

Özgün Araştırma/Original Article

Dondurma işleminin mandalina polifenollerinin biyoerişilebilirliği üzerine etkisi

Effect of freezing on the bioaccessibility of mandarin polyphenols

Nurdan Özdemirli¹ , Senem Kamiloğlu^{1,2*}  

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 16059, Görükle, Bursa

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTUAM), 16059, Görükle, Bursa
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0001-8741-1416, Yüksek Lisans Öğrencisi

ORCID ID: 0000-0003-3902-4360, Doç. Dr.

*Sorumlu yazar/Corresponding author: skamiloglu@uludag.edu.tr

Geliş / Received : 19.12.2022

Kabul / Accepted : 17.02.2023

Çevrimiçi / Online : 07.04.2023

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, taze ve donuk Klementin türü mandalinada ve mandalina kabuğunda toplam fenolik maddenin, toplam flavonoid maddenin, toplam antioksidan kapasitenin ve flavanon glikozitlerin biyoerişilebilirliklerinin *in vitro* sindirim modeli kullanılarak değerlendirilmesidir.

Materyal ve yöntem: Mandalina polifenollerinin biyoerişilebilirliğinin tespitinde sırasıyla ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirimi simüle eden bir *in vitro* sindirim modeli uygulanmıştır. Toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimler spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiş olup, flavanon glikozitlerin tespiti yüksek performanslı sıvı kromatografisi–fotodiyot dizi dedektörü (HPLC–PDA) ile yapılmıştır. Örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi için, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey testi uygulanmıştır ($p < 0,05$).

Bulgular ve sonuç: Taze ve donuk mandalinalar için toplam fenolik madde (sırasıyla %92 ve %85) ve toplam antioksidan kapasite (sırasıyla %57-128 ve %46-96) biyoerişilebilirliği bakımından önemli bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Ancak donuk mandalinaların toplam flavonoid madde biyoerişilebilirliğinin taze mandalinaya kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla %39 ve %20) ($p < 0,05$). HPLC–PDA ile yapılan kromatografik analiz sonucunda mandalinada bulunan başlıca flavanon glikozitler, narirutin ve hesperidin olarak tespit edilmiştir. Spektrofotometrik analizle elde edilen toplam flavonoid madde içeriği sonuçlarında olduğu gibi donuk mandalinaların flavanon glikozit biyoerişilebilirliğinin taze mandalinaya kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür (sırasıyla %32-65 ve %25-43) ($p < 0,05$). Öte yandan mandalina kabuklarının toplam fenolik madde (%33), toplam flavonoid madde (%18), toplam antioksidan kapasite (%36-63) ve flavanon glikozit (%1,5-18) biyoerişilebilirliğinin iç meyveden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: klementin; bireysel hızlı dondurma; *in vitro* sindirim; toplam fenolik madde; toplam antioksidan kapasite; hesperidin; narirutin

Abstract

Objective: The objective of this study was to evaluate the bioaccessibility of total phenolics, total flavonoids, total antioxidant capacity and flavanone glycosides in fresh and frozen clementine mandarins, and mandarin peels using an *in vitro* digestion model.

Material and method: An *in vitro* digestion model simulating the digestion in the mouth, stomach, and small intestine was applied to determine the bioaccessibility of mandarin polyphenols. Changes in total phenolic content, total flavonoid content and total antioxidant capacity were determined using spectrophotometric methods, whereas the detection of flavanone glycosides was carried out with high performance liquid chromatography–photodiode array detector (HPLC–PDA). For the evaluation of statistical differences

between the samples, one-way analysis of variance (ANOVA) was applied followed by Tukey's post-hoc test ($p<0.05$).

Results and conclusion: Although there was statistically no significant difference between the fresh and frozen mandarins in terms of the bioaccessibility of total phenolics (92% and 85%, respectively) and total antioxidant capacity (57-128% and 46-96%, respectively) ($p>0.05$), the bioaccessible total flavonoids from frozen mandarin was found to be significantly higher than fresh mandarin (39% and 20%, respectively) ($p<0.05$). Chromatographic analysis by HPLC–PDA revealed narirutin and hesperidin as the major flavanone glycosides. Confirming the results obtained with spectrophotometric total flavonoid content method, bioaccessibility of flavanone glycosides was found to be higher than that of fresh mandarin (32-65% and 25-43%, respectively) ($p<0.05$). On the other hand, bioaccessibility of total phenolics (%33), total flavonoids (%18), total antioxidant capacity (%36-63) and flavanone glycosides (%1.5-18) were lower in mandarin peels compared to fruit pulp.

Keywords: clementine; individual quick freezing; *in vitro* digestion; total phenolic content; total antioxidant capacity; hesperidin; narirutin

1. Giriş

Turunçgillerden mandalina *Rutaceae* familyasına ait olup kökeni Güneydoğu Asya'dır. Daha sonra buradan dünyanın farklı bölgelerine yayılan bu meyve, günümüzde Akdeniz'in en önemli ticari ürünleri arasında yer almaktadır (Langgut vd., 2017). Gıda ve Tarım Örgütü'nün istatistiksel verilerine göre, mandalina portakaldan sonra dünyada en çok üretimi yapılan turunçgildir. Türkiye, Çin ve İspanya'dan sonra mandalina üretiminde dünyada 3. sırada yer almaktadır. Bununla birlikte, Türkiye mandalina ihracatında 443 milyon dolar değerinde 900 bin tona yakın miktarda üretim ile de dünyada 2. sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2022). King, Satsuma ve Klementin en bilinen mandalina çeşitleri olup bunlardan Klementin çekirdeksiz ve daha tatlı olması ve kolay soyulması sebebiyle endüstriyel üretim için uygundur (Barry vd., 2020).

Mandalina taze olarak tüketilebildiği gibi mevsimsel ve çabuk bozulan bir yapıya sahip olmasından dolayı raf ömrünü artırmak adına bazı proseslere de tabi tutulmaktadır. Meyve suyu, konsantre, reçel, jöle ve kurutulmuş meyve mandalınanın yaygın olarak işlendiği ürünlerden bazıları olup (Mahawar vd., 2020) bu ürünler gıda endüstrisinde donuk mandalina kullanılarak üretilmektedir. Mandalina dilimlerinin endüstriyel olarak dondurulması düşük sıcaklıkta ve yüksek hızda hava püskürtmeli akışkan yataklı dondurucularda bireysel hızlı dondurma (IQF) işlemi ile gerçekleştirilmektedir. Bu işlem neticesinde yan ürün olarak mandalina kabukları açığa çıkmakta olup dünya çapında üretilen yıllık mandalina kabuğu miktarının 14,5 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir (Cho vd., 2020). Birleşmiş Milletler üyesi ülkeler tarafından 2030 yılı sonuna kadar ulaşılması amaçlanan hedefleri içeren evrensel eylem çağrısındaki 17 küresel çağrıdan bir tanesi de; endüstriler, işletmeler ve tüketicilerin atıklarının azaltılmasını teşvik etmeyi içermektedir (UN, 2020). Benzer şekilde "Sıfır Atık Projesi" uygulamalarının artırılması konusu 11. Kalkınma Planı hedefleri arasında da yer almaktadır (Onbirinci Kalkınma Planı, 2019). Bu nedenle, mandalina kabuğu gibi atık olarak ayrılan yan ürünlerin değerlendirilme potansiyellerinin araştırılması önem arz etmektedir.

Mandalina, polifenoller özellikle de hesperidin ve narirutin gibi flavanon glikozitler açısından zengin bir meyvedir. Flavanonlar lipit metabolizması, antitümör ve antioksidan aktivite üzerindeki çeşitli faydalı etkilerle ilişkilendirilmektedirler (Cebadera vd., 2020). Ayrıca, hesperidin son yıllarda küresel bir pandemiye dönüşen koronavirüs hastalığına

(COVID-19) karşı umut verici aktiviteye sahip bir ilaç maddesi olarak da önerilmiştir (Meneguzzo vd., 2020). Öte yandan, polifenollerin insan sağlığını destekleyici aktivitelerinin gastrointestinal sistemdeki biyoerişilebilirliklerine bağlı olduğu bilinmektedir. Gastrointestinal koşulların simülasyonu için pratik, güvenilir ve *in vivo* metotlardaki gibi etik kaygılar sebebi ile kısıtlaması olmayan *in vitro* sindirim yöntemlerinin kullanımı oldukça yaygındır (Wojtunik-Kulesza vd., 2020). Polifenollerin biyoerişilebilirliğini etkileyen pek çok faktör olup bunlardan biri de gıda prosesidir. Literatürde *in vitro* gastrointestinal sindirim modelleri kullanılarak mandalınanın meyve suyuna proses edilmesi sonucunda polifenollerin biyoerişilebilirliğinde meydana gelen değişimleri inceleyen bazı çalışmalar mevcut olmakla birlikte (Cilla vd., 2020; Sentandreu vd., 2020), bilindiği kadarıyla daha önce yapılan hiçbir çalışmada dondurma işleminin mandalina polifenollerinin biyoerişilebilirliğine olan etkisi incelenmemiştir. Yine daha önce yapılan çalışmalarda endüstriyel üretim sonucu açığa çıkan mandalina kabuğunda bulunan polifenollerin biyoerişilebilirliği taze ve donuk ürün ile de mukayese edilmemiştir.

Yukarıda sunulan bilgiler dikkate alınarak bu çalışmanın amacı, taze ve donuk mandalınada ve mandalina kabuğunda toplam fenolik maddenin, toplam flavonoid maddenin, toplam antioksidan kapasitenin ve flavanon glikozitlerin biyoerişilebilirliklerinin *in vitro* sindirim modeli kullanılarak değerlendirilmesidir.

2. Materyal ve yöntem

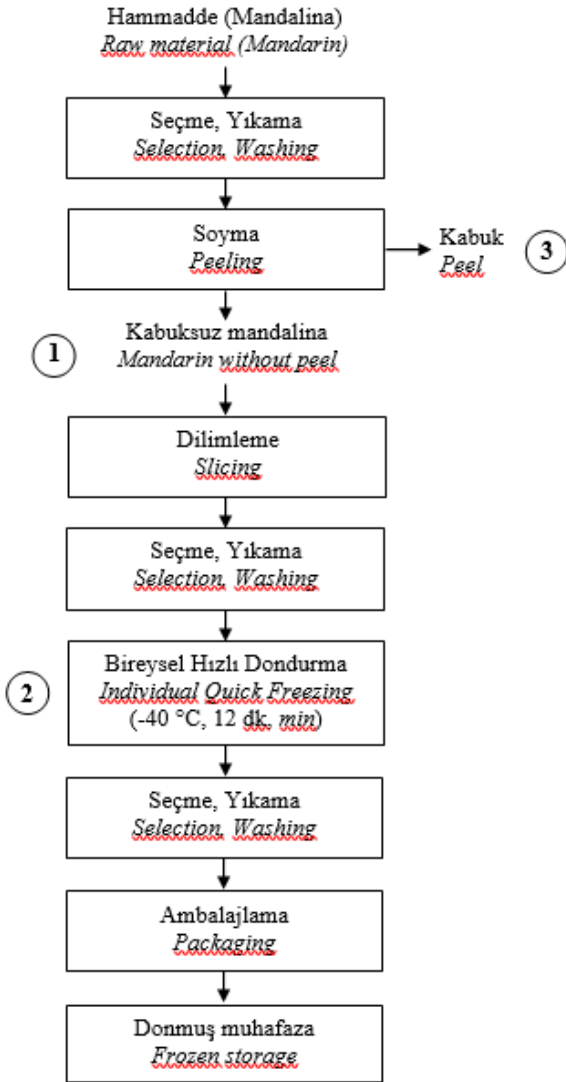
2.1. Materyal

İzmir'in Seferihisar ilçesinden hasat edilen Klementin türü mandalinalar endüstriyel bir gıda işleme fabrikasında (Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Salıhlı, Manisa) bireysel hızlı dondurma işlemine tabii tutulmuştur (FloFreeze MX, Frigoscandia, Helsingborg, İsveç). Şekil 1 üzerinde gösterilen 3 noktadan farklı üretim günlerinde 3 tekrarlı olarak örnekleme yapılmıştır. Toplanan örnekler soğuk zincirle laboratuvara ulaştırıldıktan sonra değirmen (IKA A11, Staufen, Almanya) ile ince toz halinde öğütülerek -80°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2. Kimyasallar

In vitro sindirim simülasyonu için Sigma-Aldrich'den (Steinheim, Almanya) temin edilen α -amilaz (insan tükürüğünden), pepsin (domuz mide mukozasından), pankreatin (domuz

pankreasından) ve safra (domuzdan) kullanılmıştır. Spektrofotometrik analizlerde kullanılan kimyasal ve reaktifler analitik saflık derecesinde olup aksi belirtilmediği takdirde yine Sigma-Aldrich'den (Steinheim, Almanya) temin edilmiştir. Kromatografik yöntemle flavanon glikozitlerin tespiti için yüksek saflıkta hesperidin (Dr. Ehrenstorfer, Ausberg, Almanya) ve narirutin (MedChemExpress, New Jersey, ABD) standartları satın alınmıştır.



Şekil 1. Mandalina dilimlerinin endüstriyel olarak dondurulması işleminde yer alan adımları özetleyen akım şeması. Bu çalışma kapsamında incelenen örnekler: 1: taze mandalina, 2: donuk mandalina, 3: mandalina kabuğu.

Figure 1. Flow chart outlining the steps involved in the industrial freezing of mandarin slices. Samples examined in this study: 1: fresh mandarin, 2: frozen mandarin, 3: mandarin peel.

2.3. *In vitro* sindirim modeli

Mandalina polifenollerinin biyoerişilebilirliğinin tespitinde sırasıyla ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirimi simüle eden bir *in vitro* sindirim modeli

çalkalayıcı su banyosu (Nüve ST 30, Ankara, Türkiye) kullanılarak uygulanmış (Minekus vd., 2014) ve hazırlanan elektrolit solüsyonlarının içeriği Çizelge 1'de belirtilmiştir. Ağızdaki sindirimin simülasyonu için 10 g taze ve donuk mandalina ve de mandalina kabuğu üzerine 7 mL ağız solüsyonu, 1 mL 1500 U/mL aktiviteye sahip α -amilaz enzimi, 0,05 mL 0,3 M kalsiyum klorür (Tekkim, Bursa, Türkiye) ilave edilerek su banyosunda 37°C'de 2 dk. süresince çalkalanmıştır. 4 mL ağız sindirimi sonrası örneği toplanmasının ardından mide sindiriminin simülasyonu için 12 mL mide solüsyonu, 2,56 mL 25000 U/mL aktiviteye sahip pepsin enzimi, 0,008 mL 0,3 M kalsiyum klorür ilave edilerek pH 1 M hidroklorik asit ile 3'e getirilmiştir. Distile su ile toplam hacim 16 mL'ye tamamlandıktan sonra su banyosunda 37°C'de 2 saat süresince çalkalanmıştır. Yine 4'er mL mide sindirimi sonrası örneği toplanmasının ardından ince bağırsak sindiriminin simülasyonu için 15,4 mL ince bağırsak solüsyonu, 7 mL 800 U/mL aktiviteye sahip pankreatin enzimi, 3,5 mL 160 mM safra, 0,056 mL 0,3 M kalsiyum klorür ilave edilerek pH 1 M sodyum hidroksit (Merck, Darmstadt, Almanya) ile 7'ye getirilmiştir. Distile su ile toplam hacim 28 mL'ye tamamlandıktan sonra su banyosunda 37°C'de 2 saat süresince çalkalanmış ve ardından ince bağırsak sindirimi sonrası örnekleri toplanmıştır. Toplanan örneklere uygulanacak analizlerde sindirim sıvılarından kaynaklanabilecek etkileşimlerin önlenmesi amacıyla mandalina örnekleri katılmadan yukarıdaki işlemler tekrar edilerek kör örnek de elde edilmiştir.

Biyoerişilebilirlik aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

Biyoerişilebilirlik (%) = (sindirim sonrası polifenol miktarı/sindirim öncesi polifenol miktarı) \times 100

2.4. Polifenol ekstraksiyonu

Sindirilmemiş taze ve donuk mandalina ve mandalina kabuğundaki polifenollerin ekstraksiyonu daha önce literatürde belirtilen şekilde yapılmıştır (Kamiloglu, 2019a). 2 g örnek üzerine 5 mL %0,1 formik asit içeren %75 metanol eklenerek 15 dk. soğutulmuş ultrasonik banyoda (Elma LC30H, Darmstadt, Almanya) tutulmuştur. Ardından 4°C'de 10 dk. süresince 10000 g hızında santrifüjlenmiştir (Hitachi CF15RN, Tokyo, Japonya). Üst fazlar temiz tüplere alınarak, işlemler bir kez daha tekrar edilmiştir. Daha sonra toplanan üst fazlar bir araya getirilerek elde edilen ekstraktlar analizlerden önce -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.5. Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde tayini daha önce literatürde belirtilen şekilde yapılmıştır (Velioglu vd., 1998). 100 µL ekstrakta 0,75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş, 5 dk. beklendikten sonra 0,75 mL %6 sodyum karbonat (Merck, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir. Karışımlar 90 dk. oda sıcaklığında

bekletildikten sonra UV-Vis spektrofotometre (Agilent Cary 60, Santa Clara, Kaliforniya, ABD) ile 725 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. Gallik asit standart kalibrasyon eğrisi 10-600 ppm aralığında lineerlik göstermiş olup ($R^2= 0,9999$), elde edilen sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 1. *In vitro* sindirim simülasyonu için kullanılan elektrolit solüsyonlarının içeriği

Table 1. Content of electrolyte solutions used for the simulation of *in vitro* digestion

Bileşenler <i>Constituents</i>	Marka <i>Brand</i>	Konsantrasyon (mol/L) <i>Concentration</i> (mol/L)	Hacim (mL), <i>Volume (mL)</i>		
			Ağız solüsyonu (<i>Oral</i> <i>solution</i>)	Mide solüsyonu (<i>Gastric</i> <i>solution</i>)	İnce bağırsak solüsyonu (<i>Small</i> <i>intestinal</i> <i>solution</i>)
Potasyum klorür <i>Potassium chloride</i>	Isolab, İstanbul, Türkiye	0,5	15,1	6,9	6,8
Sodyum bikarbonat <i>Sodium bicarbonate</i>	Isolab, İstanbul, Türkiye	1	6,8	12,5	42,5
Monopotasyum fosfat <i>Monopotassium phosphate</i>	Honeywell, Charlotte, Kuzey Karolina, ABD	0,5	3,7	0,9	0,8
Sodyum klorür <i>Sodium chloride</i>	Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya	2	-	11,8	9,6
Amonyum karbonat <i>Ammonium carbonate</i>	Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya	0,5	0,06	0,5	-
Magnezyum klorür heksahidrat <i>Magnesium chloride</i> <i>hexahydrate</i>	Merck, Darmstadt, Almanya	0,15	0,5	0,4	1,1
Hidroklorik asit <i>Hydrochloric acid</i>	Merck, Darmstadt, Almanya	6	0,09	1,3	0,7

2.6. Toplam flavonoid madde tayini

Toplam flavonoid madde tayini daha önce literatürde belirtilen şekilde yapılmıştır (Kim vd., 2003). 1 mL ekstrakta 0,3 mL %5 sodyum nitrit eklenerek 5 dk. beklendikten sonra 0,3 mL %10 alüminyum klorür ilave edilmiştir. 1 dk. sonra 2 mL 1 M sodyum hidroksit ve ardından 2,4 mL distile su eklendikten sonra UV-Vis spektrofotometre ile 510 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. Rutin standart kalibrasyon eğrisi 1–800 ppm aralığında lineerlik göstermiş olup ($R^2= 0,9958$), elde edilen sonuçlar mg rutin eşdeğeri (RE)/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.7. Toplam antioksidan kapasite tayini

2.7.1. Bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (CUPRAC)

CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan kapasite tayini daha önce literatürde belirtilen şekilde yapılmıştır (Apak vd., 2004). 100 µL ekstrakta 1’er mL 10 mM bakır (II) klorür (Merck, Darmstadt, Almanya), 7,5 mM neokuproin, 1 M amonyum asetat ve 1 mL distile su eklenmiştir. Karışımlar 30 dk. süresince oda sıcaklığında bekletildikten sonra

UV-Vis spektrofotometre ile 450 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. Troloks® (Acros, New Jersey, ABD) standart kalibrasyon eğrisi 10–800 ppm aralığında lineerlik göstermiş olup ($R^2= 0,9993$), elde edilen sonuçlar mg Troloks® eşdeğeri (TE)/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.7.2. Demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP)

FRAP yöntemi ile toplam antioksidan kapasite tayini daha önce literatürde belirtilen şekilde yapılmıştır (Benzie ve Strain, 1996). 100 µL ekstrakta 900 µL FRAP reaktifi (10:1:1 (v:v:v) pH 3,6 asetat tamponu, 10 mM 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) ve 20 mM demir (III) klorür) eklenmiş ve 4 dk. beklendikten sonra UV-Vis spektrofotometre ile 593 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. Troloks® standart kalibrasyon eğrisi 1–200 ppm aralığında lineerlik göstermiş olup ($R^2= 0,9931$), elde edilen sonuçlar mg Troloks® eşdeğeri (TE)/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.7.3. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesi

DPPH yöntemi ile toplam antioksidan kapasite tayini daha önce literatürde belirtilen şekilde yapılmıştır (Kumaran ve Karunakaran, 2006). 100 µL ekstrakta 2 mL 0,1 mM DPPH reaktifi eklenmiş ve 30 dk. beklendikten sonra UV-Vis spektrofotometre ile 517 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Troloks® standart kalibrasyon eğrisi 10-100 ppm aralığında lineerlik göstermiş olup ($R^2= 0,9923$), elde edilen sonuçlar mg Troloks® eşdeğeri (TE)/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.8. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi - fotodiyot dizisi dedektörü (HPLC-PDA) ile flavanon glikozitlerin kantifikasyonu

Mandalina örneklerinde bulunan başlıca flavanon glikozitlerin kantifikasyonu HPLC-PDA (Shimadzu LC-2030, Kyoto, Japonya) ile daha önce literatürde belirtilen şekilde yapılmıştır (Kamiloglu, 2019a). Membran filtrelerden (0,45 µm) geçirilerek amber viallere alınan örnekler 10 µL hacminde sisteme enjekte edilmiştir. Durgun faz olarak C18 kolonu (250 x 4,6 mm, 5 µm, MZ-Analysentechnik, Mainz, Almanya) mobil faz olarak ise trifloroasetik asit (TFA):ultra saf su (1:1000 (v:v), mobil faz A) ve TFA:asetonitril (1:1000 (v:v), mobil faz B) kullanılmıştır. Dakikada 1 mL akış hızıyla uygulanan lineer gradyan şu şekildedir: 0 dk., %95 A ve %5 B; 45 dk., %65 A ve %35 B; 47 dk., %25 A ve %75 B; 49 dk., %65 A ve %35 B; 50 dk., %95 A ve %5 B.

Flavanon glikozitlerin tanımlanmasında kolonda tutunma süreleri ve karakteristik UV spektraları dikkate alınmış olup, spektral ölçümler 280 nm'de gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin kantifikasyonunda kullanılan narirutin (naringenin 7-O-rutinozit) ve hesperidin (hesperetin 7-O-rutinozit) standartlarının kalibrasyon eğrileri 5-100 ppm aralığında lineerlik göstermiş olup ($R^2 \geq 0,9995$), elde edilen sonuçlar mg/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.9. İstatistiksel analiz

Tüm analizler 3 tekrarlı olarak alınan örneklerde 3'er ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. SPSS (sürüm 24, IBM, Chicago, Illinois, ABD) yazılımı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmış ve örnekler arasındaki farklar Tukey testi ile tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içerikleri, toplam antioksidan kapasite analizleri arasındaki korelasyonlar Excel (Microsoft, Redmond, Washington, ABD) yazılımı ile hesaplanmıştır.

3. Bulgular ve tartışma

3.1. Toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içerikleri

In vitro sindirim simülasyonu sırasında mandalina örneklerinin toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriklerinde meydana gelen değişimler Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. *In vitro* sindirim sırasında toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriklerinde meydana gelen değişimler
Table 2. Changes in total phenolic and total flavonoid contents during *in vitro* digestion

Örnek Sample	Sindirilmemiş Undigested	Ağız Mouth	Mide Stomach	İnce bağırsak Small intestine
Toplam fenolik madde (mg GAE/100 g) – Total phenolic content (mg GAE/100 g)				
Taze mandalina Fresh mandarin	109,7 \pm 3,4 B,b	55,9 \pm 0,7 B,d	122,0 \pm 2,9 B,a	100,7 \pm 2,8 B,c
Donuk mandalina Frozen mandarin	114,7 \pm 1,3 B,a	60,5 \pm 3,3 B,c	119,0 \pm 1,6 B,a	97,1 \pm 3,0 B,b
Mandalina kabuğu Mandarin peel	523,2 \pm 19,3 A,a	167,8 \pm 2,8 A,c	358,8 \pm 16,8 A,b	171,4 \pm 3,2 A,c
Toplam flavonoid madde (mg RE/100 g) – Total flavonoid content (mg RE/100 g)				
Taze mandalina Fresh mandarin	26,7 \pm 2,2 B,a	8,1 \pm 1,4 B,c	20,1 \pm 2,8 C,b	5,4 \pm 1,2 C,c
Donuk mandalina Frozen mandarin	26,4 \pm 4,0 B,a	10,1 \pm 2,8 B,b	33,6 \pm 4,4 B,a	10,4 \pm 2,4 B,b
Mandalina kabuğu Mandarin peel	178,8 \pm 5,0 A,a	48,0 \pm 5,2 A,c	125,7 \pm 3,7 A,b	32,1 \pm 1,1 A,d

Sindirim öncesinde taze ve donuk mandalinaların toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemesine rağmen ($p > 0,05$)

mandalina kabuğunun toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriğinin taze ve donuk mandalinalardan sırasıyla 4 ve 6 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Daha önce

literatürde elde edilmiş veriler de mandalina kabuklarının iç meyveye kıyasla daha yüksek miktarda toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içerdiğini göstermiştir (Chen vd., 2020). Ağız sindirimi simülasyonundan sonra tüm örnekler için sindirim öncesine kıyasla daha düşük miktarlarda toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içerikleri elde edilmiştir ($p<0,05$). Bu bulgu literatürde daha önce elde edilen verilerle tutarlı olup (Kamiloglu, 2019c) bu durumun ağız sindirimi simülasyonu süresinin polifenollerin gıda matrisinden salınımı için yetersiz olmasından kaynaklandığı öne sürülmektedir. Mide sindirimi simülasyonu sonrasında ağız sindirimi simülasyonuna kıyasla toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriklerinde artışlar gözlenmiş ve ince bağırsak sindirimi simülasyonundan sonra ise mide sindirimine kıyasla düşüşler görülmüştür ($p<0,05$).

Taze ve donuk mandalinalar için fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği bakımından önemli bir fark görülmemesine rağmen (sırasıyla %92 ve %85) ($p>0,05$), donuk mandalinaların flavonoid biyoerişilebilirliğinin taze mandalinaya kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde daha yüksek olduğu bulgusuna erişilmiştir (sırasıyla %39 ve %20) ($p<0,05$). Dolayısıyla dondurma işlemi neticesinde mandalinalardaki fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin korunduğu, flavonoidlerin biyoerişilebilirliğinin ise arttığı tespit edilmiştir. Literatürde dondurmanın fasulye polifenollerini üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da dondurma prosesinin biyoerişilebilir flavonoid miktarlarında artışa neden olduğu görülmüş (Kamiloglu, 2019b) ve bu bulgunun dondurma esnasında oluşan buz kristallerinin gıda matrisinde oluşturduğu değişikliklerden dolayı flavonoidlerin sindirim simülasyonu esnasında ekstrakte edilebilirliklerini arttırması ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Öte yandan mandalina kabukları için elde edilen fenolik ve flavonoid biyoerişilebilirlik değerlerinin (%18-33) iç meyveden daha düşük olmasının sebebinin mandalina kabuğu lif oranının iç meyveye kıyasla yaklaşık 2 kat daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Czech vd., 2021). Diyet lifinin polifenollerini hapsederek gastrointestinal sıvılar içerisindeki çözünürlüğünü olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Jakobek ve Matic, 2019; Kamiloglu vd., 2021). Diğer taraftan, her ne kadar mandalina kabuğundaki fenolik ve flavonoidlerin biyoerişilebilirlik değerleri iç meyveye kıyasla düşük olsa da ince bağırsak sindirimi simülasyonu sonrası elde edilen toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içerikleri miktarsal olarak mandalina kabuğunda iç

meyveden daha yüksektir (sırasıyla ortalama 171,4 mg GAE/100 g ve 32,1 mg RE/100 g). Bu da mandalina kabuğunun sindirim sonrasında bile toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriği bakımından zengin bir yan ürün olabileceğine işaret etmektedir.

Toplam fenolik madde içeriğinin tespitinde kullanılan Folin–Ciocalteu metodu basit, sağlam ve tekrarlanabilir olmasının yanı sıra özel bir ekipman gerektirmemesi gibi avantajlara sahiptir. Bununla birlikte, bu metodun bazı dezavantajları da mevcuttur. Bu yöntem ile fenolik bileşiklerin yanı sıra askorbik asit, sitrik asit, basit şekerler veya bazı amino asitler gibi diğer indirgeyici bileşikler de ölçülebildiğinden sonuçlar gerçek değerinin üzerinde hesaplanabilmektedir (Capanoglu vd., 2022). Benzer şekilde toplam flavonoid madde içeriğinin tespitinde kullanılan alüminyum klorür metodu da flavonoidlere özgü bir yöntem olmayıp fenolik asitleri de ölçülebilmektedir (Kamiloglu, 2019a). Dolayısıyla, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriklerini belirlemek için uygulanan spektrofotometrik yöntemlerin spesifik olmadığı göz önünde bulundurularak, daha güvenilir sonuçlar elde etmek adına bu çalışma kapsamında HPLC-PDA ile flavanon glikozitlerin kantifikasyonu da gerçekleştirilmiştir.

3.2. Toplam antioksidan kapasite içeriği

In vitro sindirim simülasyonu sırasında mandalina örneklerinin toplam antioksidan kapasitelerinde meydana gelen değişimler 3 farklı yöntem (CUPRAC, FRAP ve DPPH) kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. En yüksek toplam antioksidan kapasite verileri CUPRAC yöntemi ile tespit edilmiş olup FRAP ve DPPH yöntemleri ile daha düşük değerler elde edilmiştir. Bu bulgunun CUPRAC yöntemi ile hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar ölçülürken, FRAP yöntemi ile yalnızca hidrofilik, DPPH yöntemi ile de yalnızca lipofilik antioksidanların ölçülmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Capanoglu vd., 2022). Toplam fenolik madde ve flavonoid madde içeriklerinde olduğu gibi sindirim öncesinde genel olarak taze ve donuk mandalinaların toplam antioksidan kapasite içeriklerinde önemli bir farklılık görülmemekle birlikte mandalina kabuğunun toplam antioksidan kapasitesinin taze ve donuk mandalinalardan 1,5-8 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Mandalina kabuğunun polifenoller haricinde karotenoidler gibi diğer bazı antioksidan özellik gösteren biyoaktif bileşenler açısından da iç meyveden daha zengin olduğu bilinmektedir (Costanzo vd., 2020). Sindirim boyunca toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde

içeriklerindeki benzer bir trend izlenmiştir. Ağız sindirimi simülasyonundan sonra tüm örneklerde daha düşük miktarlarda toplam antioksidan kapasite değerleri belirlenmiş, mide sindirimi

simülasyonundan sonra artışlar gözlenmiş ve de ince bağırsak sindirimi simülasyonundan sonra ise yine düşüşler olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

Çizelge 3. *In vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimler
Table 3. *Changes in total antioxidant capacity during in vitro digestion*

Örnek <i>Sample</i>	Sindirilmemiş <i>Undigested</i>	Ağız <i>Mouth</i>	Mide <i>Stomach</i>	İnce bağırsak <i>Small intestine</i>
CUPRAC (mg TE/100 g) – CUPRAC (mg TE/100 g)				
Taze mandalina <i>Fresh mandarin</i>	104,7 ± 13,9 C,a	26,9 ± 0,3 B,c	98,7 ± 8,2 B,a	59,7 ± 8,4 B,b
Donuk mandalina <i>Frozen mandarin</i>	150,1 ± 11,2 B,a	28,7 ± 2,7 B,d	97,0 ± 9,6 B,b	68,9 ± 8,9 B,c
Mandalina kabuğu <i>Mandarin peel</i>	448,1 ± 9,9 A,a	147,1 ± 4,4 A,c	321,1 ± 14,4 A,b	160,7 ± 4,7 A,c
FRAP (mg TE/100 g) – FRAP (mg TE/100 g)				
Taze mandalina <i>Fresh mandarin</i>	16,1 ± 1,5 B,b	19,8 ± 1,0 B,ab	24,6 ± 1,3 B,a	16,3 ± 2,5 B,b
Donuk mandalina <i>Frozen mandarin</i>	20,1 ± 4,9 B,b	22,6 ± 1,5 B,b	31,0 ± 3,6 B,a	17,4 ± 0,8 B,b
Mandalina kabuğu <i>Mandarin peel</i>	151,4 ± 1,5 A,a	64,1 ± 2,9 A,c	126,3 ± 3,5 A,b	68,1 ± 2,1 A,c
DPPH (mg TE/100 g) – DPPH (mg TE/100 g)				
Taze mandalina <i>Fresh mandarin</i>	26,8 ± 2,3 B,c	22,3 ± 1,0 C,c	62,7 ± 3,5 C,a	34,3 ± 0,8 B,b
Donuk mandalina <i>Frozen mandarin</i>	35,3 ± 4,2 B,b	25,3 ± 0,9 B,c	71,0 ± 4,3 B,a	33,8 ± 1,7 B,b
Mandalina kabuğu <i>Mandarin peel</i>	88,1 ± 5,7 A,b	35,3 ± 1,2 A,d	99,6 ± 1,6 A,a	55,6 ± 0,6 A,c

Toplam fenolik madde içeriği için elde edilen veriler ile uyumlu olarak, dondurma işlemi sonucunda antioksidanların biyoerişilebilirliğinin korunduğu görülmüştür ($p > 0,05$). Taze ve donuk mandalinalarda bulunan antioksidanların biyoerişilebilirliği (sırasıyla %57-128 ve %46- 96) mandalina kabuğuna (%36-63) kıyasla yüzdesel olarak daha yüksek olmakla birlikte toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriklerinde olduğu gibi mandalina kabuğunun toplam antioksidan kapasite değerleri de miktarsal olarak iç meyveden daha yüksektir (55,6-160,7 mg TE/100 g). Bu da yine mandalina kabuğunun biyoerişilebilir antioksidanlar açısından iyi bir materyal olabileceğine dikkat çekmektedir.

Toplam fenolik madde ve flavonoid madde içerikleri ve de toplam antioksidan kapasite analizleri arasındaki korelasyonlar da tespit edilmiştir (Çizelge 4). Sindirim simülasyonu öncesinde tüm spektrofotometrik analiz yöntemleri arasında oldukça lineer bir ilişki olduğu görülmüştür ($R^2 \geq 0,9675$). Bu pozitif lineer ilişki ağız, mide ve ince bağırsak sindirimi simülasyonları boyunca da devam etmiştir ($R^2 \geq 0,9013$). Bu durum sindirim süresince

polifenollerin antioksidan kapasiteye büyük oranda katkıda bulunduğuna işaret etmektedir. Bu çalışmada uygulanan toplam antioksidan kapasite yöntemlerinin pH koşulları göz önüne alındığında, asidik pH'da çalışan FRAP yöntemi mide simülasyonu sonrası antioksidan kapasiteyi ölçmek için daha uygunken, fizyolojik pH'da çalışan CUPRAC ve DPPH yöntemlerinin ağız ve ince bağırsak simülasyonu sonrası antioksidan kapasiteyi ölçmek için daha uygun olduğu söylenebilir. Ayrıca, FRAP yöntemi inkübasyon süresinin kısa olması sebebi ile yavaş kinetik davranışa sahip polifenollerin protokol süresi içinde ölçmek mümkün olmayabilir. İlaveten, mandalina gibi renkli bir gıda matrisinde DPPH ile yakın dalga boyu aralığında absorbe edilen bazı antioksidanların bulunması sebebiyle bu yöntemle elde edilen sonuçların doğru yorumlanması güç olabilmektedir. Dolayısıyla CUPRAC yöntemi diğer toplam antioksidan kapasite ölçüm metotlarına kıyasla daha avantajlı olmasına rağmen gıdaların toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde farklı mekanizmalara sahip birden fazla yöntemin uygulanması önerilmektedir (Capanoglu vd., 2022).

Çizelge 4. Spektrofotometrik analizler arasındaki korelasyonlar**Table 4.** Correlations between spectrophotometric assays

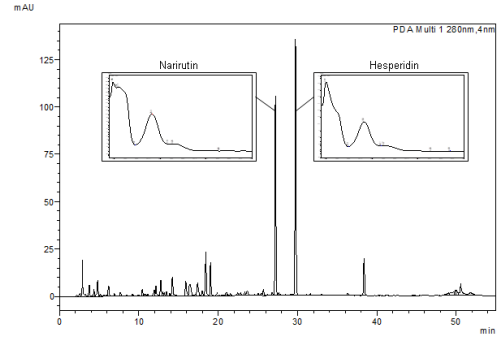
Analiz Assay	Sindirilmemiş Undigested	Ağız Mouth	Mide Stomach	İnce bağırsak Small intestine
TFM–TFLM	0,9988	0,9837	0,9698	0,9368
TFM–CUPRAC	0,9794	0,9985	0,9895	0,9653
TFM–FRAP	0,9957	0,9964	0,9877	0,9906
TFM–DPPH	0,9725	0,9350	0,9110	0,9892
TFLM–CUPRAC	0,9768	0,9811	0,9685	0,9662
TFLM–FRAP	0,9962	0,9897	0,9897	0,9661
TFLM–DPPH	0,9675	0,9013	0,9537	0,9280
CUPRAC–FRAP	0,9829	0,9936	0,9905	0,9788
CUPRAC–DPPH	0,9853	0,9293	0,9131	0,9727
FRAP–DPPH	0,9675	0,9229	0,9328	0,9801

TFM: Toplam fenolik madde - Total phenolic content; TFLM: Toplam flavonoid madde - Total flavonoid content

3.3. Flavanon glikozit içeriği

HPLC-PDA ile kromatografik analiz sonucunda mandalinalarda bulunan başlıca flavanon glikozitler narirutin ve hesperidin olarak tanımlanmıştır (Şekil 2). Bu bulgu literatürde daha önce yapılmış pek çok çalışma ile uyumlu olup bu çalışmada olduğu gibi hesperidin ana flavanon glikozit olarak belirlenmiştir (De Ancos vd., 2017; Hunlun vd., 2017; Roussos vd., 2019). *In vitro* sindirim simülasyonu sırasında mandalina örneklerinde bulunan narirutin ve hesperidin miktarlarında meydana gelen değişimler Çizelge 5’te verilmiştir. Sindirim öncesinde donuk mandalinalarda taze mandalinalara kıyasla daha düşük miktarda narirutin ve hesperidin tespit edilmiştir (%17-29) ($p<0,05$). Bu bulgunun dondurma işlemi sırasında buz kristallerinin oluşumu sebebiyle gıda matrisine zarar verilmesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Gıda matrisindeki bu değişimler hücre duvarı maserasyonuna ve oksidasyon ve bozunmaya karşı daha yüksek hassasiyete neden olabilmektedir (Oliveira vd., 2016; Kamiloğlu, 2020). Spektrofotometrik analiz sonuçları ile paralel olarak, mandalina kabuğunun iç meyveden %67-341 daha fazla flavanon glikozit içerdiği görülmüştür ($p<0,05$). Ağız ve mide sindirimi simülasyonu sonrasında sırasıyla önce düşüşler sonra artışlar gözlenmiş ($p<0,05$) ve görülen trend spektrofotometrik yöntemler ile elde edilen verilerle benzerlik göstermiştir. Ayrıca spektrofotometrik yöntemlerden farklı olarak ince bağırsak sindirimi simülasyonundan sonra taze ve donuk mandalinalar için mide sindirimine kıyasla artışlar olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Literatürde ince bağırsak sindirimi sonrasında mide sindirimine kıyasla polifenol miktarında artışların tespit edildiği başka çalışmalar da olmakla beraber gözlenen bu durum gıdaların sindirim sıvıları ile olan temas süresinin artması sonucu bağırsak enzimlerinin polifenollerin salınımını

kolaylaştırması ile açıklanmıştır (Kamiloğlu, 2019c; Özdemirli ve Kamiloğlu, 2022).



Şekil 2. Mandalinalarda bulunan başlıca flavanon glikozitleri gösteren HPLC-PDA kromatogramı

Figure 2. HPLC-PDA chromatogram showing the major flavanone glycosides present in mandarin

Taze mandalinalarda bulunan narirutin ve hesperidin için tespit edilen biyoerişilebilirlik değerleri (sırasıyla %43 ve %25) daha önce literatürde elde edilen veriler ile uyumludur (De Ancos vd., 2017). Hesperidin biyoerişilebilirliğinin narirutinden düşük olmasının sebebinin hesperidin suda çözünmesinin çok düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Anwer vd., 2014). Toplam flavonoid madde içeriği sonuçlarında olduğu gibi donuk mandalinaların flavanon glikozit biyoerişilebilirliğinin (%32–65) taze mandalinalara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu bir kez daha dondurma işleminin flavonoidlerin biyoerişilebilirliğini olumlu yönde etkilediğine işaret etmektedir. Yine spektrofotometrik toplam flavonoid madde içeriği verileri ile uyumlu olarak mandalina kabuğunun flavanon glikozit biyoerişilebilirliğinin iç meyveden oldukça düşük olduğu görülmüştür (%1,5-18) ($p<0,05$). Bu durumun daha önce de bahsedildiği gibi kabukta yüksek miktarda bulunan diyet lifinin flavonoidlerin biyoerişilebilirliğini olumsuz yönde etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Kamiloğlu vd., 2021).

Çizelge 5. *In vitro* sindirim sırasında flavanon glikozitlerde meydana gelen değişimler**Table 5.** *Changes in flavanone glycosides during in vitro digestion*

Örnek Sample	Sindirilmemiş Undigested	Ağız Mouth	Mide Stomach	İnce bağırsak Small intestine
Narirutin (mg/100 g)				
Taze mandalina Fresh mandarin	31,6 ± 0,4 B,a	5,3 ± 0,2 B,c	7,4 ± 1,0 B,c	13,7 ± 2,9 A,b
Donuk mandalina Frozen mandarin	22,3 ± 0,4 C,a	3,8 ± 0,2 C,d	7,8 ± 1,0 B,c	14,4 ± 1,0 A,b
Mandalina kabuğu Mandarin peel	52,9 ± 1,3 A,a	7,5 ± 0,3 A,c	34,4 ± 0,9 A,b	9,6 ± 2,1 A,c
Hesperidin (mg/100 g)				
Taze mandalina Fresh mandarin	39,2 ± 0,4 B,a	0,4 ± 0,02 B,d	4,4 ± 0,3 B,c	9,7 ± 0,1 B,b
Donuk mandalina Frozen mandarin	32,6 ± 0,6 C,a	0,3 ± 0,01 B,d	4,0 ± 0,3 B,c	10,5 ± 0,5 A,b
Mandalina kabuğu Mandarin peel	143,8 ± 2,2 A,a	2,0 ± 0,3 A,c	18,1 ± 0,7 A,b	2,1 ± 0,3 C,c

4. Sonuç

Bu çalışmanın sonuçları mandalınanın endüstriyel ölçekte dondurulması neticesinde biyoerişilebilir polifenollerin korunduğunu ya da arttığını göstermiştir. İlâveten, mandalina işleme sonucu atık olarak ayrılan kabukların sindirim sonrasında bile polifenoller açısından zengin bir yan ürün olabileceğine dikkat çekilmiştir. Öte yandan, bu çalışma kapsamında yalnızca dondurma işleminin mandalina polifenollerinin biyoerişilebilirliği üzerine olan etkisi değerlendirilmiş olup, optimum biyoerişilebilirlik koşullarının oluşturulması için soğuk depolama süresince de polifenollerde meydana gelen değişimlerin incelenmesi gereklidir. İleride yapılacak olan çalışmalarda bu çalışmada kullanılan *in vitro* sindirim simülasyonu modeline kalın bağırsakta gerçekleşen mikrobiyal fermentasyonun da eklenmesi klinik çalışmalar ile daha uyumlu sonuçlar elde etmek açısından uygun olacaktır. Bununla birlikte, dondurma işleminin mandalina polifenollerinin biyoerişilebilirliğine olan etkisini tam anlamıyla anlamak için *in vivo* araştırmalara da ihtiyaç duyulmaktadır.

5. Teşekkür

Bu çalışma Nurdan Özdemirli'nin yüksek lisans tezi kapsamında gerçekleştirilmiş olup Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje No: FYL-2022-1096). Yazarlar Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Tic. A.Ş. firmasına numunelerin teminindeki desteklerinden dolayı teşekkür eder.

6. Kaynaklar

Anwer, M. K., Al-Shdefat, R., Jamil, S., Alam, P., Abdel-Kader, M. S., and Shakeel, F. (2014). Solubility of bioactive compound hesperidin in six

pure solvents at (298.15 to 333.15) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 59(6), 2065-2069. <https://doi.org/10.1021/je500206w>

Apak, R., Guclu K., Ozyurek M., and Karademir S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>

Barry, G. H., Caruso, M., and Gmitter Jr, F. G. (2020). Commercial scion varieties. *In The Genus Citrus* (pp. 83-104). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812163-4.00005-X>

Benzie, I.F., and Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Demirci Cekic, S., Sozgen Baskan, K., Avan, A.N., Uzunboy, S., and Apak, R. (2022). Antioxidant Activity and Capacity Measurement. In H.M. Ekiert, K.G. Ramawat and J. Arora (Eds.), *Plant Antioxidants and Health* (pp. 709-773). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-78160-6_22

Cebadera, L., Dias, M.I., Barros, L., Fernández-Ruiz, V., Cámara, R. M., Del Pino, Á., ... and Cámara, M. (2020). Characterization of extra early spanish clementine varieties (Citrus clementina Hort ex Tan) as a relevant source of bioactive compounds with antioxidant activity. *Foods*, 9(5), 642. <https://doi.org/10.3390/foods9050642>

- Chen, Q., Wang, D., Tan, C., Hu, Y., Sundararajan, B., and Zhou, Z. (2020). Profiling of flavonoid and antioxidant activity of fruit tissues from 27 Chinese local citrus cultivars. *Plants*, 9(2), 196. <https://doi.org/10.3390/plants9020196>
- Cho, E.J., Lee, Y.G., Chang, J., and Bae, H.J. (2020). A high-yield process for production of biosugars and hesperidin from mandarin peel wastes. *Molecules*, 25(18), 4286. <https://doi.org/10.3390/molecules25184286>
- Cilla, A., Rodrigo, M. J., De Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Zacarías, L., ... and Alegria, A. (2020). Impact of high-pressure processing on the stability and bioaccessibility of bioactive compounds in Clementine mandarin juice and its cytoprotective effect on Caco-2 cells. *Food & Function*, 11(10), 8951-8962. <https://doi.org/10.1039/D0FO02048F>
- Costanzo, G., Iesce, M. R., Naviglio, D., Ciaravolo, M., Vitale, E., and Arena, C. (2020). Comparative studies on different citrus cultivars: A reevaluation of waste mandarin components. *Antioxidants*, 9(6), 517. <https://doi.org/10.3390/antiox9060517>
- Czech, A., Malik, A., Sosnowska, B., and Domaradzki, P. (2021). Bioactive substances, heavy metals, and antioxidant activity in whole fruit, peel, and pulp of citrus fruits. *International Journal of Food Science*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6662259>
- De Ancos, B., Cilla, A., Barberá, R., Sánchez-Moreno, C., and Cano, M. P. (2017). Influence of orange cultivar and mandarin postharvest storage on polyphenols, ascorbic acid and antioxidant activity during gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 225, 114-124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.098>
- FAOSTAT (2022a). Erişim tarihi: Aralık, 2022. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- Hunlun, C., De Beer, D., Sigge, G. O., and Van Wyk, J. (2017). Characterisation of the flavonoid composition and total antioxidant capacity of juice from different citrus varieties from the Western Cape region. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 115-125. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.04.018>
- Jakobek, L., and Matić, P. (2019). Non-covalent dietary fiber-polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 235-247. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.024>
- Kamiloglu, S. (2019a). Effect of different freezing methods on the bioaccessibility of strawberry polyphenols. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(8), 2652-2660. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14249>
- Kamiloglu, S. (2019b). Endüstriyel dondurma işlemi ve in vitro gastrointestinal sindirim sırasında taze fasulyenin fenoliklerinde, flavonoidlerinde ve antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler. *Akademik Gıda*, 17(2), 176-184. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.613559>
- Kamiloglu, S. (2019c). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *Gıda*, 44(3), 409-418. <https://doi.org/10.15237/gida.gd19026>
- Kamiloglu, S. (2020). Industrial freezing effects on the content and bioaccessibility of spinach (*Spinacia oleracea* L.) polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(11), 4190-4198. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10458>
- Kamiloglu, S., Tomas, M., Ozdal, T., and Capanoglu, E. (2021). Effect of food matrix on the content and bioavailability of flavonoids. *Trends in Food Science & Technology*, 117, 15-33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.030>
- Kim, D.O., Jeong, S.W., and Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00423-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00423-5)
- Kumaran, A., and Karunakaran R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1), 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.032>
- Langgut, D. (2017). The citrus route revealed: From southeast asia into the mediterranean. *HortScience*, 52(6), 814-822. <https://doi.org/10.21273/HORTSCII1023-16>
- Mahawar, M.K., Jalgaonkar, K., Bibwe, B., Bhushan, B., Meena, V.S., and Sonkar, R.K. (2020). Post-harvest processing and valorization of Kinnow mandarin (*Citrus reticulata* L.): A review. *Journal of Food Science and Technology*, 57(3), 799-815. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04083-z>
- Meneguzzo, F., Ciriminna, R., Zabini, F., and Pagliaro, M. (2020). Review of evidence available on hesperidin-rich products as potential tools against COVID-19 and hydrodynamic cavitation-based extraction as a method of increasing their production. *Processes*, 8(5), 549. <https://doi.org/10.3390/pr8050549>

Minekus, M., Alming M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., ... and Brodtkorb A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>

Oliveira, A., Alexandre, E. M., Coelho, M., Barros, R. M., Almeida, D. P., and Pintado, M. (2016). Peach polyphenol and carotenoid content as affected by frozen storage and pasteurization. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 361-368. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.037>

Onbirinci Kalkınma Planı (2019). https://www.sbb.gov.tr/wp-content/uploads/2022/07/On_Birinci_Kalkinma_Plani-2019-2023.pdf

Özdemirli, N., ve Kamiloğlu, S. (2022). Kavun çekirdeği şerbetinde (sübye) fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *Gıda*, 47(6), 1130-1139. <https://doi.org/10.15237/gida.GD22083>

Roussos, P. A., Flessoura, I., Petropoulos, F., Massas, I., Tsafouros, A., Ntanos, E., and Denaxa, N. K. (2019). Soil physicochemical properties, tree nutrient status, physical, organoleptic and phytochemical characteristics and antioxidant capacity of clementine mandarin (Citrus clementine cv. SRA63) juice under integrated and organic farming. *Scientia Horticulturae*, 250, 414-420. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.082>

Sentandreu, E., Stinco, C. M., Vicario, I. M., Mapelli-Brahm, P., Navarro, J. L., and Meléndez-Martínez, A. J. (2020). High-pressure homogenization as compared to pasteurization as a sustainable approach to obtain mandarin juices with improved bioaccessibility of carotenoids and flavonoids. *Journal of Cleaner Production*, 262, 121325. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121325>

UN (2020). Erişim tarihi: Aralık, 2022. <https://www.un-page.org/page-and-sustainable-development-goals>

Velioglu, Y.S., Mazza G., Gao L., and Oomah B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>

Wojtunik-Kulesza, K., Oniszcuk, A., Oniszcuk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., and Matwijczuk, A. (2020). Influence of in vitro digestion on composition, bioaccessibility and

antioxidant activity of food polyphenols—A non-systematic review. *Nutrients*, 12(5), 1401. <https://doi.org/10.3390/nu12051401>