ile 22.82 aralığında belirlenmiştir (Çizelge 3). Baljeet ve ark. (2010), bisküvilerin çapı ve kalınlığının her zaman zıt yönlerde hareket eden iki parametre olduğunu belirtmiştir (Baljeet, Ritika, ve Roshan, 2010).

Çizelge 3. Glutensiz krakerlerin teknolojik özelliklerine ait değerler

Table 3. Values of technological properties of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	Oran (%) Ratio (%)	Çap (cm) Diameter	Kalınlık (cm) Thickness	Yayılma Spread
Çörek otu <i>Black cummin</i>	0	53.34±0.11	3.71±0.01	14.37±0.09
	2	51.32±0.72	3.27±0.07	15.69±0.57
	4	51.64±0.47	3.48±0.09	14.83±0.27
	6	52.40±0.56	3.77±0.14	13.89±0.38
Nar çekirdeği <i>Pomegranate seed</i>	0	53.34±0.10	3.71±0.01	14.37±0.09
	2	51.07±0.08	2.59±0.03	19.72±0.18
	4	49.99±0.03	2.67±0.07	18.75±0.51
	6	51.26±0.07	2.41±0.03	21.30±0.31
Yeşil çay <i>Green tea</i>	0	53.34±0.10	3.71±0.02	14.37±0.09
	2	53.15±0.78	3.45±0.19	15.43±1.09
	4	51.27±0.07	3.44±0.00	14.88±0.00
	6	52.52±0.09	3.10±0.13	16.94±0.68
Keten tohumu <i>Linseed</i>	0	53.34±0.10	3.71±0.01	14.37±0.09
	2	51.63±0.34	2.52±0.02	20.49±0.03
	4	51.98±0.26	2.29±0.00	22.67±0.14
	6	52.31±0.04	2.29±0.03	22.82±0.29

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları çap değerleri açısından incelendiğinde; en düşük değer (51.42) nar çekirdeği ile hazırlanan kraker örneklerinde tespit edilmiştir. Kalınlık değeri çörek otu ve yeşil çay ile hazırlanan örneklerde (sırasıyla 3.56 ve 3.43), nar çekirdeği ve keten tohumu ile hazırlanan örnekler göre (sırasıyla 2.84 ve 2.70) daha yüksek bulunmuştur. En yüksek yayılma oranı nar çekirdeği ve keten tohumu ile hazırlanan kraker örneklerinde tespit edilmiş, çörek otu ve yeşil çay ile hazırlanan örneklerin yayılma oranı değerleri arasında istatistiki bir fark gözlemlenmemiştir (Çizelge 4).

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları antioksidan kaynağı ilave oranı açısından

değerlendirildiğinde; tüm ilave oranlarına göre kontrol grubu örneklerin çap ve kalınlık değerleri daha yüksek, yayılma oranı değerleri daha düşük olarak tespit edilmiştir. Antioksidan kaynağı ilave oranlarındaki artış (%2, 4 ve 6) kalınlık ve yayılma değerlerinde istatistiki olarak bir fark yaratmamıştır (Çizelge 4). Enginar yaprağı tozunun (%10, 20 ve 30 oranında) fonksiyonel kraker üretiminde kullanıldığı bir çalışmada da tozun tüm ikame oranlarında krakerlerin yayılma faktörü açısından istatistiki olarak fark gözlemlenmemiştir (Savlak, Taşkın, Çelik, Kumru, ve Kiyak, 2020)

Çizelge 4. Glutensiz krakerlerin teknolojik özelliklerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları
 Table 4. Results of Duncan multiple comparison test on technological properties of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	N	Çap (cm) Diameter	Kalınlık (cm) Thickness	Yayılma Spread
Çörek otu- <i>black cummin</i>	8	52.17 ^a	3.56 ^a	14.70 ^b
Nar çekirdeği- <i>pomegranate seed</i>	8	51.42 ^b	2.84 ^b	18.53 ^a
Yeşil çay- <i>green tea</i>	8	52.57 ^a	3.43 ^a	15.41 ^b
Keten tohumu- <i>Linseed</i>	8	52.32 ^a	2.70 ^b	20.09 ^a
Oran (%) Ratio				
0	8	53.34 ^a	3.71 ^a	14.37 ^b
2	8	51.79 ^{bc}	2.96 ^b	17.83 ^a
4	8	51.22 ^c	2.97 ^b	17.78 ^a
6	8	52.12 ^b	2.89 ^b	18.74 ^a

Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P <0.05).
 Means with the different letter within a column are significantly different (P <0.05).

Glutensiz krakerlerin antioksidan aktivite değerleri

Glutensiz krakerlere ait antioksidan aktivite değerleri Çizelge 5’de bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 6’da verilmiştir. DPPH, FRAP ve CUPRAC yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktivite değerleri çörek otu ilaveli glutensiz krakerlerde 418.60-601.82 mg TE/kg, 2.30-4.11 µmol TE/g

ve 8.33-16.31 µmol TE/g, nar çekirdeği ilaveli örneklerde 418.60-667.09 mg TE/kg, 2.30-4.82 µmol TE/g ve 8.33-18.65 µmol TE/g, yeşil çay ilaveli örneklerde 418.60-8036.24 mg TE/kg, 2.30-9.08 µmol TE/g ve 8.33-82.71 µmol TE/g ve keten tohumu ilaveli örneklerde 418.60-1150.05 mg TE/kg, 2.30-5.24 µmol TE/g ve 8.33-23.55 µmol TE/g aralığında belirlenmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Glutensiz krakerlerin antioksidan aktivite değerleri

Table 5. Antioxidant activity values of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	Oran (%) Ratio (%)	DPPH ² (mg TE/kg)	FRAP ³ (µmol TE/g)	CUPRAC ³ (µmol TE/g)
	0	418.60±1.34	2.30±0.10	8.33±0.04
Çörek otu <i>Black cummin</i>	2	454.00±17.97	2.72±0.14	12.02±0.12
	4	562.64±4.75	3.82±0.12	14.84±0.05
	6	601.82±3.16	4.11±0.04	16.31±0.52
	0	418.60±1.34	2.30±0.10	8.33±0.04
Nar çekirdeği <i>Pomegranate seed</i>	2	486.43±21.58	2.90±0.12	13.63±0.44
	4	603.13±12.06	4.07±0.01	16.79±0.32
	6	667.09±4.25	4.82±0.27	18.65±0.76
	0	418.60±1.34	2.30±0.10	8.33±0.04
Yeşil çay <i>Green tea</i>	2	2753.97±73.67	7.53±0.04	37.40±0.40
	4	6922.74±90.48	8.55±0.00	74.93±0.05
	6	8036.24±345.27	9.08±0.07	82.71±.67
	0	418.60±1.34	2.30±0.10	8.33±0.04
Keten tohumu <i>Linseed</i>	2	730.10±6.13	4.02±0.20	15.51±0.42
	4	960.32±5.83	4.68±0.35	19.71±0.33
	6	1150.05±38.76	5.24±0.01	23.55±0.28

Çizelge 6. Glutensiz krakerlerin antioksidan aktivite değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Table 6. Results of Duncan multiple comparison test for antioxidant activity values of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	N	DPPH ² (mg TE/kg)	FRAP ³ (μmol TE/g)	CUPRAC ³ (μmol TE/g)
Çörek otu- <i>black cummin</i>	8	509.27 ^c	3.24 ^b	12.87 ^b
Nar çekirdeği- <i>pomegranate seed</i>	8	543.81 ^c	3.52 ^b	14.35 ^b
Yeşil çay- <i>green tea</i>	8	4532.89 ^a	6.86 ^a	50.84 ^a
Keten tohumu- <i>Linseed</i>	8	814.76 ^b	4.06 ^b	16.78 ^b
Oran (%)Ratio				
0	8	418.60 ^c	2.30 ^c	8.34 ^c
2	8	1106.12 ^{bc}	4.29 ^b	19.64 ^{bc}
4	8	2262.21 ^{ab}	5.28 ^a	31.57 ^{ab}
6	8	2613.80 ^a	5.81 ^a	35.30 ^a

Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P <0.05).

Means with the different letter within a column are significantly different (P <0.05).

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları antioksidan kaynağı açısından değerlendirildiğinde, DPPH metoduna göre en yüksek değer yeşil çay ilaveli kraker örneklerinde belirlenmiş, bunu keten tohumu ilaveli örnekler takip etmiştir. En düşük değerler çörekotu ve nar çekirdeği ilaveli krakerlerde belirlenmiştir. FRAP ve CUPRAC metodlarına göre yeşil çay ilaveli kraker örneğinin antioksidan aktivite değeri diğer antioksidan kaynaklarının ilave edildiği kraker örneklerinden yüksek bulunmuştur. Keten tohumu, çörek otu ve nar çekirdeği ilaveli kraker örneklerinin FRAP ve CUPRAC antioksidan aktivite değerleri aynı grupta yer almıştır. Yeşil çay tozunun %0, 1, 2, 3 ve 4 oranlarında ekmek yapımında kullanıldığı bir çalışmada; yeşil çay tozu oranı arttıkça örneklerin antioksidan aktivitesi değerlerinde de kontrole göre önemli artışlar gözlemlenmiştir (Ning, Hou, Sun, Wan, ve Dubat, 2017). Yine (Nasiri, Mohtarami, Esmaili, ve Pirs, 2023); keten tohumu kullanarak hazırladıkları glutensiz bisküvi örneklerinde keten tohumu kullanım oranı arttıkça örneklerin antioksidan aktivite değerlerinde de önemli artışlar tespit etmişlerdir.

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları antioksidan kaynağı ilave oranı açısından değerlendirildiğinde; %4-6 oranında antioksidan kaynağı kullanımı DPPH, FRAP ve CUPRAC metodlarına göre ölçülen antioksidan aktivite

miktarlarında en yüksek değerlerin elde edilmesini sağlamıştır. %2 antioksidan aktivite kaynağı kullanımı DPPH ve CUPRAC yöntemlerine göre ölçülen antioksidan aktivite değerlerinde kontrole eşdeğer antioksidan aktivite değerleri vermiştir.

Glutensiz krakerlerin fenolik madde miktarları

Çeşitli antioksidan kaynakları ile hazırlanan glutensiz krakerlere ait serbest, bağlı ve toplam fenolik madde miktarı değerleri Çizelge 7'de ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 8'de verilmiştir. Kraker örneklerinin serbest bağlı ve toplam fenolik madde miktarı değerleri mg GAE/kg cinsinden sırasıyla; çörek otu ilaveli örneklerde 993.70 ile 1337.35, 3002.50 ile 4034.41, 3996.20 ile 5376.77 aralığında; nar çekirdeği ilaveli örneklerde 993.70 ile 1387.29, 3002.50 ile 4682.46, 3996.20 ile 6069.75 aralığında; yeşil çay ilaveli örneklerde 993.70 ile 2569.25, 3002.50 ile 3796.71, 3996.20 ile 6365.96 aralığında ve keten tohumu ilaveli örneklerde 993.70 ile 1466.72, 3002.50 ile 5459.86, 3996.20 ile 6926.58 aralığında belirlenmiştir (Çizelge 7).

Çizelge 7. Glutensiz krakerlerin fenolik madde değerleri
Table 7. Phenolic substance values of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	Oran (%) Ratio (%)	FPC ⁴ (mg GAE/kg)	BPC ⁵ (mg GAE/kg)	TPC ⁶ (mg GAE/kg)
	0	993.70±9.00	3002.50±87.84	3996.20±4.00
Çörek otu <i>Black cummin</i>	2	1061.00±5.94	3262.77±115.86	4323.78±109.92
	4	1160.91±11.91	3821.52±10.97	4982.43±97.76
	6	1337.35±18.80	4034.41±29.86	5371.77±76.86
	0	993.70±9.00	3002.50±87.84	3996.20±4.00
Nar çekirdeği <i>Pomegranate seed</i>	2	1111.00±12.89	3470.08±30.75	4581.08±287.86
	4	1279.69±22.40	3949.27±3.47	5228.96±25.87
	6	1387.29±26.89	4682.46±12.94	6069.75±184.90
	0	993.70±9.00	3002.50±87.84	3996.20±4.00
Yeşil çay <i>Green tea</i>	2	1464.88±22.19	3970.30±48.70	5435.19±25.89
	4	1867.54±19.62	4145.00±190.77	6012.54±84.48
	6	2569.25±83.29	3796.71±50.53	6365.96±12.77
	0	993.70±9.00	3002.50±87.84	3996.20±4.00
Keten tohumu <i>Linseed</i>	2	1157.92±2.61	3582.78±41.55	4740.69±44.16
	4	1307.62±2.81	4223.66±78.62	5531.28±75.81
	6	1466.72±15.75	5459.86±25.72	6926.58±32.02

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları antioksidan kaynağı açısından değerlendirildiğinde, yeşil çay ve keten tohumu ilaveli krakerlerin toplam fenolik madde miktarları diğer antioksidan kaynaklarıyla elde edilen krakerlerin toplam fenolik madde miktarı değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. En yüksek serbest fenolik madde miktarı değeri yeşil çay ile hazırlanan örneklerde, en düşük bağlı fenolik madde miktarı değeri ise çörek otu ile

hazırlanan örneklerde tespit edilmiştir (Çizelge 8). Radočaj vd. (2014); %0, 2, 4, 6 ve 8 oranında yeşil çay kullanarak hazırladıkları krakerlerde toplam fenolik madde miktarında yüksek bir artış gözlemlenmiştir. Kontrol grubu glutensiz krakerlerde (%0) toplam fenolik madde miktarı 1.09 mgGAE/g iken %8 oranında yeşil çay yaprağı ilave edilen glutensiz krakerlerde bu miktar 3.45 mgGAE/g olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 8. Glutensiz krakerlerin fenolik madde değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları
Table 8. Duncan multiple comparison test results for phenolic substance values of gluten-free crackers

Antioksidan kaynağı (Antioxidant source)	N	FPC ⁴ (mg GAE/kg)	BPC ⁵ (mg GAE/kg)	TPC ⁶ (mg GAE/kg)
Çörek otu- <i>black cummin</i>	8	1138.24 ^b	3530.30 ^b	4649.13 ^b
Nar çekirdeği- <i>pomegranate seed</i>	8	1192.92 ^b	3776.08 ^{ab}	4949.59 ^b
Yeşil çay- <i>green tea</i>	8	1723.84 ^a	3728.63 ^a	5433.06 ^a
Keten tohumu- <i>Linseed</i>	8	1231.48 ^b	4067.20 ^{ab}	5279.27 ^a
Oran (%) Ratio				
0	8	993.70 ^c	3002.50 ^d	3918.54 ^d
2	8	1198.70 ^{bc}	3571.49 ^c	4770.19 ^c
4	8	1403.94 ^b	4034.86 ^b	5438.81 ^b
6	8	1690.16 ^a	4493.36 ^a	6183.52 ^a

Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P <0.05).

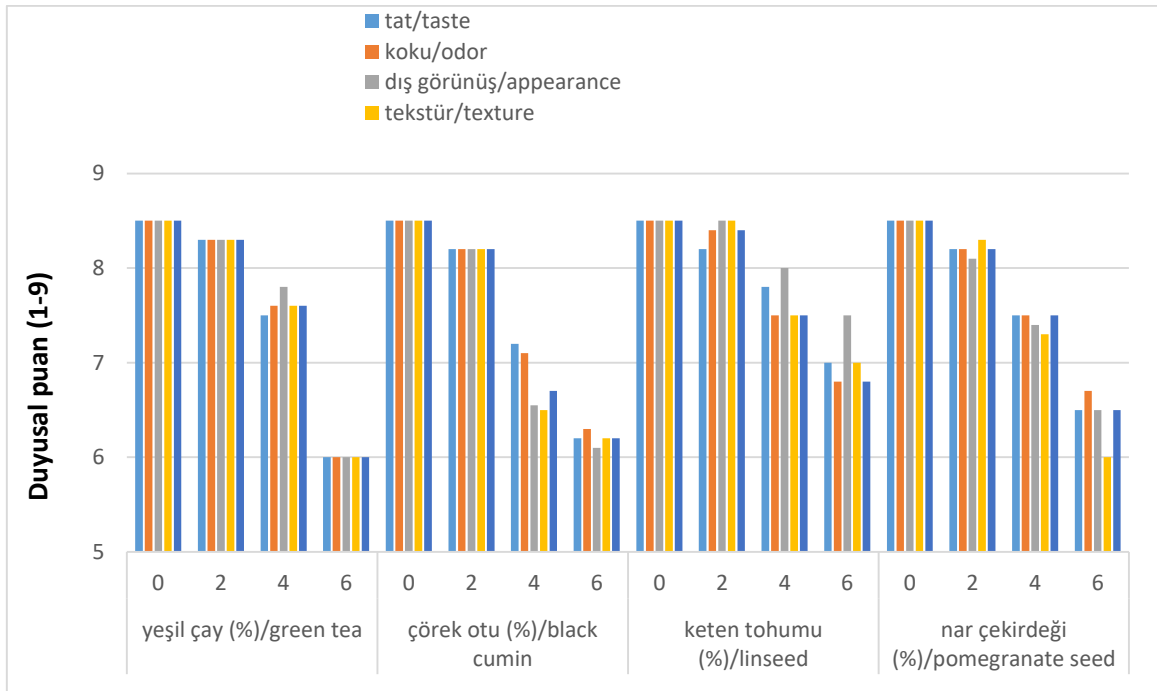
Means with the different letter within a column are significantly different (P <0.05).

Antioksidan kaynağı ilave oranı açısından Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları değerlendirildiğinde; serbest, bağlı ve toplam fenolik madde miktarı için en yüksek değeri %6 ilave oranına sahip glutensiz krakerler göstermiştir. İlave oranı arttıkça örneklerin fenolik madde miktarı değerlerinde de artış gözlemlenmiştir (Çizelge 8).

Glutensiz krakerlerin duyu analizi sonuçları

Glutensiz krakerlere ait duyu analizi sonuçları Şekil 1'de gösterilmiştir. Tüm duyu analizi

parametreler için, %2 oranında antioksidan kaynağı (yeşil çay, nar çekirdeği, çörek otu, keten tohumu) kullanılan örneklerin kontrol grubu (0) ile aynı veya yakın değerler aldığı gözlemlenmiştir. Antioksidan kaynağı kullanım oranı %6'ya ulaştığında kraker örneklerinin tat, koku, dış görünüş, tekstür ve genel kabul edilebilirlik skorlarında belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Sonuç olarak glutensiz kraker üretiminde yeşil çay, nar çekirdeği, çörek otu ve keten tohumunun %4 oranına kadar kullanımının duyu analizi açısından uygun olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. Glutensiz kraker örneklerine ait duyu analizi sonuçları

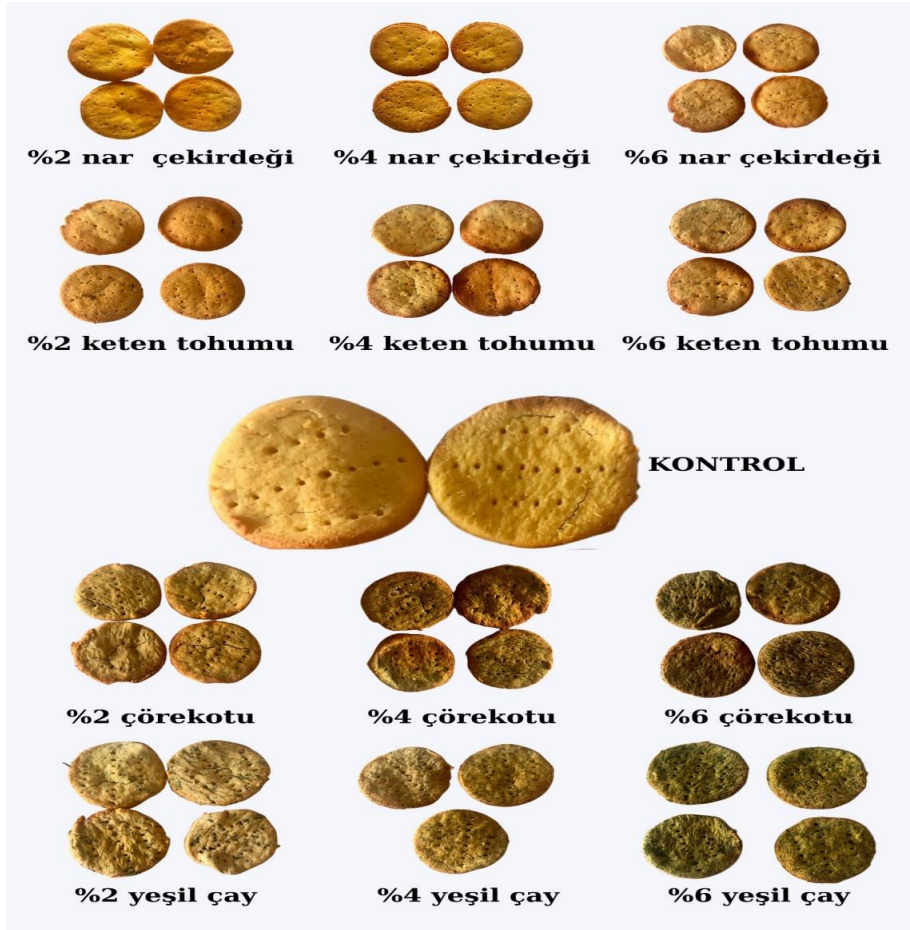
Figure 1. Sensory analysis results of gluten-free cracker samples

SONUÇ

Bu çalışmada pirinç unu, mısır unu ve nohut unu karışımı kullanılarak hazırlanan glutensiz krakerlerde bu karışımın %2, 4 ve 6'sı oranlarında krakerlere ilave edilen farklı antioksidan kaynaklarının (yeşil çay, çörek otu, nar çekirdeği ve keten tohumu) kullanımı incelenmiştir. Üretilen glutensiz krakerlerin (Şekil 2) bazı fiziksel, fonksiyonel ve duyu özelliklerindeki değişimler araştırılmıştır. Sonuç olarak fiziksel, fonksiyonel ve duyu sonuçlar bir arada

değerlendirildiğinde tüm antioksidan kaynaklarının %4 oranında kullanımının optimum sonuçlar gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca yeşil çay ilaveli örneklerin diğer antioksidan kaynaklarının kullanıldığı örneklere göre fonksiyonel açıdan üstün özellikler gösterdiği de tespit edilmiştir.

(Şekil 2)



Şekil 2. Farklı antioksidan kaynakları kullanılarak hazırlanan glutensiz kraker örnekleri
Figure 2. Examples of gluten-free crackers prepared using different antioxidant sources

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

KAYNAKLAR

Adebeye, M. J., Elghandour, M. M. M. Y., Faniyi, T. O., Rivero Perez, N., Barbabosa-Pilego, A., Zaragoza-Bastida, A., Salem, A. Z. M. (2020). Antimicrobial and antihelminthic impacts of black cumin, pawpaw and mustard seeds in livestock production and health. *Agroforestry Systems*, 94(4), 1255-1268. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0337-0>

Ahuja, K., Bayas, S. (2023). *Gluten Free Food Market Size*, By Distribution channel (Conventional stores, Hotels & restaurants, Educational Institutes, E-retailers, Specialty Services, Hospitals & drug stores), Product,

Growth Prospects, Regional Outlook & Global Forecast, 2024 – 2032. Report ID: GMI226. Published Date: December 2023. <https://www.gminsights.com/industry-analysis/gluten-free-food-market/market-size>

AL-Ansi, W., Mahdi, A. A., Al-Maqtari, Q. A., Fan, M., Wang, L., Li, Y., Qian, H., Zhang, H. (2019). Evaluating the role of microwave-baking and fennel (*Foeniculum vulgare* L.)/nigella (*Nigella sativa* L.) on acrylamide growth and antioxidants potential in biscuits. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 2426-2437. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00163-y>

Al-Maiman, S. A., Ahmad, D. (2002). Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food Chemistry*, 76(4).

[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00301-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00301-6)

Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Alodat, M., Al-Mahasneh, M. A., Gammoh, S., Ereifej, K., Almajwal, A., Kubow, S. (2017). Molecular characterization and bio-functional property determination using SDS-PAGE and RP-HPLC of protein fractions from two *Nigella* species. *Food Chemistry*, 230, 125-134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.025>

Alvarez-Jubete, L., Holse, M., Hansen, Å., Arendt, E. K., Gallagher, E. (2009). Impact of Baking on Vitamin E Content of Pseudocereals Amaranth, Quinoa, and Buckwheat. *Cereal Chemistry Journal*, 86(5), 511-515. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-86-5-0511>

Amin, B., Hosseinzadeh, H. (2015). Black Cumin (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone: An Overview on the Analgesic and Anti-inflammatory Effects. *Planta Medica*, 82(01/02), 8-16. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1557838>

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160(4). <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0>

Asadpour, E., Boroushaki, M. T., Sadeghnia, H. (2010). Protective effect of pomegranate seed oil against gentamicin induced nephrotoxicity in rat. *Toxicology Letters*, 196. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.03.777>

Baljeet, S. Y., Ritika, B. Y., Roshan, L. Y. (2010). Studies on functional properties and incorporation of buckwheat flour for biscuit making. *International Food Research Journal*, 17(4).

Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., Sapirstein, H. D. (2005). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Cereal Chemistry Journal*, 82(4), 390-393. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0390>

Caponio, F., Summo, C., Clodoveo, M. L., Pasqualone, A. (2008). Evaluation of the nutritional quality of the lipid fraction of gluten-

free biscuits. *European Food Research and Technology*, 227(1). <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0702-0>

Carter, J. F. (1993). Potential of Flaxseed and Flaseed Oil in Baked Goods and Other Products in Human Nutrition. *Cereal Foods World*, 38(10), 753-759.

Crespy, V., Williamson, G. (2004). The effects of green tea catechins in in vivo animal models. *Journal of nutrition*, 134.

Davidson, I. (2023). Biscuit Baking Technology: Processing and Engineering Manual, Third Edition. In: *Biscuit Baking Technology: Processing and Engineering Manual, Third Edition*. <https://doi.org/10.1016/C2021-0-00784-7>

de Melo, I. L. P., de Carvalho, E. B. T., Silva, A. M. de O. e, Mancini-Filho, J. (2010). Effects of Pomegranate Seed Oil on Lipoperoxidation and Activity of Antioxidant Enzymes in Liver and Brain of Rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 49. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.10.542>

Eikani, M. H., Golmohammad, F., Homami, S. S. (2012). Extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using superheated hexane. *Food and Bioproducts Processing*, 90(1). <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.01.002>

Francis, J. (1994). Food colorants today. *The World Ingredients*, 1, 8-11.

Ghadarloo, S., Mansouripour, S., Saremnezhad, S. (2023). Effect of the mixture of oleaster (*E. angustifolia* L.) and black cumin (*Nigella sativa*) flours as functional compounds on the quality characteristics of toast bread. *Food Science & Nutrition*, 11(8), 4678-4687. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3430>

Göncü, A., Çelik, İ. (2020). Investigation of some properties of gluten-free tarhanas produced by red, green and yellow lentil whole flour. *Food Science and Technology*, 40(suppl 2), 574-581. <https://doi.org/10.1590/fst.34919>

Gyamfi, M. A., Yonamine, M., Aniya, Y. (1999). Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana. *General Pharmacology: The Vascular System*, 32(6), 661-667. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(98\)00238-9](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(98)00238-9)

- Kajla, P., Sharma, A., Sood, D. R. (2015). Flaxseed—a potential functional food source. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 1857-1871. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1293-y>
- Kesen, S. (2021). *Composition and Functionality of Nigella sativa Seed Extracts*. https://doi.org/10.1007/978-3-030-48798-0_30
- Koo, M. W. L., Cho, C. H. (2004). Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. İçinde *European Journal of Pharmacology* (C. 500, Sayı 1-3 SPEC. ISS.). <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.07.023>
- Liu, X., M. Abd El-Aty, A., Shim, J.-H. (2011). Various Extraction and Analytical Techniques for Isolation and Identification of Secondary Metabolites from Nigella sativa Seeds. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(11), 947-955. <https://doi.org/10.2174/138955711797068472>
- Liu, X., Park, J.-H., Abd El-Aty, A. M., Assayed, M. E., Shimoda, M., Shim, J.-H. (2013). Isolation of volatiles from Nigella sativa seeds using microwave-assisted extraction: effect of whole extracts on canine and murine CYP1A. *Biomedical Chromatography*, 27(7), 938-945. <https://doi.org/10.1002/bmc.2887>
- Madenci, A. B. (2017). *Besinsel Lif ve Antioksidan Maddece Zengin Bileşenlerin Yaş Makarnanın Bazı Kalite Özellikleri ve Raf Ömrü Üzerine Etkisi* [Doktora Tezi]. T.C. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Meerts, I. A. T. M., Verspeek-Rip, C. M., Buskens, C. A. F., Keizer, H. G., Bassaganya-Riera, J., Jouni, Z. E., van Huygevoort, A. H. B. M., van Otterdijk, F. M., van de Waart, E. J. (2009). Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.031>
- Mohagheghi, M., Rezaei, K., Labbafi, M., Ebrahimzadeh Mousavi, S. M. (2011). Pomegranate seed oil as a functional ingredient in beverages. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(6). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000334>
- Morris Diane H., Flax Council of Canada. (2007). *Flax: a health and nutrition primer* (4. bs). Flax Council of Canada, Winnipeg, MB, .
- Mousavi Khaneghah, A., Mostashari, P., Oliveira, C. A. F., Vanin, F. M., Amiri, S., Sant'Ana, A. S. (2023). Assessment of the concentrations of ochratoxin A, zearalenone, and deoxynivalenol during cracker production. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, 104950. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104950>
- Murray, J. A., Watson, T., Clearman, B., Mitros, F. (2004). Effect of a gluten-free diet on gastrointestinal symptoms in celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(4), 669-673. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.4.669>
- Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. İçinde *Journal of Chromatography A* (C. 1054, Sayı 1-2). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>
- Nasiri, F., Mohtarami, F., Esmaili, M., Pirs, S. (2023). Production of gluten-free biscuits with inulin and flaxseed powder: investigation of physicochemical properties and formulation optimization. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04297-4>
- Ning, J., Hou, G. G., Sun, J., Wan, X., Dubat, A. (2017). Effect of green tea powder on the quality attributes and antioxidant activity of whole-wheat flour pan bread. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 342-348. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.052>
- Oomah, B. D. (2001). Flaxseed as a functional food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9). <https://doi.org/10.1002/jsfa.898>
- Park, H. M., Moon, E., Kim, A. J., Kim, M. H., Lee, S., Lee, J. B., Park, Y. K., Jung, H. S., Kim, Y. B., Kim, S. Y. (2010). Extract of Punica granatum inhibits skin photoaging induced by UVB irradiation. *International Journal of Dermatology*, 49(3). <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2009.04269.x>
- Qu, W., Pan, Z., Ma, H. (2010). Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering*,

- 99(1). <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.020>
- Rabetafika, H. N., Van Remoortel, V., Danthine, S., Paquot, M., Blecker, C. (2011). Flaxseed proteins: Food uses and health benefits. İçinde *International Journal of Food Science and Technology* (C. 46, Sayı 2). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02477.x>
- Radočaj, O., Dimić, E., Tsao, R. (2014). Effects of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil Press-Cake and Decaffeinated Green Tea Leaves (*Camellia sinensis*) on Functional Characteristics of Gluten-Free Crackers. *Journal of Food Science*, 79(3), C318-C325. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12370>
- Rubilar, M., Gutiérrez, C., Verdugo, M., Shene, C., Sineiro, J. (2010). Flaxseed as a source of functional ingredients. İçinde *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* (C. 10, Sayı 3). <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100010>
- Savlak, N., Taşkın, B., Çelik, B., Kumru, F., Kıyak, S. (2020). Atık Değerlendirmeye Yeni Bir Bakış; Enginar (*Cynara scolymus* L.) Yapraklarının Fonksiyonel Kraker Üretiminde Kullanımı. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 8(2), 358-364. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i2.358-364.3052>
- Tong, P., Kasuga, Y., Khoo, C. S. (2006). Liquid chromatographic-mass spectrometric method for detection of estrogen in commercial oils and in fruit seed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.04.010>
- Tsuneki, H., Ishizuka, M., Terasawa, M., Wu, J. Bin, Sasaoka, T., Kimura, I. (2004). Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. *BMC Pharmacology*, 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2210-4-18>
- Türk Aslan, S., Isık, F. (2022). Effects of pseudocereal flours addition on chemical and physical properties of gluten-free crackers. *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.52521>
- Vinson, J. A. (2000). Black and green tea and heart disease: A review. *BioFactors*, 13(1-4). <https://doi.org/10.1002/biof.5520130121>
- Vitali, D., Dragojević, I. V., Šebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114(4). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.032>
- Wirkijowska, A., Zarzycki, P., Sobota, A., Nawrocka, A., Blicharz-Kania, A., Andrejko, D. (2020). The possibility of using by-products from the flaxseed industry for functional bread production. *LWT*, 118, 108860. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108860>
- Yamasaki, M., Kitagawa, T., Koyanagi, N., Chujo, H., Maeda, H., Kohno-Murase, J., Imamura, J., Tachibana, H., Yamada, K. (2006). Dietary effect of pomegranate seed oil on immune function and lipid metabolism in mice. *Nutrition*, 22(1). <https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.03.009>
- Yılmaz, V. A. (2019). Effects of different cooking and drying methods on phenolic acids, carotenoids, and antioxidant activity of emmer (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum*) bulgur. *Cereal Chemistry*, 96(6), 1093-1102. <https://doi.org/10.1002/cche.10219>
- Yılmaz, V. A., Koca, A. F. (2017). Effect of different production techniques on bioactive compounds and antioxidant capacity of einkorn (*Triticum monococcum* L.) and durum (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) bulgur. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1). <https://doi.org/10.1002/jsfa.7724>
- Yimer, E. M., Tuem, K. B., Karim, A., Ur-Rehman, N., Anwar, F. (2019). *Nigella sativa* L. (Black Cumin): A Promising Natural Remedy for Wide Range of Illnesses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2019/1528635>
- Zaveri, N. T. (2006). Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sciences*, 78(18). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.12.006>

MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON VE IN VITRO SİNDİRİMİN AYÇİÇEK POSASI EKSTRAKTININ FENOLİK İÇERİK VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİSİ

İnci CERİT*

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

Geliş / Received 20.12.2024; Kabul / Accepted: 10.02.2025; Online baskı / Published online: 12.02.2025

Cerit, İ. (2025). Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve in vitro sindirimin ayçiçek posası ekstraktının fenolik içerik ve antioksidan aktivitesine etkisi. GIDA (2025) 50 (1) 116-130 doi: 10.15237/ gida.GD24119

Cerit, İ. (2025). Effects of microwave and in vitro digestion on the phenolic content and antioxidant activity of sunflower meal. GIDA (2025) 50 (1) 116-130 doi: 10.15237/ gida.GD24119

ÖZ

Ayçiçek yağı üretimi sonucu atık ürün olarak açığa çıkan ayçiçeği posası, biyoaktif bileşenler açısından zengin bir hammaddedir. Çalışmanın amacı, mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin ayçiçeği posasından elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde (TFM) içeriği ve antioksidan aktivitesi [2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP)] üzerindeki etkisini incelemektir. Ayrıca, in vitro sindirim süreci sonrasında antioksidan aktivitedeki değişimler belirlenmiştir. En yüksek aktivite, 1:20 katı:çözücü oranı ve 120 saniyelik mikrodalga uygulamasıyla elde edilmiş (TFM: 2500.44 mg GAE/100g; DPPH: 2318.49 mg Trolox/100g; FRAP: 3989.26 mg Trolox/100g) ve fenolik bileşiklerin varlığı ultraviyole-görünür spektroskopisi (UV-VIS) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ile doğrulanmıştır. Simüle edilmiş sindirim sürecinin ardından DPPH değerlerinde bir azalma gözlemlenirken TFM ve FRAP değerlerinin mide aşamasında azaldığı, bağırsak aşamasında ise artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ayçiçeği posasından fenolik bileşiklerin etkin şekilde elde edilmesini sağlamış ayrıca in vitro sindirim sonrası antioksidan aktivitenin bileşik dinamiklerine bağlı olarak değişim gösterdiğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Ayçiçeği posası, in vitro sindirim, mikrodalga, ekstraksiyon

THE EFFECT OF MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION AND IN VITRO DIGESTION ON THE PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SUNFLOWER MEAL EXTRACT

ABSTRACT

The sunflower meal, a by-product of sunflower oil production, is a raw material rich in bioactive compounds. This study investigates the effect of microwave-assisted extraction on the total phenolic (TPC) content and antioxidant activity [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and ferric reducing antioxidant power (FRAP)] of extracts from sunflower meal. Changes in antioxidant activity during the in vitro digestion process were also examined. The highest activity was obtained using a 1:20 solid-to-solvent ratio and 120 seconds of microwave application (TPC: 2500.44 mg GAE/100g; DPPH: 2318.49 mg Trolox/100g; FRAP: 3989.26 mg Trolox/100g). Phenolic compounds were confirmed by Ultraviolet-visible (UV-VIS) spectroscopy and Fourier transform infrared (FT-IR)

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: incicantik@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5847

İnci Cerit; ORCID no: 0000-0002-3106-8951

analysis. After simulated digestion, DPPH values decreased, while TPC and FRAP values decreased during the gastric phase but increased during the intestinal phase. This study demonstrates the efficiency of microwave-assisted extraction in recovering phenolic compounds from sunflower meal and highlights antioxidant activity changes during in vitro digestion.

Keywords: Sunflower meal, in vitro digestion, microwave, extraction

GİRİŞ

Ayçiçeği, ülkemizde üretimi oldukça yüksek olan ve en fazla ekim alanına sahip yağlı tohum bitkisidir. Ayçiçeği tarımı dünyada en fazla Rusya ve Ukrayna'da yapılmakla birlikte Türkiye üretim açısından 6. sırada yer almaktadır. 2023-2024 yılları arasında üretim miktarı dünyada 55.93 milyon iken Türkiye'de 1.55 milyon olmuştur (Meral, 2019; USDA, 2024). Bitkisel sıvı yağ tüketimimizin ise %84'e yakını ayçiçeğinden karşılanmaktadır (Gül vd., 2016). Tohumdan yağ üretimi sonucu atık ürün olarak ham proteince zengin değerli bir yan ürün olan ayçiçeği posası (küspesi) açığa çıkmaktadır. Ayçiçek yağı üretiminde pre-pres solvent ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem ile hemen hemen yağın tamamı tohumdan ayrılmakta ve daha sonra tohum kurutularak depolanmaktadır. Ayçiçeği tohumunun işlenmesi sonucunda; 100 kg tohumdan; yaklaşık 57 kg posa oluşmaktadır (Kocabaş, 2021). Posa, yağ sanayi için atık ürün olarak değerlendirilirken, yüksek protein içeriğiyle nitelikli bir hammadde özelliği taşımaktadır. Kuru madde oranı yaklaşık %90 olan posanın protein oranı %29-32, selüloz oranı %22-26, hemiselüloz oranı %6-12'dir. Bunların yanında, ayçiçeği posasının fenolik bileşen içeriği yaklaşık %4 olup büyük bir çoğunluğunu klorojenik asit, daha sonra ise kafeik asit oluşturmaktadır (Lomascolo vd., 2012; Nedelkov, 2023). Ayçiçeği dışında yeşil kahve ekstraktlarında ve çayda doğal olarak bulunabilen ve fenolik asit bileşiklerinden olan klorojenik asitin antioksidan, anti-alerjik, anti-inflamatuar, anti-mikrobiyal, anti-obezite ve anti-trombotik gibi biyolojik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Naveed vd., 2018). Tüm bu özelliklerinden dolayı ayçiçek posasında yüksek oranda bulunan fenolik bileşenlerin farmasötik, kozmetik veya gıda bileşeni olarak değerlendirilebilmesi sürdürülebilirlik açısından önem taşımaktadır (Náthia-Neves ve Alonso, 2021).

Literatür incelendiğinde, çeşitli kaynaklardan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için birkaç yaygın yöntem bulunduğu görülmektedir. Ancak bir ekstraksiyon yöntemi seçerken kullanılan çözücü, uygulanan sıcaklık, enerji tüketimi, işlem süresi gibi dikkate alınması gereken çeşitli faktörler bulunmaktadır. Günümüzde fonksiyonel bileşenleri izole etmeye yönelik mevcut metodolojiler arasında geleneksel yöntemlerden ziyade yeşil teknolojiler daha fazla tercih edilmektedir (Prado vd., 2020). Geleneksel yöntemler, hedef bileşiklerin ekstrakte edilmesinde etkili olmakla birlikte, fazla miktarda çözücü kullanımı, enerji gereksinimi ve potansiyel olarak tehlikeli atık üretimi gibi zorluklar ortaya çıkarmaktadır. Buna karşın son zamanlarda geliştirilen yeşil teknolojiler enerji tüketimini azaltmakta, çevresel etkiyi azaltarak sürdürülebilirlik hedeflerine ulaşılmasına katkıda bulunmaktadır (Usman vd., 2023). Araştırmalara konu olan yeşil teknolojiler, süperkritik akışkan, ultrasonik destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon ve basınçlı sıcak su ekstraksiyonu olarak sıralanabilir (Bitwell vd., 2023). Hepsinin kendi içinde avantajları ve dezavantajları olmakla birlikte mikrodalga ekstraksiyonu, çözücü ve mikrodalgaların kullanımını bir araya getiren modern bir tekniktir. Mikrodalga ekstraksiyonunun prensibi, çözücülerin numuneye difüzyonunu, ardından çözünen maddenin fonksiyonel bölgeden ayrılmasını ve son olarak çözücülere salınmasını içermektedir (Taşkın ve Özbek, 2020). Literatürde, fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda mikrodalga teknolojisinin kullanıldığı çalışmalar bulunmakla birlikte ayçiçeği posasından mikrodalga destekli ekstraksiyonunun yapıldığı çalışma sayısının az olduğu görülmüştür. (Náthia-Neves ve Alonso, 2021). Ayrıca, ayçiçeği posasından ekstrakte edilen biyoaktif bileşenlerin in vitro sindirim analizlerin yapıldığı herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, bitkisel yağ üretiminde atık olarak elde edilen ayçiçeği posası kullanılarak mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Farklı proses parametreleri (katı:çözücü oranı ve süre) uygulanarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri (DPPH ve FRAP yöntemleri ile) tespit edilmiştir. Ekstraksiyon yönteminin yapısal değişikliklere etkisi Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ve UV-görünür bölge spektrum (UV-VIS) taraması ile belirlenmiştir. Ek olarak in vitro sindirim uygulandıktan sonra toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitelerindeki değişim değerlendirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan ayçiçeği posası Kırklareli ili Tarım Kredi Yem San. ve Ticaret A.Ş. firmasından 2024 yılının Ekim ayında fabrika atığı olarak temin edilmiştir. Posaya, kurutma cihazı ile (Atacama Pro, F77000, Tre Spade, Torino, İtalya) 40°C ve 2.0±0.2 m/s hava akış hızında kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutmaya, posanın nem içeriği yaklaşık %5 olana kadar devam edilmiştir. Kurutulmuş posa öğütülerek elenmiş ve partikül boyutu açısından homojen hale (<2.0 mm) getirilmiştir. Posa temini ve kurutma işlemleri Kırklareli Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi için kullanılan mikrodalga cihazı (Siemens, Almanya) 180 W gücüne ayarlanmıştır. Hacmi 100 mL olan cam bir beherin içerisine 40 mL olacak şekilde çözücü (distile su) konulmuş ve üzerine farklı oranlarda posa (1:10; 1:20; 1:30 g/mL) eklenmiştir. Karışım 10 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra mikrodalga haznesine yerleştirilmiştir. Her bir örnek 15, 30, 45, 60, 90 ve 120 s boyunca mikrodalgaya maruz bırakılmıştır. İşlem sonunda tüm örneklerin sıcaklıkları bir termometre yardımı ile ölçüldükten sonra örnekler hızlıca soğuk su ile soğutulmuştur. Santrifüj cihazı ile (Hettich, Universal 320-R, Almanya) 13,130× g, 4°C, 10 dk koşullarında uygulanan işlemin ardından üst faz ayrılmış ve

analizlerde kullanılmak amacıyla karanlıkta 4°C'de depolanmıştır.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonucunda maksimum toplam fenolik maddenin elde edildiği koşulların aynısı mikrodalga işlemi olmadan uygulanmış ve kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde tayini

Hazırlanan ekstraktların toplam fenolik madde içeriği Wojdyło vd. (2007) yöntemi ile belirlenmiştir. Bunun için gerekli konsantrasyonda seyreltilen ekstrakttan 100 µL alınmış ve üzerine 200 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Ardından 2 mL distile su eklenmiş ve 3 dakika bekletilmiştir. Sodyum karbonat (%20) çözeltisinden 1 mL ilave edildikten sonra oda sıcaklığında karanlıkta 1 saat inkübe edilmiştir. Absorbans değerleri 765 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri/100 g kuru madde olarak verilmiştir. Hesaplama farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit standart eğrisi kullanılmıştır ($R^2=0.9986$).

DPPH süpürme aktivitesi analizi

DPPH süpürme aktivitesi tayini, Brand-Williams vd. (1995) yöntemine bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bir test tüpüne 50 µL ekstrakt, 50 µL çözücü ve 3 mL DPPH çözeltisi (0.051 mmol/L) eklenmiş ve karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki Trolox çözeltileri kullanılarak bir standart eğri oluşturulmuştur ($R^2 = 0.9983$). Absorbans değerleri 517 nm'de kaydedilmiş ve sonuçlar mg Trolox eşdeğeri/100 g kuru madde olarak ifade edilmiştir.

Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) yöntemi

FRAP tayini, Benzie ve Strain (1996) prosedürüne göre uygulanmıştır. FRAP reaktifi, sırasıyla 10 mmol/L TPTZ, 20 mmol/L $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve 300 mmol/L asetat tamponu (pH 3.6) çözeltilerinin 1:1:10 oranında karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Ekstrakt (50 µL) ve çözücü (50 µL) bir test tüpüne aktarılmıştır. Daha sonra, 1.8 mL FRAP reaktifi ve 1.2 mL distile su eklenerek karıştırılmış ve 37°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçlar,

Trolox'un standart eğrisine göre hesaplanmış ($R^2 = 0.9976$) ve 100 gram kuru madde başına miligram Trolox eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopi analizi

Ekstraktların Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) analizleri için öncelikle 50°C'de etüvde kurutma işlemi yapılmıştır. Kurutulan örneklerin FT-IR spektroskopi analizleri, ATR tekniği kullanılarak Perkin Elmer spektrometresi (Massachusetts, ABD) üzerinde Spectrum Two modeli ile gerçekleştirilmiştir. Veriler, Spectrum Yazılımı ile analiz edilmiştir. Spektrumlar, 4000 ile 400 cm^{-1} dalga boyu aralığında ve oda sıcaklığında elde edilmiştir.

Spektrum taraması

Ekstraktların 200 ile 700 nm arasındaki spektrumları, bir UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-1240, ABD) kullanılarak nitel olarak incelenmiştir.

In vitro sindirim (gastrik ve bağırsak)

Ekstraktların in vitro sindirimi, gastrik ve bağırsak simülasyonu ile ayrı ayrı incelenmiştir. Simüle edilmiş gastrik sıvı (SGF) ve simüle edilmiş bağırsak sıvısı (SIF), U.S. Pharmacopeia (2012) talimatlarına göre hazırlanmıştır.

SGF hazırlığı için sodyum klorür (2.0 g), pepsin (3.2 g) ile karıştırılmıştır. Daha sonra, karışıma 7 mL hidroklorik asit (37%) eklenmiş ve pH 1.2'de tutulacak şekilde hacim saf su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Gastrik sıvıdaki sindirimi simüle etmek için, 1.4 mL SGF, 10 mL'lik bir test tüpünde 200 μL ekstrakt ile karıştırılarak, 37°C'de 80 rpm hızında 120 dakika inkübe edilmiştir. Çözeltinin oda sıcaklığında soğutulmasının ardından santrifüjlenmiş ve ardından 0.2 mol/L sodyum hidroksit çözeltisi eklenerek nötralize edilmiştir.

SIF için monobazik potasyum fosfat (6.8 g), 250 mL saf su içinde çözülmüştür. Bu çözeltiye, 0.2 N sodyum hidroksit (77 mL) ve pankreatin (10 g) eklenmiştir. Karışımın hacmi 1000 mL'ye tamamlanmış ve pH 6.8'de tutulmuştur. Bağırsak sıvısındaki sindirimi simüle etmek için, 2.4 mL

SIF, 10 mL'lik bir test tüpünde 200 μL ekstrakt ile karıştırılmış ve 36.6°C'de, çalkalamadan, 120 dakika inkübe edilmiştir. Çözeltinin oda sıcaklığında soğutulmasının ardından santrifüjlenmiş ve 2 mL ekstrakta 100 μL 3 M hidroklorik asit eklenerek pH 1.2'ye düşürülerek enzim aktivitesi durdurulmuştur. 15 dakika sonra, çözeltiye 900 μL 0.2 N sodyum hidroksit eklenerek pH 7.0'ye nötralize edilmiştir. Son olarak, hem SGF hem de SIF numuneleri, fenolik içerik ve antioksidan aktivite açısından yukarıda belirtilen yöntemler ile test edilmiştir.

İstatistiksel analiz

Sonuçlar, SPSS (sürüm 11.5, SPSS Inc., ABD) bilgisayar programı kullanılarak ANOVA ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Ekstraktlar arasındaki farkları belirlemek için %5 anlamlılık düzeyinde Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. In vitro sindirim analizlerinde, iki örnek arasındaki farkı belirlemek için ise T-testi kullanılmıştır ($P < 0.05$).

BULGULAR VE TARTIŞMA

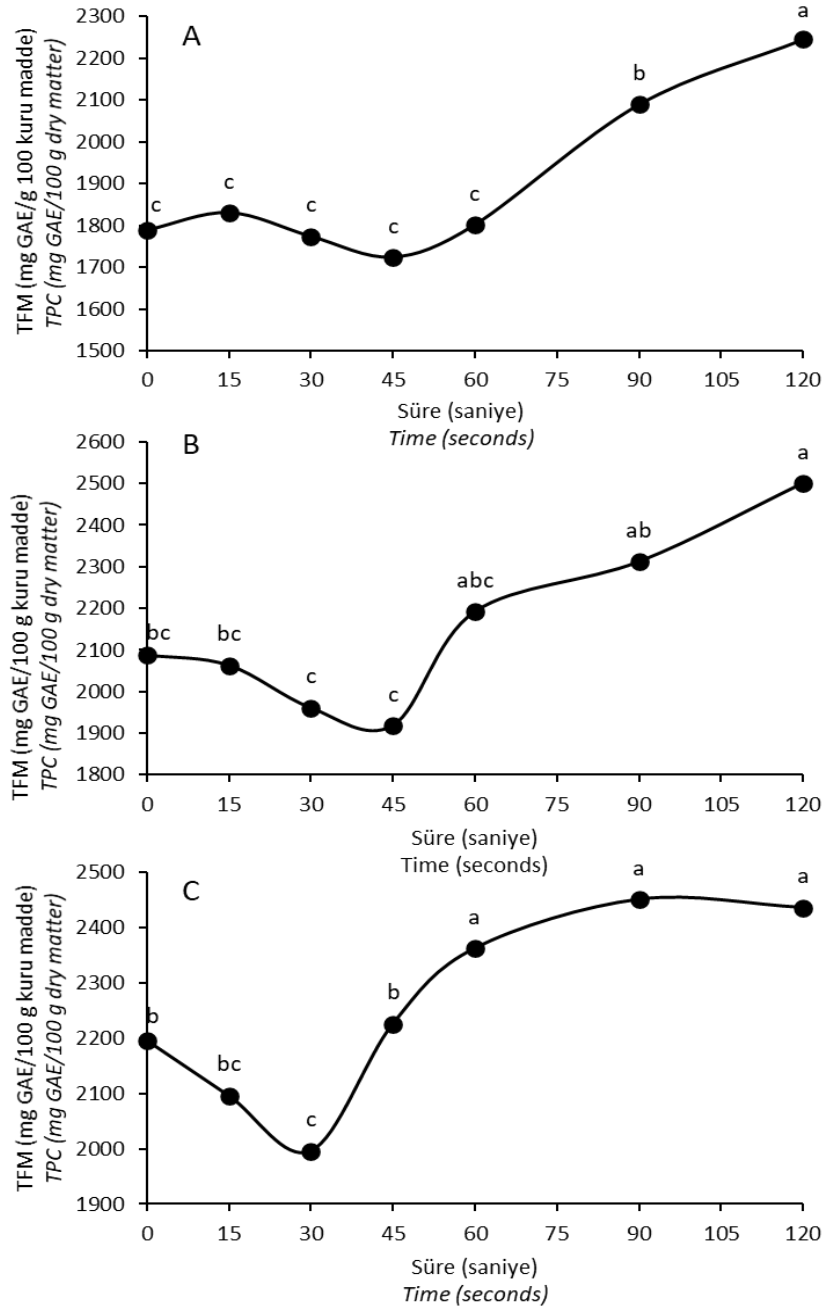
Toplam fenolik madde içeriği

Ayçiçeği posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, aynı anda iki farklı amaçla uygulanabilmektedir. Birincisi, fenolik bileşenler, gıdalara istenmeyen renk ve tat verdiğinden fenolik bileşenlerden arındırılmış ayçiçeği posası, yüksek protein içeriği ile gıda endüstrisinde değerlendirilme potansiyeline sahiptir. (Alexandrino vd., 2021). Ayrıca, sentetik antioksidanlar yerine ayçiçeği posası ekstraktından elde edilen doğal antioksidanların kullanılması, sürdürülebilir üretim yöntemleri, doğal gıda bileşenleri ve sıfır atık üretimi gibi kavramlarla ilişkilendirilebilmektedir (Wildermuth vd., 2016).

Bu çalışmada, ayçiçek yağı fabrikasından atık olarak temin edilen ayçiçeği posası, fenolik bileşen ekstraksiyonunda hammadde olarak kullanılmıştır. Çalışma iki aşamalı olarak kurgulanmıştır. İlk aşamada 180 W gücünde mikrodalga enerjisi kullanarak 0-120 s aralığında ekstraksiyonlar yapılmış ve ekstraktlara toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan aktivite testleri uygulanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktların TFM içerikleri Şekil 1'de

verilmiştir. Mikrodalga uygulanmayan örneklerin TFM miktarı 1:10; 1:20 ve 1:30 konsantrasyonlar için sırasıyla 1788.00, 2087.11 ve 2196.20 mg

GAE/100 g kuru madde olarak belirlenmiştir. Bu değerler literatürde yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir (Zardo vd., 2017).



Şekil 1. Katı madde:çözücü oranı 1:10 (A); 1:20 (B) ve 1:30 (C) olan ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri. Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0.05$).

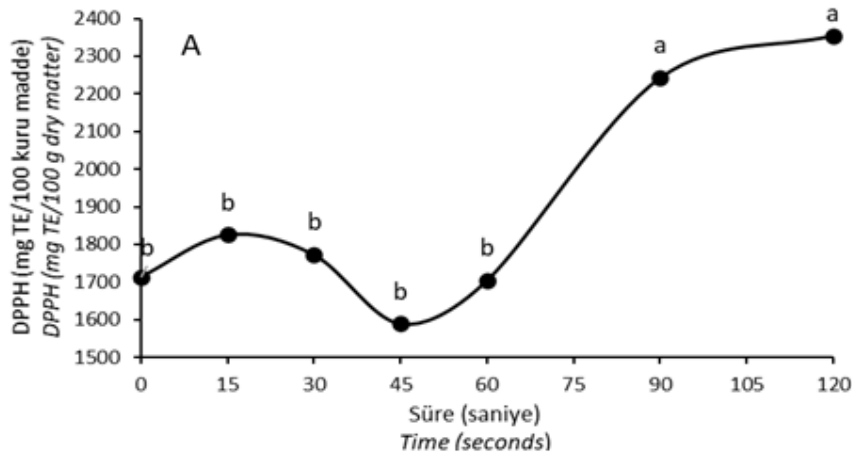
Figure 1. Total phenolic contents of extracts with solid-to-solvent ratios of 1:10 (A), 1:20 (B), and 1:30 (C). Values followed by different different lower case in the same figure are significantly different ($P < 0.05$).

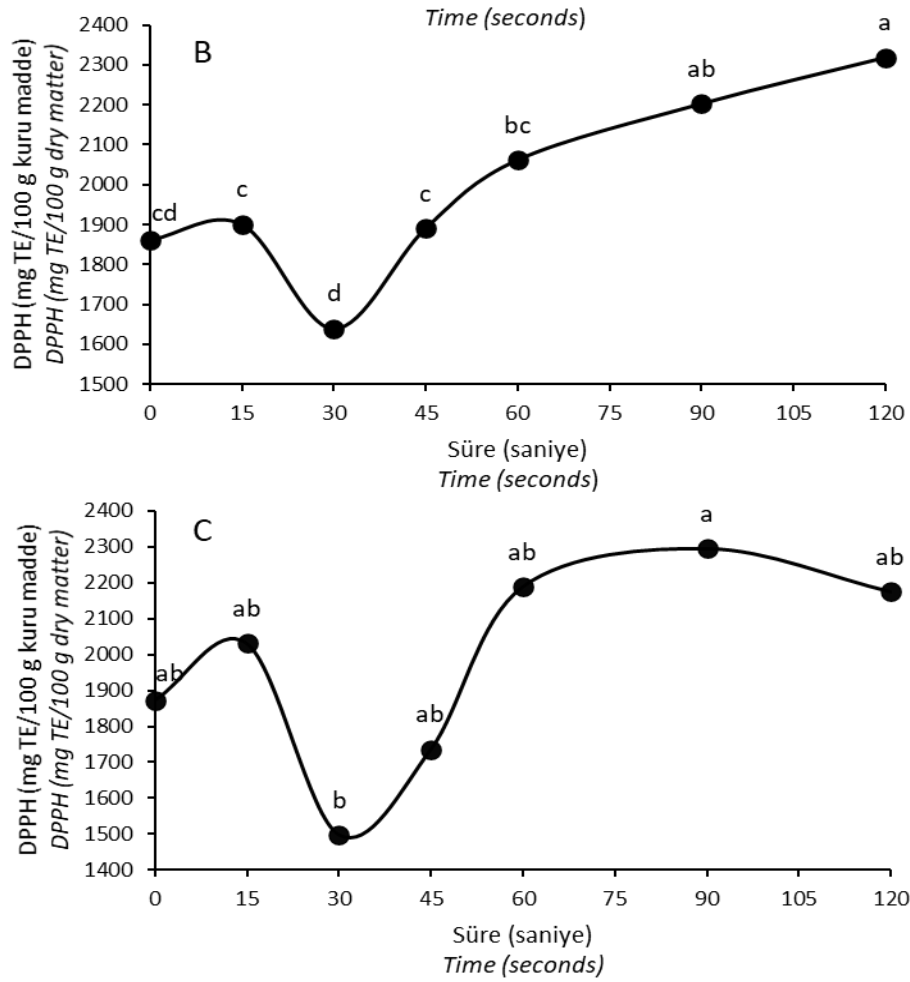
Mikrodalga kullanılan örneklerde TFM miktarının 1723.56 ile 2500.44 mg GAE/100 g kuru madde arasında değiştiği ve en yüksek değerin 1:20 konsantrasyon ve 120 s mikrodalga uygulamasında (1:20-120) olduğu tespit edilmiştir. Taha vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, ayçiçeği posasından geleneksel, ultrasonikasyon ve mikrodalga yöntemleriyle fenolik bileşenler ekstrakte edilmiştir. Çözücü olarak en yüksek verimin aseton ile sağlandığı çalışmada, geleneksel yöntemle 1802.76 mg GAE/100 g örnek TFM elde edilirken, bu değer mikrodalga enerjisinin kullanıldığı yöntemde 3093.31 mg GAE/100 g olarak rapor edilmiştir. Bu çalışma ile kıyaslandığında geleneksel yöntemle ekstraksiyon sonuçları TFM içeriği açısından benzer olurken mikrodalga grubundan daha az olduğu görülmektedir. Çalışmamızda çözücü olarak su kullanılması mikrodalga ile ekstraksiyon sonuçlarındaki farklılığın sebebi olarak düşünülmektedir.

Antioksidan aktivite

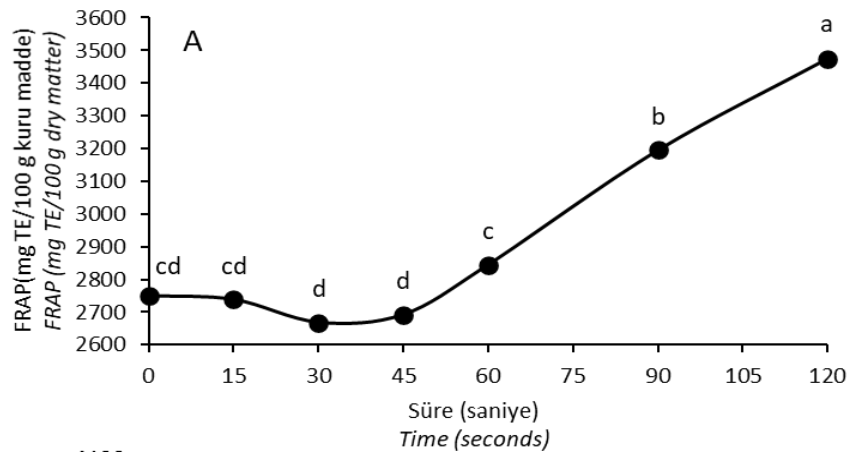
Ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH radikalı süpürme aktivitesi ve FRAP analizi uygulanarak iki farklı yöntemle belirlenmiştir. DPPH analizi sonrasındaki verilere bakıldığında (Şekil 2), TFM analizi ile paralel olarak 30 s ve 45

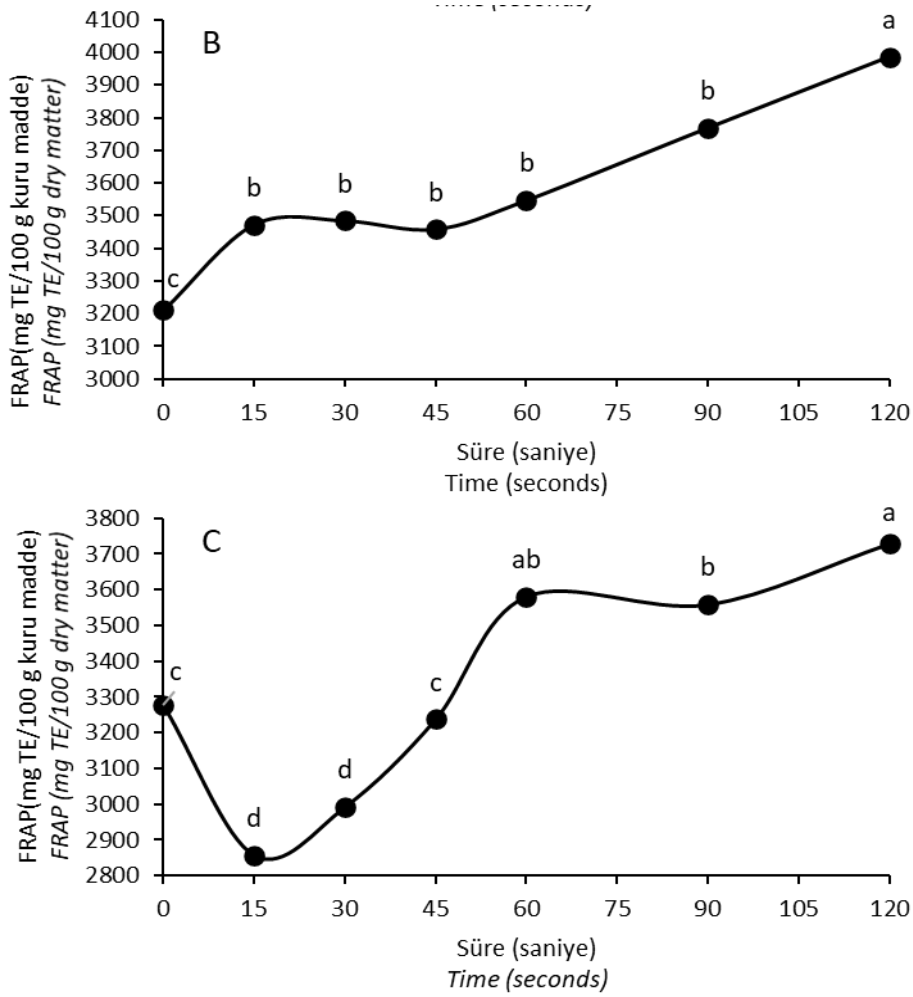
s mikrodalga uygulamalarından sonra antioksidan aktivitelerde bir azalma daha sonrasında ise artış olduğu belirlenmiştir. Bu duruma, başlangıçta mikrodalga enerjisinin hassas fenolik bileşiklerin termal bozunmasına neden olması, ancak ekstraksiyon devam ettikçe, hücre duvarlarının bozulması sonucu bağlı fenolik bileşiklerin serbest bırakılması sebep olmuş olabilir (Hayat vd., 2020). En düşük değerin 1498.10 mg Troloks/100 g kuru madde ile 1:30-30 ekstraktında, en yüksek değerin ise 2355.47 Troloks/100 g kuru madde ile 1:10-120 ekstraktında olduğu hesaplanmıştır. Yine FRAP sonuçları değerlendirildiğinde (Şekil 3), en yüksek antioksidan aktivitenin 1:20-120 (3986.26 mg Troloks/100 g kuru madde) uygulaması sonucu olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Ek olarak, TFM ve DPPH radikalı süpürme aktivitesi sonuçları arasında korelasyon yapıldığında, korelasyon katsayısının oldukça yüksek olduğu ($r=0.7806$; $P=0.0005$) dikkat çekmektedir. TFM ve FRAP sonuçları arasındaki korelasyon katsayısının da $r=0.8484$; $P=0.0001$ değeri ile yine önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür. Ayçiçeği posasında antioksidan aktiviteye katkıda bulunan en önemli bileşik grubu fenolik maddeler olduğundan sonuçlar arasında paralellik oluşması beklenen bir sonuçtur (Karamac vd., 2012).





Şekil 2. Katı madde:çözücü oranı 1:10 (A); 1:20 (B) ve 1:30 (C) olan ekstraktların DPPH süpürme aktiviteleri. Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($P<0.05$).
 Figure 2. DPPH scavenging activities of extracts with solid-to-solvent ratios of 1:10 (A), 1:20 (B), and 1:30 (C).
 Values followed by different lower case in the same figure are significantly different ($P<0.05$).





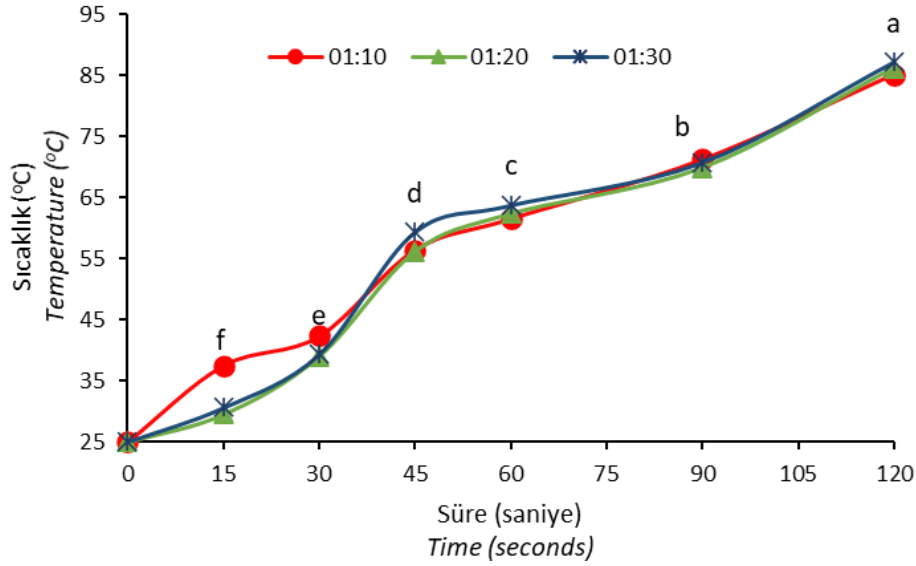
Şekil 3. Katı madde:çözücü oranı 1:10 (A); 1:20 (B) ve 1:30 (C) olan ekstraktların FRAP aktiviteleri.

Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0.05$).

Figure 3. FRAP activities of extracts with solid-to-solvent ratios of 1:10 (A), 1:20 (B), and 1:30 (C). Values followed by different lower case in the same figure are significantly different ($P < 0.05$).

Ekstraktların proses süresi boyunca sıcaklık değişimleri Şekil 4'de verilmiştir. Konsantrasyondan bağımsız olarak mikrodalga uygulama süresi arttıkça sıcaklığın arttığı ve 120 s sonunda 87°C civarına ulaştığı belirlenmiştir. Mikrodalga süresinin artması, hücrelerin hasar görmesine yol açarak fenolik bileşiklerinin ekstraksiyon çözeltisine geçişini kolaylaştırmaktadır (Aquino vd., 2023). Ancak, uygulanan mikrodalga gücü ve sürenin optimize edilmesi önem taşımaktadır. Náthia-Neves ve Alonso (2021) tarafından yapılan çalışmada, mikrodalga gücünün 100 W'tan 200 W'a

yükseltilmesinin, ayçiçeği posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimini artırdığı, ancak daha yüksek güç seviyelerinin verimi düşürdüğü tespit edilmiştir. Mikrodalga uygulamasında 30 saniyelik bir süre, en yüksek verimi elde etmek için yeterli bulunmuştur. Çalışmamızda farklı olarak, süre arttıkça (120 s) ekstrakt veriminin de yükseldiği gözlemlenmiştir. Ancak, daha uzun uygulama süreleri hem sıcaklığın aşırı yükselmesine hem de enerji tüketiminin artmasına neden olduğundan denenmemiştir.



Şekil 4. Ekstraktların proses süresi boyunca sıcaklık değişimleri. Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0.05$).

Figure 4. Temperature variations of the extracts during the process duration. Values followed by different lowercase in the same figure are significantly different ($P < 0.05$).

Fenolik bileşiklerin UV-VIS spektroskopisi ve FT-IR ile kalitatif belirlenmesi

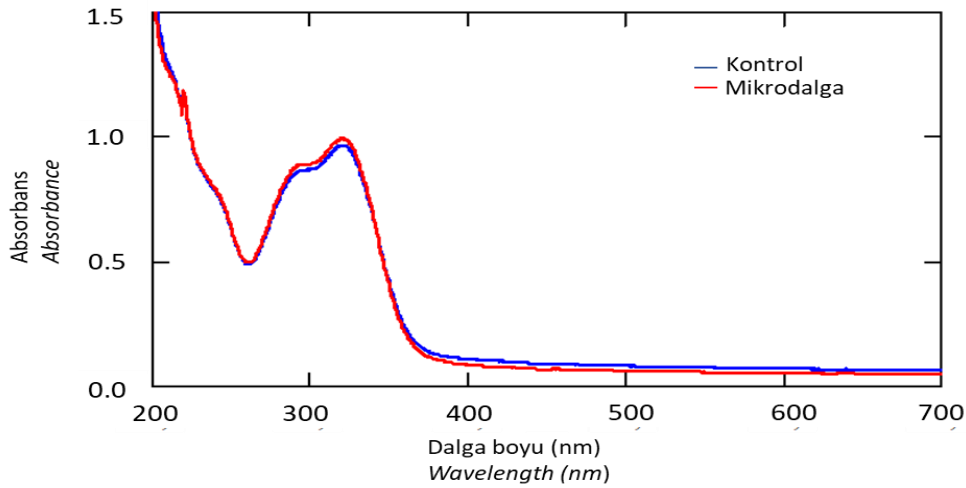
En yüksek biyoaktif bileşen içeren ekstrakt 1:20 konsantrasyonda 120 s mikrodalga uygulaması sonrası olduğundan karakterizasyon ve in vitro sindirim analizleri için bu koşullar seçilmiştir. Ayrıca, aynı konsantrasyonda mikrodalga uygulanmayan ekstrakt, karşılaştırma yapmak amacıyla kullanılmıştır. Ekstraktların karakterizasyon özelliklerini belirlemek için UV-VIS absorpsiyon spektrumları ve FT-IR spektrumları incelenmiştir. UV-VIS absorpsiyon spektrumları, spesifik absorpsiyon dalga boylarını belirlemek amacıyla 200-700 nm aralığında analiz edilmiştir (Şekil 5). 400 nm üzerindeki dalga boylarında herhangi bir absorpsiyon gözlemlenmezken 322 ve 295 nm dalga boyunda iki pikin maksimum noktası tespit edilmiştir. Her iki örneğin de benzer piklere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayçiçeği posasında bulunan en baskın fenolik bileşenin klorojenik asit olduğu bilinmektedir (Wanjari ve Waghmare, 2015). Klorojenik asitin UV-VIS spektroskopisiyle belirlendiği bir çalışmada, 324 nm'deki pikin, ağırlıklı olarak $\pi\pi^*$ karakteri sergilemekte ve elektron yoğunluğunun benzen halkası ile karbon zincirinde lokalize olduğu rapor edilmiştir

(Cornard vd., 2008). Çalışmamızdaki 322 nm'deki pikin klorojenik asit pikine karşılık geldiği düşünülmektedir. Ayrıca, fenolik ve flavonoid bileşiklerin, aromatik maddelerdeki $n-\pi^*$ elektronik geçiş ve kromoforlar nedeniyle 200-350 nm arasında UV ışığını absorbe ettiği bilinmektedir (Rafı vd., 2018; Song vd., 2020, Avcı vd., 2023).

FT-IR spektrometrisi, fonksiyonel gruplar hakkında nitel bilgiler sağlamak için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Mikrodalga ile elde edilen ekstrakt ile mikrodalga uygulanmayan kontrol grubunun kurutma işlemi sonrasındaki FT-IR spektrumları Şekil 6'da gösterilmiştir. Her iki örnekte de aynı pik şekli tespit edildiğinden bu durumun mikrodalga işlemi sırasında hammadde kimyasal yapısında, yeni bağ oluşumu veya bozunma gibi dikkate değer değişikliklerin meydana gelmediğini işaret etmektedir. Spektrumda görülen 3300 cm^{-1} civarındaki geniş pik, fenollerdeki -OH gruplarının gerilme titreşimlerini göstermektedir (Alara vd., 2018). Örneklerde görülen 2922 cm^{-1} 'deki pikler, aromatik halkaların CH gerilme titreşimleri ile ilişkilendirilmektedir (Jain vd., 2016; Avcı vd., 2023). 1595 cm^{-1} dalga sayısındaki fenil halkası

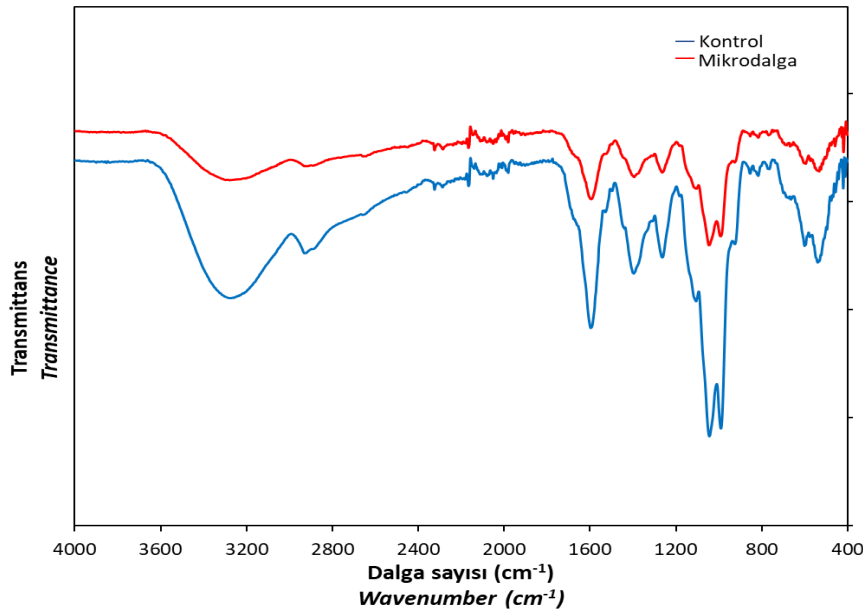
gerilmesi, ekstraktların klorojenik asit içeriğinden kaynaklı olduğunu düşündürmektedir (Monje vd., 2018). Yine 1393 cm^{-1} 'deki titreşimsel absorpsiyon bandı, metil grubunun salınımından dolayı olabilir (Jain vd., 2016). 1260 cm^{-1} ve 1043 cm^{-1} 'deki pikler, CO grubunun gerilme titreşimlerinin varlığını ortaya koymuş olup eterler, karboksilik asitler ve alkolik bileşiklerin varlığını düşündürmektedir (Agatonovic-Kustrin

vd., 2021; Náthia-Neves ve Alonso, 2021). 987 cm^{-1} yer alan pikler, aromatik halkalarda bulunan C-H bağlarının açılma deformasyonuna bağlanmıştır (Batista vd., 2016). Yukarıdaki bilgiler göz önüne alındığında, mikrodalga uygulaması fenolik bileşiklerin yapısında kontrol grubuna göre değişiklik oluşturmamakla birlikte fonksiyonel gruplar ve kimyasal bağlar ile fenolik bileşiklerin varlığı kanıtlanmıştır.



Şekil 5. Ekstraktların UV-VIS spektrumları

Figure 5. UV-VIS absorption spectra of extracts



Şekil 6. Ekstraktların FT-IR spektrumları

Figure 6. FT-IR spectra of extracts

In vitro sindirim

Gıdaların tüketimiyle vücuda alınan fenolik bileşikler gıda matrisinden doğal formlarında sindirim sistemine bırakılmaktadır. Mide ve bağırsaktaki farklı pH seviyeleri nedeniyle parçalanabilmekte ve biyotransformasyona uğrayarak kan dolaşımında veya idrarda bulunan çeşitli metabolitlere dönüşebilmektedir. Bir bileşiğin TFM ve antioksidan aktivitesi, simüle edilmiş mide ve bağırsak sindirimi sonrasında değişiklik gösterebilmektedir (Jakobek vd., 2023). Bu çalışmada, ayçiçeği posasından mikrodalga ve kontrol grubundan elde edilen ekstraktların simüle edilmiş mide ve bağırsak sindirimi sonrası TFM içerikleri Çizelge 1’de verilmiştir. Sindirim öncesinde kontrol ve mikrodalga örneklerinin TFM içerikleri sırasıyla 2087.11 ve 2500.44 mg/100 g örnek iken mide sindirimi sonrasında azalma görülmüştür. Ancak bağırsak sindirimi sonrasında TFM içeriklerinin 8868.00 ve 9471.88 mg/100 g’a önemli oranda yükseldiği belirlenmiştir ($P<0.05$). Benzer olarak örneklerin antioksidan aktivitesi FRAP analizi ile değerlendirildiğinde, mide sonrası azalma ve bağırsak sonrası artış tespit edilmiştir. DPPH radikalı süpürme aktivitesi ise farklı bir eğilim göstermektedir. Kontrol ve mikrodalga ekstraktlarının DPPH değerleri sırasıyla sindirim öncesi 1860.63 ve 2318.49 mg/100 g, mide

sonrası 699.17 ve 789.61 mg/100 g, bağırsak sonrası 799.17 ve 1326.35 mg/100 g olarak saptanmıştır. Jara-Palacios vd. (2018) tarafından yürütülen çalışmada, farklı beyaz şarap üretim yan ürünlerinin fenolik bileşenleri ve antioksidan aktiviteleri üzerine yapılan in vitro gastrointestinal sindirim analizlerinde, sindirilmemiş örneklerden bağırsak sindirimine kadar TFM seviyesinin azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular mevcut çalışmanın sonuçları ile uyum göstermemektedir. Fenolikler, pH değişimlerine karşı oldukça hassastır ve bu nedenle, sindirim sonrası TFM’deki farklı değişiklikler, test edilen ortam koşullarına bağlı olarak gıda matrisinde bulunan her bir fenolik bileşiğin stabilitesine bağlanabilir (Pavan vd., 2014). Jayawardena vd. (2015) bazı yenilebilir bitkilerden elde edilen ekstraktların özellikle ORAC ve FRAP analizleri ile ölçüldüğünde, bağırsak fazı sonrası önemli ölçüde artan antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir. Asidik ortamdan alkali ortama geçiş, fenolik bileşiklerin aromatik halkalarındaki hidroksil gruplarının deprotonasyonuna neden olarak antioksidan aktiviteyi artırabilmektedir. Ayrıca sonuçlar, çalışılan ekstrakta ve antioksidan aktivite yöntemine bağlı olarak da değişebilmektedir (Bouayed vd., 2011; Gonçalves vd., 2019).

Çizelge 1. Sindirim öncesi ve sonrası ekstraktların TFM içerikleri

Table 1. TPC of extracts before and after digestion

Toplam fenolik madde (mg GAE/100 g kuru madde) Total phenolic content (mg GAE/100 g dry matter)			
	Sindirim öncesi <i>Before Digestion</i>	Mide sonrası <i>After gastric digestion</i>	Bağırsak sonrası <i>After intestinal digestion</i>
Kontrol <i>Control</i>	2087.11 ± 56.60 ^{bB}	2008.80 ± 125.42 ^{bB}	8868.00 ± 973.75 ^{bA}
Mikrodalga <i>Microwave</i>	2500.44 ± 112.02 ^{aB}	2232.89 ± 67.95 ^{aB}	9471.88 ± 506.90 ^{aA}

Satır boyunca farklı büyük harfler, sindirim öncesi, mide sonrası ve bağırsak sonrası değerler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir. Sütun boyunca farklı küçük harfler, kontrol ve mikrodalga arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Different uppercase across rows indicate significant differences among before, after gastric, and after intestinal digestion values. Different lowercase within a column indicate significant differences between control and microwave treatments ($P<0.05$).

Çizelge 2. Sindirim öncesi ve sonrası ekstraktların antioksidan aktiviteleri
Table 2. Antioxidant activities of extracts before and after digestion

	DPPH radikali süpürme aktivitesi (mg Troloks/100 g kuru madde) DPPH scavenging activity (mg Trolox/ 100 g dry matter)		
	Sindirim öncesi Before Digestion	Mide sonrası After gastric digestion	Bağırsak sonrası After intestinal digestion
Kontrol Control	1860.63 ± 130.14 ^{bA}	699.17 ± 13.83 ^{bC}	799.17 ± 45.84 ^{bB}
Mikrodalga Microwave	2318.49 ± 149.43 ^{aA}	789.61 ± 30.51 ^{aC}	1326.35 ± 80.86 ^{aB}

	FRAP aktivitesi (mg Troloks/100 g kuru madde) FRAP activity (mg Trolox/ 100 g dry matter)		
	Sindirim öncesi Before Digestion	Mide sonrası After gastric digestion	Bağırsak sonrası After intestinal digestion
Kontrol Control	3210.75 ± 91.29 ^{bB}	1215.67 ± 76.79 ^{aC}	5239.09 ± 596.17 ^{bA}
Mikrodalga Microwave	3986.26 ± 29.53 ^{aB}	1291.18 ± 41.60 ^{aC}	5608.21 ± 310.35 ^{aA}

Satır boyunca farklı büyük harfler, sindirim öncesi, mide sonrası ve bağırsak sonrası değerler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir. Sütun boyunca farklı küçük harfler, kontrol ve mikrodalga arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Different uppercase across rows indicate significant differences among before, after gastric, and after intestinal digestion values. Different lowercase within a column indicate significant differences between control and microwave treatments ($P<0.05$).

SONUÇ

Bu çalışmada, endüstriyel atık olan ayçiçek posası, biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda hammadde olarak kullanılırken mikrodalga uygulamasının toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteye etkisi incelenmiştir. Ayrıca, in vitro sindirim sonucunda antioksidan aktivitede oluşan değişiklikler değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, en yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstrakt 1:20 hammadde:çözücü konsantrasyonunda 120 s mikrodalga uygulaması olduğu belirlenmiştir. Bahsi geçen ekstrakt ile mikrodalga uygulanmayan ekstraktın yapısal özellikleri UV-VIS spektrum ve FT-IR analizleri ile incelendiğinde, fenolik bileşiklerin varlığı kanıtlanırken mikrodalga uygulamasının fonksiyonel gruplar ve kimyasal bağlar ile değişiklik yaratmadığı tespit edilmiştir. Son olarak simüle edilmiş sindirim sonrası DPPH değerleri azalırken, TFM içerikleri ve FRAP değerleri mide sonrası azalma, bağırsak sonrası ise artış göstermiştir. Bu bulgular, ayçiçeği posasının

sürdürülebilir bir şekilde değerlendirilmesine ve mikrodalga teknolojisinin etkili bir ekstraksiyon aracı olarak kullanılmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca, sindirim sonrası biyoaktif bileşiklerin stabilitesine dair bilgiler sunmaktadır.

TEŞEKKÜR

Hammadde kaynağının temin edilmesi, kurutulup öğütülmesi aşamalarında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Recep Güneş'e, FT-IR analizlerinde yardımını esirgemeyen Dr. Arş. Gör. Yavuz Derin'e, UV-VIS spektrum analizinde yardımcı olan Prof. Dr. Ayşe Avcı'ya teşekkürlerimi sunarım.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarın başka kurum ve kuruluşlarla çıkar ilgisi yoktur.

KAYNAKLAR

Agatonovic-Kustrin, S., Gegechkori, V., Petrovich, D. S., Ilinichna, K. T., Morton, D. W.

- (2021). HPTLC and FTIR fingerprinting of olive leaves extracts and ATR-FTIR characterisation of major flavonoids and polyphenolics. *Molecules*, 26(22): 6892, doi: 10.3390/molecules26226892
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., Azhari, N. H. (2018). *Vernonia cinerea* leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. *Industrial Crops and Products*, 122: 533-544, doi:10.1016/j.indcrop.2018.06.034
- Alexandrino, T. D., da Silva, M. G., Ferrari, R. A., Ruiz, A. L. T. G., Duarte, R. M. T., Simabuco, F. M., Pacheco, M. T. B. (2021). Evaluation of some in vitro bioactivities of sunflower phenolic compounds. *Current Research in Food Science*, 4: 662-669, doi:10.1016/j.crfs.2021.09.007
- Aquino, G., Basilicata, M. G., Crescenzi, C., Vestuto, V., Salviati, E., Cerrato, M., Campiglia, P. (2023). Optimization of microwave-assisted extraction of antioxidant compounds from spring onion leaves using Box–Behnken design. *Scientific Reports*, 13(1): 14923, doi:10.1038/s41598-023-42303-x
- Avcı, A., Cerit, İ., Hamk, M., Keskin, S. Y. (2023). Improved extraction of bioactive compounds from the pollens of *Typha domingensis* with sequential conventional and ultrasound treatment. *GIDA*, 48(2): 256-270, doi:10.15237/gida.GD22129
- Batista, N. N., de Andrade, D. P., Ramos, C. L., Dias, D. R., Schwan, R. F. (2016). Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, 90: 313-319. doi:10.1016/j.foodres.2016.10.028
- 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(1): 70–76. doi:10.1006/abio.1996.0292
- Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19: e01585. doi:10.1016/j.sciaf.2023.e01585
- Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1): 14-21. doi:10.1016/j.foodchem.2011.02.052
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25–30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Cornard, J. P., Lapouge, C., Dangleterre, L., Allet-Bodelot, C. (2008). Complex of lead (II) by chlorogenic acid: Experimental and theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 112(50):12475-12484. doi:10.1021/jp805463p
- Gonçalves, S., Moreira, E., Andrade, P. B., Valentão, P., Romano, A. (2019). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the total phenolic contents and antioxidant activity of wild Mediterranean edible plant extracts. *European Food Research and Technology*, 245: 753-762. doi:10.1007/s00217-018-3197-y
- Gül, V., Öztürk, E., Polat, T. (2016). Importance of sunflower to overcome deficiency of vegetable oil in Turkey. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 30(1): 70-76, ISSN:1307-3311
- Hayat, K., Zhang, X., Qamar, S., Hussain, A., Tahir, M. U., Hussain, S. (2020). Microwave heating as a tool to enhance antioxidant activity and release soluble conjugates from Feutrell's Early (citrus mandarin cultivar) peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(8) e14574 doi: 10.1111/jfpp.14574
- Jain, P. K., Soni, A., Jain, P., Bhawsar, J. (2016). Phytochemical analysis of *Mentha spicata* plant extract using UV-VIS, FTIR and GC/MS technique. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(2): 1-6, ISSN: 0975-7384
- Jakobek, L., Ištuk, J., Barron, A. R., Matić, P. (2023). Bioactive phenolic compounds from apples during simulated in vitro gastrointestinal digestion: Kinetics of their release. *Applied Sciences*, 13(14): 8434, doi:10.3390/app13148434

- Jara-Palacios, M. J., Gonçalves, S., Hernanz, D., Heredia, F. J., Romano, A. (2018). Effects of in vitro gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant activity of different white winemaking byproducts extracts. *Food Research International*, 109: 433-439, doi:10.1016/j.foodres.2018.04.060
- Jayawardena, N., Watawana, M. I., Waisundara, V. Y. (2015). Evaluation of the total antioxidant capacity, polyphenol contents and starch hydrolase inhibitory activity of ten edible plants in an in vitro model of digestion. *Plant Foods For Human Nutrition*, 70: 71-76, doi:10.1016/j.crfs.2021.09.007
- Karamać, M., Kosińska, A., Estrella, I., Hernández, T., Dueñas, M. (2012). Antioxidant activity of phenolic compounds identified in sunflower seeds. *European Food Research and Technology*, 235: 221-230, doi:10.1007/s00217-012-1751-6
- Kocabaş, T. (2021). Trakya Bölgesi'nde üretilen ayçiçeği küspelerinin kimyasal kalitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Edirne, Türkiye.
- Lomascolo, A., Uzan-Boukhris, E., Sigoillot, J. C., Fine, F. (2012). Rapeseed and sunflower meal: A review on biotechnology status and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(5): 1105-1114, doi:10.1007/s00253-012-4250-6
- Meral, Ü. B. (2019). Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinin önemi ve üretimine genel bir bakış. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(2): 58-71, doi:10.38001/ijlsb.5358897
- Monje, A. F. B., Parrado, L. X., Gutiérrez-Guzmán, N. (2018). ATR-FTIR for discrimination of espresso and Americano coffee pods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(6): e13572.
- Nedelkov, K. V. (2023). A new approach for processing and use of sunflower meal. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 29(2): 384-389.
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97: 67-74, doi:10.1016/j.biopha.2017.10.064
- Náthia-Neves, G., Alonso, E. (2021). Valorization of sunflower by-product using microwave-assisted extraction to obtain a rich protein flour: Recovery of chlorogenic acid, phenolic content, and antioxidant capacity. *Food and Bioprocess Technology*, 125: 57-67, doi:10.1016/j.fbp.2020.10.008
- Pavan, V., Sancho, R. A. S., Pastore, G. M. (2014). The effect of in vitro digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (Carica papaya, Artocarpus heterophyllus, and Annona marcgravii). *LWT-Food Science and Technology*, 59(2): 1247-1251, doi:10.1016/j.lwt.2014.05.040
- Prado, J. M., Veggi, P. C., Náthia-Neves, G., Meireles, M. A. A. (2020). Extraction methods for obtaining natural blue colorants. *Current Analytical Chemistry*, 16(5): 504-532, doi:10.2174/1573411014666181115125740
- Rafı, M., Jannah, R., Heryanto, R., Kautsar, A. (2018). UV-Vis spectroscopy and chemometrics as a tool for identification and discrimination of four Curcuma species. *International Food Research Journal*, 25(2): 643-648.
- Song, X. C., Canellas, E., Asensio, E., Nerin, C. (2020). Predicting the antioxidant capacity and total phenolic content of bearberry leaves by data fusion of UV-Vis spectroscopy and UHPLC/QTOF-MS. *Talanta*, 213: 120831, doi:10.1016/j.talanta.2020.120831
- Taha, F. S., Mohamed, G. F., Mohamed, S. H., Mohamed, S. S., Kamil, M. M. (2011). Optimization of the extraction of total phenolic compounds from sunflower meal and evaluation of the bioactivities of chosen extracts. *Journal of Food Science*, 76(6): 784-791, doi:10.3923/ajft.2011.1002.1020
- Taşkın, B., Aksoylu Özbek, Z. (2020). Optimisation of microwave effect on bioactives contents and colour attributes of aqueous green tea extracts by central composite design. *Food Measure*, 14: 2240-2252, doi:10.1007/s11694-020-00471-8

- Usman, M., Nakagawa, M., Cheng, S. (2023). Emerging trends in green extraction techniques for bioactive natural products. *Processes*, 11(12): 3444. doi:10.3390/pr11123444
- U.S. Department of Agriculture. <https://fas.usda.gov/data/production/commodity/2224000>
- U.S. Pharmacopeia. Test Solutions. 2012. <http://www.pharmacopeia.cn>>.
- Wanjari, N. W., Jyotsna Waghmare, J. W. (2015). Phenolic and antioxidant potential of sunflower meal. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(6): 708–713.
- Wildermuth, S. R., Young, E. E., Were, L. M. (2016). Chlorogenic acid oxidation and its reaction with sunflower proteins to form green-colored complexes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(5): 829–843, doi:10.1111/1541-4337.12213
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3): 940–94, doi:10.1016/j.foodchem.2007.04.038
- Zardo, I., de Espíndola Sobczyk, A., Marczak, L. D. F., et al. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from sunflower seed cake using response surface methodology. *Waste and Biomass Valorization*, 10(1): 33–44, doi:10.1007/s12649-017-0038-3

ARI POLENİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ PROBİYOTİK YOĞURTLARIN BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Mehtap ÇİFTÇİ, Nilgün ÖNCÜL*

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fethiye Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Fethiye, Muğla, Türkiye

Geliş / Received 06.01.2025; Kabul / Accepted: 11.02.2025; Online baskı / Published online: 12.02.2025

Çiftçi, M., Öncül, N. (2025). Arı poleni ile zenginleştirilmiş probiyotik yoğurtların bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2025) 50 (1) 131-145 doi: 10.15237/ gida.GD25013

Çiftçi, M., Öncül, N. (2025). *Determination of the physico-chemical properties of probiotic yoghurts fortified with bee pollen. GIDA (2025) 50 (1) 131-145 doi: 10.15237/ gida.GD25013*

ÖZ

Bu çalışmada; arı poleni içeren (%0.5, %1.5, %3 ve %6) probiyotik yoğurtların üretilmesi ve depolama boyunca (14 gün) fizikokimyasal özelliklerinin tespiti ile gıda endüstrisine alternatif bir ürün sunmak amaçlanmıştır. Depolama boyunca örneklerin pH değerleri 4.21-4.59, titrasyon asitliği (laktik asit) %0.61-1.32, kuru madde miktarı %11.20-14.67, kül miktarı %0.55-0.73, protein içeriği 0.79-1.68 g/100 g, karbonhidrat içeriği 0.86-1.80 g/100 g, viskozite 148.60-703.20 mPa.s ve su tutma kapasitesi %38.48-42.17 olarak tespit edilmiştir. Örneklerin pH, viskozite, protein ve karbonhidrat değerleri depolama süresince azalmıştır. Buna karşın titrasyon asitliği ve kül değerlerinde artış gözlenmiştir. Sonuç olarak fonksiyonel özellikleriyle apiterapide kullanılan ve sağlık üzerinde olumlu etkileri kanıtlanmış olan arı poleni probiyotik yoğurda kombine edilerek tüketicilere alternatif fonksiyonel bir ürün sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Arı poleni, probiyotik, yoğurt, fizikokimyasal

DETERMINATION OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF PROBIOTIC YOGHURTS FORTIFIED WITH BEE POLLEN

ABSTRACT

In this study, it was aimed to produce probiotic yoghurts containing bee pollen (0.5%, 1.5%, 3% and 6%) and to provide an alternative product to the food industry by determining some physico-chemical properties during storage (14 days). The values of the yoghurt sample ranged between 4.21-4.59 for pH, 0.61%-1.32% for titratable acidity (lactic acid), 11.20%-14.67% for dry matter, 0.55%-0.73% for ash, 0.79-1.68 g/100 g for protein content, 0.86-1.80 g/100 g for carbohydrate, 148.60-703.20 mPa.s for viscosity, and 38.48%-42.17% for water holding capacity during storage. The pH, viscosity, protein and carbohydrate values of the samples were decreased throughout storage. On the other hand, an increase in titratable acidity and ash values was observed. As a result, bee pollen, which is used in apitherapy with its functional properties and has proven positive effects on health, is combined with probiotic yoghurt to offer consumers an alternative functional product.

Keywords: Bee pollen, probiotic, yoghurt, physico-chemical

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: nilgunoncul@hotmail.com; nilgunoncul@mu.edu.tr

☎: (+90) 252 211 5733 ☎: (+90) 252 211 1352

Mehtap Çiftçi; ORCID no: 0000-0003-1669-8717

Nilgün Öncül; ORCID no: 0000-0002-2865-7958

GİRİŞ

Günümüzde sağlıklı beslenmeye ve dolayısıyla bu beslenme anlayışının gerçekleşebilmesini sağlayan doğal, sağlıklı, fonksiyonel gıdalara eğilim artmıştır. Fonksiyonel gıda terimi 1980'li yılların başında Japonya'da özel bileşenler ile geliştirilmiş ve işlevsel etkileri bulunan gıdalar için kullanılmıştır. 1990 yılında ise içeriğindeki bileşenler sayesinde bazı hastalıklara yakalanma riskini azaltan ve bazı hastalıkların tedavisine yardımcı olan insan sağlığı açısından olumlu etkileri bulunan gıdaları tanımlamak için FOSHU (gıdanın sağlıklı yaşam için kullanımı - Foods for Specified Health Use) kavramı oluşturulmuştur (Bigliardi ve Galati, 2013; Türkmen ve Gürsoy, 2017). Fonksiyonel gıdaların evrensel olarak kabul görmüş bir tanımı yoktur. 1994 yılında, Ulusal Bilimler Akademisi Gıda ve Beslenme Kurulu (National Academy of Sciences' Food and Nutrition), fonksiyonel gıdaları "içerdiği geleneksel besin maddelerinin ötesinde bir sağlık yararı sağlayabilen herhangi bir değiştirilmiş gıda veya gıda bileşeni" olarak tanımlamaktadır. Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü (International Life Sciences Institute), "fizyolojik olarak aktif bileşenlerin varlığı nedeniyle temel beslenmenin ötesinde bir sağlık yararı sağlayan gıdalar" olarak tanımlamaktadır (Hasler, 2002). Türk Gıda Kanununda ise "besleyici etkilerinin yanında bilimsel ve klinik çalışmalar ile ispat edilen, aynı zamanda bir veya birden çok etkili bileşene bağlı olarak sağlığı koruyan, düzeltici ya da hastalık riskini azaltabilen etkiye sahip olan gıdalar" olarak tanımlanmaktadır (Soylu ve Bayram, 2020). Günümüzde, fonksiyonel gıdalara süt ürünleri, şekerlemeler, bazı meşrubatlar, tahıl ürünleri ve bebek mamaları örnek olarak verilebilir (Bigliardi ve Galati, 2013).

Türk Gıda Kodeksi (TGK) Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde yapılan tanıma göre; "Yoğurt, fermantasyonda spesifik olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un birlikte kullanıldığı inkübasyon sonrasında pıhtısı kırılmamış (set) ya da kırılmış (stirred) formda elde edilen ve son tüketim tarihinde yeterli sayıda, canlı ve aktif starter bakteri bulunduran fermente süt ürünü" ifade etmektedir (Anonymous, 2022). Yoğurt

üretiminde kullanılan starter kültürler (*L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*) laktik asit fermantasyonu sonucu süt proteinlerinin pıhtılaşmasını sağlamaktadır. *Lactobacillus*, kazeini aminoasitlerine ayrıştırmakta ve *Streptococcus*'un gelişimini uyaran valin gibi önemli aminoasitleri serbest bırakmaktadır. Daha sonra, *Streptococcus*'un aktivitesi sayesinde pH'da bir düşüş meydana gelmektedir (Biçer vd., 2024). pH'daki bu düşüş ile süt proteini olan kazein çökelerek pıhtı oluşumunu ve yoğurdun kıvam almasını sağlamaktadır. Ayrıca asetaldehit gibi organik moleküllerin üretilmesi ile yoğurda özgü karakteristik ekşimsi tat oluşmakta ve lezzet profili iyileştirilmektedir (Denktaş, 2023; Fırat ve Çetin, 2024).

Fonksiyonel yoğurtlar ise tüketiciler tarafından yaygın olarak bilinen ve tercih edilen bir süt ürünüdür. Ürünlerin besin değerini ve kalite özelliklerini iyileştirmek, sağlık üzerindeki olumlu etkilerini artırabilmek ve artan tüketici talebini karşılamak için çeşitli yoğurtlar üretilmektedir. Meyve, sebze, tahıl, posa, çiçek ve benzeri doğal fonksiyonel bileşenlerin dahil edilmesi yoğurdun kimyasal bileşimini iyileştirmesi ve sağlık yararlarını artırmasının yanında, yoğurdun mikro yapısını, rengini ve dokusunu da iyileştirmektedir (Rashwan vd., 2023). Fonksiyonel gıda sektöründe öne çıkan bir süt ürünü olan yoğurda dahil edilebilecek insan sağlığına faydalı bileşenler arasında probiyotik bakteriler de bulunmaktadır (Sarıtaş vd., 2024). Probiyotikler, Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü tarafından "yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararları sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanmaktadır. Probiyotik terimi "yaşam için" anlamına gelen, insanlar ve hayvanlar için yararlı etkileri olan mikroorganizmaları adlandırmak için kullanılmaktadır (FAO/WHO, 2006). Türk Gıda Kodeksi'nin Etiketleme Yönetmeliği'ne (Sayı: 28157, 3. Mükerrer) göre probiyotik mikroorganizma "Gıdalarla belirli miktarlarda alındığında insan sağlığını olumlu yönde etkilediği kanıtlanmış olan canlı mikroorganizma suşlarını" ifade etmektedir (Anonymous, 2011). Yoğurt üretiminde starter kültür olarak kullanılan *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* bakterilerinin yanında *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri yaygın olarak

kullanılan probiyotik mikroorganizmalardır (Sarıtış vd., 2024). Sade probiyotik yoğurdun besin bileşenleri incelendiğinde karbonhidrat içeriği %5.95, protein içeriği %4.47, yağ içeriği %3.75, kül içeriği ise %0.99 olarak belirtilmektedir (TÜRKOMP, 2023).

Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliği'nde "Arı poleni: İşçi arıların çiçekli bitkilerdeki polenleri toplayıp kendi bünyelerindeki salgılar ile birleştirdikten sonra küre şeklinde renkli peletler haline getirdiği ve kovadaki tuzaklar yardımıyla hasat edilen arı ürününü" ifade etmektedir (Anonymous, 2024). Arı poleni, işçi arılar tarafından üretilen seçilmiş çiçek polenlerinin, nektar (veya bal) ve tükürük maddeleriyle bir araya gelerek, kovanın girişinde genellikle pelet adı verilen küçük kozalar halinde toplanmasıyla üretilmektedir (Campos vd., 2021).

Arı poleninde çeşitli botanik kökenli 200'den fazla bileşik bulunmaktadır. Bunlara proteinler, esansiyel aminoasitler, karbonhidratlar, lipitler ve yağ asitleri, fenolik bileşikler, enzimler ve koenzimler, vitaminler ve az miktarda uçucu maddeler dahildir. Arı poleni ayrıca çeşitli biyolojik aktivitelerden sorumlu olduğu bilinen antioksidanlar olan polifenoller ve flavanoitler gibi önemli biyoaktif bileşikler de içermektedir. Arı polenin bileşimindeki farklılıklar, bitki türleri, toprak tipi, çevresel koşullar, mevsimsel ve bölgesel koşullar, arıcılık faaliyetlerinden ve arı poleni hasat yönteminden kaynaklanabilmektedir (Prdun vd., 2021). Arı polenin karbonhidrat içeriği %13-55 (Rzepecka-Stojko vd., 2015), protein ve lipit içeriği sırasıyla %10-40 ve %1-20 (Ares vd., 2018), kül içeriği ise %0.50-7.75 arasında değişiklik göstermektedir (Bay vd., 2021). Taze polenin nem içeriği %20-30 gibi yüksek bir oranda (Wang vd., 2022) olup bu oran mikroorganizma gelişimi için elverişli bir ortam olarak bozulmaya neden olabilmektedir. Bu sebeple nem içeriği %2-9 aralığında olacak şekilde kurutma işlemi uygulanmaktadır (Eşerler vd., 2023). Ayrıca yapısında sodyum (Na), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), fosfor (P), demir (Fe), bakır (Cu), manganez (Mn), çinko (Zn), selenyum (Se) ve krom (Cr) gibi birçok

minerali de bulundurmaktadır (Bay vd., 2021; Nakilcioğlu ve Nurko, 2022).

Polen; anti-inflamatuar, antikarsinogenik, antioksidan, antimikrobiyel, antifungal, antialerjenik, antiülser, antianemi, antidiyaretik, hepatoprotektif ve kemo-önleyici özelliklerine sahiptir. Ayrıca polenin bağırsak sağlığını desteklemek için bağırsak mikrobiyotasını düzenlediği, prostat problemleri, solunum hastalıkları, alerjiler ve kemik erimesi gibi hastalıklardan korunmak için destekleyici olarak kullanıldığı da bilinmektedir (Nakilcioğlu ve Nurko, 2022; Alshallash vd., 2023).

Bu çalışmada, çeşitli yoğurtlara alternatif oluşturmak için arı poleni ilavesi ile zenginleştirilmiş probiyotik set tipi yoğurt üretimi ve arı polenin depolama boyunca yoğurdun bazı fizikokimyasal özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece; sağlıklı beslenme konusunda artan tüketici taleplerini karşılamak için gıda endüstrisine alternatif bir ürün sunulabilecektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

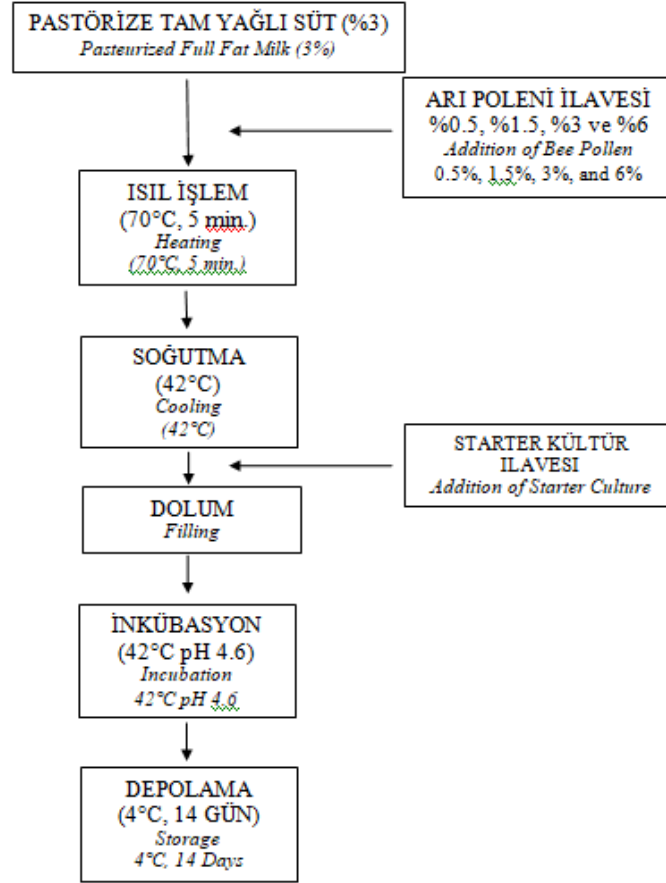
Bu çalışmada, yoğurt üretimi için ticari olarak satılan %3 yağlı pastörize süt (İçim, Ak Gıda, Sakarya) ve yerli bir firmadan (Yayla Maya, Maysa Gıda, İstanbul) temin edilen probiyotik yoğurt starter kültürü (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp.) kullanılmıştır. Üretim için yörede üretilen arı poleni, Muğla ili Dalaman ve Göcek ilçesinde üretim yapan yerel bir arıcıdan temin edilmiştir. Üreticiden alınan bilgiye göre arı poleni; söğüt, hardal, sığla, pıynar, gelincik ve pamukluk bitkilerinden elde edilmiştir.

Arı Poleni İçeren Probiyotik Yoğurtların Üretimi

Arı polenli probiyotik yoğurt üretim akışı Şekil 1'de gösterilmektedir. Üretimde kullanılan arı polenleri 60 dakika ultraviyole (UV) (Ekim kabini, İldam, Class II A2, GKB-1800, Türkiye) ile muamele edilmiş ve ardından %0.5, %1.5, %3 ve %6 oranlarda pastörize süte eklenmiştir. Arı poleni içermeyen (%0) yoğurt örneği pozitif, arı polenin kendisi ise negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Başlangıç mikrobiyel yükünün

inhibisyonu için arı polenli süt örneklerine ısıtma işlemi (70 °C'de 5 dakika) uygulanmıştır. Isıtma işleminin ardından sütler 42 °C'ye soğutulmuş ve firmanın kullanım önerileri doğrultusunda %0.1 oranında (1 g/L) starter kültür, arı poleni içeren süt örneklerine inoküle edilmiştir (Lomova vd., 2014; Karabagias vd., 2018; Özcan vd., 2020). Örnekler aseptik koşullarda steril kaplara

porsiyonlandıktan sonra 42 °C'de kapakları kapalı olarak inkübe (Thermo Stable IG-105, Daihan scientific, Kore) edilmiştir. İnkübasyon boyunca pH takip edilmiş ve pH 4.6'ya ulaştığında inkübasyon işlemi sonlandırılarak örnekler depolama için 4 °C'ye kaldırılmıştır. Depolamanın 1, 7 ve 14. günlerinde örnekler alınarak analizler gerçekleştirilmiştir (Sert vd., 2011).



Şekil 1. Farklı miktarlarda arı poleni ile zenginleştirilmiş probiyotik yoğurt örneklerinin üretim akış şeması.

Figure 1. Production flow chart of probiotic yoghurt samples enriched with different amounts of bee pollen

pH Tayini

pH-metre (MettlerToledo, Five easy plus FP20, Çin) uygun tampon çözeltiler (pH:4.01, Mettler Toledo, 51 302 069, İsviçre; pH:7, Mettler Toledo, 51302047, İsviçre) kullanılarak kalibre edilmiştir. Örneklerin pH değeri ölçümü için cihazın elektrotu örnek içerisine daldırılarak pH değerleri belirlenmiştir (AOAC, 1995).

Titrasyon Asitliği

10 g örnek alınarak üzerine 100 mL saf su ilave edilip homojenize edilmiştir. Bu şekilde seyreltilen örnek kaba filtre kağıdı (Whatman No.4) kullanılarak filtre edilmiştir. Elde edilen filtrattan 25 mL alınıp indikatör olarak 0.2-0.3 mL fenolftalein (Tekkim, TK.930094.00102, Türkiye) damlatılıp 0.1 N sodyum hidroksit (NaOH, Tekkim, TK.170511.01002, Türkiye) ile kalıcı açık

pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Titre edilebilir asitlik (%) miktarı laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (AOAC, 1995).

$$\% \text{ Titrasyon Asitliği} = \frac{V \times f \times E \times 100}{M}$$

V = Titrasyonda harcanan 0.1 N NaOH miktarı (mL)

f = Titrasyonda kullanılan baz çözeltinin normalitesi (N)

E = 1 mL 0.1 N NaOH'in eşdeğer asit miktarı (g)

M = Titre edilen örneğin gerçek miktarı (mL)

Toplam Kuru Madde

Örneklerin kuru madde oranları gravimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Darası alınan kuru madde kaplarına 3 g örnek tartılarak 105±5 °C'lik hava akımlı etüvde (İldam, İLD-EKH-55, Türkiye) sabit tartıma gelene kadar bekletilmiştir. Bu süre sonunda kaplar desikatöre alınıp soğuması sağlandıktan sonra tartılan örneklerin kuru madde miktarı % olarak belirlenmiştir (AOAC, 1997).

Toplam Kül

Örneklerin toplam kül tayini, kül fırını (Protherm, PLF 110/6, Türkiye) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sabit tartıma getirildikten sonra darası alınan porselen kroze içerisine 3 g örnek tartılmış ve krozeler çeker ocakta ısıtıcı manyetik karıştırıcı (İsotex, SH-4, Türkiye) kullanılarak sıcaklığın kademeli olarak artırılması suretiyle 30 dakika ön yakma işlemine tabi tutulmuştur. Örnekler ön yakma işleminin ardından kül fırınına alınarak sıcaklık kademeli bir şekilde 550 °C'ye çıkartılmıştır. Bu sıcaklıkta örnekler, beyaz renkli kül elde edilinceye kadar yakılmıştır. Yakılan örnekler desikatöre alınarak soğutulmuş ve tartıldıktan sonra kül oranları % olarak hesaplanmıştır (AOAC, 1997).

Su Tutma Kapasitesi

Analiz için 20 g örnek tartılarak 5000 devir/dak ve 10°C sıcaklıkta 10 dakika santrifüj (Nüve, NF-1200R, Türkiye) edilmiş ardından süpernatant uzaklaştırılarak pelet tartılmıştır (Gürün, 2013). Sonuçlar % olarak hesaplanmıştır.

Viskozite

Örneklerin viskoziteleri, viskozimetre (B-one Plus, Lamy Rheology Instruments, Türkiye)

kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin viskozite değerleri +4 °C'de ve 100 devir/dakika'da 2 numaralı spindle (R-2) ile ölçülmüştür. Ölçümler sırasında 3. dakikadaki (180. saniye) değerler kaydedilmiştir (Yılmaz, 2006; Özcan Yılsay vd., 2006).

Protein Tayini

Ürünlerin protein analizleri Biuret yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Örneklerin hazırlanması için; 0.1 g örnek üzerine 10 mL 1 M'lık NaOH çözeltisi eklenerek 70 °C' de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ürünler kaba filtre kağıdından geçirilerek süzölmüştür. Süzölmüş ürünlerden 1 mL alınmış ve üzerine 4 mL biuret reaktifi ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 25 dakika beklenmiş ve ardından örneklerin absorpsiyon değerleri 550 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Agilent, Cary 60 UV-Vis, Malezya) okunmuştur. Standart çözeltilerine de aynı işlem basamakları uygulanmıştır. Standart olarak Bovine Serum Albumin (BSA, Sigma Aldrich, Almanya) kullanılmıştır. BSA çözeltilerinin absorpsiyon değerlerine karşı standart kurvesi oluşturulmuş ve elde edilen denkleme göre örneklerin protein içerikleri seyreltmelerde dikkate alınarak hesaplanmıştır (Gornall vd., 1949).

Toplam Karbonhidrat Tayini

Örneklerinin toplam karbonhidrat tayini, fenol sülfürik asit yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Analizde kullanılacak gıda örneklerinin hazırlanması için; deney tüplerine 15 mg ürün tartılıp üzerine 5 mL 2.5 N hidroklorik asit (HCl, Tekkim, TK.080231.01001, Türkiye) ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra hidrolizasyon için 95 °C'deki su banyosunda 3 saat tutulmuştur. Süre sonunda örneklerin 5 dakika içinde sıcaklıklarının 1 °C'ye düşürülmesi sağlanmış ve üzerlerine 750 µL %40'lık NaOH konulmuştur. Karıştırmanın ardından örnekler 100 mL'lik balon jöjeye aktarılmış ve saf suyla tamamlanmıştır. Böylece deneyde kullanılacak örnekler hazırlanmıştır. Standart olarak glikoz (D (+)-glikoz monohidrat (C₆H₁₂O₆·H₂O), Sigma Aldrich K50876942, Almanya) kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerden/standart çözeltilerinden 600 µL deney tüplerine alınmış ve üzerine 600 µL %5'lik fenol (C₆H₆O, Isolab, 959.045.1000, Almanya)

çözeltisi konulmuştur. Karıştırma işleminin ardından 3 mL konsantre sülfürik asit (H_2SO_4 , Tekkim, TK.170581.05001, Türkiye) ilave edilerek tekrar karıştırılmıştır. Deney tüpleri, 80 °C'deki su banyosunda 30 dakika bekletilmiş ve ardından 490 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuştur. Standart çözeltilerden elde edilen denkleme göre örneklerin toplam karbonhidrat içerikleri belirlenmiştir (Taylor, 1995).

İstatistiksel Analiz

Çalışma; iki tekerrür ve iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS Statistics (IBM SPSS Statistics Version 22, Amerika Birleşik Devletleri) paket programıyla ANOVA analizi kullanılarak %95 güven aralığında gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılık Duncan testi kullanılarak belirlenmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Çeşitli oranlarda arı poleni içeren probiyotik yoğurtlar ve kontrol örneğinin pH değerleri Çizelge 1'de sunulmuştur. Fermente gıdalarda bakteriyel faaliyet ve laktik asit üretimine bağlı

olarak depolama süresince pH değişimi yaygındır (Baú vd., 2014). Depolama boyunca 4.21-4.59 arasında değişen pH değerleri 1. günde ortalama 4.46, 7. günde 4.39 ve 14. günde 4.35 olarak ölçülmüştür. Probiyotik yoğurt örneklerinin pH değerleri buzdolabında 14 günlük depolama boyunca azalmış olup bu azalma (%3 APPY hariç) istatistiksel olarak önemli değildir ($P>0.05$). Arı polenin pH değeri 4.67 ± 0.01 olarak tespit edilmiştir. Bütün depolama günlerinde arı poleni oranı arttıkça pH değerlerinde düşüş gerçekleşmiş olup bu durumun arı polenin organik asit içeriği ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Mărgăoan vd., 2019). En yüksek pH değerleri 1, 7 ve 14. günde sırasıyla kontrolde 4.59, 4.52 ve 4.50 olarak ölçülürken, en düşük değerler %6 APPY örneğinde 4.35, 4.21 ve 4.21 şeklindedir. Arı poleni (%0.5-%3) ilavesiyle set tipi üretilen yoğurtların pH değerleri (4°C'de 1. günde) bu çalışmanın sonuçlarıyla benzer biçimde en yüksek kontrol örneğinde (pH 4.47) bildirilmiştir (Özcan vd., 2020). Darwish vd. (2022) yaptıkları çalışmada, arı poleni, arı ekmeği ve arı sütü ilavesiyle fermente süt içecekleri üretmişlerdir. Arı ürünleri, pH değerlerini azaltırken titrasyon asitliği değerlerinde artışa neden olmuştur.

Çizelge 1. Probiyotik yoğurt örneklerinin pH değerleri*

Table 1. pH values of the probiotic yoghurt samples*

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	4.59 ± 0.02^{Aa}	4.52 ± 0.04^{Aa}	4.50 ± 0.04^{Aa}
%0.5 APPY	4.48 ± 0.10^{Aab}	4.44 ± 0.07^{Aa}	4.40 ± 0.00^{Aab}
%1.5 APPY	4.46 ± 0.06^{Aab}	4.40 ± 0.04^{Aa}	4.36 ± 0.04^{Ab}
%3 APPY	4.42 ± 0.05^{Ab}	4.36 ± 0.04^{Aab}	4.31 ± 0.01^{Bbc}
%6 APPY	4.35 ± 0.05^{Ab}	4.21 ± 0.09^{Ab}	4.21 ± 0.09^{Ac}

*n=4, ($\pm$ standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir ($P>0.05$).

*n=4, ($\pm$ standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences ($P>0.05$).

Probiyotik yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerleri Çizelge 2' de verilmiştir. En düşük titrasyon asitliği değeri depolamanın başlangıcında kontrol örneğinde %0.61 olarak, en yüksek ise

depolamanın son günü %6 APPY örneğinde %1.32 olarak hesaplanmıştır. Yoğurt örneklerinde arı poleni miktarı arttıkça titrasyon asitliği değeri de artmaktadır. Arı polenin titrasyon asitliği

%2.17±0.04 olup kontrol örneğinden oldukça yüksektir. Buzdolabında 14 günlük depolama boyunca bütün probiyotik yoğurt örneklerinde pH ile uyumlu bir şekilde titrasyon asitliği değerleri yükselmiştir ($P<0.05$). Ortalama titrasyon asitliği değerleri depolamanın başlangıcında %0.79, sonunda ise %0.98 olarak hesaplanmıştır. Probiyotik yoğurt kültüründe yer alan bakteriler depolama süresince karbonhidratlardan laktik asit, asetik asit gibi organik asitler oluşturarak titrasyon asitliğinin artışına neden olabilirler (Weidi, 2019). Türk Gıda Kodeksi 2022/44 No.'lu Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde (Sayı: 32029) yoğurt için titrasyon

asitliği değerleri en az %0.6 en fazla %1.5 olarak belirtilmiştir (Anonymous, 2022). Bu açıdan 14 günlük depolama süresince bütün yoğurt örneklerinin asitlik değerleri tebliğ ile uyumludur. Pastörize ve UHT sütlerden üretilen yoğurt örneklerinin 10 günlük depolaması süresince bu çalışmanın sonuçlarıyla benzer şekilde pH değerleri azalmış, titrasyon asitliği değerleri ise artmıştır. Depolamanın 1 ve 10. gününde pH değerleri 4.04-4.27 ve 3.89-3.97 arasında bulunmuş, bu çalışmanın pH değerlerinden daha düşüktür. Titrasyon asitliği değerleri ise ortalama %1.13 ile bu çalışmanın ortalama değerinden (%0.87) yüksektir (Gürçan, 2019).

Çizelge 2. Probiyotik yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerleri (% laktik asit)*

Table 2. Titratable acidity values of the probiotic yoghurt samples (lactic acid, %)*

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	0.61±0.01 ^{Aa}	0.66±0.03 ^{Aa}	0.71±0.03 ^{Ba}
%0.5 APPY	0.75±0.03 ^{Ab}	0.75±0.03 ^{Ab}	0.85±0.01 ^{Bb}
%1.5 APPY	0.77±0.01 ^{Ab}	0.78±0.03 ^{Ab}	0.92±0.04 ^{Bc}
%3 APPY	0.84±0.03 ^{Ac}	0.94±0.01 ^{Bc}	1.10±0.03 ^{Cd}
%6 APPY	0.99±0.03 ^{Ad}	1.12±0.03 ^{Bd}	1.32±0.03 ^{Ce}

*n=4, (± standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir ($P>0.05$).

*n=4, (± standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences ($P>0.05$).

Örneklerin kuru madde içerikleri Çizelge 3'de sunulmuştur. Yoğurtların kuru madde değerleri genel olarak (%3 APPY hariç) depolama boyunca aynı kalmıştır ($P>0.05$). Probiyotik yoğurt örnekleri üretim sürecinde porsiyonlama basamağından sonra su kaybını önleyecek şekilde kapatılmış ve fermentasyon süresince ya da depolama boyunca kuru madde değerlerini etkileyecek bir uygulama yapılmamıştır. Negatif kontrol olarak arı polenin kuru madde içeriği %74.89±0.63'tür. Özellikle %3 ve %6 oranında arı poleni içeren örneklerde depolamanın tüm günlerinde kuru madde içeriği artan polen oranına bağlı olarak kontrolden farklı bulunmuştur ($P<0.05$). %2 oranında arı sütü ilavesiyle üretilen

yoğurt örneğinin kuru madde içeriği 14 günlük depolama boyunca %15.11-16.14 arasında bulunmuştur. Arı sütü ilavesi kuru madde içeriğini kontrol örneğine göre bu çalışmada da olduğu gibi arttırmıştır (Kavas, 2022). Gluşac vd. (2015), çalışmasında %0.6 oranında polen ilavesiyle ürettiği probiyotik yoğurt ve asidofiluslu süt örneklerinde polen ilavesinin hem kuru madde hem de titrasyon asitliği değerlerinde artışa neden olduğunu saptamıştır. Bir başka çalışmada; %0.4, %0.6 ve %0.8 arı poleniyle üretilen yoğurtların kuru madde içeriklerinin (%12.70-12.85) polen oranı arttıkça arttığı ve kontrol örneğine (%12.60) göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Zlatev vd., 2018).

Çizelge 3. Probiyotik yoğurt örneklerinin toplam kuru madde içeriği (%)*

Table 3. Total dry matter values of the probiotic yoghurt samples (%)*

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	11.40±0.31 ^{Aa}	11.40±0.04 ^{Aa}	11.20±0.09 ^{Aa}
%0.5 APPY	11.61±0.19 ^{Aa}	11.55±0.01 ^{Ab}	11.45±0.11 ^{Aa}
%1.5 APPY	12.18±0.29 ^{Aa}	12.04±0.07 ^{Ac}	11.98±0.14 ^{Ab}
%3 APPY	13.15±0.14 ^{Ab}	12.82±0.08 ^{Bd}	12.61±0.04 ^{Bc}
%6 APPY	14.67±0.47 ^{Ac}	14.28±0.04 ^{Ae}	14.03±0.11 ^{Ad}

*n=4, (± standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir ($P>0.05$).

*n=4, (± standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences ($P>0.05$).

Örnekler için kül değerleri Çizelge 4'te sunulmuştur. Arı poleni ilavesi örneklerin kül değerlerinde depolama süresince önemli bir değişiklik oluşturmamıştır ($P>0.05$). Arı polenin kül miktarı 2.30 ± 0.08 saptanmıştır. Aynı günde, örnekler arasında arı poleni miktarı arttıkça kül miktarında da artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P>0.05$). En düşük kül miktarı kontrol örneğinde depolamanın başlangıcında %0.55, en yüksek ise %6 APPY örneğinde depolamanın sonunda %0.73 olarak ölçülmüştür. Altı farklı starter kültür

ile üretilen yoğurt örneklerinin kül değerlerinin bu çalışmaya benzer şekilde %0.67 ile %0.85 arasında tespit edilmiştir (Soni vd., 2020). Üç farklı kaynaktan elde edilen arı poleni (mısır, yonca ve hurma) %0.5, %1 ve %1.5 oranlarında yoğurt üretiminde kullanılmıştır. Bu araştırmanın sonuçlarıyla uyumlu olarak örneklerin polen miktarı arttıkça kül, kuru madde ve asitlik içeriği artmıştır. Yoğurtlara ait protein değerleri %2.55 ile %3.85 arasında olup bu değerler bu çalışmada elde edilen protein sonuçlarından yüksektir (Khider vd., 2013).

Çizelge 4. Probiyotik yoğurt örneklerinin toplam kül içeriği (%)*

Table 4. Total ash values of the probiotic yoghurt samples (%)*

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	0.55±0.08 ^{Aa}	0.60±0.04 ^{Aa}	0.60±0.02 ^{Aa}
%0.5 APPY	0.63±0.07 ^{Aa}	0.66±0.08 ^{Aa}	0.67±0.07 ^{Aa}
%1.5 APPY	0.63±0.04 ^{Aa}	0.67±0.07 ^{Aa}	0.69±0.08 ^{Aa}
%3 APPY	0.66±0.08 ^{Aa}	0.68±0.02 ^{Aa}	0.69±0.07 ^{Aa}
%6 APPY	0.69±0.07 ^{Aa}	0.70±0.09 ^{Aa}	0.73±0.03 ^{Aa}

*n=4, (± standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir ($P>0.05$).

*n=4, (± standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences ($P>0.05$).

Probiyotik yoğurt örneklerinin su tutma kapasitelerine ait değerler Çizelge 5'te sunulmuştur. Örneklerin su tutma kapasitesi en düşük %38.48 (%3 APPY), en yüksek %42.17 (kontrol) olarak tespit edilmiştir. Arı poleni içeren yoğurtların su tutma kapasiteleri bütün depolama günlerinde kontrolden küçük çıkmıştır. Genel olarak, aynı depolama gününde arı poleni oranı artması su tutma kapasitesi değerlerini azaltmıştır (%3 APPY, 14. gün hariç). Örnek bazında incelendiğinde depolama boyunca su tutma kapasitelerinde ki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). Su tutma kapasitesi, proteinlerin yoğurdun yapısındaki suyu tutmasıyla ilgilidir. Arı poleni miktarı arttıkça probiyotik yoğurt örneklerinde protein

değerlerinin azalmasının su tutma kapasitesini de azaltabileceği düşünülmektedir (Yang vd., 2021). Ayrıca arı poleninde bulunan organik asitler de kazeinin jel ağını etkileyerek yapının bozulmasına neden olabilir (Kwasi Kpodo vd., 2014; Ning vd., 2021; Oluk, 2024). Ticari starter kültür ile üretilen yoğurt örneklerinin 4°C'de 28 gün depolanması sırasında su tutma kapasiteleri %35.8 ile %38.2 arasında bildirilmiştir (Hoxha vd., 2023). Coskun ve Karabulut Dirican, (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı oranlarda bal içeren (%2, %4 ve %6) yoğurt örneklerinin pH ve su tutma kapasitelerinin bu çalışmanın sonuçlarıyla benzer şekilde bal miktarı arttıkça azaldığı, titrasyon asitliğinin ise arttığı bulunmuştur.

Çizelge 5. Probiyotik yoğurt örneklerinin su tutma kapasiteleri (%)
Table 5. Water holding capacity values of the probiotic yoghurt samples (%)

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	40.28±0.77 ^{Aa}	40.70±0.27 ^{Aab}	42.17±1.69 ^{Aab}
%0.5 APPY	40.25±0.20 ^{Aa}	40.47±0.87 ^{Aa}	41.73±1.70 ^{Aab}
%1.5 APPY	39.51±0.86 ^{Aa}	39.96±0.38 ^{Aab}	39.42±1.39 ^{Aa}
%3 APPY	39.25±2.31 ^{Aa}	38.96±0.01 ^{Ab}	38.48±1.08 ^{Ab}
%6 APPY	38.59±0.72 ^{Aa}	38.78±1.98 ^{Aa}	39.95±0.17 ^{Aab}

*n=4, (± standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir ($P>0.05$).

*n=4, (± standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences ($P>0.05$).

Probiyotik yoğurt örneklerinin viskozite değerleri Çizelge 6'da sunulmuştur. Depolamanın tüm günlerinde en yüksek viskozite değerleri kontrol örneğinde, en düşük ise %6 APPY örneğinde ölçülmüştür. Depolamanın başında ve sonunda viskozite değerleri kontrol için 703.20 mPa.s ve 643.90 mPa.s, %6 APPY içinse 245.65 mPa.s ve 148.60 mPa.s'dir. Bütün örneklerde 14. günde viskozite değerleri başlangıçtan farklıdır ($P<0.05$). Arı poleni içeren probiyotik yoğurt örneklerinin viskozite değerleri depolamanın 1, 7 ve 14. gününde kontrolden düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Bu durum, arı poleni miktarı arttıkça örneklerin protein ve pH değerlerinin düşmesi ile

açıklanabilir (Oktavia vd., 2016; Molae Parvarei vd., 2021).

Üretilen yoğurt örneklerinin toplam protein içerikleri Çizelge 7'de verilmiştir. Arı polenin protein içeriği 6.30±0.69 g/100 g'dır. Arı poleni içeren yoğurtların protein içerikleri 0.79 ile 1.33 g/100 g arasında değişmektedir. Depolamanın kontrol dahil yoğurt örneklerinin protein içeriğinde önemli bir etkisi bulunmamıştır ($P>0.05$). Örneklerin protein içeriği yapısal özellikler bakımından önemli bir etken olduğundan, protein değerleri arttıkça viskozite değerlerinde artış gözlenmiştir. Benzer bir sonuç

arı sütü ilavesiyle üretilen yoğurtta da tespit edilmiştir. Kontrol örneğinde protein değeri %3.26-3.32, viskozite ise 1302-2712 cP iken arı sütü içeren yoğurtta ise protein ve viskozite değerleri %3.71-3.81 ve 1456-2936 cP saptanmıştır (Kavas, 2022). Yerlikaya (2014), UHT sütlerle farklı oranlarda arı poleni (2.5-20 mg/mL) ekleyerek ürettikleri fermente süt

içeceklerinde depolama süresince bazı örneklerde viskozite değerinin arttığını, bazı örneklerde ise azaldığını bildirmişlerdir. Fermente içeceklerin viskozite değerinde ki artış kuru madde içeriğinde ki artış ile ilişkilendirilmiştir. Bu araştırmada, kontrol ve probiyotik yoğurtların viskozite değerlerinin depolama süresinin uzamasıyla birlikte azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 6. Probiyotik yoğurt örneklerinin vizkozite değerleri (mPa.s)*

Table 6. The viscosity values of the probiotic yoghurt samples (mPa.s)*

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	703.20±12.30 ^{Aa}	673.80±13.36 ^{Aba}	643.90±14.14 ^{Ba}
%0.5 APPY	506.10±2.55 ^{Ab}	503.60±13.08 ^{Ab}	464.40±9.62 ^{Bb}
%1.5 APPY	373.13±3.71 ^{Ac}	351.13±14.11 ^{ABc}	340.60±9.26 ^{Bc}
%3 APPY	348.55±11.24 ^{Ac}	282.25±11.67 ^{Bd}	249.85±14.99 ^{Bd}
%6 APPY	245.65±13.08 ^{Ad}	175.10±10.39 ^{Be}	148.60±10.18 ^{Be}

*n=4, (± standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir (P>0.05).

*n=4, (± standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences (P>0.05).

Çizelge 7. Probiyotik yoğurt örneklerinin toplam protein içeriği (g/100 g)*

Table 7. Total protein values of the probiotic yoghurt samples (g/100 g*)

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	1.68±0.26 ^{Aa}	1.60±0.25 ^{Aa}	1.33±0.10 ^{Aa}
%0.5 APPY	1.33±0.20 ^{Aab}	1.14±0.08 ^{Ab}	1.12±0.12 ^{Aab}
%1.5 APPY	1.20±0.03 ^{Aab}	1.17±0.07 ^{Ab}	0.97±0.16 ^{Abc}
%3 APPY	0.98±0.05 ^{Ab}	0.93±0.15 ^{Ab}	0.85±0.02 ^{Abc}
%6 APPY	0.95±0.25 ^{Ab}	0.89±0.13 ^{Ab}	0.79±0.04 ^{Ac}

*n=4, (± standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir (P>0.05).

*n=4, (± standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences (P>0.05).

Probiyotik yoğurt örneklerinin toplam karbonhidrat değerleri Çizelge 8'de gösterilmiştir. Arı polenin karbonhidrat içeriği 1.59±0.07 g/100 g'dır. Örnekler arasında en düşük

karbonhidrat içeriği kontrol örneğinde (0.86-1.24 /100 g) belirlenmiştir. Polen miktarı arttıkça yoğurtların karbonhidrat içerikleri de artmıştır. Depolama süresince karbonhidrat içeriklerinde

azalma görülse de bu %3 APPY ve %6 APPY için istatistiksel olarak önemli değildir ($P>0.05$). Depolama boyunca yoğurt örneklerinin karbonhidrat değerleri azalırken bununla uyumlu olarak titrasyon asitliği değeri artmakta, pH değeri ise düşmektedir. Bu değişimler yoğurdun içerisinde canlı mikroorganizmalar bulunduran fermente bir gıda olması, starter kültür içeriğine ve fermentasyon koşullarına bağlı olabilmektedir. Bu mikroorganizmalar, depolama koşullarında yavaş

da olsa canlılıkları için karbonhidratları metabolize ederek enerji sağlamakta ve süreç içerisinde organik asit üretimine bağlı olarak pH ve titrasyon asitliğinde değişimler görülmektedir (Bintsis, 2018). Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak arı sütü (%0.6) ve polen (%0.8) ile üretilen probiyotik yoğurtların toplam şeker içeriklerinin depolama boyunca azaldığı bildirilmiştir (Atallah, 2016).

Çizelge 8. Probiyotik yoğurt örneklerinin toplam karbonhidrat değerleri (g/100 g)*

Table 8. Total carbohydrate values of the probiotic yoghurt samples (g/100 g)*

Örnekler Samples	1. Gün 1 st Day	7. Gün 7 th Day	14. Gün 14 th Day
Kontrol Control	1.24±0.03 ^{Aa}	1.04±0.08 ^{Aba}	0.86±0.13 ^{Ba}
%0.5 APPY	1.55±0.08 ^{Ab}	1.26±0.06 ^{Bab}	1.11±0.10 ^{Bab}
%1.5 APPY	1.61±0.06 ^{Ab}	1.46±0.04 ^{ABbc}	1.28±0.11 ^{Bbc}
%3 APPY	1.63±0.15 ^{Ab}	1.48±0.12 ^{Abc}	1.40±0.07 ^{Abc}
%6 APPY	1.80±0.14 ^{Ab}	1.57±0.15 ^{Ac}	1.58±0.14 ^{Ac}

*n=4, (± standart sapma), Kontrol: Arı poleni içermeyen probiyotik yoğurt, %0.5 APPY: %0.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %1.5 APPY: %1.5 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %3 APPY: %3 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt, %6 APPY: %6 oranında arı poleni içeren probiyotik yoğurt. Aynı satırda sütunlar arasında büyük harfler, aynı sütunda satırlar arasında küçük harfler olmak üzere aynı harf ile gösterilen veriler istatistiksel açıdan önemsizdir ($P>0.05$).

*n=4, (± standard deviation). Control: Probiotic yoghurt without bee pollen, 0.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 0.5% bee pollen, 1.5% APPY: Probiotic yoghurt containing 1.5% bee pollen, 3% APPY: Probiotic yoghurt containing 3% bee pollen, 6% APPY: Probiotic yoghurt containing 6% bee pollen. The same lowercase letters in the same column indicate statistically insignificant differences, and the same capital letters in the same row indicate statistically insignificant differences ($P>0.05$).

Sonuç olarak yoğurdun fonksiyonel özelliklerini zenginleştirmek amacıyla arı poleni ilavesi ile set tipi probiyotik yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen yoğurtların kalitesi, bazı fizikokimyasal analizler ile test edilmiştir. Genel olarak %0.5 arı poleni içeren örneğin kontrol örneğine daha yakın sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan süt çeşidi, polen çeşidi, test edilen polen oranları, starter kültürün içerik ve sayısı, analiz metodu, fermentasyon süresi ve koşulları sonuçlarda ki çeşitliliğe neden olabilmektedir. Arı poleni ile zenginleştirilmiş probiyotik yoğurt ürünlerinin çeşitli yoğurt üretimi için iyi bir alternatif oluşturma potansiyeline sahip olduğu görülmüştür.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Mehtap Çiftçi; analizlerinin takibi ve yazımını sağlamıştır. Nilgün Öncül araştırmanın planlanması, yürütülmesi, istatistiksel değerlendirilme ve makale yazım aşamasında görev almıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

Alshallash, K.S., Abolaban, G., Elhamamsy, S.M., Zaghlool, A., Nasr, A., Nagib, A., Abd El-Hakim, A.F., Zahra, A.A., Hamdy, A.A., Taha, I.M. (2023). Bee pollen as a functional product—chemical constituents and nutritional properties. *Journal of Ecological Engineering*, 24(2): 173–18, doi: 10.12911/22998993/156611

Anonymous (2011). Türk gıda kodeksi. Etiketleme yönetmeliği. Gıda, Tarım ve

- Hayvancılık Bakanlığı. 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 (3. Mükerrer) sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Anonymous (2022). Türk gıda kodeksi. Fermente süt ürünleri tebliği (2022/44). Tarım ve Orman Bakanlığı. 30 Kasım 2022 tarih ve 32029 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Anonymous (2024). Türk gıda kodeksi. Arı ürünleri tebliği (2024/6). Tarım ve Orman Bakanlığı. 25 Mayıs 2024 tarih ve 32527 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- AOAC (1995). Official Methods of AOAC International Analyses. 16th Edition, Washington, D.C, the USA.
- AOAC (1997). Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th Edition, Arlington, VA, the USA.
- Ares, A.M., Valverde, S., Bernal, J.L., Nozal, M.J., Bernal, J. (2018). Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 147: 110-124, doi: 10.1016/j.jpba.2017.08.009
- Atallah, A.A. (2016). The production of bio-yoghurt with probiotic bacteria, royal jelly and bee pollen grains. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6(3): 1-7, doi: 10.4172/2155-9600.1000510
- Baú, T.R., Garcia, S., Ida, E.I. (2014). Evaluation of a functional soy product with addition of soy fiber and fermented with probiotic kefir culture. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57: 402-409, doi: 10.1590/S1516-89132014005000005
- Bay, V., Topal, E., Çakıcı, N., Yıldızdal, İ., Tosunoğlu, A. (2021). Palynological analyses, chemical and mineral composition of some honeybee polen pellets. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 21(2): 187-197, doi: 10.31467/uluaricilik.996036
- Biçer, Y., Turkal, G., Sönmez, G., Telli, A.E., Bayır, T., Çulha, M.H., Sert, D. (2024). Production of yoghurt from kefir beverage: Analysis of fermentation kinetics, volatile organic compounds, texture, and microbial characteristics. *International Dairy Journal*, 158: 106039, doi: 10.1016/j.idairyj.2024.106039
- Bigliardi, B., Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, doi: 10.1016/j.tifs.2013.03.006.
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4): 665-684, doi: 10.3934/microbiol.2018.4.665
- Campos, M.G., Frigerio, C., Bobiş, O., Urcan, A.C., Gomes, N.G.M. (2021). Infrared irradiation drying impact on bee pollen: Case study on the phenolic composition of *Eucalyptus globulus* Labill and *Salix atrocinerea* Brot. Pollens. *Processes*, 9(890): 1-13, doi: 10.3390/pr9050890
- Coşkun, F., Karabulut Dirican, L. (2019). Effects of pine honey on the physicochemical, microbiological and sensory properties of probiotic yoghurt. *Food Science and Technology*, 39(2): 616-625, doi: 10.1590/fst.24818
- Darwish, A.M., Abd El-Wahed, A.A., Shehata, M.G., El-Seedi, H.R., Masry, S.H., Khalifa, S.A., Mahfouz, H.M., El-Sohaimy, S.A. (2022). Chemical profiling and nutritional evaluation of bee pollen, bee bread, and royal jelly and their role in functional fermented dairy products. *Molecules*, 28(227): 1-27, doi: 10.3390/molecules28010227
- Denktaş, B. (2023). Köy yoğurtlarından izole edilip tanımlanan *S. thermophilus*'ların yoğurt üretiminde denenmesi ve raf ömrü boyunca fizikokimyasal ve tekstürel özelliklerinin takip edilmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 49 s.
- Eşerler, S., Vardarlı S., Savaş, G., Mutlu, C. (2023). Arı poleninin bazı fiziksel, fonksiyonel ve kimyasal özellikleri ve biyolojik etkileri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 23(2): 280-295, doi: 10.31467/uluaricilik.1319365
- FAO/WHO (2006). Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. ISBN 92-5-105513-0 <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf> (Accessed 01 July 2023).

- Fırat, M.Ç., Çetin, B. (2024). Isolation of yoghurt bacteria from traditional yoghurts and the effect of the isolated bacteria on yoghurt characteristics. *Food Science and Engineering Research*, 3(2): 123-129, doi: 10.5281/zenodo.13861985
- Glušac, J.R., Stijepić, M.J., Milanović, S.D., Đurđević-Milošević, D.M. (2015). Physicochemical properties of honeybee pollen enriched acidophilus milk and probiotic yoghurt. *Acta Periodica Technologica*, 46: 45-54, doi: 10.2298/APT1546045G
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J. David, M.M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 177 (2): 751-766.
- Gürçan, E.O. (2019). Pastörize ve UHT süttten starter kültür kullanılarak üretilen yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Gıda Mühendisliği Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 94 s.
- Gürün, E. (2013). Sürülebilir nitelikleri yüksek meyveli ve baharatlı yoğurt üretimi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 58 s.
- Hasler, C.M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges—a position paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of Nutrition*, 132(12): 3772-3781, doi: 10.1093/jn/132.12.3772
- Hoxha, R., Evstatieva, Y., Nikolova, D. (2023). Physicochemical, rheological, and sensory characteristics of yoghurt fermented by lactic acid bacteria with probiotic potential and bioprotective properties. *Foods*, 12(13): 2552, 1-15, doi: 10.3390/foods12132552
- Karabagias, I.K., Karabagias, V.K., Gatzias, I., Riganakos, K.A. (2018). Bio-functional properties of bee pollen: The case of “bee pollen yoghurt”. *Journal of Coatings Technology and Research*, 8(12)423: 1-15, doi: 10.3390/coatings8120423
- Kavas, N. (2022). Functional probiotic yoghurt production with royal jelly fortification and determination of some properties. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28: 1-8, 100519, doi: 10.1016/j.ijgfs.2022.100519
- Khider, M., Elbanna, K., Mahmoud, A., Owayss, A.A. (2013). Egyptian honeybee pollen as antimicrobial, antioxidant agents, and dietary food supplements. *Food Science and Biotechnology*, 22: 1-9, doi: 10.1007/s10068-013-0238-y
- Kwasi Kpodo, F.M., Afoakwa, E.O., Amoa, B.B., Budu, A.S., Saalia, F.K. (2014). Effect of ingredient variation on microbial acidification, susceptibility to syneresis, water holding capacity and viscosity of soy-peanut-cow milk yoghurt. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 1(2):00012, 1-6.
- Lomova, N., Snizhko, O., Narizhniy, S. (2014). Yoghurt enrichment with natural bee farming products. *Ukrainian Food Journal*, 3(3): 405-411.
- Mărgăoan, R., Stranț, M., Varadi, A., Topal, E., Yücel, B., Cornea-Cipcigan, M., Campos M.G., Vodnar, D.C. (2019). Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits. *Antioxidants*, 8(12)568: 1-33, doi: 10.3390/antiox8120568
- Molae Parvarei, M., Fazeli, M.R., Mortazavian, A.M., Sarem Nezhad, S., Mortazavi, S.A. (2021). Comparative effect of probiotic and paraprobiotic addition on rheological and sensory properties of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 74(1): 95-106, doi: 10.1111/1471-0307.12727
- Nakilcioğlu, E., Nurko, E. (2022). Kovandaki gizli mucize: arı poleni ve arı ekmeği ile gıdaların zenginleştirilmesi. *GIDA-The Journal of Food*, 47(4): 604-615, doi: 10.15237/gida.GD22044
- Ning, X., Luo, Z., Chen, Z., Zhou, C., Xie, C., Du, W., Wang, L. (2021). Fortification of set yoghurt with passion fruit juice: Effects on fermentation kinetics, physicochemical properties, and functionality. *Journal of Dairy Science*, 104(4): 4084-4093, doi: 10.3168/jds.2020-19261

- Oktavia, H., Radiati, L.E., Rosyidi, D. (2016). Evaluation of physicochemical properties and exopolysaccharides production of single culture and mixed culture in set yoghurt. *Indonesian Journal of Environment and Sustainable Development*, 7(1): 52-59.
- Oluk, A. (2024). Depolama süresince farklı yağ içeriklerinin set tipi yoğurdun fizikokimyasal, duyu ve tekstürel özelliklerine etkisi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(3): 1202-1214, doi: 10.47495/okufbed.1364700
- Özcan Yılsay, T., Yılmaz, L., Akpınar Bayazit, A. (2006). The effect of using a whey protein fat replacer on textural and sensory characteristics of low-fat vanilla ice cream. *European Food Research and Technology*, 222(1/2): 171-175, doi: 10.1007/s00217-005-0018-x
- Özcan, M., Fındık, S., Uylaşer, V., Çoban, D. (2020). Investigation of the physical and chemical properties of traditional homemade yoghurt with different rates of pollen additions. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (20): 516-521, doi: 10.31590/ejosat.736476
- Prdun, S., Svecnjak, L., Valentic, M., Marijanovic, Z., Jerkovic, I. (2021). Characterization of bee pollen: Physico-chemical properties. *Headspace Composition and FTIR Spectral Profiles. Foods*, 10(2103): 1-25, doi: 10.3390/foods10092103
- Rashwan, A.K., Osman, A.I., Chen, W. (2023). Natural nutraceuticals for enhancing yoghurt properties: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 21(3): 1907-1931, doi: 10.1007/s10311-023-01588-0
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Gorecka, A., Gorecki, M., Kabala-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A., Buszman, E. (2015). Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules*, 20(12): 21732-21749, doi: 10.3390/molecules201219800
- Sarıtaş, S., Mondragon Portocarrero, A.d.C., Miranda, J.M., Witkowska, A.M., Karav, S. (2024). Functional yoghurt: Types and health benefits. *Applied Sciences*, 14(11798): 1-30, doi: 10.3390/app142411798
- Sert, D., Akin, N., Dertli, E. (2011). Effects of sunflower honey on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics in set type yoghurt during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1): 99-107, doi: 10.1111/j.1471-0307.2010.00635.x
- Soni, R., Jain, N. K., Shah, V., Soni, J., Suthar, D., Gohel, P. (2020). Development of probiotic yoghurt: Effect of strain combination on nutritional, rheological, organoleptic and probiotic properties. *Journal of Food Science and Technology*, 57: 2038-2050, doi: 10.1007/s13197-020-04238-3
- Soylu, P., Bayram, B. (2020). Bal, propolis, arı sütü, çivanperçemi (*Achillea millefolium*) ve ekinezya (*Echinacea paradoxa*) karışımından fonksiyonel gıda üretimi, ürünün fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(1): 25-38.
- Taylor, K.A.C.C. (1995). A modification of the phenol/sulfuric acid assay for total carbohydrates giving more comparable absorbances. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 53(3): 207-214, doi: 10.1007/BF02783496
- Türkmen, N., Gürsoy, A. (2017). Fonksiyonel dondurma. *Akademik Gıda*, 15(4): 386-395, doi: 10.24323/akademik-gida.370110
- TÜRKOMP (2023). Ulusal gıda kompozisyon veri tabanı. <https://turkomp.tarimorman.gov.tr> (Accessed: 20 November 2023)
- Wang, H., Torki, M., Xiao, H.W., Orsat, V., Raghavan, G.S.V., Liu, Z.L., Peng, W.J., Fang, X.M. (2022). Multi-objective analysis of evacuated tube solar-electric hybrid drying setup for drying lotus bee pollen. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 168: 112822, doi: 10.1016/j.rser.2022.112822
- Weidi, Q. (2019). The development of fermented pea protein-coconut milk beverage. Massey University Albany Master of Food Technology Master Thesis, Albany, New Zealand, 171 p.
- Yang, S., Yan, D., Zou, Y., Mu, D., Li, X., Shi, H., Luo, X., Yang, M., Yue, X., Wu, R. Wu, J. (2021). Fermentation temperature affects yoghurt quality:

A metabolomics study. *Food Bioscience*, 42: 1-13, 101104, doi: 10.1016/j.fbio.2021.101104.

Yerlikaya, O. (2014). Effect of bee pollen supplement on antimicrobial, chemical, rheological, sensorial properties and probiotic viability of fermented milk beverages. *Mljekarstvo/Dairy Journal for Dairy Production and Processing Improvement*, 64(4): 268-279.

Yılmaz, L. (2006). Yoğurt benzeri fermente süt ürünleri üretiminde farklı probiyotik kültür kombinasyonlarının kullanımı. Uludağ

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Bursa, Türkiye, 167 s.

Zlatev, Z., Taneva, I., Baycheva, S., Petev, M. (2018). A comparative analysis of physico-chemical indicators and sensory characteristics of yoghurt with added honey and bee pollen. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(1): 132-144.

İçindekiler / Content GIDA (2025)50(1)

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Gorgulu A. (2025). Sustainable agriculture and climate solutions for the future of food security / Gıda güvenliğinin geleceği için sürdürülebilir tarım ve iklim çözümleri.....1-14

Kutlu, G., Erol, K. F. (2025). An in vitro assessment of the bioactive, cytotoxic, and antidiabetic potential of different parts of tumbleweed (*Gundelia tournefortii* L.) / Kenger (*Gundelia tournefortii* L.) bitkisinin farklı kısımlarının biyoaktif, sitotoksik ve antidiyabetik potansiyelinin in vitro değerlendirilmesi.....28-41

Bostancı Selbeş, E., Şahin, Ö., Vural, H. (2025). Extraction conditions for different parts of melocan (*Smilax excelsa* L.) using supercritical carbon dioxide / Melocan'ın (*Smilax excelsa* L.) farklı kısımları için süperkritik karbon dioksit ekstraksiyon koşulları.....42-55

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Erge, A. (2025). Çörek otu yağı ile zenginleştirilmiş jelatin bazlı ambalaj filmi üretimi ve tavuk eti muhafazasında kullanımı / Black seed oil-enriched packaging film made from gelatin and its application in the preservation of chicken meat.....15-27

Olum, E., Ata, H., Uzun, A., Sönmez, A. (2025). *Stevia rebaudiana* ekstraktı ile tatlandırılmış vegan dondurmanın fiziksel ve duyu kalite özelliklerinin değerlendirilmesi / Evaluation of the physical and sensory quality characteristics of vegan ice cream sweetened with *Stevia rebaudiana*.....74-86

Yiğit, C., Aykın Dinçer, E. (2025) Karadut (*Morus nigra*) ve hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktları kullanılarak biyoaktif bileşenlerce zengin ve karmine alternatif olarak renklendirilmiş fonksiyonel et çubuğu üretimi / Use of black mulberry and hibiscus extracts as an alternative to carmine in coloring snack meat sticks.....87-101

Arslan Bayraktar, H. (2025). Farklı antioksidan kaynaklarının glutensiz krakerin bazı fiziksel, fonksiyonel ve duyu özellikleri üzerine etkisi / Effect of different antioxidant sources on some physical, functional and sensory properties of gluten-free crackers.....102-115

Cerit, İ. (2025). Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve in vitro sindirimin ayçiçek posası ekstraktının fenolik içerik ve antioksidan aktivitesine etkisi / Effects of microwave and in vitro digestion on the phenolic content and antioxidant activity of sunflower meal.....116-130

Çiftçi, M., Öncül, N. (2025). Arı poleni ile zenginleştirilmiş probiyotik yoğurtların bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi / Determination of the physico-chemical properties of probiotic yogurts fortified with bee pollen.....131-145

Reviews (English) / Derlemeler (İngilizce)

Özdemir, M., Yıldırım, R., Yurttaş, R., Başargan, D., Hacı, M. B. (2025). A review of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee waste / Kahve atıklarından biyoaktif bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonu.....56-73