



ÇÖREK OTU POSASININ MARMELAT YAPIMINDA DEĞERLENDİRİLMESİ: FENOLİK BİLEŞİKLERİN BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ VE ANTİOKSİDAN KAPASİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

Hasan DÖVER¹, Ertürk BEKAR^{1,2}, Senem KAMILOĞLU^{1,2*}

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTUAM), Bursa, Türkiye

Geliş/Received: 20.08.2024; Kabul /Accepted: 29.11.2024; Online baskı /Published online: 04.12.2024

Döver, H., Bekar, E., Kamiloğlu, S. (2024). Çörek otu posasının marmelat yapımında değerlendirilmesi: Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği ve antioksidan kapasite üzerine etkileri. GIDA (2024) 49 (6) 1206-1217 doi: 10.15237/gida.GD24085

Döver, H., Bekar, E., Kamiloğlu, S. (2024). Valorization of black cumin pomace in marmalade production: Effects on bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant capacity. GIDA (2024) 49 (6) 1206-1217 doi: 10.15237/gida.GD24085

ÖZ

Bu çalışmada çörek otu posasının iki farklı reçete ile marmelada işlenmesi sonucunda toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite ve bireysel fenolik bileşenlerin biyoerişilebilirliğinde meydana gelen değişimler in vitro sindirim modeli ile incelenmiştir. UPLC-ESI-MS/MS analizi, klorojenik asit, *p*-salisilik asit ve *o*-salisilik asidin hem çörek otu posasında hem de marmelatlarda ana fenolik bileşikler olduğunu ortaya koymuştur. Çörek otu posasının marmelada işlenmesi toplam fenolik madde içeriğinde, toplam antioksidan kapasitede ve tüm bireysel fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli düşüslere neden olmuştur ($P<0.05$). Haşlama ön işleminin uygulandığı reçete ile hazırlanan marmelatlar duyuşal değerlendirmede üstün bulunmakla birlikte, ön işlemsiz olarak hazırlanan marmelatlarda biyoerişilebilir fenolik bileşen seviyelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular; çörek otu posasının marmelat yapımında değerlendirilmesi ile sürdürülebilir atık yönetimine katkı sunulabileceğine dikkat çekmiştir.

Anahtar kelimeler: *Nigella sativa* L., gıda atıkları, in vitro sindirim, UPLC-ESI-MS/MS, klorojenik asit, salisilik asit

VALORIZATION OF BLACK CUMIN POMACE IN MARMELADE PRODUCTION: EFFECTS ON BIOACCESSIBILITY OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY

ABSTRACT

In this study, the changes in the bioaccessibility of total phenolics, total antioxidant capacity, and individual phenolic compounds resulting from the use of black cumin pomace in marmelades prepared with two different recipes were examined using an in vitro digestion model. UPLC-ESI-MS/MS analysis revealed that chlorogenic acid, *p*-salicylic acid and *o*-salicylic acid were the main phenolic compounds present in both the black cumin pomace and the marmelades. Processing black

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: skamiloglu@uludag.edu.tr

☎: (+90) 224 275 5447

Hasan Döver; ORCID no: 0009-0001-6579-322X

Ertürk Bekar; ORCID no: 0000-0001-8783-921X

Senem Kamiloğlu; ORCID no: 0000-0003-3902-4360

cumin pomace into marmalade caused statistically significant reductions in total phenolic content, total antioxidant capacity, and levels of all individual phenolic compounds ($P<0.05$). While the marmalades prepared with the recipe that included a blanching pre-treatment were found to be superior in sensory evaluation, the marmalades prepared without pre-treatment had higher levels of bioaccessible phenolic compounds. Overall, the findings of this study highlight that utilizing black cumin pomace in marmalade production can contribute to sustainable waste management.

Keywords: *Nigella sativa* L., food waste, in vitro digestion, UPLC-ESI-MS/MS, chlorogenic acid, salicylic acid

GİRİŞ

Ranunculaceae üyesi olan çörek otu (*Nigella sativa* L.), Asya, Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Akdeniz bölgelerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Çörek otu tohumları; diyabet, solunum yolu hastalıkları, felç, sindirim sistemi sorunları, inflamasyon ve hipertansiyon dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan tıbbi bir bitki olmasıyla farmakoterapide köklü bir geçmişe sahiptir (Yimer vd., 2019). Çörek otunun sağlık üzerindeki bu olumlu etkileri; antioksidan, anti-inflamatuar, immünomodülatör, antikarsinojen, nöroprotektif, antimikrobiyel, antihipertansif, kardiyoprotektif, antidiyabetik, gastroprotektif, nefroprotektif ve hepatoprotektif özellikler de dahil olmak üzere çok çeşitli tıbbi niteliklerine atfedilmektedir (Hannan vd., 2021). Çörek otu; klorojenik asit ve salisilik asit gibi antioksidan özellikteki fenolik bileşikler açısından da zengin bir kaynaktır (Hameed vd., 2019; Ansary vd., 2022).

Birleşmiş Milletler üyesi ülkeler tarafından 2030 yılı sonuna kadar ulaşılması hedeflenen 17 küresel eylemden on ikincisi; endüstriler, işletmeler ve tüketiciler arasında atıkların azaltılmasını teşvik etmeyi amaçlamaktadır (BM, 2020). Aynı şekilde, "Sıfır Atık Projesi" uygulamalarının yaygınlaştırılması da 12. Kalkınma Planı'nda belirlenen hedefler arasında yer almaktadır (On İkinci Kalkınma Planı, 2024). Çörek otu tohumlarından yağ ekstraksiyonu işlemi sonucu biyoaktif bileşikler açısından zengin bir posa açığa çıkmaktadır (Hadidi vd., 2021). Bu bağlamda, çörek otu posası gibi atık olarak görülen yan ürünlerin değerlendirilme potansiyelinin araştırılması önem taşımaktadır. Literatürde daha önce yapılan çalışmalarda çörek otu posasında bulunan fenolik bileşikler karakterize edilmiş (Gueffai vd., 2022) ve posasının ekmek ya da makarna gibi gıda ürünlerinde fonksiyonel katkı

maddesi olarak kullanım potansiyeli değerlendirilmiştir (Rózylo vd., 2021; Krawecka vd., 2022). Öte yandan, bilindiği kadarıyla daha önce yapılmış olan hiçbir çalışmada çörek otu posasının marmelat yapımında değerlendirilmesi konusu araştırılmamıştır.

Fenolik bileşiklerin sağlık üzerine potansiyel faydaları, gastrointestinal sistemde salınımlarına, yani biyoerişilebilirliklerine bağlıdır. Hızlı ve güvenilir olan ve in vivo yöntemlerle ilişkili etik kaygıları taşımayan in vitro sindirim yöntemleri, gastrointestinal koşulların simülasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır (Wojtunik-Kulesza vd., 2020). INFOGEST grubu tarafından geliştirilen in vitro sindirim modelinin (Minekus vd., 2014) uygulanması, standart deneysel koşulların ve prosedürlerin açıkça tanımlanması nedeniyle büyük bir avantaj sağlamaktadır. Literatürde, gıda işleme sonucu ortaya çıkan atık posaların çeşitli ürünlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için kullanıldığı bazı çalışmalarda INFOGEST in vitro sindirim modeli ile fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinde meydana gelen değişimler araştırılmıştır (Kamiloglu vd., 2017; Milinčić vd., 2022; Varnaitė vd., 2022). Diğer taraftan, çörek otu posasının fonksiyonel gıda geliştirmede kullanıldığı çalışmalar oldukça sınırlıdır ve daha önce çörek otu posası üzerine yapılmış olan hiçbir çalışmada in vitro sindirim sonucu fenolik bileşiklerde meydana gelen değişimler değerlendirilmemiştir.

Yukarıdaki bilgiler ışığında bu çalışmada çörek otunun yağı çıkarıldıktan sonra kalan posanın marmelat yapımında değerlendirilmesi ile sürdürülebilir atık yönetimine katkı sunulması amaçlanmıştır. Çörek otu posasının marmelada işlenmesi sonucunda toplam fenolik madde içeriği, toplam antioksidan kapasite ve fenolik asitlerin biyoerişilebilirliğinde meydana gelen

değişimler INFOGEST in vitro sindirim modeli ile incelenmiştir. İlaveten, eğitilmiş panelistler tarafından ürünlerin duyu analizi değerlendirilmesi de gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda İşletmesi'nde çörek otunun (*Nigella sativa* L.) soğuk sıkım yöntemiyle yağı çıkarıldıktan sonra kalan posa iki farklı reçete ile marmelada işlenmiştir.

İlk reçetede şeker ve su 2:1 (w/w) oranında karıştırılarak bir şerbet elde edilmiş ve bu karışıma şeker miktarı kadar posa ilavesi yapılmıştır. Ancak posanın tüm suyu bünyesine çekmesinden dolayı şeker ve su oranı 1:1 (w/w) olacak şekilde yeni bir şerbet hazırlanarak posa ile 3:1 (w/w) oranında bir kez daha karıştırılmıştır. Formülasyonda toplamda 100 g posa, 300 g su ve 300 g şeker kullanılmış olup, elde edilen karışım yarım saat süresince kaynamaya bırakılmıştır. Daha sonra pektin (7 g) ilavesi yapılarak kuru madde içeriği 58°Bx'e ulaşana kadar ısıtılmaya devam edilmiştir. Kaynamanın bitişine yakın sitrik asit (2 g) eklenmiştir. Elde edilen karışım 5 dk soğumaya bırakılmış ve daha sonra 5 dk süresince blender ile homojenize edilmiştir. Marmelatlar sıcakken kavanozlara alınmıştır.

İkinci reçetede su ve posa 2:1 (w/w) oranında karıştırıldıktan sonra %6'lık tuzlu suda 1 saat süresince haşlama ön işlemi uygulanmıştır (Kuşçu ve Yıldırım, 2018). Sonrasında süzülen haşlanmış posaya 1:2 (w/w) oranında su ilave edilmiş ve bir kez daha 1 saat süresince haşlama işlemi uygulanmıştır. Bu işlemden sonra elde edilen karışım 24 saat süresince suda bekletilmiştir. Bekleme süresince su 3 kez değiştirilmiştir. Elde edilen haşlama ön işlemine tabi tutulmuş posa, su ve şeker ile 1:1:1 (w/w/w) oranında karıştırılmıştır. Formülasyonda toplamda 100 g posa, 100 g su ve 100 g şeker kullanılmış olup, elde edilen karışım yarım saat süresince kaynamaya bırakılmıştır. Daha sonra pektin (3 g) ilavesi yapılarak kuru madde içeriği 58°Bx'e ulaşana kadar ısıtılmaya devam edilmiştir. İlk reçete de olduğu gibi kaynamanın bitişine yakın sitrik asit (2

g) eklenmiştir. Elde edilen karışım 5 dk soğumaya bırakılmış ve daha sonra 5 dk süresince blender ile homojenize edilmiştir. Marmelatlar sıcakken kavanozlara alınmıştır.

Duyusal Analiz

Marmelatların (i) görünüm, (ii) koku, (iii) renk, (iv) tekstür ve ağız hissi, (v) tat ve aroma, (vi) kıvam ve (vii) genel beğeni özelliklerini içeren duyu analizi değerlendirilmesinde 7 eğitilmiş panelist yer almıştır. Marmelatlar her bir panel üyesine oda sıcaklığında plastik tabaklarda sunulmuştur. Panelistlerden, marmelat örneklerini bu 7 farklı parametre için 1-7 skalasında hedonik test ile değerlendirmeleri istenmiştir.

Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu daha önce literatürde belirtilen yöntemde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir (Kamiloğlu, 2019). 2.00±0.01 g posa ve farklı reçeteler ile hazırlanmış marmelat örneklerine 5 mL %0.1 formik asitli %75 metanol solüsyonu ilave edilmiştir. Karışımlar 15 dk süresince ultrasonik banyoda (Elma LC30H) tutulduktan sonra 4°C'de, 10,000 × g hızında 10 dk süreyle santrifüjlenmiş (Hitachi CF15RN, Tokyo, Japonya) ve üst fazlar temiz tüplere aktarılmıştır. Bu işlemler iki kez uygulanarak üst faz, 10 mL'lik hacme tamamlanmıştır. Ekstraktlar analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.

In Vitro Sindirim

Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin tespiti için INFOGEST grubu tarafından geliştirilmiş olan in vitro sindirim modeli uygulanmıştır (Minekus vd., 2014). Gastrik ve intestinal sindirim sonrası toplanan örnekler 4°C'de, 20,000 × g hızında 5 dk süreyle santrifüjlenmiş ve üst fazlar analizlere kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayini daha önce literatürde belirtilen şekilde spektrofotometre (Agilent Cary 60, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Velioglu vd., 1998). Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g şeklinde ifade edilmiştir ($R^2= 0.999$).

Toplam Antioksidan Kapasite Tayini

Toplam antioksidan kapasite tayini CUPRAC (bakır iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi) (Apak vd., 2004) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Kumaran ve Karunakaran, 2006) yöntemleri ile daha önce literatürde belirtilen şekilde spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar mg Trolox® eşdeğeri (TE)/100 g şeklinde ifade edilmiştir ($R^2=0.992-0.999$).

UPLC-ESI-MS/MS ile Fenolik Bileşiklerin Tanımlanması ve Kantifikasyonu

Fenolik bileşikler daha önce literatürde belirtilen şekilde C18 kolonu (100 × 3 mm, 3 µm; GL Sciences, Tokyo, Japonya) ile donatılmış bir UPLC-ESI-MS/MS sistemi (Shimadzu LC-MS/MS 8060, Kyoto, Japonya) kullanılarak tanımlanmış ve kantifiye edilmiştir (Akpınar-Bayazit vd., 2023). Örnek spektrumları çoklu reaksiyon izleme modunda (MRM) kaydedilmiş olup, veri analizi LabSolution yazılımı (Shimadzu Co.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fenolik

bileşikler klorojenik asit, *p*-salisilik asit ve *o*-salisilik asit standartları kullanılarak kantifiye edilmiş ve sonuçlar µg/kg şeklinde ifade edilmiştir.

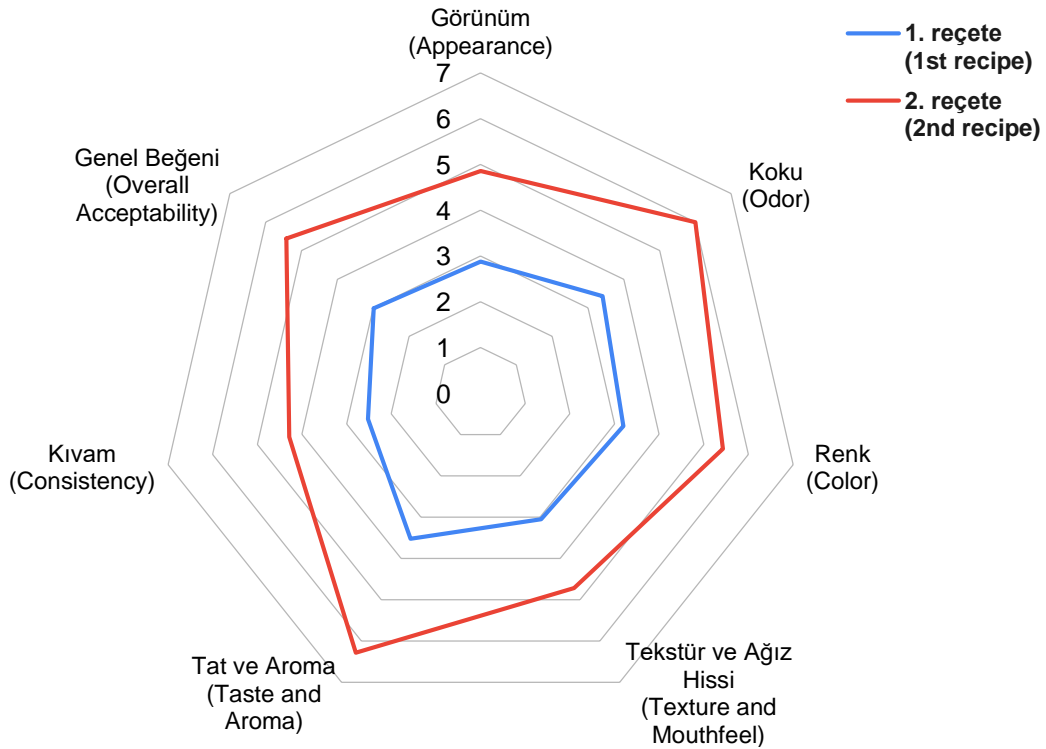
İstatistiksel Analiz

Analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. SPSS (IBM, ABD) yazılımı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmış ve incelenen örnekler arasındaki farklar Tukey testi ile belirlenmiştir ($P<0.05$).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Duyusal Değerlendirme

Üretilen marmelatların duyusal analizi, yedi panelistin katılımıyla yedi farklı parametreye göre gerçekleştirilmiş ve sonuçlar örümcek ağı grafiğinde gösterilmiştir (Şekil 1). Yedili hedonik skala üzerinden yapılan değerlendirmeye göre 2. reçeteye göre hazırlanan marmelatlar tüm parametreler açısından daha üstün bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, çörek otu posasına uygulanan haşlama ön işleminin duyusal beğeniyi olumlu yönde etkilediğine işaret etmektedir.



Şekil 1. Marmelatların duyusal analiz sonuçlarının örümcek ağı grafiği.
Figure 1. Spider web chart of sensory analysis results for marmelades.

Toplam Fenolik Madde

Bu çalışmada çörek otu posasının toplam fenolik madde içeriği (69.3 ± 1.8 mg GAE/100 g) (Çizelge 1) literatürde bildirilen bulgulardan (2.93 – 35.6 mg GAE/g) daha düşük tespit edilmiştir (Gueffai vd., 2022; Krawecka vd., 2022). Görülen bu farklılık, tohumun cinsi ve olgunluğu ile tarımsal işlemler gibi faktörlerden kaynaklanabiliyor olabileceği gibi; uygulanan yağ ekstraksiyon işlemi de çörek otu posasının fenolik bileşen içeriğini etkileyebilmektedir. Marmelada işleme prosesi, toplam fenolik madde içeriğinde önemli ölçüde düşüğe neden olmuştur (%24–94) ($P < 0.05$). Toplam fenolik madde içeriğindeki bu azalma, önceki çalışmalarda bildirilen verilerle uyumludur (Rababah vd., 2011; Kamiloğlu vd., 2015). Marmelat işleme sırasında hücre yapısı

bozulmaktadır ve hammadde enzimatik olmayan oksidasyona yatkın hale gelmektedir. Bu durum da toplam fenolik madde içeriğindeki kaybın başlıca nedenlerinden biri olabilmektedir (Patras vd., 2011). Diğer bir bulgu 2. reçete ile hazırlanan marmelatların toplam fenolik madde içeriğinin 1. reçete ile hazırlanan marmelatlarla kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde daha düşük olmasıdır ($P < 0.05$). Bu farklılığın çörek otu posasına uygulanan haşlama ön işleminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Haşlama suyunun yüksek sıcaklığı, hücre duvarının bozunmasına ve fenolik bileşiklerin parçalanmasına neden olarak, bu bileşiklerin haşlama suyuna geçmesine yol açabilmektedir (Ozdemirli ve Kamiloğlu, 2024).

Çizelge 1. In vitro sindirim sırasında marmelatların toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitelerinde meydana gelen değişimler

Numune Sample	Sindirilmemiş Undigested	Gastrik sindirim Gastric digestion	İntestinal sindirim Intestinal digestion
Toplam fenolik madde (mg GAE/100 g) Total phenolic content (mg GAE/100 g)			
Çörek otu posası Black cumin pomace	69.3 ± 1.8^a	-	-
Marmelat 1 Marmalade 1	$52.9 \pm 2.9^{b,C}$	$80.1 \pm 2.0^{a,B}$	$197.6 \pm 2.6^{a,A}$
Marmelat 2 Marmalade 2	$4.0 \pm 0.4^{c,B}$	$7.0 \pm 0.3^{b,B}$	$67.6 \pm 2.8^{b,A}$
Toplam antioksidan kapasite (mg TE/100 g) Total antioxidant capacity (mg TE/100 g)			
CUPRAC			
Çörek otu posası Black cumin pomace	179.3 ± 7.2^a	-	-
Marmelat 1 Marmalade 1	$115.1 \pm 6.0^{b,B}$	$94.4 \pm 2.5^{a,C}$	$173.6 \pm 3.7^{a,A}$
Marmelat 2 Marmalade 2	$14.9 \pm 2.4^{c,B}$	$11.9 \pm 0.3^{b,B}$	$58.0 \pm 9.3^{b,A}$
DPPH			
Çörek otu posası Black cumin pomace	25.4 ± 2.3^a	-	-
Marmelat 1 Marmalade 1	$8.9 \pm 2.1^{b,B}$	$13.9 \pm 0.9^{a,B}$	$34.2 \pm 6.5^{a,A}$
Marmelat 2 Marmalade 2	$3.3 \pm 1.0^{c,A}$	$1.3 \pm 0.3^{b,B}$	$3.5 \pm 0.4^{b,A}$

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Sütunlardaki küçük harfler ve satırlardaki farklı büyük harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$). -: değerlendirilmedi.

Results are expressed as mean \pm standard deviation. Different lower-case letters within the columns and upper-case letters within the rows represent statistically significant differences ($P < 0.05$). -: not assessed.

Çizelge 1’de *in vitro* sindirim sırasında marmelatların toplam fenolik madde içeriğinde meydana gelen değişimler görülmektedir. Gastrik sindirim sonrasında, her iki formülasyonla hazırlanan marmelatla da toplam fenolik madde içeriğinde sindirilmemiş örneklere kıyasla artış görülmüştür. Literatürde daha önce hurma marmeladı ile yapılmış bir çalışmada da benzer şekilde gastrik sindirim sonrasında toplam fenolik madde içeriğinde artış tespit edilmiştir (Suna vd., 2023). Toplam fenolik madde içeriğindeki bu artışlar, fenolik bileşiklerin gastrik sindirim süresince ekstraksiyonunun sürdüğünü ve serbest kalan fenolik bileşiklerin midenin asidik ortamında stabil kaldığını göstermektedir (Özdemirli ve Kamiloglu, 2022). İntestinal sindirim sonrasında da yine toplam fenolik madde içeriğinde artışlar devam etmiş olup, biyoerişilebilir toplam fenolik madde seviyesi 1. reçete ile hazırlanan marmelatlar için 2. reçete ile hazırlanan marmelatlarla kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). İntestinal sindirim sonrası toplam fenolik madde içeriğinde görülen bu artışlar, gıdaların bağırsak sıvıları ile olan temas süresinin uzaması ve kompleks gıda matrisi üzerindeki intestinal sindirim enzimlerinin etkisi ile matrise bağlı fenoliklerin serbest kalmasının kolaylaşması ile açıklanmaktadır (Kamiloglu vd., 2015). Literatürde daha önce çeşitli sebze suları ile gerçekleştirilmiş bir çalışmada da intestinal sindirim sonrasında toplam fenolik madde içeriğinde artışlar görüldüğü rapor edilmiştir (Wootton-Beard vd., 2011). Folin-Ciocalteu yöntemi; basit, güvenilir ve tekrarlanabilir olması gibi avantajlar sunmakla birlikte bazı dezavantajlara da sahiptir. Bu yöntemle fenolik bileşiklerin yanında sitrik asit ve basit şekerler gibi indirgeyici ajanlar da ölçülebilmektedir. Bu durum da elde edilen sonuçların gerçek değerinden daha yüksek olmasına yol açabilmektedir. Ayrıca, Folin-Ciocalteu yöntemi sulu ortamda uygulandığı için lipofilik fenolik bileşiklerin ölçümü sınırlı kalmaktadır (Capanoglu vd., 2022). Tüm bu faktörler dikkate alınarak, bu çalışma kapsamında spektrofotometrik toplam fenolik madde içeriği ölçümüne ilaveten, UPLC-ESI-MS/MS ile kromatografik olarak da bireysel fenolik bileşiklerin tespiti gerçekleştirilmiştir.

Toplam Antioksidan Kapasite

Toplam antioksidan kapasite CUPRAC ve DPPH olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Çörek otu posası için CUPRAC yöntemi ile tespit edilen toplam antioksidan kapasite değerinin DPPH yöntemi ile tespit edilen değere kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir (sırasıyla 179.3 ve 25.4 mg TE/100 g). Bu sonucun, CUPRAC yönteminin hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanları ölçmesi, DPPH yönteminin ise yalnızca lipofilik antioksidanları tespit edebilmesi ile ilişkili olabileceği öngörülmektedir (Capanoglu vd., 2022). Toplam fenolik madde içeriğinde olduğu gibi posanın marmelada işlenmesi toplam antioksidan kapasitede de istatistiksel olarak önemli düşüğe neden olmuştur (%36–92) ($P<0.05$). Bu bulgu, literatürde siyah havucun marmelada işlendikten sonra antioksidan kapasitesinin önemli ölçüde azaldığını gösteren verilerle uyumludur (Kamiloglu vd., 2015). Marmelada işleme sırasında çörek otu posasında bulunan bazı fenolik bileşiklerin kaybolduğu veya zayıf antioksidan özellikte olan formlara (kinonlar, polimerler, glukuronoid veya sülfat konjugatları, kondenzasyon ürünleri vb.) dönüştüğü tahmin edilmektedir. Ek olarak, toplam antioksidan kapasite sonuçları, toplam fenolik madde içeriği sonuçları ile uyumlu olmakla birlikte; 2. reçete ile hazırlanan marmelatların toplam antioksidan kapasitelerinin 1. reçete ile hazırlanan marmelatlarla kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde düşük olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Bu durumun antioksidan özellikteki fenolik bileşiklerin haşlama suyuna ekstrakte olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

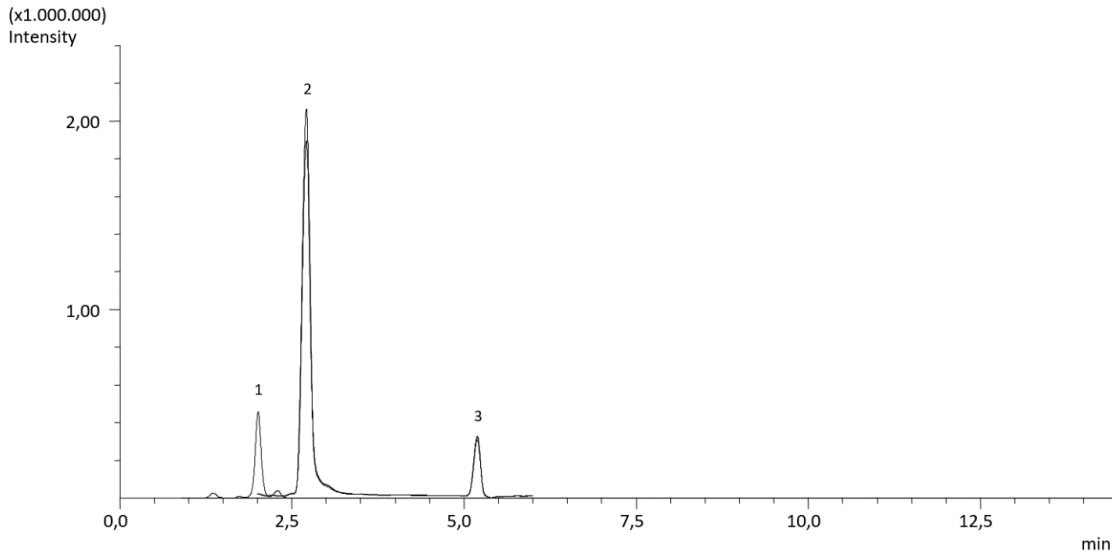
In vitro sindirim sırasında marmelatların toplam antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler Çizelge 1’de verilmiştir. Gastrik sindirim sonrasında elde edilen bulgular tutarlı olmamakla birlikte, intestinal sindirim sonucunda her iki formülasyonla hazırlanan marmelatlarda da toplam antioksidan kapasitede sindirilmemiş örneklere kıyasla artış görülmüştür ($P<0.05$). Sindirim sonucunda sindirim öncesine kıyasla toplam antioksidan kapasitede görülen bu artışlar, literatürde daha önce yapılmış olan çalışmalarda elde edilmiş bulgularla uyumludur (Pešić vd.,

2019). İntestinal sindirim sonrasında toplam antioksidan kapasitede gözlenen artış, yüksek antioksidan aktivite sergileyen yeni oksidasyon ürünlerinin oluşumu ile ilişkili olabilir. Ayrıca, bu durum fenolik olmayan diğer antioksidan moleküllerin varlığından da kaynaklanıyor olabilir (Rasera vd., 2023). Toplam fenolik madde sonuçlarında olduğu gibi 1. reçete ile hazırlanan marmelatlar için 2. reçete ile hazırlanan marmelatlarla kıyasla biyoerişilebilir antioksidanların seviyesi istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Gıda ürünlerinde toplam antioksidan kapasitenin tayininde tek bir yöntemin uygulanmasının güvenilir olmadığı rapor edilmektedir. Doğru ve güvenilir sonuçlar elde etmek için farklı mekanizmalara sahip birden fazla toplam antioksidan kapasite yönteminin uygulanması

tavsiye edilmektedir (Capanoglu vd., 2022). Bu durum dikkate alınarak, bu çalışmada elektron transferi tabanlı CUPRAC ve karma mod mekanizmalı DPPH yöntemleri birlikte uygulanmıştır.

Bireysel Fenolik Bileşikler

UPLC-ESI-MS/MS analizi, klorojenik asit, *p*-salisilik asit ve *o*-salisilik asidin hem çörek otu posası hem de marmelatlarda ana fenolik bileşikler olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 2). Tüm fenolik bileşikler negatif modda tespit edilmiş olup, tanımlanmaları kütleler ve fragmantal iyonlar dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2). Klorojenik asit ve salisilik asit literatürde daha önce yapılmış olan çalışmalarda da çörek otu posasında tespit edilmiş olan fenolik bileşiklerdir (Hameed vd., 2019; Ansary vd., 2022).



Şekil 2. Çörek otu posasında tespit edilen fenolik bileşikleri gösteren UPLC-ESI-MS/MS kromatogramı. 1: Klorojenik asit, 2: *p*-Salisilik asit, 3: *o*-Salisilik asit.

Figure 2. UPLC-ESI-MS/MS chromatogram showing the phenolic compounds identified in black cumin pomace. 1: Chlorogenic acid, 2: *p*-Salicylic acid, 3: *o*-Salicylic acid.

Çörek otu posasının marmelada işlenmesi tüm fenolik bileşiklerin seviyelerinde istatistiksel olarak önemli düşümlere neden olmuştur (%17–99) ($P<0.05$) (Çizelge 3). Literatürde daha önce yapılmış olan çalışmalarda da yaban mersini ve siyah havucun marmelada işlenmesinin klorojenik asit içeriği üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (Howard vd., 2010; Kamiloğlu vd.,

2015). İlaveten, 2. reçete ile hazırlanan marmelatlardaki fenolik bileşiklerin 1. reçete ile hazırlanan marmelatlarla kıyasla önemli derecede düşük olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Bu bulgu spektrofotometrik ölçüm sonuçları ile uyumlu olup, bu durumun 2. reçetede çörek otu posasına uygulanan haşlama ön işlemi ile ilişkili olduğu tahminlenmektedir.

Çizelge 2. UPLC–ESI–MS/MS ile numunelerde tespit edilen fenolik bileşiklerin tanımlanması
Table 2. Identification of the phenolic compounds detected in samples using UPLC–ESI–MS/MS

Parametre Parameter	Klorojenik asit Chlorogenic acid	<i>p</i> -Salisilik asit <i>p</i> -Salicylic acid	<i>o</i> -Salisilik asit <i>o</i> -Salicylic acid
Akionma zamanı (dk) Retention time (min)	2.01	2.60	5.06
İyonlaşma modu Ionization mode	ESI-	ESI-	ESI-
Kütle (m/z) Mass(m/z)	353.1	137.0	137.1
Ana fragmental iyon (m/z) Main fragmental ion (m/z)	191.1	93.0	93.0
Diğer fragmental iyonlar (m/z) Other fragmental ions (m/z)	110.9	65.1	65.0
Çarpışma enerjisi–ana iyon (V) Collision energy–main ion (V)	17	15	17
Çarpışma enerjisi–diğer iyon (V) Collision energy–other ion (V)	40	29	29
Eğim Slope	221.01	60.27	411.50
Kesim noktası Intercept	364.51	137.69	326.76
R ² R ²	0.996	0.996	0.995
Tespit sınırı (mg/L) LOD (mg/L)	0.063	0.106	0.035
Ölçüm sınırı (mg/L) LOQ (mg/L)	0.189	0.319	0.107

Çizelge 3. In vitro sindirim sırasında marmelatların fenolik asitlerinde meydana gelen değişimler
Table 3. Changes in phenolic acids of marmalades during in vitro digestion

Numune Sample	Sindirilmemiş Undigested	Sindirilmiş Digested
	Klorojenik asit (µg/kg) Chlorogenic acid (µg/kg)	
Çörek otu posası Black cumin pomace	106.8±5.5 ^a	-
Marmelat 1 Marmalade 1	88.3±1.3 ^{b,B}	432.7±2.0 ^{a,A}
Marmelat 2 Marmalade 2	4.0±0.1 ^{c,B}	191.9±2.9 ^{b,A}
	<i>p</i> -Salisilik asit (µg/kg) <i>p</i> -Salicylic acid (µg/kg)	
Çörek otu posası Black cumin pomace	2859.5±32.9 ^a	-
Marmelat 1 Marmalade 1	1794.2±14.0 ^{b,A}	1864.1±67.3 ^{a,A}
Marmelat 2 Marmalade 2	49.4±0.6 ^{c,B}	1356.3±9.7 ^{b,A}

	<i>o</i> -Salisilik asit ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	<i>o</i> -Salicylic acid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
Çörek otu posası <i>Black cumin pomace</i>	48.5 \pm 0.8 ^a	-
Marmelat 1 <i>Marmalade 1</i>	31.47 \pm 0.8 ^{b,B}	38.7 \pm 0.6 ^{a,A}
Marmelat 2 <i>Marmalade 2</i>	2.4 \pm 0.1 ^{c,B}	37.7 \pm 0.6 ^{a,A}

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Sütunlardaki küçük harfler ve satırlardaki farklı büyük harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları temsil etmektedir ($P<0.05$). -: değerlendirilmedi.

Results are expressed as mean \pm standard deviation. Different lower-case letters within the columns and upper-case letters within the rows represent statistically significant differences ($P<0.05$). -: not assessed.

Çizelge 3'te in vitro sindirim sonucunda marmelatların klorojenik asit, *p*-salisilik asit ve *o*-salisilik asit içeriklerinde meydana gelen değişimler görülmektedir. 1. reçete ile hazırlanan marmelatların *p*-salisilik asit içerikleri haricinde, sindirilmiş numunelerdeki tüm fenolik bileşiklerin seviyelerinin sindirilmemiş numunelere kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Ayrıca, 1. reçete ile hazırlanan marmelatların biyoerişilebilir klorojenik asit ve *p*-salisilik asit içeriklerinin 2. reçete ile hazırlanan marmelatlardan istatistiksel olarak yüksek olduğu da tespit edilmiştir ($P<0.05$). Öte yandan, biyoerişilebilir *o*-salisilik asit seviyeleri her iki reçete ile hazırlanan marmelatların sindirilmiş numunelerinde birbirinden farklı değildir ($P>0.05$). Bu durum in vitro sindirim sırasında fenoliklerin izomerizasyonu ile ilişkili olabilir.

SONUÇ

Bilindiği kadarıyla bu çalışma, çörek otu posasının marmelat yapımında değerlendirilmesi konusunun araştırıldığı ilk çalışmadır. Çörek otu posasının marmelada işlenmesi; toplam fenolik madde içeriğinde, toplam antioksidan kapasitede ve incelenen tüm bireysel fenolik bileşiklerin seviyelerinde istatistiksel olarak önemli düşüşlere neden olmuştur. Haşlama ön işleminin uygulandığı reçete ile hazırlanan marmelatlar, duyuşal değerlendirmede üstün bulunmakla birlikte; ön işlemsiz olarak hazırlanan marmelatlarda biyoerişilebilir fenolik bileşen seviyeleri daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada marmelat işleminin etkisine odaklanılmış olup, ileride gerçekleştirilecek olan çalışmalarda depolama sırasında fenolik

bileşiklerdeki değişimlerin incelenmesi de önem arz etmektedir. Ek olarak, tüketicilerin meyvelerle hazırlanan marmelatları tercih etme eğilimleri dikkate alındığında, çalışmamıza konu olan marmeladın ticari olarak uygulanabilirliğini arttırmak adına, ileride yürütülecek olan çalışmalarda çörek otu posasının meyvelerle hazırlanan marmelatlarla ilave edilmesi önerilmektedir. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular ile çörek otu posasının marmelat yapımında değerlendirilmesi ile sürdürülebilir atık yönetimine katkı sunulabileceğine dikkat çekilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Hasan Döver ve Ertürk Bekar deneysel çalışmaların yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesine; Senem Kamiloğlu, çalışmanın kurgulanması ve makale yazımına katkı sağlamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje No: FLO-2024-1782).

KAYNAKLAR

Akpınar Bayazit, A., Bekar, E., Unal, T.T., Celik, M. A., Acoglu Celik, B., Koc Alibasoglu, E., Sahin Dilmenler, P. Yolci Omeroglu, P. Copur, O.U., Kamiloglu, S. (2023). Investigating the effect of harvest season on the bioaccessibility of bee

- pollen polyphenols by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 249(10): 2529-2542, doi: 10.1007/s00217-023-04316-8.
- Ansary, J., Regolo, L., Machi, M., Salinari, A., Cianciosi, D. (2022). Evaluation of the in vitro bioaccessibility of phenolic compounds of black cumin (BARI-1cumin) methanolic extract. *eFood*, 3(3): e15, doi: 10.1002/efd2.15.
- Apak, R., Guclu K., Ozyurek M., 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, doi: 10.1021/jf048741x.
- BM (2020). Erişim tarihi: Ağustos, 2024. <https://www.un-page.org/page-and-sustainable-development-goals>.
- Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Demirci Cekic, S., Sozgen Baskan, K., Avan, A. N., Uzunboy, S., Apak, R. (2022). Antioxidant activity and capacity measurement. In: *Plant Antioxidants and Health*, Ekiert, H.M., Ramawat, K.G., Arora, J. (Eds.), Springer, pp. 709-773, doi: 10.1007/978-3-030-45299-5_22-1.
- Gueffai, A., Gonzalez-Serrano, D.J., Christodoulou, M.C., Orellana-Palacios, J.C., Ortega, M. L.S., Ouldoumna, A., Kiari, F.Z., Ioannou, G.D., Kapnissi-Christodoulou, C.P., Moreno, A., Hadidi, M. (2022). Phenolics from defatted black cumin seeds (*Nigella sativa* L.): ultrasound-assisted extraction optimization, comparison, and antioxidant activity. *Biomolecules*, 12(9): 1311, doi: 10.3390/biom12091311.
- Hadidi, M., Ibarz, A., Pouramin, S. (2021). Optimization of extraction and deamidation of edible protein from evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oil processing by-products and its effect on structural and techno-functional properties. *Food Chemistry*, 334, 127613, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127613.
- Hameed, S., Imran, A., Nisa, M.U., Arshad, M.S., Saeed, F., Arshad, M.U., Asif Khan, M. (2019). Characterization of extracted phenolics from black cumin (*Nigella sativa* linn), coriander seed (*Coriandrum sativum* L.), and fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum*). *International Journal of Food Properties*, 22(1): 714-726, doi: 10.1080/10942912.2019.1599390.
- Hannan, M.A., Rahman, M.A., Sohag, A.A.M., Uddin, M.J., Dash, R., Sikder, M.H., Rahman, M.S., Timalsina, B., Munni, Y.A., Sarker, P.P., Alam, M., Mohibullah, M., Haque, M.N., Jahan, I., Hossain, M.T., Afrin, T., Rahman, M.M., Tahjib-Ul-Arif, M., Mitra, S., Oktaviani, D.F., Khan, M.K., Choi, H.J., Soo Moon, I.S., Kim, B. (2021). Black cumin (*Nigella sativa* L.): A comprehensive review on phytochemistry, health benefits, molecular pharmacology, and safety. *Nutrients*, 13(6), 1784, doi: 10.3390/nu13061784.
- Howard, L.R., Castrodale, C., Brownmiller, C., Mauromoustakos, A. (2010). Jam processing and storage effects on blueberry polyphenolics and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4022–4029, doi: 10.1021/jf902850h.
- Kamiloglu, S. (2019). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA*, 44(3): 409-418, doi: 10.15237/gida.gd19026.
- Kamiloglu, S., Ozkan, G., Isik, H., Horoz, O., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2017). Black carrot pomace as a source of polyphenols for enhancing the nutritional value of cake: An in vitro digestion study with a standardized static model. *LWT*, 77, 475-481, doi: 10.1016/j.lwt.2016.12.002.
- Kamiloglu, S., Pasli, A.A., Ozcelik, B., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2015). Influence of different processing and storage conditions on in vitro bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades. *Food Chemistry*, 186, 74-82, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.046.
- Krawęcka, A., Sobota, A., Ivanišová, E., Harangozo, L., Valková, V., Zielińska, E., Blicharz-Kania, A., Zdybel, B., Mildner-Szkudlarz, S. (2022). Effect of black cumin cake addition on the chemical composition, glycemic index, antioxidant activity, and cooking quality of

- durum wheat pasta. *Molecules*, 27(19): 6342, doi: 10.3390/molecules27196342.
- Kumaran, A., Karunakaran R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1): 109-114, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.032.
- Kuşçu, A., Yıldırım, N. (2018). Acılığt giderilmiş kapariden (*Capparis* Spp.) geleneksel ve vakum yöntemleriyle üretilen reçellerin kalite özelliklerinin karşılaştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2): 881-886. doi: 10.19113/sdufbed.55487.
- Milinčić, D.D., Stanisavljević, N.S., Kostić, A.Ž., Gašić, U.M., Stanojević, S.P., Tešić, Ž.L., Pešić, M.B. (2022). Bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant properties of goat-milk powder fortified with grape-pomace-seed extract after in vitro gastrointestinal digestion. *Antioxidants*, 11(11): 2164, doi: 10.3390/antiox11112164.
- Minekus, M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carriere F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D.J., Menard O., Recio I., Santos C.N., Singh R.P., Vegarud G.E., Wickham M.S.J., Weitschies W., Brodtkorb A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6): 1113-1124, doi: 10.1039/C3FO60702J.
- On İkinci Kalkınma Planı (2024). www.sbb.gov.tr/wp-content/uploads/2023/12/On-Ikinci-Kalkinma-Planı_2024-2028_11122023.pdf
- Özdemirli, N., Kamiloğlu, S. (2022). Kavun çekirdeği şerbetinde (sübye) fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA*, 47(6): 1130-1139, doi: 10.15237/gida.GD22083.
- Ozdemirli, N., Kamiloglu, S. (2024). Influence of industrial blanching, cutting, and freezing treatments on in vitro gastrointestinal digestion stability of orange (*Citrus sinensis* L.) and lemon (*Citrus limon* L.) peel polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(4): 2165-2173, doi: 10.1002/jsfa.13101.
- Patras, A., Brunton, N.P., Tiwari, B.K., Butler, F. (2011). Stability and degradation kinetics of bioactive compounds and colour in strawberry jam during storage. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1245–1252, doi: 10.1007/s11947-009-0226-7.
- Pešić, M.B., Milinčić, D.D., Kostić, A.Ž., Stanisavljević, N.S., Vukotić, G.N., Kojić, M.O., Gašić, U.M., Barać, M.B., Stanojević, S.P., Popović, D.A., Banjac, N.R., Tešić, Ž.L. (2019). In vitro digestion of meat-and cereal-based food matrix enriched with grape extracts: How are polyphenol composition, bioaccessibility and antioxidant activity affected?. *Food Chemistry*, 284, 28-44, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.107.
- Rababah, T.M., Al-Mahasneh, M.A., Kilani, I., Yang, W., Alhamad, M.N., Ereifej, K., Al-u'datt, M. (2011). Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6): 1096-1102, doi: 10.1002/jsfa.4289.
- Rasera, G.B., de Camargo, A.C., de Castro, R.J.S. (2023). Bioaccessibility of phenolic compounds using the standardized INFOGEST protocol: A narrative review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(1): 260-286, doi: 10.1111/1541-4337.13065.
- Rózyło, R., Piekut, J., Wójcik, M., Kozłowicz, K., Smolewska, M., Krajewska, M., Szmigielski M., Bourekoua, H. (2021). Black cumin pressing waste material as a functional additive for starch bread. *Materials*, 14(16): 4560, doi: 10.3390/ma14164560.
- Suna, S., Kalkan, S., Dinç, M., Çopur, Ö.U. (2023). Production of low calorie persimmon marmalades with stevia and maltitol: physicochemical properties and in vitro bioaccessibility of polyphenols. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(1): 1082-1095, doi: 10.1007/s11694-022-01676-9.
- Varnaitė, L., Keršienė, M., Šipailienė, A., Kazernavičiūtė, R., Venskutonis, P.R., Leskauskaitė, D. (2022). Fiber-rich cranberry pomace as food ingredient with functional activity

for yogurt production. *Foods*, 11(5): 758, doi: 10.3390/foods11050758.

Velioglu, Y.S., Mazza G., Gao L., 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, doi: 10.1021/jf9801973.

Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., 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, doi: 10.3390/nu12051401.

Wootton-Beard, P.C., Moran, A., Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total

polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1): 217-224. doi: 10.1016/j.foodres.2010.10.033.

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): 1528635, doi: 10.1155/2019/1528635.