

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 48

SAYI / NUMBER : 5

YIL / YEAR : 2023

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör / Editor-in Chief

ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey

Editörler / Editors

AVCI, Ayşe; Sakarya University, Turkey
AYDIN, Furkan; Aksaray University, Turkey
ÇAKIR, İbrahim; Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey
ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey
DEMİRKESEN MERT; İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey
DEMİROK SONCU, Eda; Ankara University, Turkey
EYİLER, Esen; Akdeniz University, Turkey
KULEAŞAN, Şükran; Mehmet Akif University, Turkey
TORUN, Mehmet; Akdeniz University, Turkey
YILMAZ, Merve Silanur; Bitlis Eren University, Turkey

Yönetim Yeri

Adres / Address

Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey

Tel: (+90) 0534 968 5994 • **Faks:** (+90) 312 317 8711

E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org

URL: http://www.gidadernegi.org

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Hazırlayan / Prepared

Sim Ajans
19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara
Tel : (+90) 312 925 25 95
e-mail: simajans@simajans.com

Yayın Tarihi / Publication Date

15 10 2023

Danışma Kurulu / Advisory Board

Akköşe, Ahmet; Atatürk University, Turkey
Ank, Gökşen G.; Balıkesir University, Turkey
Atalar, İlyas; Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey
Baysal, A. Handan; İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey
Bezirtzoglou, Eugenia; Democritus University of Thrace, Greece
Bozkır, Hamza; Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey
Çilak, Gizem Ö.; Hitit University, Turkey
Draughon, Ann Tennessee University, USA
El Soda, Morsi University of Alexandria, Egypt
Erbay, Zafer; Adana Bilim ve Teknik University, Turkey
Evren, Mustafa; Ondokuz Mayıs University, Turkey
Fogliano, Vincenzo University of Napoli Federico II, Italy
Gerçekaslan, K. Emre; Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey
Ghosh, Bikash C. National Dairy Research Institute, India
Gollop, Natan The Volcani Center, ARO, Israel
Griffiths, Mansel University of Guelph, Canada
Güneşer, Onur; Uşak University, Turkey
Güven, Esra Ç.; İstanbul Teknik University, Turkey
Ho, Chi-Tang The State University of New Jersey, USA
Hoşoğlu, Müge İ.; Gebze Teknik University, Turkey
Hüner, İrem D.; Trakya University, Turkey
Kahraman, Kevser; Abdullah Gül University, Turkey
Karaca, Hakan; Pamukkale University, Turkey
Koçan, Deniz; Aksaray University, Turkey
Konuskan, Dilşat B.; Mustafa Kemal University, Turkey
Kuleaşan, Hakan; Süleyman Demirel University, Turkey
Meral, Raciye; Yüzüncü Yıl University, Turkey
Mete, Aylin A.; Mersin University, Turkey
Morales, Francisco J. CSIC Instituto del Fr o, Spain
Muhtaba, Mustafa G. Florida Gulf Coast University, USA
Mutlu, Türkan K.; Çukurova University, Turkey
Öztürk, Fatma; Kâtip Çelebi University, Turkey
Paalme, Toomas Tallinn University of Technology, Estonia
Parlar, Harun Technical University of Munich, Germany
Raspor, Peter University of Primorska, Slovenia
Rezessy-Szabo, Judit M. Corvinus University of Budapest, Hungary
Sarı, Ferda; Cumburiyet University, Turkey
Şengün, İlkin Y.; Ege University, Turkey
Soyer, Yeşim; Orta Doğu Teknik University, Turkey
Toğay, Sine Ö.; Bursa Uludağ University, Turkey
Toker, Ömer S.; Yıldız Teknik University, Turkey
Velioglu, Murat; Namık Kemal University, Turkey
Yemiş, Gökçe P.; Sakarya University, Turkey
Yolaçaner, Elif; Hacettepe University, Turkey
Yorulmaz, Aslı; Adnan Menderes University, Turkey
Zorba, Murat; Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey

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 (2023)48(5)

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Öğütücü M., Albayrak, E., Karabayır, E. S. Optimization of wax addition level in sunflower oil oleogels via response surface methodology / Ayçiçeği yağı oleojellerindeki mum ilave seviyesinin yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu 901-912

Kurt, N., Aydın, E., Ozkan, G. Hass avocado leaves: Optimization of microwave-assisted extraction parameters, phenolic compounds, antioxidant, and antidiabetic activities / Hass avokado yaprağı: Mikrodalga destekli ekstraksiyon parametreleri, fenolik bileşikler, antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerin optimizasyonu 913-923

Akdag, Z. T., Catalyildiz, Z. E., Çetin Babaoglu, H., Arslan Tontul, S. The use of refractance window-dried egg powder in cake production / Kırının pencereleli kurutucu ile üretilmiş toz yumurtanın kek üretiminde kullanımı 963-971

Pürdik Tatık, G., Güngör, A. E. Adherence to the Mediterranean diet in patients with metabolic syndrome / Metabolik sendromlu hastalarda Akdeniz diyetine uyum 981-992

Balkan, T., Yılmaz, Ö. Determination of pesticide residues in pomegranates grown in Antalya and health risk assessment / Antalya'da yetiştirilen narlarda pestisit kalıntılarının belirlenmesi ve sağlık risk değerlendirmesi 993-1003

Ayda, M., Dede, S., Didin, M. Determination and comparison of quality changes during storage of Turkish pepper paste produced by different methods. / Farklı yöntemlerle üretilen Türk biber salçalarının depolama sırasındaki kalite değişimlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması 1071-1083

Kızılpınar Temizer, I., Çobanoğlu, D. N. Bibliometric Analysis of Research on Bee Pollen: Global Trends and Collaboration Patterns / Arı Polenini Araştırmalarının Bibliyometrik Analizi: Küresel Eğilimler ve İşbirliği Örüntüleri 1084-1098

Kian-Pour, N. Effect of ethanol immersion and ultrasound pretreatments on the kinetics of convective drying of quince / Etanole daldırma ve ultrason ön işlemlerinin ayvanın konvektif kurutma kinetiğine etkisi 1099-1108

Gunes, R. Quality assessment of chokeberry fruit powders obtained by convective hot air and freeze drying methods / Konvektif sıcak hava ve dondurarak kurutma yöntemleriyle elde edilen aronya meyve tozlarının kalite yönünden değerlendirilmesi . . 1109-1122

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Tiribolulu, T., Ayhan, Z. Etilen tutucu içeren aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin hasat sonrası kalitesi üzerine etkileri / The influence of ethylene scavenging-active packaging and storage temperature on post harvest quality of cherry tomatoes 934-951

Sipahi, N., Doğan Çelik, C. Sağlıklı hayvanlardan alınan süt örneklerinde potansiyel patojenler ve çoklu antibiyotik dirençliliği: Streptococcus spp. suşlarının değerlendirilmesi / Presence of the potential pathogens and multiple antibiotic resistance in milk from healthy animals: Evaluation of Streptococcus spp. Strains 952-962

Şen Arslan, H. Ultrason destekli elma atık özütlerinin bazı biyoaktif özellikleri / Some bioactive properties of ultrasound supported apple waste extracts 972-980

Çetin, B., Bazu Çırpıcı, B. Mayalarda safra tuzu toleransının belirlenmesinde farklı sıcaklık ve besiyeri kullanımının etkisi / The effect of different temperature and media usage on determining bile salt tolerance in yeasts 1004-1020

Yıldız, E., Ozcan Sinir, G., Aykas, D. P., Gurbuz, O. Kombu çayı üretiminde muşmula (Mespilus germanica L.) kullanımının antioksidan kapasite ve biyoerişilebilirlik üzerine etkisinin araştırılması / Investigation of the effect of medlar (Mespilus germanica L.) usage on antioxidant capacity and bioaccessibility in Kombucha production 1021-1035

Yılmaz Oral, Z. F. Isl işlem görmüş sucuk üretiminde küreme ajanı olarak pazı tozu kullanımının nitrozamin oluşumuna ve kalite parametrelerine etkisi / The effect of using swiss chard powder as a curing agent in the production of heat-treated sucuk on nitrosamine formation and quality parameters 1036-1046

Güldane, M., Yağmur, T., Çetin, H. Doğal biyoaktif sebze özütlerinin beze özelliklerine etkisi / Effect of natural bioactive extracts on meringue properties 1047-1059

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Akgül, F. N., Arslan Tontul, S. Tip 5 dirençli nişasta: Nişasta katılım kompleksleri / Type 5 resistant starch: Starch inclusion complexes 924-933

Bal, A., Küçüköner, E. Sıcak hava fritözü ve derin yağda kızartma tekniği ile kızartılmış gıdaların karşılaştırılması / Comprasion of foods fried by air frying and deep fat frying 1060-1070

OPTIMIZATION OF WAX ADDITION LEVEL IN SUNFLOWER OIL OLEOGELS VIA RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Mustafa Öğütçü^{*1}, Elif Albayrak², Elif Sultan Karabayır¹

¹ Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Türkiye

² Bayramiç Vocational College, Çanakkale Onsekiz Mart University, Bayramiç, Çanakkale, Türkiye

Received / Geliş: 04.05.2023; Accepted / Kabul: 09.08.2023; Published online / Online baskı: 15.08.2023

Öğütçü M., Albayrak, E., Karabayır, E. S. (2023). Optimization of wax addition level in sunflower oil oleogels via response surface methodology. *GIDA* (2023) 48 (5) 901-912 doi: 10.15237/ gida.GD23061

Öğütçü M., Albayrak, E., Karabayır, E. S. (2023). Ayçiçeği yağı oleojellerindeki mum ilave seviyesinin yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu *GIDA* (2023) 48 (5) 901-912 doi: 10.15237/ gida.GD23061

ABSTRACT

In this study, oleogels were produced with a wax mixture (sunflower wax, SW; beeswax, BW) instead of single wax in order to reduce the total wax addition level and maintain the optimal properties of the oleogels. The textural and thermal properties were evaluated using the response surface methodology to determine the optimum wax addition level to form a gel with the similar properties to margarine. The firmness values and melting point were dominated by SW levels in the wax mixture. The XRD patterns showed that all of the samples had the β' polymorphic form. The optimization results showed that oleogel prepared with 0.20%-SW and 2.80%-BW had lowest melting peak (46.42 °C). In conclusion, using a wax mixture instead of single wax type, a structurally stable gel with a lower melting point could be formed at a lower wax addition level.

Keywords: Oleogel, optimization, stability, thermal, wax mixture, response surface methodology

AYÇİÇEĞİ YAĞI OLEOJELLERİNDEKİ MUM İLAVE SEVİYESİNİN YANIT YÜZEY YÖNTEMİYLE OPTİMİZASYONU

ÖZ

Bu çalışmada, oleojellerin istenilen optimal özelliklerini korumak ve mum katkı miktarını azaltmak için tek mum yerine mum karışımı (ayçiçeği mumu, SW; balmumu, BW) kullanılarak oleojeller üretilmiştir. Tekstürel ve termal özellikler, margarine en yakın özelliklere sahip bir jel oluşturmak için optimum mum ilave seviyesini belirlemek üzere, yanıt yüzey yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Oleojel örneklerinin sertlik ve ergime noktası değerlerinin, daha çok mum karışımındaki SW oranına bağlı olduğu gözlemlenmiştir. XRD desenleri, tüm numunelerin β' polimorfik forma sahip olduğunu göstermiştir. Optimizasyon sonuçlarına göre, en düşük ergime noktasına (46,42 °C) sahip oleojelin %0,20SW ve %2,80BW ile hazırlanan oleojel olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, tek mum yerine bir mum karışımı kullanılarak, daha düşük bir mum ekleme seviyesinde, daha düşük bir ergime noktasına sahip, yapısal olarak da kararlı bir jel oluşturulabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Oleojel, optimizasyon, stabilite, termal, mum karışımı, yanıt yüzey yöntemi

* Correspondence author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: mustafaogutcu@gmail.com

☎: (+90) 286 218 0018

☎: (+90) 286 218 0541

Mustafa Öğütçü; ORCID no: 0000-0001-8686-2768

Elif Albayrak; ORCID no: 0000-0002-1202-403X

Elif Sultan Karabayır; ORCID no: 0000-0003-1152-120X

INTRODUCTION

Organogel is a popular technique used for structuring liquid oils in food science, particularly in the last decade. When oils are structured via organogelation, the products are called oleogels. Oleogels range in appearance from opaque to transparent, and have different colors depending on the source of the oil and the gelators used. On the other hand, oleogels have been seen as spreadable fat alternatives due to some advantages such as low saturated fat, no *trans* fat and no change in fatty acid composition, and a wide melting and spreadability ranges (Co and Marangoni, 2012; Hwang et al., 2012; Hwang et al., 2013; Patel et al., 2014; Ögütçü et al., 2015). In order to structure oil, many gelators were reported, such as fatty alcohols, fatty acids, mono and diglycerides, γ -oryzanol and β -sitosterol mixture, and natural waxes. Particularly, wax-based oleogels are most popular and known oleogel structure. When compared to other organogelators, waxes have some advantages. They are inexpensive and relatively easy to obtain according to other gelators. Besides, they provide stable oleogel structure with low addition level, a wide range of melting points, and various firmness and stickiness values (Co and Marangoni, 2012; Hwang et al., 2013). For the reasons mentioned above, many researchers have reported oleogels prepared with different waxes (Dassanayake et al., 2009; Hwang et al., 2012; Patel et al., 2014; Yılmaz and Ögütçü, 2014). The waxes mostly used as gelators in the literature are sunflower, rice bran, candelilla, carnauba, berry, shellac wax, and beeswax (Dassanayake et al., 2009, Hwang et al., 2012; Patel et al., 2014; Yılmaz and Ögütçü, 2014).

Particularly, spreadable margarine or butter is required to have some physical, sensory, and structural features compared to other fats. The most important features that play a key role in consumer preferences are smooth texture, a bright appearance, and spreadability. Furthermore, the melting points of such products are very important for consumer health. Hence, margarine should melt at body temperature to minimize cardiovascular risk (Co and Marangoni, 2012; Hwang and Winkler-Moser, 2020). In the

literature, many studies have reported oleogels as an alternative to butter and margarine prepared with different waxes and vegetable oils (Hwang et al., 2013; Ögütçü and Yılmaz, 2014; Yılmaz and Ögütçü, 2014; Patel et al., 2014; Ögütçü et al., 2015; Yılmaz and Ögütçü, 2015). As a result of these studies, it was determined that the firmness, stickiness, color, polymorphic form, acid and peroxide values of the developed oleogels were similar to those of the commercial ones. On the other hand, the melting point of the developed oleogels was reported to be higher than that of commercial margarine, which stands as the biggest problem in front of the commercialization of oleogels (Hwang et al., 2013; Patel et al., 2014; Yılmaz and Ögütçü, 2014; Ögütçü and Yılmaz, 2014; Ögütçü et al., 2015; Yılmaz and Ögütçü, 2015; Mandu et al., 2020). As is well known, the melting point, saturated fat content, spreadability and stability of oleogels depend on wax addition levels and wax types. In order to lower the melting point, the wax addition level must be reduced; however, this also negatively affects the oil-binding capacity and stability of oleogels (Hwang et al., 2012; Mandu et al., 2020). Therefore, in the literature, stable minimum gel formation concentrations for wax oleogels were determined and higher addition levels were investigated (Hwang et al., 2012; Yılmaz and Ögütçü, 2014). All of the studies mentioned above used various wax types, except wax mixture. Very recent studies by Winkler-Moser et al. (2019 and 2023), Hwang and Winkler-Moser (2020), and Ghazani et al. (2022) reported oleogels prepared with wax blends; however, these studies did not include optimization. Moreover, Wettlaufer et al., (2021) reported characteristics of oleogels prepared with mixture of waxes and their hydrolyzates. Recently, Thakur et al. (2022) reported optimization of processing parameters of soybean oil-carnauba wax oleogels. The aim of this study was to optimize the wax mixture level to be used in the production of sunflower oil oleogels structured with a mixture of beeswax and sunflower wax, exhibiting a spreadability and melting point similar to margarine.

MATERIAL AND METHODS

Materials

The commercial sunflower oil was purchased from the local market in Çanakkale, Türkiye. The beeswax (BW) and sunflower wax (SW) were purchased from KahlWax (Kahl GmbH & Co., Trittau, Germany). All other chemicals used in analysis were purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and Sigma-Aldrich (St. Louis, USA), and all chemicals were of analytical grade.

Preparation of oleogels

For the preparation of the oleogels, a certain amount of the sunflower oil and waxes (w:w) (BW and SW) were weighted into the beher-glass, and

the mixture was heated at 80 °C in water bath. The wax addition level and sample codes are given in Table 1. When the waxes were completely melted, the oil-wax mixture was stirred at 80 °C and 200 rpm for 3 min on the magnetic heating plate (IKA RCT Basic, China). The temperature of the oil-wax mixture was controlled with a digital thermometer during the production process. After this process, the mixture was filled into the falcon tubes and cooled at 25 °C in the refrigerated incubator for 24 hours. At the end of the cooling process, the oleogels were stored at the same temperature, and the planned analyses were performed.

Table 1. Sample codes, variables and CCD matrix for oleogels prepared with sunflower oil, beeswax and sunflower wax blend.

Samples	Treatment		Concentrations		Response Variables			
	BW	SW	BW (%)	SW (%)	T_o (°C)	Melting Point (°C)	Firmness (g force)	Stickiness (g force)
S1	0	0	3	3	31.70	56.02	682.25	824.31
S2	-1	1	1	5	34.07	61.11	743.64	830.71
S3	0	-1.414	3	0.17	31.76	45.67	52.76	68.91
S4	-1	-1	1	1	32.40	51.15	29.66	39.79
S5	1.414	0	5.83	3	31.99	56.56	1291.94	1506.95
S6	0	0	3	3	31.83	53.84	645.84	806.96
S7	1	1	5	5	32.49	59.04	2008.74	2282.14
S8	0	0	3	3	31.53	55.66	664.04	815.64
S9	0	0	3	3	31.06	56.56	651.15	701.10
S10	0	0	3	3	30.41	58.35	700.94	802.05
S11	1	-1	5	1	31.20	50.71	288.10	324.90
S12	0	1.414	3	5.83	32.16	60.86	1625.32	1932.87
S13	-1.414	0	0.17	3	36.29	58.59	247.78	289.62
*OFM	-	-	5.50	0.50	-	48.69	205.16	220.20
*OM	-	-	2.80	0.20	-	46.42	-	-

SW: sunflower wax, BW: beeswax, OFM: oleogels with 5.50%BW and 0.50%SW OM: Oleogels with 2.80%BW and 0.20%SW, T_o : onset temperature.

*The results are predicted values obtained from the multiple response optimization results.

Measurements

The measurements of physicochemical properties

The oil-binding capacity (OBC) was measured by the method described in detail in Yılmaz and Ögütcü (2014). The color values of the prepared oleogels were determined using Precision Colorimeter (NR20XE, Shenzhen 3nh Tech. Co.,

China), and the results were expressed as L, a* and b*.

The measurement of crystal morphology and textural properties

The firmness and stickiness values of the oleogels were measured with a Texture Analyzer (TA-HD Plus, Stable Microsystems, UK) equipped with

spreadability rig (TA 425; TTC). The textural measurements were performed at 25 °C, and the test specifications were as follows: test speed at 3.0 mm/sec, post-test speed at 10 mm/sec and distance of 23.00 mm (Moskowitz, 1987). The data obtained from the texture analyzer were evaluated using an instrument software (Texture Exponent v.6.1.1.0, Stable Microsystems, UK). The X-ray diffraction (XRD) patterns of the oleogels were determined by XRD (Empyrean PANalytical, Netherlands), and the XRD data were evaluated by an instrument software (X'Pert Highscore Plus, Netherlands). For the XRD measurements, the angular scans in the 2.0° to 50° 2-theta range were performed with a scan rate of 2°/min and a Cu source X-ray tube ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$, 45 kV and 40 mA).

The measurement of thermal properties

For the determination of the melting points of the prepared oleogels, differential scanning calorimeter (DSC) were used (Hitachi DSC7020, Japan). For the thermal properties of the oleogels, 5-7 mg gel samples were weighted into aluminum pan (also used as a reference), and the pan was then closed hermetically. Then, the samples were heated from 25 to 90 °C at a heating rate of 5 °C/min under N₂ gas (flow rate at 50 ml/min) for the determination of the onset (T_0) and peak (T_p) temperatures of the oleogel samples. The T_0 and melting temperatures of the samples were calculated with the instrument software (TA7000 Measurement 10.5v, Hitachi High-Tech Science Corp.) from the obtained thermograms. The example of DSC thermograms is given in Figure 1.

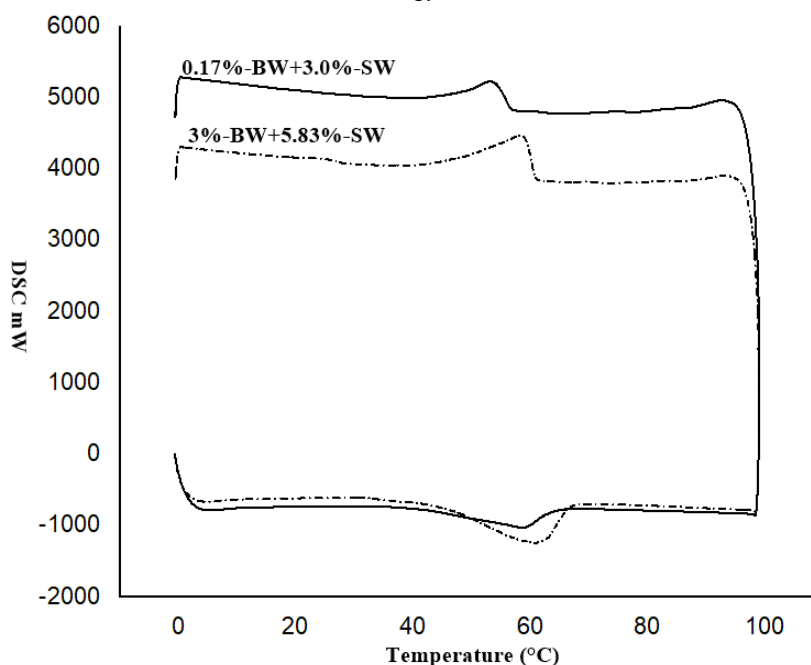


Figure 1. An example of the differential scanning calorimeter thermograms of the oleogels prepared with sunflower and beeswax mixtures.

Statistical Analysis

For the determination of the effects of the independent variables on the physicochemical, thermal and textural properties of the oleogels, the Response Surface Methodology (RSM) was used. A Central Composite Design (CCD) was applied, and the CCD matrix is given in Table 1. Each treatment code was repeated two times. The

obtained data were analyzed with the Minitab 17 (17.1.0, 2013) software for surface plots and for the determination of the optimal concentrations. The second-order model, which was used for the description of the effects of the wax type and addition level on the response, is given as follows;

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1, j=2}^{k-1, k} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

where X_i and X_j are the independent variables affecting the response variable (Y), β_i and β_{ii} , β_{ij} are the coefficients of the linear effect and double interactions, β_0 is the intercept, and ε is the error.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical properties

Recent studies showed that oleogel structuring conditions such as gelator concentrations, types, shear and cooling rate etc. greatly affect the textural properties of oleogels (Blake and Marangoni, 2015a; Blake and Marangoni, 2015b; Thakur et al., 2022). Therefore, in order to determine and observe the effect of wax types and concentrations on oleogel properties, the oleogels used in the study were produced at both constant temperature and constant mixing and constant cooling rate. One of the most important problems with oil-based foods is that oil release negatively affects consumer preferences, which can reduce the reputation of manufacturers and cause economic losses (Öğütçü et al., 2017). Oil release and phase separation depend on the structural stability of the system, and as is well known, oil-binding capacity is one of the important indicators of the gel stability (Ghazani et al., 2022). High gel stability also means preventing oil release from gel structure or restricting of oil leakage (Ghazani et al., 2022). All of OBC values of the gels were higher than >98% (Table 2). There were no statistically significant differences between the oleogel samples in terms of OBC values ($p \geq 0.05$). Therefore, the effects of the waxes on the OBC values were not meaningful, according to these results. However, previous studies reported that SW-gels had lower crystal formation time and minimum gelling concentrations than BW-gels (Hwang et al., 2012; Yılmaz and Öğütçü, 2014). Waxes form structurally stable oleogels at minimum gel forming concentration and/or higher addition levels. Therefore, the SW-gels had higher OBC than the BW-gels at 3% addition level or less, as expected. In this regard, even the addition of SW at low concentrations increased the stability of the BW-based gels. Both the literature findings and

our results showed that SW was more effective at restricting oil leakage. Recent research reported that oleogels with a mixture of SW and BW (1:1, 1:3 and 3:1) had higher oil binding capacity than pure ones (Ghazani et al., 2022). The most influential factor in consumer purchasing preferences is mostly appearance and color for food products (Öğütçü et al., 2015; Yılmaz and Öğütçü, 2015). The color values (L , a^* and b^*) of the oleogels were affected by wax type and addition level (Table 2). The color values of the oleogels showed that the L and b^* values of the oleogels increased with an increase in the total wax addition level. Similar results were reported that olive oil oleogels prepared with BW and SW (Yılmaz and Öğütçü, 2014). Additionally, it is possible to produce oleogels of various colors, not only with different waxes, but also by varying the level of the wax added to wax mixtures.

Crystal morphology and textural properties

Polymorphism is defined as fats having different structural forms depending on their thermal history. Polymorphic forms affect the structural stability, texture and sensory properties of products as well as consumer perception. There are three main forms named α , β and β' . The stability of polymorphic forms decreases in the order $\beta > \beta' > \alpha$. In addition, especially from these polymorphic forms, the β' polymorphic form is demanded in spreadable products or similar products, as it provides a desired, smooth and mouth-melting structure (Lawler and Dimick, 2008; Mandu et al., 2020). The α and β polymorphic forms are characterized by XRD pattern peaks around 4.10 and 4.50 Å, respectively, while the β' form has a peak around 4.10 and 3.70 Å (Dassanayake et al., 2009; Le Reverend et al., 2010). The XRD patterns of oleogel samples are given in Table 3. According to the XRD patterns, all of the samples had peaks around 3.70 and 4.10 Å that showed the presence of the β' polymorphic form. As a result, the oleogels were prepared with BW and SW mixtures had the desired smooth and stable structure like margarine and table spreads. On the other hand, the peak intensity increased with the increasing wax addition level. It was determined that the added SW level was more decisive on gel stability,

especially when less than 5% BW was used as the gel agent. Previously studies reported similar results about the crystal structure of wax oleogels (Yılmaz and Ögütçü, 2014; Ögütçü et al., 2015;

Mandu et al., 2020; Ghazani et al., 2022). The XRD patterns indicated that oleogels prepared with waxes have a margarine-like texture preferred and desired by consumer.

Table 2. Oil-binding capacity and colour values of the oleogels prepared with sunflower oil, beeswax and sunflower wax blends.

Samples	OBC (%)	L	a*	b*
S1	100±0.01	53.88±0.04 ^{e*}	-1.98±0.01 ^b	6.13±0.01 ^d
S2	99.98±0.01	57.79±0.01 ^d	-1.96±0.01 ^b	6.02±0.01 ^e
S3	99.97±0.01	32.74±0.01 ^h	-1.21±0.01 ^{ab}	4.13±0.01 ⁱ
S4	99.41±0.51	24.28±0.04 ^j	-0.55±0.01 ^a	5.15±0.03 ^g
S5	99.97±0.01	58.93±0.03 ^c	-1.65±0.01 ^{ab}	6.24±0.01 ^c
S6	100±0.01	53.88±0.04 ^e	-1.98±0.01 ^b	6.13±0.01 ^d
S7	99.98±0.01	63.58±0.01 ^b	-1.79±0.01 ^b	6.85±0.01 ^a
S8	100±0.01	53.88±0.04 ^e	-1.98±0.01 ^b	6.13±0.01 ^d
S9	100±0.01	53.88±0.04 ^e	-1.98±0.01 ^b	6.13±0.01 ^d
S10	100±0.01	53.88±0.04 ^e	-1.98±0.01 ^b	6.13±0.01 ^d
S11	99.99±0.01	48.43±0.03 ^f	-1.90±0.01 ^b	5.35±0.02 ^f
S12	99.96±0.02	63.87±0.04 ^a	-1.94±0.04 ^b	6.52±0.01 ^b
S13	99.78±0.27	43.17±0.01 ^g	-1.61±0.01 ^{ab}	4.27±0.01 ^h

OBC: oil-binding capacity.

*The small letters show the differences among the samples in the same column ($p \leq 0.05$).

Table 3. The XRD patterns of the oleogels prepared with sunflower oil, beeswax and sunflower wax blends.

Samples	2-theta	d-spacing (Å)
S1	2.75, 3.90, 19.43, 21.35, 21.47, 23.75, 40.21	32.10, 22.62, 4.56, 4.16, 4.13, 3.74, 2.24
S2	2.01, 4.00, 19.27, 21.50, 23.87, 46.85	43.77, 22.07, 4.60, 4.13, 3.72, 1.93
S3	4.77, 17.81, 18.62, 19.33, 21.36, 23.73	18.51, 4.98, 4.76, 4.58, 4.15, 3.74
S4	4.77, 18.74, 21.14, 23.54	18.50, 4.73, 4.20, 3.77
S5	3.90, 19.32, 21.42, 23.81, 35.94, 40.31	22.62, 4.58, 4.14, 3.73, 2.49, 2.23
S6	2.75, 3.90, 19.43, 21.35, 21.47, 23.75, 40.21	32.10, 22.62, 4.56, 4.16, 4.13, 3.74, 2.24
S7	3.88, 19.43, 21.48, 23.77, 40.22	22.75, 4.56, 4.13, 3.74, 2.24
S8	2.75, 3.90, 19.43, 21.35, 21.47, 23.75, 40.21	32.10, 22.62, 4.56, 4.16, 4.13, 3.74, 2.24
S9	2.75, 3.90, 19.43, 21.35, 21.47, 23.75, 40.21	32.10, 22.62, 4.56, 4.16, 4.13, 3.74, 2.24
S10	2.75, 3.90, 19.43, 21.35, 21.47, 23.75, 40.21	32.10, 22.62, 4.56, 4.16, 4.13, 3.74, 2.24
S11	19.32, 21.40, 23.79,	4.58, 4.15, 3.73,
S12	2.63, 3.84, 19.09, 19.70, 21.47, 23.79, 36.02	33.55, 22.96, 4.64, 4.50, 4.13, 3.73, 2.49
S13	3.94, 19.06, 19.72, 21.40, 23.77, 40.11	22.40, 4.65, 4.50, 4.15, 3.74, 2.24

As well as the color and crystal structures of foods, their textural properties are one of the most important parameters that affect consumer perception, preferences and purchasing decisions (Yılmaz and Ögütçü, 2015). Spreadability is one of the most important quality criteria among textural parameters in margarine and other table-spreads. Spreadability is defined as the degree to which the sample is homogeneously dispersed on a surface (Moskowitz, 1987; Yılmaz and Ögütçü, 2015). However, it is difficult to measure instrumentally; therefore, samples with medium firmness and stickiness are considered to be more spreadable (Yılmaz and Ögütçü, 2015). For the determination of the optimum concentration and effect of wax type on the thermal and textural properties (firmness and stickiness) of the sunflower oil oleogels, the RSM plots were created and are given in Figures 2a and 2b. Additionally, the Analysis of Variance (ANOVA) results for the textural properties are shown in Table 4. The results clearly indicated that the wax type and wax concentration significantly affected the firmness and stickiness values of the oleogels (Table 4). According to the ANOVA results, the quadratic coefficient, linear coefficient and interaction coefficient were significantly effective on both firmness and stickiness values. The R^2 and the adjusted- R^2 indicated the suitability and accuracy level of the model; hence, the R^2 and adjusted R^2 should not only have high values, but also be close to each other. The R^2 and adjusted- R^2 of the firmness were 99.65 and 98.40%, while the stickiness was 99.55 and 99.24%, respectively. The results demonstrated that more than 98% of the variable variance depended on wax concentrations. The firmness values of the oleogels ranged from 29.66–2008.74 g force (0.30 – 19.70 N). The oleogels prepared with 1%BW and 1%SW had lower firmness values, while the oleogels prepared with 5%BW and 5%SW had higher firmness values, as expected. The textural measurements showed that both the total wax addition level and wax types were effective on the firmness and stickiness values of the oleogels. Similar to our findings, Ghazani et al. (2022) reported that hardness of gels increased with an increase in total wax addition level and depended on the wax types used in wax mixtures. There was

a close positive correlation between the firmness and stickiness values of the gels. Hence, similar results were also observed for the stickiness values. The surface plots showed that the firmness and stickiness values of the oleogels increased with increasing wax concentration, and that, particularly, the SW level was more effective than the BW addition level on the oleogel textures (Figures 2a, 2b). For oleogels formed with plain BW, the minimum gel formation concentration should be 5% and above, not only for the stability of the gel but also for the high OBC value. However, the melting curve in DSC thermograms was reported to correlate with solid fat content (SFC) (Tengku-Rozaina and Birch, 2015). Accordingly, when the wax concentration increases, the SFC and melting temperature of the samples increase (Figure 1). Moreover, when a mixture of BW and SW is used as a gel agent, the SFC value decreases, and the production cost is reduced. At the same time, this means a healthier product. The above-mentioned results showed that using a mixture of BW and SW reduced the total wax concentration for stable oleogel formation, resulting in more economical, stable, healthier products than the oleogels formed using BW or SW alone.

Thermal properties

The melting point of such food products is an important parameter in terms of health as well as consumer preferences and perceptions. Generally, the melting point of the spreadable-breakfast margarine is 36 °C, the same as human body temperature as well as it has moderate firmness and stickiness values (Ögütçü and Yılmaz, 2014). The T_0 temperature of the oleogels prepared with BW and SW blends ranged from 30.41 to 36.29 °C. In addition, the melting points of the prepared oleogels ranged from 45.67°C (0.17%SW:3%BW) to 61.11 °C (5%SW: 1%BW). Similar results were reported by Dassanayake et al. (2009), Hwang et al. (2012), Ögütçü and Yılmaz (2014) and Ögütçü and Yılmaz (2015). The thermal results indicated that the oleogels prepared with wax mixture allowed gel formation in the desired melting range (Table 1). The RSM plots of T_0 temperature and melting point of the SW: BW mixture oleogels are given in Figures 2c

and 2d, and the ANOVA results are shown in Table 4. The ANOVA results showed that the linear and quadratic coefficients were statistically significant, while the two-way interaction model coefficients were not. The R^2 and the adjusted R^2 were 94.92 and 91.29%, respectively. The results showed that the total wax addition level, and the type of the wax and its concentration in the mixture had an effect on the melting point of the oleogel, as well as the textural properties. As with the firmness and stickiness values of the oleogels, the surface plots of the melting point demonstrated that the SW was more effective than the BW on the melting point of the mixed oleogels. In other words, when the SW levels increased in the wax mixtures, the melting range of the oleogels increased. Similarly, Winkler-Moser et al. (2019) indicated that SW dominated oleogel formation when used with wax mixtures. A recent study indicated that the melting point of oleogels prepared with wax mixtures (sunflower wax, candelilla wax, and beeswax) not only depended on the total wax addition level but also on the wax types and concentrations in the mixture (Winkler-Moser et al., 2023). The results were optimized considering firmness and melting point of commercial margarines currently on the

market. Figure 3 shows the optimum concentration of SW and BW to achieve the targeted result of firmness and stickiness to minimize the melting point. In terms of multiple optimization results, the firmness, stickiness and melting peak values of the oleogels (OFM) prepared with 0.50%SW and 5.50%BW were 205.16, 220.20 g-force and 48.69 °C, respectively ($d=0.8829$). The minimum melting point was 46.42 °C according to the optimization results ($d=0.9512$), independent of the firmness and stickiness values of the oleogels (OM) prepared with 0.20%SW and 2.80%BW (Table 1 and Figure 4). These results clearly demonstrated that the oleogels produced with SW and BW wax mixtures could be prepared with different firmness, stickiness and melting range values for their intended usage. Similar to our findings, Hwang and Winkler-Moser (2020) reported that by mixing candelilla (CW) and BW, the firmness of oleogel-based samples could be increased while their melting point could be tailored by the addition level of two waxes. Additionally, Wetlaufer et al. (2021) reported that molecular fractions of the waxes were effective on the thermal and textural properties of the oleogels.

Table 4. The ANOVA and regression results of textural features of the oleogels.

	Firmness	<i>p</i> -value	Stickiness	<i>p</i> -value	T_o (°C)	<i>p</i> -value	Melting Point	<i>p</i> -value
Intercept	75.50		57.40		35.44		47.32	
Model		0.001		0.001		0.008		0.001
Linear		0.001		0.001		0.009		0.001
BW	-70.70	0.001	-53.80	0.001	-2.42	0.004	-1.78	0.187
SW	-18.90	0.001	-10.30	0.001	-0.008	0.141	4.87	0.001
Square		0.004		0.017		0.008		0.032
BW*BW	11.57	0.031	8.53	0.173	0.32	0.003	0.19	0.165
SW*SW	20.21	0.002	21.34	0.007	0.05	0.504	-0.35	0.026
Interaction		0.001		0.001		0.807		0.551
BW*SW	32.92	0.001	72.89	0.001	-0.024	0.807	-0.10	0.551
Lack of fit		0.262		0.272		0.192		0.916
R^2	99.65		99.55		85.37		94.92	
Adj- R^2	98.40		99.24		74.93		91.29	

SW: sunflower wax, BW: beeswax, Adj; adjusted.

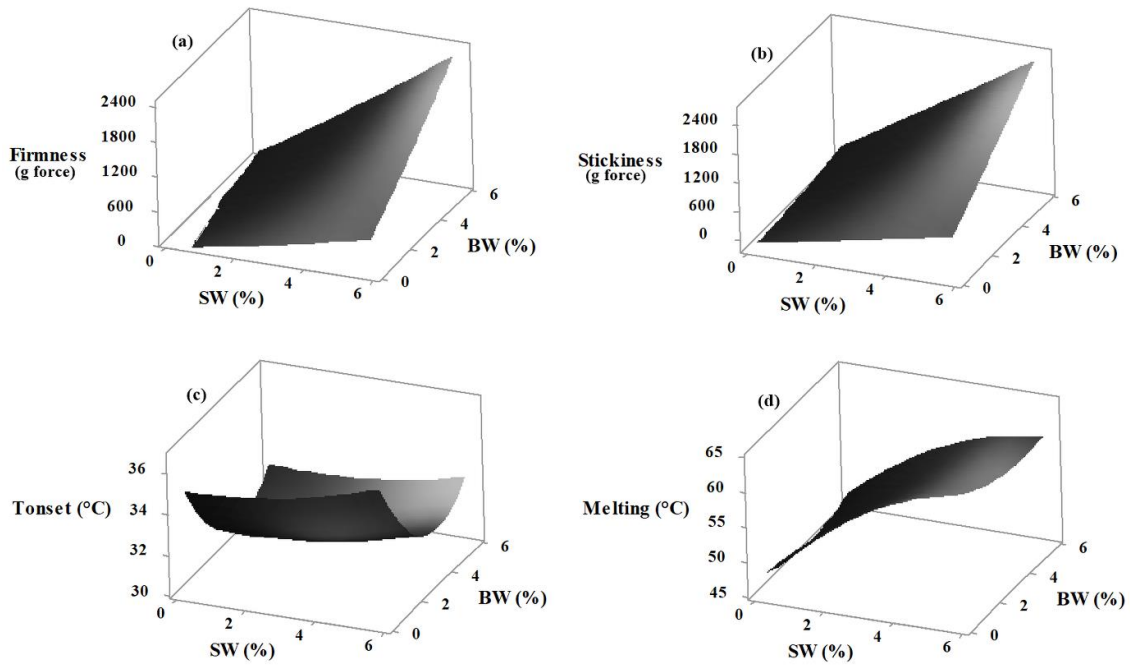


Figure 2. Effect of concentration of sunflower wax and beeswax on (a) firmness, (b) stickiness, and (c) tonset and (d) melting point values of the oleogels. SW: sunflower wax, BW: beeswax.

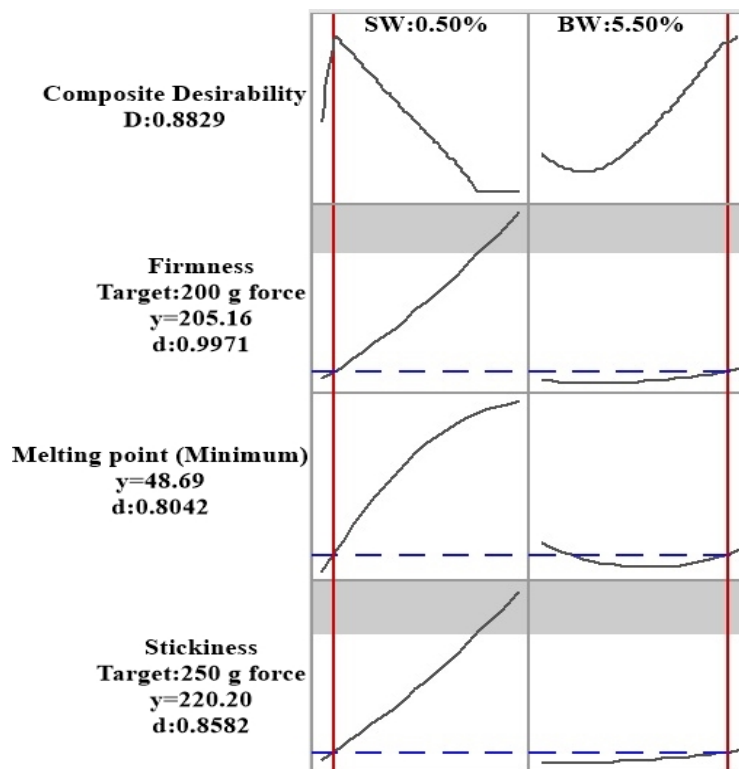


Figure 3. Multiple response optimization of oleogels prepared with sunflower oil, beeswax, and sunflower wax blends. d; desirability, y; predicted value. SW: sunflower wax, BW: beeswax.

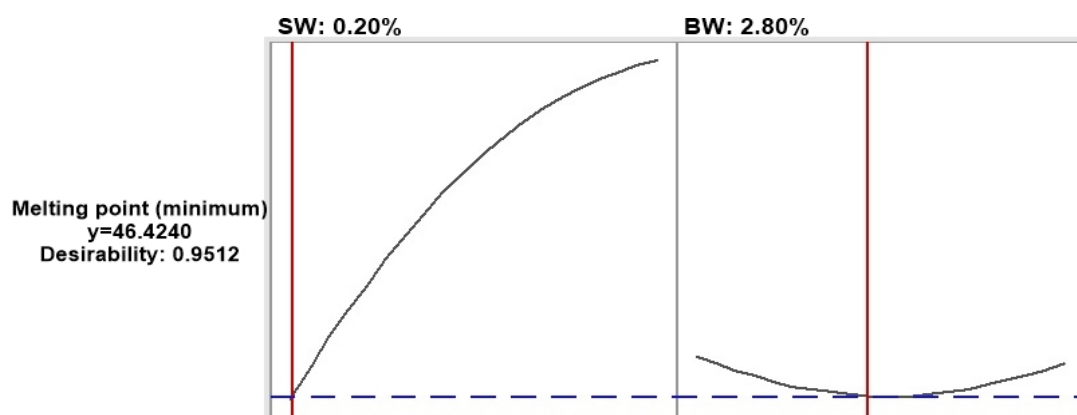


Figure 4. Response optimization of the minimized melting point of the oleogels prepared with sunflower oil, beeswax and sunflower wax blends. d; desirability, y; predicted value. SW: sunflower wax, BW: beeswax.

CONCLUSION

In this study, all oleogels, which were formed with beeswax and sunflower wax mixtures, had stable structures. According to the obtained XRD measurements, it was determined that all gel samples had the β' polymorphic structure. Again, it was observed that the melting ranges for all oleogels were 45.67–61.11 °C and that the firmness values changed between 0.30 and 19.70 N. In general, it was observed that the sunflower wax was more effective on the melting point and firmness values of the oleogels than the beeswax. As it is known, waxes have various melting points and purities depending on the sources obtained. Therefore, the addition levels of the waxes could be varied depending on the wax types and the structure and stability of the oleogels desired to be formed. When using low melting point waxes as gelators, it is necessary to increase the addition level of the wax for stable gel formation. In this case, the solid fat content and melting point of the oleogels increased. One of the remarkable results of this study is that by using a wax mixture instead of wax, a structurally stable gel with a lower melting point was formed at a lower wax addition level.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares no conflicts of interest.

CONTRIBUTIONS

M. Ögütçü is responsible for the study and design of the work, data analysis and interpretation of

results. E. Albayrak and E. S. Karabayır are responsible for carrying out the planned analysis and collecting data.

REFERENCES

- Blake, A.I., Marangoni, A.G. (2015a). The use of cooling rate to engineer the microstructure and oil binding capacity of wax crystal networks. *Food Biophysics* 10: 456-465, doi: 10.1007/s11483-015-9409-0.
- Blake, A.I., Marangoni, A.G. (2015b). The effect of shear on the microstructure and oil binding capacity of wax crystal networks. *Food biophysics* 10: 403-415, doi: 10.1007/s11483-015-9398-z.
- Co, E.D., Marangoni, A.G. (2012). Organogels: An alternative edible oil-structuring method. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89: 749-780, doi: 10.1007/s11746-012-2049-3.
- Dassanayake, L.S.K., Kodali, D.R., Ueno, S., Sato, K. (2009). Physical properties of rice bran wax in bulk and organogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 86: 1163-1173, doi: 10.1007/s11746-009-1464-6.
- Ghazani, S.M., Dobson, S., Marangoni, A.G. (2022). Hardness, plasticity, and oil binding capacity of binary mixtures of natural waxes in olive oil. *Current Research in Food Science* 5: 998-1008, doi: 10.1016/j.crfs.2022.06.002.
- Hwang, H.S., Kim, S., Singh, M., Winkler-Moser, J.K., Liu, S.X. (2012). Organogel formation of

- soybean oil with waxes. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89(4): 639-647, doi: 10.1007/s11746-011-1953-2.
- Hwang, H.S., Singh, M., Bakota, E.L., Winkler-Moser, J.K., Kim, S., Liu, S.X. (2013). Margarine from organogels of plant wax and soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90: 1705-1712, doi: 10.1007/s11746-013-2315-z.
- Hwang, H.S., Winkler-Moser, J.K. (2020). Properties of margarines prepared from soybean oil oleogels with mixtures of candelilla wax and beeswax. *Journal of Food Science* 85(10): 3293-3302, doi:10.1111/1750-3841.15444.
- Lawler, P.J., Dimick, P.S. (2008). Crystallization and polymorphism of fats. In: *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*, Casimir C. Akoh, David B. Min (eds.), volume 3, CRC Press, Boca Raton, pp. 245-263.
- Le Reverend, B. J., Fryer, P. J., Coles, S., Bakalis, S. (2010). A method to qualify and quantify the crystalline state of cocoa butter in industrial chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 87: 239-246, doi: 10.1007/s11746-009-1498-9.
- Mandu, C., Barrera-Arellano, D., Santana, M., Fernandes, G. (2020). Waxes used as structuring agents for food organogels: A Review. *Grasas y Aceites* 71(1): e344-e344, doi: 10.3989/gya.1169182.
- Moskowitz, H.R. (ed.), (1987). Food texture: Instrumental and sensory measurement. M. Dekker, USA, 335 s. ISBN:08-247-75856.
- Öğütçü, M., Yılmaz, E. (2014). Oleogels of virgin olive oil with carnauba wax and monoglyceride as spreadable products. *Grasas y Aceites* 65(3): e040-e040, doi: 10.3989/gya.0349141.
- Öğütçü, M., Yılmaz, E., Güneşer, O. (2015). Influence of storage on physicochemical and volatile features of enriched and aromatized wax organogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 92(10): 1429-1443, doi: 10.1007/s11746-015-2719-z.
- Öğütçü, M., Arifoğlu, N., Yılmaz, E. (2017). Restriction of oil migration in tahini halva via organogelation. *European Journal of Lipid Science and Technology* 119(9): 1600189, doi: 10.1002/ejlt.201600189.
- Öğütçü, M., Yılmaz, E. (2015). Characterization of hazelnut oil oleogels prepared with sunflower and carnauba waxes. *International Journal of Food Properties* 18(8): 1741-1755, doi: 10.1080/10942912.2014.933352.
- Patel, A.R., Rajarethinem, P.S., Grędowska, A., Turhan, O., Lesaffer, A., De Vos, W.H., Van de Walle, D., Dewettinck, K. (2014). Edible applications of shellac oleogels: spreads, chocolate paste and cakes. *Food & function* 5(4): 645-652, doi: 10.1039/C4FO00034J.
- Tengku-Rozaina, T.M., Birch, E.J. (2015). Effects of fractionation on melting and crystallisation profiles of hoki oil measured by DSC. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 120: 395-402, doi:10.1007/s10973-014-3995-9.
- Thakur, D., Singh, A., Prabhakar, P.K., Meghwal, M., Upadhyay, A. (2022). Optimization and characterization of soybean oil-carnauba wax oleogel. *LWT* 157: 113108, doi: 10.1016/j.lwt.2022.113108.
- Yılmaz, E., Öğütçü, M. (2014). Comparative analysis of olive oil organogels containing beeswax and sunflower wax with breakfast margarine. *Journal of food science* 79(9): E1732-E1738, doi: 10.1111/1750-3841.12561.
- Yılmaz, E., Öğütçü, M. (2015). Oleogels as spreadable fat and butter alternatives: Sensory description and consumer perception. *RSC Advances* 5(62): 50259-50267, doi: 10.1039/C5RA06689A.
- Wettlaufer, T., Hetzer, B., Flöter, E. (2021). Characterization of Oleogels based on waxes and their hydrolyzates. *European Journal of Lipid Science and Technology* 123(7): 2000345, doi: 10.1002/ejlt.202000345.
- Winkler-Moser, J.K., Anderson, J., Felker, F.C., Hwang, H.S. (2019). Physical properties of beeswax, sunflower wax, and candelilla wax mixtures and oleogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 96(10): 1125-1142, doi: 10.1002/aocs.12280

Winkler-Moser, J.K., Hwang, H.S., Felker, F.C., Byars, J.A., Peterson, S.C. (2023). Increasing the firmness of wax-based oleogels using ternary mixtures of sunflower wax with beeswax: candelilla wax combinations. *Journal of the American*

Oil Chemists' Society 100(5): 387-402, doi:10.1002/aocs.12679

HASS AVOCADO LEAVES: OPTIMIZATION OF MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION PARAMETERS, PHENOLIC COMPOUNDS, ANTIOXIDANT, AND ANTIDIABETIC ACTIVITIES

Nevriye Kurt, Ebru Aydın*, Gulcan Ozkan

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Suleyman Demirel University, Isparta, Turkey

Received /Geliş: 05.06.2023; Accepted / Kabul: 09.08.2023; Published online / Online baskı: 15.08.2023

Kurt, N., Aydın, E., Özkan, G. (2023). Hass avocado leaves: Optimization of microwave-assisted extraction parameters, phenolic compounds, antioxidant, and antidiabetic activities. GIDA (2023) 48 (5) 913-923 doi: 10.15237/gida.GD23067

Kurt, N., Aydın, E., Ozkan, G. (2023). Hass avokado yaprağı: Mikrodalga destekli ekstraksiyon parametreleri, fenolik bileşikler, antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerin optimizasyonu. GIDA (2023) 48 (5) 913-923 doi: 10.15237/gida.GD23067

ABSTRACT

Avocado leaves, typically considered as pruning residues, possess a significant amount of bioactive compounds. This research aimed to optimize the extraction of phenolic compounds from Hass avocado leaves using microwave-assisted extraction (MAE) and response surface method (RSM). The extraction yield and total phenolic content (TPC) were maximized by determining the optimal process conditions, which were found to be 47°C for 5 minutes and a solid/solvent ratio of 1.13 g dry leaf/100 mL, respectively. The predicted values of all models were found to be statistically significant ($p < 0.001$). The aqueous extracts' antidiabetic and antioxidant activities were 64.59% and 235.6 mg TE/100 g, respectively. The amount of TPC was 591.76 µg GAE/g extract, and chlorogenic acid was the main phenolic component. These results indicated that MAE proved efficient with low energy consumption, yielding phenolic-rich avocado leaf extracts, which possess high antioxidant and antidiabetic activities.

Keywords: Avocado (*Persea americana* Mill.), microwave-assisted extraction response surface method (RSM), antidiabetic, pruning wastes

HASS AVOKADO YAPRAĞI: MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON PARAMETRELERİ, FENOLİK BİLEŞİKLER, ANTİOKSİDAN VE ANTİDİYABETİK AKTİVİTELERİN OPTİMİZASYONU

ÖZ

Budama atığı olan avokadonun yaprakları biyoaktif bileşenler bakımından zengindir. Bu çalışmanın amacı, Hass çeşidi avokado yapraklarından fenolik bileşiklerin mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) ile ekstraksiyon parametrelerini yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile optimize etmektir. Ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı (TPC) için optimum proses koşulları sırasıyla 47°C'de 5 dakika ve 1.13 g kuru yaprak/100 mL olarak belirlenmiştir. Tüm modellerin tahmin edilen değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Sulu ekstraktların antidiyabetik ve

* Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: ebruaydin@sdu.edu.tr

☎: (+90) 530 099 4462

☎: (+90) 246 237 0859

Nevriye Kurt; ORCID no: 0000-0003-3426-9254

Ebru Aydın; ORCID no: 0000-0002-5625-040X

Gulcan Ozkan; ORCID no: 0000-0002-3333-7537

antioksidan aktiviteleri sırasıyla % 64.59 ve 235.6 mg TE/100g olarak belirlenmiştir. TPC miktarı 591.76 µg GAE/g ekstrakt olup ana fenolik bileşen klorojenik asittir. Bu sonuçlar, MAE'nin düşük enerji tüketimi ile yüksek antioksidan ve antidiyabetik aktivitelere sahip fenolik bakımından zengin avokado yaprağı ekstreleri vererek etkili olduğunu kanıtladı.

Anahtar kelimeler: Avokado (*Persea americana* Mill.), mikrodalga destekli ekstraksiyon, yanıt yüzey yöntemi (RSM), antidiyabetik, budama atığı

INTRODUCTION

Persea americana Mill., commonly known as avocado, is a plant in the family Lauraceae. The main avocado-growing countries are Mexico, Chile, USA, Australia, South Africa, Peru, Indonesia, and Israel (FAOSTAT, 2021). Fuerte, Bacon, Zuatona, and Hass varieties are widely grown in our country. Antalya (69.5%) and Mersin (29.2%) are among the most important provinces in the cultivation area. About 80% of Antalya's total production comes from the districts of Alanya and Gazipaşa (TUIK, 2015).

In addition to the consumption of avocado fruits as a food, it has been historically employed for their antioxidant, anticancer, antibacterial, and cardiovascular protective effects (Hughes et al., 2009; Noorul et al., 2016; Owolabi et al., 2010; Rodriguez-Mateos et al., 2014; Unsal Pinar et al., 2019). Avocado leaves, which are pruned waste, have high phenolic content such as p-hydroxybenzoic acid, gallic acid, catechin, p-coumaric acid, chlorogenic acid, rutin, caffeic acid, epicatechin, syringic acid, and quercetin (Castro-López et al., 2019; Gümüştepe et al., 2022) and *in vitro* antioxidant, antidiabetic, and anticancer activities as well as their effects on cardiovascular diseases (Castro-López et al., 2019; Gümüştepe et al., 2022)

Extraction technology of bioactive constituents is a growing field day by day and today the demand to use new extraction techniques is increasing due to some disadvantages of traditional extraction methods (Sahena et al., 2009). The main advantages of the new advanced extraction technology are compatible with automation, high extraction efficiency, minimizing energy and solvent consumption, reduce extraction time, and eco-friendly technology (Sparr Eskilsson and Björklund, 2000; Xing et al., 2017).

MAE is an innovative extraction technique that combines microwave extraction and conventional solvents (Delazar et al., 2012). By rapidly heating the mixture of sample and solvent, MAE enables extraction to be performed at the ideal temperature efficiently. In most cases, the reproducibility and recovery of the compound are high compared to conventional techniques (Sparr Eskilsson and Björklund, 2000). It has several advantages such as shorter extraction time, less solvent, high extraction rate, and low cost. Due to technological advancements, MAE has emerged as a widely adopted and economically viable technique for extraction purposes (Delazar et al., 2012).

RSM is a statistical method extensively used in food processes and mainly in extraction, process variables, and their optimization. The central composite design (CCD) is an effective tool for process optimization (Guaracho et al., 2009) and is one of the most widely used experimental designs in engineering-related studies (Radojković et al., 2013).

The extraction of phenolic compounds is carried out using different solvents and methods. In the literature, there have been a number of studies using the ultrasonic extraction method of avocado leaves and using alcohol, ethanol: water, and aqueous solvents (Che-Galicia et al., 2020; Hefzallahman et al., 2022; Monzón et al., 2021; Salar Bashi et al., 2011). However, there has been no study of microwave-assisted extraction (MAE) in avocado leaves.

Globally, the number of individuals with diabetes was 451 million in 2017, and it is expected to increase to 693 million by 2045 (Nam Han Cho., 2017). The impact of diabetes is significant, with 1.5 million adult deaths annually attributed to the disease, along with 2.2 million deaths related to hyperglycemia-related conditions (WHO, 2016).

Given these statistics, there is a growing interest in alternative and natural treatment approaches for diabetes management, driven by concerns over the rising costs of conventional treatments and their associated side effects.

Based on the above information, the objective of the study was to optimize the process conditions for microwave-assisted water extraction of phenolic compounds from Hass avocado leaves by RSM. In addition, it aimed to determine the bifunctional properties (antioxidant and antidiabetic activity) and some bioactive components of the extract.

MATERIAL AND METHODS

Material

Avocado Hass variety leaves were collected from the Gazipaşa district of Antalya at the time of pruning of the tree. They were brought to the laboratory on the day of collection, cleaned, and dried. Before and after drying, 5 grams of the leaves were placed in a rapid moisture analyzer (Radwag, Poland) and their moisture (%) content was calculated. Washed and dried avocado leaves were dried at 70°C by adjusting the temperature in the Mikrotest brand thermostat (TT107) drying oven (Turkey). The moisture content of the samples was reduced from 48.22% to 6.60% after drying. Before extraction, dried avocado leaves were shredded with a laboratory grinder (Waring Commercial Laboratory Blender, USA). The

ground samples were passed through a 0.5 mm sieve (Kocintok, Turkey) and were vacuum packed in polyethylene/polyamide bags and stored at -18°C until extraction.

Methods

Extraction of avocado leaves

MAE, which is a modern extraction technique and the principle of MAE is based on the polarization of polar water molecules in food by the electric field whereas this vibration of molecules occurs heat which then increases extraction efficiency and decreases extraction time (Gumustepe et al., 2023). In this study, water, a solvent that is environmentally friendly and safe for human health was utilized to extract phenolic compounds.

Optimization of microwave-assisted water extraction process conditions

RSM was chosen for the optimization of phenolic-rich MAE aqueous extract (Millipore, Italy) from dried and ground leaves, and CCD was preferred for the experimental design. The minimum and maximum factor levels of temperature (°C) and solid/solvent ratio (g/100 mL) from the independent variables are in Table 1 and the results of the central composite design of 13 different applications including 2 central points for microwave-assisted water extraction of Hass avocado leaf are given in Table 2.

Table 1. Coded and uncoded factor levels of independent variables

Independent variables	Factor levels		
	-1	0	1
X ₁ : Temperature (°C)	30	45	60
X ₂ : Solid/Solvent ratio (g/100mL)	1	4.25	7.5

Experimental data were analyzed using the Minitab statistical program (Minitab 20.0). Model fit, regression tests, R², and adjusted R² values were considered. The response surfaces and designs of the model were determined according to the second-order quadratic equation. As a response, the yield of the extracts and the total phenolic content were used.

Extraction yield and TPC

Extracts of avocado leaves obtained by microwave-assisted water extraction using CCD were filtered and centrifuged to remove supernatant (2-6, Sigma, Germany). A sample of 10 mL was taken from the filtrate and dried in an oven at 105 °C until constant weight. After drying, they were weighed, and the extraction

yield was calculated as % (g extract/100 g sample). Analyzes were performed in two replications.

Table 2. Central Composite Design used for RSM

Run ^a	Temperature(°C)	Solid/Solvent ratio (g/100mL)
1	45	7.5
2	45	4.25
3	45	4.25
4	34	1.95
5	45	1.95
6	56	1.95
7	30	4.25
8	60	4.25
9	45	4.25
10	34	6.55
11	45	4.25
12	45	4.25
13	56	6.55

^aRandomized

After centrifuging the samples obtained by microwave-assisted water extraction from avocado leaves using CCD, TPC amounts of the samples were determined using the Folin & Ciocalteu method (Ainsworth and Gillespie, 2007). 0.4 mL of phenolic extracts were taken and pipetted into a tube. Then, 2 mL of 10-fold diluted Folin & Ciocalteu reagent was added and mixed by vortex (Darmstadt, Germany). Then, 1.6 mL of 7.5% Na₂CO₃ (sodium carbonate) solution was added and mixed with vortex again. After the mixture was left in the dark for one hour, the absorbance values of the solution were measured against the blank solution with a UV/VIS spectrophotometer (T70, PG Instruments, UK) at a wavelength of 765 nm. Results were calculated using the gallic acid calibration curve. Analyzes were performed in triplicate.

DPPH free radical scavenging activity

After centrifuging the samples obtained by microwave-assisted water extraction from avocado leaves using CCD, the antioxidant effect of the samples was determined using the DPPH free radical scavenging activity assay developed by Dorman and colleagues (2003). 50 µL of the phenolic extract was taken, and pipetted into a

tube, 450 µL of Tris-HCl buffer (50 mM, pH: 7.4) was added and mixed by vortex. Then, 1.00 mL of DPPH (0.10 mM, in methanol) solution was added to the mixtures, vortexed, and left in a dark environment at room temperature for 30 minutes. At the end of the reaction time, the absorbance of the solution was read in the spectrophotometer at 517 nm. Pure water was used instead of phenolic extract as a control. The DPPH activities of the extracts prepared at different concentrations were calculated using the formula given below (Equation 1):

$$\% \text{ Inhibition (DPPH)} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{Control}} - \text{Abs}_{\text{Sample}}}{\text{Abs}_{\text{Control}}} \right] * 100 \quad (1)$$

Here Abs_{Control} and Abs_{Sample} represent absorbance readings for the control and sample, respectively. The results were calculated by using the calibration curve (R²=0.9973) of the absorbance values obtained at 517 nm in the spectrophotometer of the solutions at different concentrations prepared with the Trolox[®] (99.87%) standard (Sigma, Germany) and given as mg TE/100 g extract.

Phenolic composition

The samples with the highest yield and TPC of avocado leaf extracts obtained by microwave-assisted water extraction were filtered, centrifuged, and the filtrates were placed in 2 mL Eppendorf. Then, these extracts were analyzed in the high-performance liquid chromatography (HPLC) device and diode array detector (DAD) (Shimadzu, Japan). Reversed-phase Agilent Eclipse XDB-C18 (250x4.60 mm) 5-micron analytical column was used in the study. The wavelength was set at 278 nm, the flow rate was 0.8 mL/min, the injection volume was 20 µL, and the column oven temperature was 30 °C. A: 3.0% acetic acid: methanol was used as the mobile phase. The profile of phenolic substances was determined using the gradient program of Delil and colleagues (2022). The quantification of phenolic compounds in the extract was determined by measuring the concentration in micrograms per gram of extract (µg/g) using calibration curves specific to phenolic

compounds. Analyzes were performed in triplicate.

Antidiabetic activity

The measurement of antidiabetic activity is based on the principle of detecting the activities of α -glucosidase enzymes (maltase, isomaltase, and sucrase) in rat intestinal powder (Nyambe-Silavwe et al., 2015). 200 μ L of the substrate was mixed with 200 μ L of enzyme and 100 μ L of buffer solution and incubated for 10 min at 37°C in a water bath (Selecta, Spain). Then, to stop the enzyme activity, 750 μ L of acetone was added and mixed by vortex for 10 seconds and then centrifuged for 5 minutes. Finally, the acetone in the obtained samples was evaporated with nitrogen gas. High-performance liquid chromatography (HPLC) device and refractive index detector (RID) (Shimadzu, Japan) were used to measure the amounts of fructose and glucose formed by decomposition of sucrose. Lactose was used as the internal standard. In addition, for the validation of the experiment and the antidiabetic activity of the extracts, metformin used in the treatment of diabetic patients was added to the analysis as a positive control.

For optimization of the experiment, Michaelis Constant (K_m/V_{max}) was measured and hydrolysis of sucrose was performed at 37 °C using different enzyme concentrations and incubation times according to K_m (mM), V_{max} (0.09 μ mol sucrose hydrolysis/minute). From the data obtained, the highest value of enzyme-specific activity and rat intestinal powder concentrations were determined as optimum incubation time and enzyme concentration.

Statistical Analysis

Extraction applications were carried out in 2 replications and analyzes in 3 parallels according to the trial plan. Minitab package program RSM was used to evaluate the responses obtained and to find the optimum points for avocado leaf extraction. Obtained experimental data were analyzed using Minitab statistical analysis software program (Minitab 20.0) and the performance of the model was evaluated by considering R^2 values. CCD was used in model design. The model was

evaluated according to bivariate quadratic equality. In the equation, X was determined as an independent variable, Z dependent variable, constant coefficient, first-order (linear) equation coefficient, second-order equation coefficient, and two-factor cross-interaction coefficient.

RESULTS AND DISCUSSION

Avocado, with its low sugar content, rich bioactive components, nutrients, and antioxidant properties has positive effects on human health. The antioxidant, antidiabetic, anticancer, and cardiovascular properties of the leaf, which is the waste of avocado, have been reported in scientific studies (Castro-López et al., 2019; Gümüštepe et al., 2022). In this study, MAE processing conditions of phenolic substances, which are the bioactive component of the avocado leaf of the Hass variety, were optimized with RSM and CCD. In addition, physicochemical properties, bioactive components, and biofunctional properties (antioxidant and antidiabetic activity) of Hass leaf water extracts extracted under optimum conditions were determined.

Extraction Modeling of the Yield and TPC of Water Extracts of Hass Avocado Leaves

The extraction yield (%) and TPC (μ g GAE/g extract) of Hass avocado leaves under different extraction conditions are shown in Table 3. The evaluation results of the model coefficients are given in Table 4.

In Table 3, the yields of microwave-assisted water extracts of Hass avocado leaf were found to be between 15.07% and 19.67%. In microwave-assisted water extraction of avocado leaf, the lowest extraction efficiency was determined in the samples where 7.5 g of dry leaves were applied for 45°C and 5 minutes, and the highest yield was determined in the samples where 45°C and 5 minutes were applied to 1 g of dry leaves. In a previous study conducted by Kamagate and colleagues (2016), it was found that the utilization of water, ethanol, and methanol solvents in the traditional extraction method yielded varying percentages of extracts. The extract yields obtained were 20.9%, 16.8%, and 18.6% for water, ethanol, and methanol, respectively.

When the TPC results of the extracts were examined, it was determined that the values varied between 368.20 and 709.82 $\mu\text{g GAE/g}$ extract (Table 3). The lowest TPC amount was obtained at 30°C temperature, 5 min time, and 4.25 g solid/solvent ratio, while the highest TPC amount was obtained under extraction conditions using 45°C temperature, 5 min time, and 7.5 g solid/solvent ratio. Murathan and Kaya, (2020) found that the TPC of the Hass leaf extract obtained using 80% methanol was 261.1 mg GAE/100 g extract, and this value was determined to be a higher amount than that

determined for the water extract used in the current study. Another study, in which the cultivar was not specified, found that TPC in samples extracted with 95% ethanol and methanol from avocado leaves was 82.48 mg GAE/g extract and 91.72 mg GAE/g extract, respectively Kavaz and Ogbonna, (2019). This can be explained by the fact that organic solvents or organic solvent/water mixtures are better extraction solvents than water and can extract more bioactive compounds (Dailey and Vuong, 2015).

Table 3. Experimental design and corresponding responses (Extraction time: 5 minutes)

Run ^a	Solid/Solvent (g/100mL)	Temperature (°C)	Extract Yield (%)	TPC ($\mu\text{g GAE/g}$ extract)
1	7.5	45	15.07	709.82
2	4.25	45	17.51	657.53
3	4.25	45	17.45	657.42
4	1.95	34	18.45	456.17
5	1.95	45	19.67	585.14
6	1.95	56	19.34	516.47
7	4.25	30	16.63	368.20
8	4.25	60	17.67	452.35
9	4.25	45	17.49	658.27
10	6.55	34	15.36	546.48
11	4.25	45	17.49	660.61
12	4.25	45	17.49	660.60
13	6.55	56	15.98	608.18

^aRandomized

Table 4. Model coefficients and fit values of the responses

Model coefficients ^a	Extract Yield (%)	TPC ($\mu\text{g GAE/g}$ dw)
β_0	15.278*	-1793.0*
β_1	0.17468*	101.696*
β_2	-0.4964*	27.49*
β_{11}	-0.001442*	-1.09840*
β_{22}	-0.01007*	-0.940*
β_{12}	-0.002727*	ns
Model	***	***
R ²	99.98	99.97
Adj- R ²	99.97	99.96
Pred- R ²	99.93	99.90
Lack of fit	0.372	0.227

^a β_0 , constant coefficient; β_i , linear coefficient; β_{ii} , quadratic coefficient; β_{ij} , two factors' interaction coefficient; ns, not significant ($p > 0.05$); *, significant at $p \leq 0.001$. Subscripts 1, and 2 represent temperature and solid/solvent.

When the microwave-assisted water extraction efficiency of Hass avocado leaf is examined in Table 4, the effect of temperature and solid/solvent ratio, which is the independent variable, on the extraction efficiency in the model obtained according to RSM demonstrated a significant level of significance ($p \leq 0.001$). Temperature, solid/solvent ratio, and the interaction between temperature and solid/solvent ratio among the second-order variables in the model were found to be significant at the 99.9% level. The lack of fit value is insignificant ($p > 0.05$), which indicates that the model is error-free. The model explains 99% of the extract yield (%) changes depending on the temperature and solid/solvent ratio extraction parameters in the experimental design. It is seen that the predictive power of the model is high in terms of extract yield.

The variation of the extract yield depending on the effect of temperature and solid/solvent ratio is shown in Figure 1a. The figure shows that the extraction efficiency decreases as the solid/solvent ratio increases at low temperatures, and the extraction efficiency decreases as the solid/solvent ratio increases at high temperatures. It was found that the highest yields were found at high temperatures and low solids/solvent ratios. In the literature, there were no microwave-assisted water extraction modeling studies using RSM examining the effects of temperature and

solid/solvent ratio on the extraction efficiency of Hass avocado leaves.

When the variation of TPC amounts of the extracts depending on the extraction parameters was examined, first-order terms of temperature and solid/solvent ratio, solid/solvent ratio, and temperature variables exhibited a high level of significance at a 99.9% confidence level (Table 4). The lack of fit value being insignificant ($p > 0.05$) indicates that the model is error-free. The model explains 99% of the extract TPC changes depending on the temperature and solid/solvent ratio extraction parameters in the experimental design. The variation of TPC in microwave-assisted water extraction of Hass avocado leaf, depending on the effect of temperature and solid/solvent ratio, is given in Figure 1b. When the figure is examined, the amount of TPC first increased and then decreased with the increase of the solid/solvent ratio at low temperatures, and the amount of TPC first increased and then decreased with the increase of the solid/solvent ratio at high temperatures. It was determined that the TPC amount was the lowest at low temperatures and low solid/solvent ratio.

In the literature review, no microwave-assisted water extraction modeling study with RSM, which investigated the effect of temperature and solid/solvent ratio on the amount of TPC in extraction, was found for Hass avocado leaf.

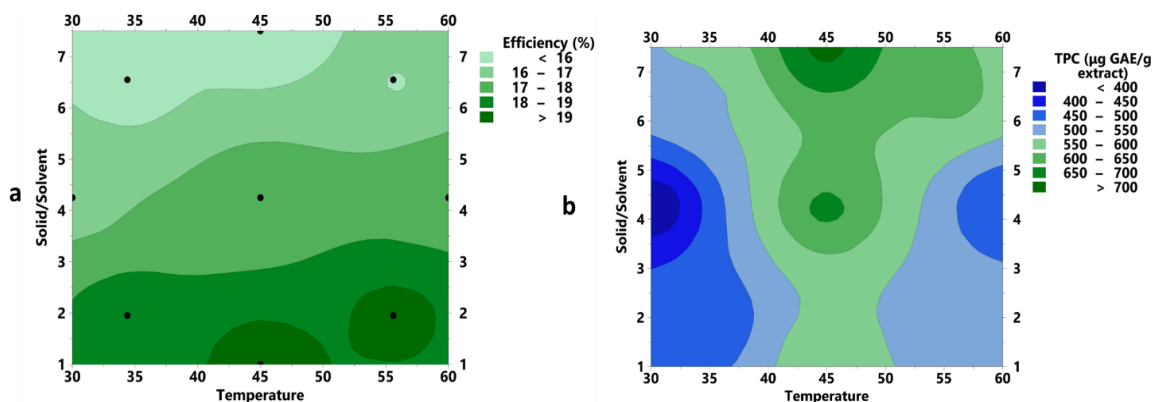


Figure 1. a) Influence of temperature (°C) and solid/solvent ratio (g/100mL) on extract yield (%), b) Influence of temperature (°C) and solid/solvent ratio (g/100mL) on extract TPC (µg GAE/g extract)

Optimization of Yield and TPC of Water Extracts of Hass Avocado Leaves and Validation of Models

Optimum extraction conditions obtained by maximizing the extraction yield (%) and TPC amounts (μg GAE/g extract) of microwave-assisted water extracts of Hass avocado leaves using the response surface method were obtained at temperature, time, and solid/solvent ratio at 47°C , 5 min and 1.13 g dry leaves/100 mL water, respectively. The extraction efficiency of Hass avocado leaf was estimated as 19.62-19.70% and the TPC amount of the extract was estimated in the range of 586.83-593.81 μg GAE/g extract under optimum microwave-assisted water extraction conditions by the model.

To experimentally verify the predictive value of the model, yield and TPC amount were determined in the extracts obtained by microwave-assisted extraction from leaf samples of the Hass variety under optimum conditions. The amount of TPC was determined as 591.76 μg GAE/g dw, and the extraction efficiency was 19.67%. These values are within the model prediction ranges given above. The theoretical data obtained according to these results have been experimentally verified.

Physicochemical Properties of Water Extracts of Hass Avocado Leaves Extracted under Optimum Process Conditions

TPC, free radical scavenging activity (DPPH), and antidiabetic activities (ADA) of the functional properties of the water extracts obtained from the leaves of Hass variety avocados under optimum conditions were determined.

TPC, DPPH and ADA as functional properties of extracts of the leaves of the Hass avocado variety were 591.7 ± 7.0 μg GAE/g extract, 235.6 ± 6.74 mg TE/100 g extract, and 64.59 ± 0.12 %, respectively. Murathan and Kaya (2020) determined the TPC amount of the extracts from Hass leaves with 80% methanol as 261.1 mg GAE/100 g extract and the DPPH ratio as 50.9%. In the samples extracted from avocado leaves with 95% ethanol and methanol, TFC was determined as 82.48 and 91.72 mg GAE/g

extract, respectively (Kavaz and Ogbonna, 2019). Gopalan and Tyug, (2021) reported that avocado leaf phytochemicals have a significant antioxidant capacity and also reported that the TEAC value and TPC of avocado leaves (dw) were 332.30 μg Trolox/g and 1199.08 ± 6.00 μg GAE/g, respectively. Although these studies showed higher TPCs and antioxidant activities than the water extracts determined in our study, organic solvents or organic solvent/water mixtures were consistently reported to be better extraction solvents than water for extracting more bioactive compounds (Dailey and Vuong, 2015).

Chlorogenic acid, quercetin, p-hydroxybenzoic acid, rosmarinic acid, cinnamic acid, eriodictiol, protocatechuic acid, and gallic acid as phenolic components (mg/100g extract) of the extracts were found to be 12.309, 0.854, 0.809, 0.539, 0.270, 0.270, 0.180, and 0.135, respectively. It was determined that most of the components of optimum water extract in Hass avocado leaf consisted of chlorogenic acid. In the research findings of the literature, the values were given for caffeic acid (10.83-32.74), chlorogenic acid (28.83-852.81), and rutin (26.05-68.41) content of phenolic compound (mg/kg) in lyophilized water extracts and ethanol extracts of dried avocado (*Folium perseae*) leaves, respectively. They were detected with the HPLC-MS system (Polat Kose et al., 2020). In another study, it was determined that the phenolic compounds content (mg/100g) of avocado leaf extract were as syringic acid 31.65, ferulic acid 7.09, epicatechin 2.84, and p-hydroxybenzoic acid 2.51 (Adelusi et al., 2014).

CONCLUSION

Within the scope of the findings obtained, the microwave-assisted extraction method can be used for high phenolic extraction in a short time from avocado leaves. However, in the study where we used water as the solvent, the phenolic content and functional properties of our extracts were found to be lower than in the studies where ethanol, methanol, or their aqueous mixtures were used as organic solvents. In future studies, extraction with aqueous mixtures of different organic solvents may be better. In future studies, *in vivo* studies (animal and clinical) can be done. In

addition, antioxidant and antidiabetic herbal food supplement, tea, sauce, etc. Functional foods can be produced that will attract the attention of consumers.

DECLARATIONS OF INTEREST STATEMENT

We declare that no conflicts of interest are associated with this manuscript.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The following statements should be used Conceptualization, EA, G.O.; methodology, EA, G.O.; formal analysis, N.K, E.A.; writing original draft, G.O.; writing and editing, E.A.; supervision, E.A.; co-supervision, G.O.

ACKNOWLEDGMENTS

We acknowledge the Suleyman Demirel University Scientific Research Projects Unit for funding this research. This work is supported by the Suleyman Demirel University Scientific Research Projects Unit (grant number FAB-2021-8258).

REFERENCES

- Adelusi, T. I., Oboh, G., Akinyemi, A. J., Ajani, R. A., Temitope Isaac, A., Ganiyu, O., Akinyemi, A. J., Bakare, Olanrewaju, O. (2014). Avocado Pear Fruits and Leaves Aqueous Extracts Inhibit A-Amylase, A-Glucosidase and Snp Induced Lipid Peroxidation-An Insight into Mechanisms Involve in Management of Type 2 Diabetes Erectile dysfunction View project Radio-Frequency Electromagnetic waves. *International Journal of Applied and Natural Sciences*, 3: 21–34.
- Ainsworth, E. A., Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4): 875–877, <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>.
- Castro-López, C., Bautista-Hernández, I., González-Hernández, M. D., Martínez-Ávila, G. C. G., Rojas, R., Gutiérrez-Díez, A., Medina-Herrera, N., Aguirre-Arzola, V. E. (2019). Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Leaf Purified Hydroalcoholic Extracts from Seven Mexican *Persea americana* Cultivars. *Molecules*, 24(1): 173, <https://doi.org/10.3390/molecules24010173>.
- Che-Galicia, G., Váquiro-Herrera, H. A., Sampieri, Á., Corona-Jiménez, E. (2020). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from avocado leaves (*Persea americana* Mill. var. *Drymifolia*): Optimization and modeling. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 18(7): 20200023, <https://doi.org/10.1515/IJCRE-2020-0023/MACHINEREADABLECITATION/RIS>.
- Dailey, A., Vuong, Q. V. (2015). Effect of extraction solvents on recovery of bioactive compounds and antioxidant properties from macadamia (*Macadamia tetraphylla*) skin waste. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1): 1115646, <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1115646>.
- Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyazdan, S., Sarker, S. D. (2012). Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation. *Methods in Molecular Biology*, 864: 89–115, https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_5.
- Delil, S. O. S., Özkan, G., Karacabey, E. (2022). Phenolic Transition from Olive Fruits at Different Ripening Stages to Olive Oil: Process Optimization and Determination by Spectrophotometric and Chromatographic Methods. *Food Analytical Methods*, 15(12):3297–3310, <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02364-6>.
- Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M. J. (2003). Characterization of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. *Food Chemistry*, 8(2): 255–262, [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00088-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00088-8).
- FAOSTAT. (2021). *Food and agriculture organization of the United Nations*. Agriculture Database. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Gopalan, N. N. V. K., Tyug, T. A. N. S. (2021). Antioxidant Activities, Total Phenolic Content and Colour Parameters in the Aqueous Extracts of Avocado, Banana and Papaya Leaves. *Malaysian*

- Journal of Health Sciences/Jurnal Sains Kesihatan Malaysia*, 19(1): 137-142, <http://dx.doi.org/10.17576/JSKM-2021-1901-15>.
- Guaracho, V. V., Kaminari, N. M. S., Ponte, M. J. J. S., Ponte, H. A. (2009). Central Composite experimental design applied to removal of lead and nickel from sand. *Journal of Hazardous Materials*, 172(2–3): 1087–1092, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.100>.
- Gümüštepe, L., Aydın, E., Ozkan, G. (2022). Avokadonun biyoaktif bileşenleri ve sağlık üzerine etkileri. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 10(1): 341–359, <https://doi.org/10.21923/jesd.1005610>.
- Gumustepe, L., Kurt, N., Aydın, E., Ozkan, G. (2023). Comparison of ohmic heating-and microwave-assisted extraction techniques for avocado leaves valorization: Optimization and impact on the phenolic compounds and bioactivities. *Food Science & Nutrition*. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3556>.
- Hefzalrahman, T., Morsi, M. K. S., Morsy, N. F. S., Hammad, K. S. M. (2022). Application of Enzyme and Ultrasound Assisted Extraction of Polyphenols From Avocado (*Persea Americana* Mill.) Peel As Natural Antioxidants. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 21(2): 129–138, <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2022.0980>.
- Hughes, K. J., Mayne, S. T., Blumberg, J. B., Ribaya-Mercado, J. D., Johnson, E. J., Cartmel, B. (2009). Plasma Carotenoids and Biomarkers of Oxidative Stress in Patients with prior Head and Neck Cancer. *Biomarker Insights*, 4(4): 17–26, <https://doi.org/10.4137/bmi.s2192>.
- Kamagate, M., Koffi, E., Kadja, A. B., Camille, K., Balayssac, E., Daubrey-Potey, T., N'zoue, K. S., Die-Kacou, H. M. (2016). Acute toxicity and hypoglycaemic activity of the leaf extracts of *Persea americana* Mill.(Lauraceae) in Wistar rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(33): 690–698, <https://doi.org/10.5897/AJPP2016.4617>.
- Kavaz, D., Ogbonna, C. (2019). Comparative study of biological activity and chemical composition of methanolic and ethanolic plant extracts of *Persea americana* leaves in-vitro. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 17: 261–270, <https://doi.org/10.31590/ejosat.599475>.
- Monzón, L., Becerra, G., Aguirre, E., Rodríguez, G., Villanueva, E., Monzón, L., Becerra, G., Aguirre, E., Rodríguez, G., Villanueva, E. (2021). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from avocado residues: Modeling and optimization using response surface methodology and artificial neural networks. *Scientia Agropecuaria*, 12(1): 33–40. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2021.004>.
- Murathan, Z. T., Kaya, A. (2020). Alanya ekolojik koşullarında yetiştirilen Hass ve Fuerte avokado çeşitlerinin bazı fitokimyasal içerikleri ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *KSÜ Tarm ve Doğa Dergisi*, 23(6): 1435-1440, <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.674647>.
- Nam Han Cho. (2017). IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium: 2019. In International Diabetes Federation. Available at: <http://www.diabetesatlas.org>. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31679-8](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31679-8).
- Noorul, H., Nesar, A., Zafar, K., Khalid, M., Zeeshan, A., Vartika, S. (2016). Health benefits and pharmacology of *Persea americana* mill.(Avocado). *Int. J. Res. Pharmacol. Pharmacother*, 5(2): 132-141.
- Nyambe-Silavwe, H., Villa-Rodriguez, J. A., Ifie, I., Holmes, M., Aydın, E., Jensen, J. M., Williamson, G. (2015). Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 19(A): 723–732, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.003>.
- Owolabi, M. A., Coker, H. A. B., Jaja, S. I. (2010). Bioactivity of the phytoconstituents of the leaves of *Persea americana*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(12): 1130-1135, <https://doi.org/10.5897/JMPR09.429>.
- Polat Kose, L., Bingol, Z., Kaya, R., Goren, A. C., Akincioglu, H., Durmaz, L., Koksall, E., Alwasel, S. H., Gülçin, İ. (2020). Anticholinergic and antioxidant activities of avocado (*Folium perseeae*) leaves—phytochemical content by LC-MS/MS

- analysis. *International Journal of Food Properties*, 23(1): 878–893, <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1761829>.
- Radojković, M., Zeković, Z., Sudar, R., Jokić, S., Cvetanović, A. (2013). Optimization of solid-liquid extraction of antioxidants and saccharides from black mulberry fruit by response surface methodology. *Journal of Food and Nutrition Research*, 52(3): 146–155.
- Rodriguez-Mateos, A., Heiss, C., Borges, G., Crozier, A. (2014). Berry (poly)phenols and cardiovascular health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(18): 3842–3851 <https://doi.org/10.1021/jf403757g>.
- Sahena, F., Zaidul, I. S. M., Jinap, S., Karim, A. A., Abbas, K. A., Norulaini, N. A. N., Omar, A. K. M. (2009). Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. *Journal of Food Engineering*, 95(2): 240–253, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026>.
- Salar Bashi, D., Mortazavi, S. A., Rezaei, K., Rajaei, A., Karimkhani, M. M., Ahmadi, A. (2011). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds. *Clinical Biochemistry*, 44(13): 354, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.08.889>.
- Sparr Eskilsson, C., Björklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography*, 902(1): 227–250, [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00921-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00921-3).
- TUIK. (2015). *Bitkisel Üretim İstatistikleri*. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Accessed: 16 February 2022).
- Unsal Pinar, Aydın Ebru, Ozkan Gulcan. (2019). Review of traditionally consumed antidiabetic fruits in the diet. *Bilge International Journal of Science and Technology Research*, 3(0): 58–76, <https://doi.org/10.30516/bilgesci.650160>.
- Xing, S., He, Y., Zhu, H., Wang, X. (2017). An approach to sample selection from big data for classification. 2016 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics, Conference Proceedings, 902: 2928–2935, <https://doi.org/10.1109/SMC.2016.7844685>.



TİP 5 DİRENÇLİ NIŞASTA: NIŞASTA KATILIM KOMPLEKSLERİ

Fatma Nur Akgül, Sultan Arslan Tontul*

Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

Geliş /Received: 07.02.2023; Kabul /Accepted: 09.08.2023; Online baskı /Published online: 28.08.2023

Akgül, F. N., Arslan Tontul, S. (2023). Tip 5 dirençli nişasta: Nişasta katılım kompleksleri. GIDA (2023) 48 (5) 924-933 doi: 10.15237/ gida.GD23023

Akgül, F. N., Arslan Tontul, S. (2023). Type 5 resistant starch: Starch inclusion complexes. GIDA (2023) 48 (5) 924-933 doi: 10.15237/ gida.GD23023

ÖZ

Son zamanlarda sağlık ve gıda bilincinin artması ile doğru orantılı olarak fonksiyonel gıdalara olan talep de artmıştır. Fonksiyonel gıda üretiminde tahıllar; obezite, diyabet ve kolon kanseri gibi kronik rahatsızlıkları önlemek amacıyla diyet lif açısından iyi bir alternatif olabilmektedir. Fakat tahıl kepeği gibi diyet lif içeriği yüksek olan bileşenlerden üretilen gıdaların, duyu kalitesinin genellikle düşük olması bu tür gıdaların talep edilebilirliğini azaltmaktadır. Gıdalarda renk, koku, tat gibi duyu özellikleri etkilemeyen dirençli nişasta (DN) ise diyet lif özelliğiyle fonksiyonel ürünlerde kullanılabilir. Günümüzde beş farklı dirençli nişasta formu bulunmaktadır. Gıda endüstrisinde dirençli nişasta çeşitlerinden en fazla DN3 ve DN4 kullanılmaktadır. DN5 formu ise son yıllarda araştırılmaktadır. DN5 üretiminin kısa sürmesi, kimyasal ajan gerektirmeden doğal yöntemlerle üretilmesi, ısı stabilizasyonunun yüksek olması ve proses sırasında uygulanan yüksek ısı-basınç etkilerinden kompleks yapısının korunması gibi üstün teknolojik özellikleri bulunmaktadır. Bu derleme makale çalışmasında DN5 üretim yöntemleri ve DN'nin sağlık üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Nişasta, diyet lif, amiloz katılım kompleksi, glikemik indeks

TYPE 5 RESISTANT STARCH: STARCH INCLUSION COMPLEXES

ABSTRACT

Recently, the demand for functional foods has increased due to growing health and food awareness. In food production, grains serve as good alternatives in terms of dietary fiber, aiding in the prevention of chronic diseases such as obesity, diabetes, and colon cancer. However, the low sensory quality of foods produced from components with high dietary fiber content, such as cereal bran, diminishes the desirability of such foods. Resistant starch (RS), on the other hand, can be utilized in functional products due to its dietary fiber properties without adversely affecting sensory properties such as colour, odour, and taste. Presently, there are five different forms of resistant starch. Among them, RS3 and RS4 are the most commonly used varieties in the food industry. However, the RS5 form has gained attention in recent years. RS5 exhibits superior technological features, including shorter production times, employment of natural methods without the need for chemical agents, high thermal stabilization, and preservation of its complex structure from the high heat-pressure effects applied during the process. This review focuses on discussing RS5 production methods and their health-promoting effects were discussed.

Keywords: Starch, dietary fiber, amylose inclusion complex, glycemic index

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: sultan.arslan@selcuk.edu.tr

☎: (+90) 332 223 2937

☎: (+90) 332 241 0108.

Sultan Arslan Tontul; ORCID no: 0000-0003-1557-7948

Fatma Nur Akgül; ORCID no: 0000-0001-5547-0593

GİRİŞ

Nişasta, günlük enerji sağlayan tahıl gibi temel gıdaların önemli bir bileşenidir. Nişasta; α -1,4 bağlarından oluşan düz zincirli amiloz ve α -1,4 glikozidik zincirlerine ek olarak α -1,6 bağlarına sahip dallanmış yapıdaki amilopektin fraksiyonundan oluşmaktadır. Nişasta; çeşitli işlenmiş gıdalarda, ilaç, kozmetik, kâğıt ve tekstil gibi endüstriyel ürünlerde jelleştirici, koyulaştırıcı, dengeleyici ve stabilizatör madde gibi çeşitli işlevleri sayesinde sıkça tercih edilen bir polimerdir (Di Marco vd. 2022; Sinhmar vd. 2023).

Nişasta, sindirim sürecine göre hızlı sindirilebilir nişasta (HSN); yavaş sindirilebilir nişasta (YSN) ve dirençli nişasta (DN) olmak üzere üç fraksiyona ayrılmaktadır (Garcia-Hernandez vd. 2023) (Şekil 1). HSN, amilaz aktivitesi sonucunda nişasta sindiriminin ilk 20 dakikalık periyodunda glikoza dönüştürülen kısmını ifade etmektedir. İnce bağırsakta sindirime uğrayan HSN, kanda yüksek glisemik tepki oluşmasının temel nedenlerindedir. YSN, nişasta sindiriminin 20-120 dakikalık periyodunda glikoza çevrilen nişasta oranını ifade etmektedir. YSN, yavaş sindirilmekte ve HSN'ye göre kanda nispeten düşük bir glisemik tepki oluşturmaktadır. DN ise nişasta sindiriminin 120 dakikalık periyodunun sonunda sindirilmeden kalan nişasta fraksiyonunu ifade etmektedir. DN, ince bağırsakta sindirime uğramadığından mikroorganizmalar tarafından kalın bağırsakta fermente edilmekte ve böylelikle diyet lif etkisi göstermektedir. DN; tahıllar, sebzeler, baklagiller, tohumlar, olgunlaşmamış muz ve bazı kabuklu yemişler gibi gıdalarda yaygın olarak bulunabilmektedir (Pivetta vd., 2019; Kaimal vd., 2021).

DN ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda 5 farklı tipte DN olduğu ortaya konulmuştur. Bunlardan DN5 olarak sınıflandırılan nişasta katılım kompleksleri diğer DN türlerine göre nispeten yeni bir araştırma alanı olmakla birlikte son zamanlarda üzerinde yoğun araştırmaların yapıldığı bir konu haline gelmiştir. Diğer DN tiplerinin sağlığa faydalı etkileri temel olarak diyet lif özelliği göstermelerinden kaynaklanmaktadır. Bunun yanında DN5 ise kompleks yapısında çoklu doymamış yağ asitleri veya antioksidan

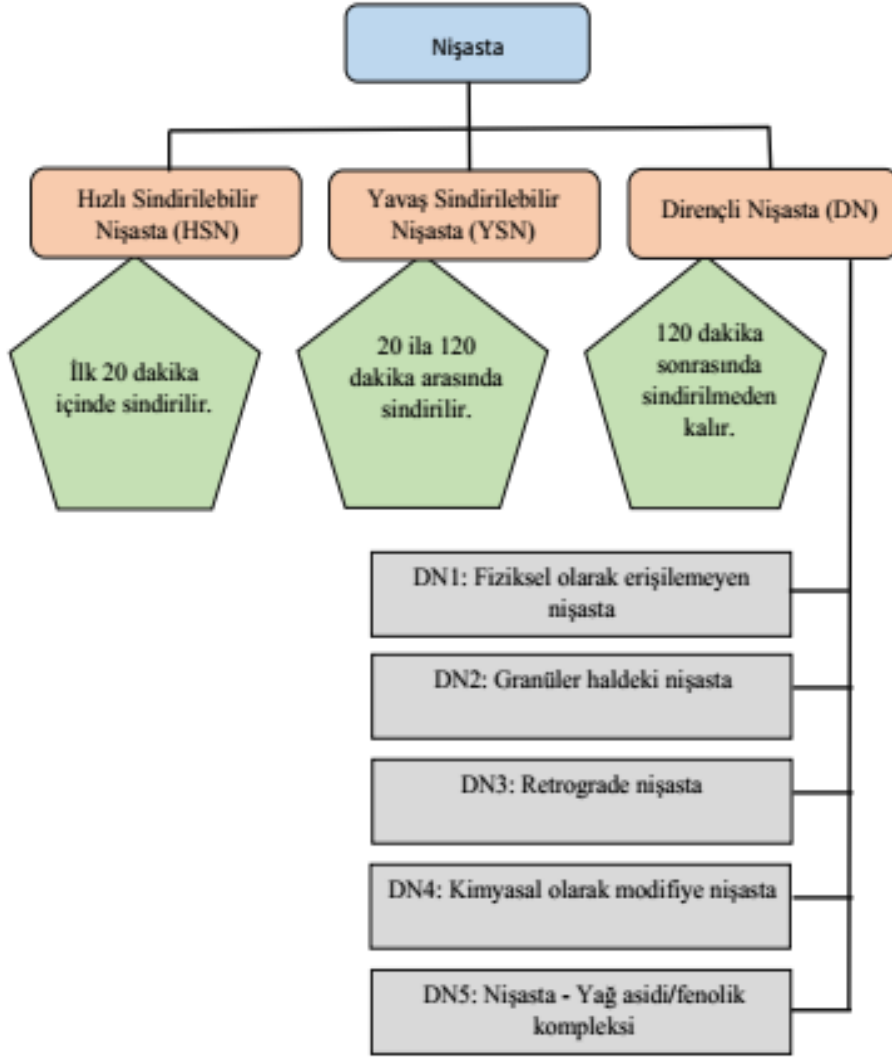
fenolik bileşikler gibi diğer sağlığa faydalı biyoaktif bileşikleri de içerebilmektedir. Bu husus DN5'i diğer DN türleri ile kıyaslandığında fonksiyonel anlamda daha üstün kılmaktadır. Bu derleme çalışmanın amacı DN5 olarak sınıflandırılan nişasta-lipit ve nişasta-fenolik katılım kompleksleri ile yürütülen yenilikçi çalışmaları ve DN5'in sağlığa faydalı etkilerini ortaya koymaktır.

DİRENÇLİ NİŞASTA ÇEŞİTLERİ

DN; ekmek, kraker, kek ve diğer unlu mamullerin yanı sıra ekstrüde ürünler, hazır karışımlar, içecekler ve az yağlı atıştırmalıklar dahil olmak üzere çok çeşitli ürünlere giderek daha fazla dahil edilmektedir. DN, koyulaştırıcı, su tutma kapasitesi arttırıcı, un ikame edici, gevreklik/çıtırılık sağlayıcı özellikleri ile çok farklı gıda ürünlerine ilave edilebilmektedir. Tüm bunlara ilaveten DN'nin opak görünümde ve kokusuz olması ilave edildiği gıdaların organoleptik özelliklerinde değişime neden olmaması gibi kullanım avantajları sağlamaktadır. Bu yönü ile DN, ilave edildiği gıdanın kalitesini ve besleyici yönünü arttırarak ürünün fonksiyonel hale gelmesini sağlamaktadır (Jiang vd., 2020). DN, düşük kalorili ve yüksek diyet lifi içeriğine sahip fonksiyonel bir gıda olarak gıda işlemede yaygın olarak tercih edilebilmektedir.

Günümüzde doğal olarak gıdalarda bulunan ve çeşitli işlemlerle üretilen 5 farklı DN tipi bulunmaktadır (Ai vd., 2013). DN1, fiziksel olarak erişilemeyen nişastadır. Nişastanın amilolize erişilebilirliğini azaltan protein matrisi, hücre duvarı materyalleri ve diğer fiziksel bariyerler içinde tutuklu bulunan nişastayı ifade etmekte olup genellikle öğütülmemiş veya kısmen öğütülmüş tahıl ve baklagil tohumlarında bulunmaktadır (Bede ve Zaixiang 2021; Bojarczuk vd. 2022;).

DN2, jelatinize olmamış ve yapısal olarak amilaz enzimlerinin yavaş hidrolize ettiği, patates ve olgunlaşmamış muz gibi gıdalarda doğal halde bulunan nişasta olarak tanımlanmaktadır (Bede ve Zaixiang 2021; Bojarczuk vd. 2022). Bu yönü ile yeşil muz biyokütlesi, son birkaç yılda giderek daha fazla kullanılan, DN açısından zengin bir gıda veya bileşen özelliği ortaya koymaktadır (Pivetta vd., 2020).



Şekil 1. Nişastanın sindirilebilirliğine göre sınıflandırılması

Figure 1. Classification of starch based on their digestibility

DN3, nişastanın jelatinizasyonu sonrasında retrograde olması sonucu enzime direnç kazanması hali olup genellikle proses koşullarının etkisi ile oluşmaktadır. Doğrusal amiloz molekülleri, amilopektinden daha hızlı retrograde oldukları ve daha dirençli kristaller oluşturdukları için DN3'ün hazırlanması için daha çok tercih edilmektedir (Bede ve Zaixiang 2021; Bojarczuk vd. 2022).

DN4, kimyasal modifikasyon yöntemleri ile esterleştirilerek veya çapraz bağlanarak enzime direnç kazandırılmış nişasta formudur (Bede ve Zaixiang 2021; Bojarczuk vd. 2022). Bu yöntemle üretimde genellikle fosforil klorit gibi korozif çapraz bağlama ajanları kullanılmaktadır (Dong ve Vasanthan 2020). Bu çapraz bağlama ajanları yıkama sonrası nişastadan tam olarak uzaklaştırılmadığında kalıntı olarak son ürüne geçebilmektedir.

Son olarak DN5 ise, nişasta katılım kompleksleri olarak adlandırılmakta olup kompleks oluşumu, nişastanın enzimatik sindirime karşı direnç kazanmasını sağlamaktadır. Nişasta polimeri iyot, alkol, yağ asitleri ve esterleri, emülgatörler, fenolik bileşikler ve aromatik bileşenler ile katılım kompleksleri oluşturabilmektedir (Putseys vd. 2010; Tan ve Kong 2020; Di Marco vd. 2022). Katılım bileşikleri genellikle amiloz fraksiyonu ile kompleks halinde bulunduğundan DN5 için amiloz-katılım kompleksleri de denilebilmektedir. Son yıllarda nişasta katılım kompleksleri olarak adlandırılan DN5, gıda biliminin önemli araştırma konularından birisi haline gelmiştir.

TİP 5 DİRENÇLİ NİŞASTA (DN5)

Nişasta fraksiyonlarından amilozun bir özelliği, çeşitli ligandlarla katılım kompleksi oluşturma yeteneğidir. Amiloz zinciri, altı glikoz birimi ile sarmal bir konformasyonda doğal bir bükülme sergilemektedir (Tan ve Kong 2020; Di Marco vd. 2022). Glikozil kalıntılarının hidroksil grupları, sarmalın dış yüzeyinde bulunurken, iç boşluk hidrofobik bir tüp şeklinde bulunur. Bu nedenle, kompleks oluşturuca maddelerin hidrofobik grubu, amiloz sarmalının içinde yer alabilir ve ligandın hidrofilik uçları sarmalın dışındayken, amilozun komşu karbon-hidrojenleri ile van der Waals temasları yoluyla stabilize edilir. Yapılan çalışmalar nişastanın farklı zincir uzunluğunda ki yağ asitleri ve fenolik bileşenler ile katılım kompleksleri yapabildiğini ortaya koymaktadır (Putseys vd. 2010).

Son yıllarda nişasta katılım kompleksi sentezi yolu ile DN üretimine yönelik çok sayıda araştırma yürütülmektedir. DN5 ile ilgili artan bu araştırma talebi, bu polimerin diğer DN tiplerine göre sağladığı üstün teknolojik özelliklerden ileri gelmektedir. DN5, diğer DN çeşitlerine göre daha yüksek ısıl stabiliteye sahip olup bu özelliği DN5'in yüksek sıcaklık uygulanan gıdaların diyet lif açısından zenginleştirilmesi için kullanılmak üzere avantajlı bir konuma getirmektedir. DN5, DN3 ve DN4 ile kıyaslandığında daha az fiziksel ve kimyasal modifikasyon basamağı gerektirmekte olup dolayısı ile daha kolay üretilebilmektedir. Ayrıca DN5'in sahip olduğu konformasyonel yapı sıcaklık uygulaması ortadan kalktıktan sonra

eski haline dönebilmektedir (Hasjim vd. 2013). Tüm bunlara ilaveten diğer DN tipleri yalnızca diyet lif etkisine sahip iken DN5, kompleks yapısında çoklu doymamış yağ asitleri ve antioksidan özellikte ki fenolik bileşikleri de bulundurabildiğinden artırılmış bir fonksiyonel etkiye sahiptir.

Çoğu çalışmada nişastanın yalnızca lipit karakterli bileşikler ile yaptığı katılım kompleksleri DN5 olarak değerlendirilse de son yıllarda fenolik bileşikler ile oluşturulan katılım kompleksleri de bu sınıfta incelenmektedir (Hernandez vd., 2022).

Nişasta- Lipit Katılım Kompleksleri

Nişasta katılım kompleksleri son yıllardır üzerinde önemle durulan bir konu haline gelmiştir. Nişastanın yapısını oluşturan amiloz fraksiyonu, uygun koşullar altında lipitler ile (ağırlıklı olarak yağ asitleri veya monogliseridler) tek sarmal katılım kompleksleri oluşturmak üzere etkileşime girebilmekte ve bunun sonucunda oluşan yeni nişasta polimeri ise DN5 olarak sınıflandırılmaktadır (Zhang vd., 2012; Wang vd., 2017). Nişasta-lipid kompleksinin DN etkisi, hidrofobik etkileşimler sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu etkileşim sonucunda heliksin iç boşluğu, metilen gruplarının ve glikozidik bağların varlığı nedeniyle güçlü bir şekilde hidrofobikken, dış yüzeyi, glikozil hidroksil gruplarının varlığı nedeniyle güçlü bir şekilde hidrofilik özellik göstermektedir (Hay vd., 2017; Wang vd., 2017; Lu vd., 2019). Kompleks oluşumu sırasında amiloz tarafından tutuklanan lipitin hidrofobik karakteri, nişasta granülünün su absorpsiyon kapasitesini azaltmakta ve böylelikle amilolitik enzim ulaşılabilirliği sınırlandırılmakta ve granül enzime karşı direnç kazanmaktadır (Zhang vd., 2012).

Kompleks oluşumu sırasında amilozun konformasyonel yapısı, hidrofobik katılım moleküllerin varlığında değişikliğe uğramaktadır (Putseys vd., 2010; Hay vd., 2017). Bu tür kompleksler, V tipi X-ışını kırınım modeli sergilemekte ve amorf (Tip I) ve kristalize (Tip II) olmak üzere iki farklı formda sentezlenebilmektedir. Amorf form daha düşük bir sıcaklıkta (~100°C) erirken, kristalize

kompleks formun daha yüksek bir erime sıcaklığına (100–125°C) sahip olduğu rapor edilmiştir (Tufvesson vd., 2003; Zhang vd., 2012). Nişasta-lipit komplekslerinin fizikokimyasal özellikleri doğrudan kompleks üretiminde kullanılan yağ asidinin zincir uzunluğu, lipid yapısı ve nişastanın amiloz/amilopektin oranından etkilenmektedir (Putseys vd., 2010; Lu vd., 2019). Daha uzun hidrokarbon zincirlerine sahip yağ asitlerinin enzimatik olarak daha dirençli amiloz-lipid kompleksleri oluşturduğu bildirilmiştir (Hasjim vd., 2010).

Amiloz-lipit katılım komplekslerinin sentezlenmesi yolu ile DN üretimi daha önce yürütülen çalışmalar ile açıklanmaya çalışılmıştır (Çizelge 1). Faruk vd. (2018), palm yağı ve pişmiş pirinç nişastaları (kahverengi, siyah, mumsu, beyaz pirinç nişastaları) ile kompleks üretimi

gerçekleştirerek bu komplekslerin *in vitro* sindirilebilirliklerini araştırmışlardır. Komplekslerin DN içeriğinin %13.8–23.9 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Sun vd. (2019), farklı oranlarda oleik asit ilavesi ile (%0, 2, 6, 10, 14) iki farklı sıcaklıkta amiloz-oleik asit kompleksi üretimini amaçladıkları çalışmalarında oleik asit artışı ve düşük test sıcaklığı (75°C) kullanımı ile DN seviyesinin artışı arasında doğrusal bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Tang vd. (2022), nilüfer çekirdeği nişastası-miristik asit komplekslerinin DN içeriğini ise %67.03 olarak belirlemişlerdir. Li vd. (2021), mısır nişastası ve miristik asit komplekslerinin oluşumunu incelemişler ve mısır nişastası-miristik asit komplekslerinin DN içeriğini %59.92 olarak rapor etmişlerdir.

Çizelge 1. Nişasta katılım kompleksi yolu ile DN5 üretimine yönelik çalışmalar

Table 1. DN5 production studies via starch inclusion complexes

Nişasta <i>Starch</i>	Katılım bileşiği <i>Inclusion compound</i>	DN içeriği (%) <i>RS content (%)</i>	Kaynak <i>Reference</i>
Pirinç nişastası	Bütirik asit	80	Chumsri vd. (2022)
Yüksek amiloz nişastası	Palmitik asit	11-57	Guo ve Kong (2021)
Tatlı patates nişastası	Palmitik asit	60-71	Li vd. (2019)
Mısır nişastası	C6-C18 yağ asitleri	33-47	Lu vd. (2019)
Pirinç nişastası	C12-C18 yağ asitleri	4-32	Cui vd. (2021)
Buğday nişastası	Laurik asit	25-30	Kang vd. (2021)
Yüksek amilozlu mısır nişastası	Salisilik asit	25	Guo vd. (2023)
Patates nişastası	Kafeik asit	40	Li vd. (2020)
Yüksek amilozlu, vaksi, normal mısır nişastası	Kafeik asit	69-88	Han vd. (2020)
Nilüfer nişastası	Klorojenik asit	26-63	Wang vd. (2021)
Pirinç nişastası	Gallik asit	7	Sudlapa ve Suwannaporn, (2023).
Yüksek amilozlu mısır nişastası	Alkilresorsinol	40	Fan vd. (2022)

Nişasta- Fenolik Katılım Kompleksleri

Nişasta sindirimini azaltmanın temel stratejilerinden birisi, sindirim sisteminde nişasta parçalanmasını katalize eden sindirim enzimleri olan amilaz ve glukozidazı inhibe etmektir (Sun ve Miao, 2020; Deng vd. 2021). Son yıllarda, farklı bitki kaynaklarından elde edilen ekstraktlar, nişasta sindirim enzimlere karşı inhibe edici kapasiteleri açısından araştırılmıştır (Papoutsis vd., 2021). Bu inhibe edici aktivite, bitki bazlı gıdalarda bulunan ve insan diyetinin önemli bir parçası olan bir grup fitokimyasal olan fenolik bileşiklere atfedilmiştir (Deng vd. 2021). Fenolik

bileşikler, sindirim enzimlerinin aktif bölgesi ile etkileşime girerek inhibisyona neden olmakta ve böylelikle nişasta sindirim oranını sınırlandırmaktadır (Aleixandre vd., 2021). Fenolik bileşikler, bu etki mekanizması ve nişasta katılım kompleksi oluşturma kapasitesi sayesinde DN5 üretiminde etkin bir rol oynamaktadır.

Nişasta ve fenolikler arasındaki kompleksleşme, nişasta ve fenolik asitlerin hem fizikokimyasal özelliklerinden hem de yapısından büyük ölçüde etkilenmektedir. Spesifik yüzey alanı, amiloz içeriği, granül boyutu ve çift sarmal yarıçapı gibi

nişastanın karakteristik özellikleri fenolik asitlerin nişasta ile kompleksleşme indeksini belirleyebilmektedir. Ayrıca, nişasta-fenolik asit kompleksinin oluşumunda fenolik asitlerin yapısında bulunan hidroksil grubu miktarı, metilasyon derecesi ve yapıdaki karbon zinciri uzunluğu, kompleksin etkileşim kuvvetini etkileyebilmektedir. Tüm bunlara ilaveten nişastaya uygulanan ön işlemler (ultrasonikasyon, yüksek basınç uygulaması, vb.) amiloz ve amilopektin fraksiyonlarının yeniden organize olmasına neden olduğundan nişasta ile fenolikler arasındaki etkileşimi artırabilmektedir (Guo vd., 2019; Deng vd. 2021).

Nişasta-fenolik katılım komplekslerinin üretimi ile ilgili son yıllarda önemli çalışmalar yürütülmektedir. Bu çalışmalardan birisinde Gutierrez vd. (2020), amilozlu bir çözeltiye alkil gallatlar eklendiğinde nişasta sindiriminin geciktirildiğini belirlemişlerdir. Daha kısa zincirli alkil gallatların nişastanın sindirim enzimi olan amilaz aktivitesini inhibe ettiği, daha uzun zincirli olanların nişasta ile inklüzyon kompleksleri oluşturma olasılığının daha yüksek olduğu ve dolayısı ile YSN veya DN içeriğinde bir artışa yol açtığı kanısına varılmıştır. Zheng vd. (2021), ekstrüzyon işlemi sırasında pirinç unu ve klorojenik asitin kompleks oluşturma kapasitesini araştırmışlar ve klorojenik asit yüklü ekstrüde malzemeler için klorojenik asit içermeyen kontrol numunelerine kıyasla DN değerlerinde %10.28 ile %31.16 arasında değişen önemli bir artış tespit etmişlerdir. Han vd. (2020), kafeik asit ve yüksek amilozlu mısır nişastası ile DN5 üretimi gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar %69.58–88.94 aralığında değişen DN içeriği elde etmişlerdir. Nişasta-kafeik asit kompleksi α -glukozidaz ve α -amilazın enzimatik etkisini inhibe ederek nişasta sindirimini azaltmıştır. Kan vd. (2022), jelatinize ve jelatinize olmayan buğday nişastası ve tannik asit kullanarak DN5 tipi kompleks üretimini amaçlamışlardır. Araştırmada jelatinize buğday nişastası-tannik asit kompleksi ve karışımlarında %40-60 oranlarında DN içeriği elde edilmiştir. Chi vd. (2018), dodesil gallat-pirinç nişastası ile DN5 tipi komplekslerin üretimi için dodesil gallat polifenolünün konsantrasyonları %1, 5 ve 9 olacak şekilde ilave edilmesiyle DN

içeriğini %8.69–14.17 olarak rapor etmişlerdir. Wang vd. (2020), soya izoflavonu-mısır nişastası komplekslerinde soya izoflavonu sayesinde dirençli nişasta içeriğini %10.53'ten %21.78'e çıkarmışlardır. Chi vd. (2017), mısır nişastası-gallik asit komplekslerinin üretiminde nişasta ağırlığının %20 ve 40 oranında gallik asit ilavesinin nişasta sindirilebilirliğine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar DN içeriğini %17.70–50.02 aralığında bulmuş ve nişasta sindirilebilirliğinin azaldığını tespit etmişlerdir.

TİP 5 DİRENÇLİ NİŞASTANIN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Lipit ve fenolikler ile oluşturulan katılım kompleksleri DN5 sınıfına dahil edildiğinden diğer DN çeşitlerine atfedilen postprandiyal glisemik yanıtlarını, tip 2 diyabet, obezite, hipertansiyon ve kalp hastalığı oluşum riskini azaltıcı potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Hasjim vd., 2010). Ayrıca DN5 diğer çeşitler ile kıyaslandığında yapısında çoklu doymamış yağ asitleri ve fenolikler gibi biyoaktif bileşenleri de içerdiğinden daha yüksek fonksiyonel özelliğe sahiptir. Bu nedenle diyabet, obezite ve kanser gibi kronik rahatsızlıkların engellenmesinde daha yüksek etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.

DN5'in en önemli sağlığa faydalı etkisi nişasta sindiriminin azaltılarak serum glikoz seviyesinin dengelenmesi yolu ile tip 2 diyabet oluşum riskinin azaltılmasıdır. Diyabet, vücutta insülin hormonunun yeterince sentezlenememesi veya ilgili reseptörlerin çalışmaması sonucunda kan şekerinde meydana gelen hızlı artış veya azalışlar ile kendini gösteren bir metabolizma rahatsızlığıdır. Postprandiyal glikoz ve insülin tepkileri, tüm vücut insülin duyarlılığı üzerinde önemli etkiler sundukları için geniş çapta incelenmiştir. Bozulmuş insülin duyarlılığı, çeşitli kronik hastalıklarla ilişkili olan insülin direncine yol açabilmektedir. DN alımından sonra postprandiyal glisemik ve insülinemik yanıtları araştırmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Birçok grup DN alımını takiben postprandiyal kan glikoz düzeylerinde olumlu değişiklikler bildirmiştir (Guo vd., 2019).

Yürütülen bir klinik araştırmaya göre palmitik asit-amiloz kompleksi DN5 içeren ekme diyeti uygulanan bireylerin kan-serum testlerinin, DN5 içermeyen ekme ile beslenen kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha az postprandiyal plazma-glikoz ve insülin tepkileri ile sonuçlandığını ortaya çıkarmıştır (Hasjim vd., 2010). Tang vd., (2022) nilüfer kökü nişastası ve miristik asit ile elde ettikleri kompleksleri diyabetik farelerin diyetinde kullanmışlardır. DN5'in diyabetik fareler üzerindeki düzenleyici etkisini *in vivo* olarak incelemek için fareler diyetlerinde sırasıyla 4 hafta boyunca %5 oranında DN5 ile beslenmiştir. Deney sırasında hızlı kan şekeri seviyesindeki artış izlenerek kaydedilmiştir. 4 haftalık süreç sonunda kontrol grubundaki farelerin kan şekeri seviyesi deney sırasında kademeli olarak artarken DN5 grubundaki farelerde ise %50.21 oranında daha az tespit edilmiştir. Araştırmacılar DN5'in hiperglisemiye etkili bir şekilde azaltabileceğini, diyabetik farelerde kilo kaybını önleyebileceğini ve glikoz homeostazını iyileştirebileceğini öngörmüştür.

DN5'e atfedilen bir başka sağlığa yararlı etki ise kolon mikroflorasının gelişimini desteklemesi ve gösterdiği prebiyotik etkiler ile kolon sağlığını ve hareketlerini düzenlemesidir. Prebiyotikler, düşük polimerizasyon derecesine sahip sindirilemeyen gıda bileşeni olarak kabul edilmekte ve kolonda bulunan bakteri türlerinin büyümesini ve/veya aktivitesini uyararak konakçıya faydalı etkiler göstermektedir. Araştırmalar, kalın bağırsağa ulaşan DN'nin, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit dahil olmak üzere kısa zincirli yağ asitleri oluşturmak için bağırsak mikroflorası tarafından fermente edilebileceğine dair kanıtlar sağlamıştır (Zhao ve ark., 2011; Xu vd. 2020; Do vd. 2021; Bojarczuk vd. 2022). DN5 diğer DN çeşitleri ile kıyaslandığında oldukça yeni bir konu olmasından dolayı DN5'in kolon mikroflorası üzerindeki prebiyotik etkilerinin araştırıldığı oldukça sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birisinde Qin vd. (2021) DN5'in kolon mikrobiyotası üzerindeki fermentatif kapasitesini *in vitro* yöntemlerle araştırmış ve DN2 ve DN3 ile karşılaştırmalı olarak ortaya koymayı amaçlamıştır. Çalışmada tüm DN tiplerinin insan kolon mikrobiyota bakterileri tarafından fermente edilebildiği ancak DN5 varlığında bütirojenik

aktivitenin önemli oranda arttığı bildirilmiştir. Ayrıca DN5'in diğer DN tipleri ile karşılaştırıldığında *Bifidobacterium*, *Dialister*, *Collinsella*, *Romboutsia* ve *Megamobas* gelişimini seçici olarak daha çok teşvik ettiği rapor edilmiştir.

Araştırmalar, DN tüketiminin *in vivo* olarak toplam serum trigliserit ve kolesterol düzeylerini düşürdüğünü göstermiş olup bu etkisi ile kilo alımının kontrol edilmesi ile obezite riskinin azaltılabileceği belirtilmiştir (De Martino ve Cockburn, 2020). Obezite üzerine DN5'in etkisinin incelendiği çalışmalar konunun yeni olması nedeniyle oldukça sınırlı sayıda kalmıştır. Bu çalışmalardan birisinde Zheng vd., (2021) yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde pirinç nişastası-oleik asit kompleksinin biyolojik ve fizyolojik etkilerini incelemişlerdir. Deneklere yüksek yağlı diyet, jelatinize pirinç nişastası ve pirinç nişastası-oleik asit kompleksi olmak üzere üç farklı diyet sekiz hafta süre ile uygulanmış ve diyet müdahalesinden sonra farelerin vücut ağırlığındaki değişiklikler incelenmiştir. Özellikle yüksek yağlı diyet uygulanan grupta, vücut ağırlığının artması yönünde bariz bir eğilim gözlenmiş olup bu grup deneklerde böbrek üstü yağ ve karaciğer ağırlığı, diğer iki grubunkinden önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır. Jelatinize pirinç nişastası diyeti uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, pirinç nişastası-oleik asit kompleksi takviyesi, farelerin karaciğer ağırlığını önemli ölçüde azaltmıştır. Bu sonuçlar, nişasta-yag asidi kompleksinin karaciğerde yağ birikimini kontrol etmede iyi performans sergilediğini ve böylelikle obezitenin kontrolünde etkili olabileceğini göstermiştir.

SONUÇ

Yeni tip DN çeşidi olan ve nişastanın lipitlerle veya fenolik bileşiklerle katılım kompleksi oluşturması yolu ile üretilen DN5 önemli bir modifiye nişasta ürünüdür. DN5, amiloz-lipit kompleksi ve amiloz-fenolik asit kompleksi olarak elde edilebilmektedir. Lipitler ve fenolik asitler nişasta sindirimini katalizleyen amilaz gr bu enzimleri inhibe ederek veya bu enzimlerin nişasta ile etkileşimlerini azaltarak nişasta sindirimini yavaşlatabilmektedirler. Böylelikle nişastanın serbest glikoza dönüşümü sınırlanmakta ve fizyolojik olarak olumlu etkiler görülmektedir.

DN5 yüksek düzeyde diyet lifi içermesinin yanında çoklu doymamış yağ asitleri veya antioksidan bileşikler de içerdiğinden önemli bir fonksiyonel nişasta kaynağıdır.

Sınırlı sayıda yapılan çalışmalarda DN5'in diğer DN tiplerine göre üstün teknolojik ve fizyolojik özellikleri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Ancak bu çalışmaların çoğunluğu komplekslerin üretim sonrasında herhangi bir gıda prosesine uygulanmadan önceki halleri ile ilgili bilgiler sunmaktadır. Halbuki sınıflandırma fark etmeksizin DN, ilave edildiği ürünün sağlığa faydalı etkilerini iyileştirirken diğer bir taraftan ise tekstürel ve duyuşsal özelliklerinde önemli değişimlere neden olabilmektedir. Tüm bunlara ilaveten farklı biyoaktif bileşenler ile üretilen DN5'in farklı gıda üretim proseslerinde uğradığı değişimler ve fizyolojik özelliklerinin üretim sonrasında korunup korunmadığına ilişkin bilgiler de henüz literatürde mevcut değildir. Bu gibi sebeplerle DN5'in gıda uygulamaları ile ilgili araştırma kapsamının artırılmasının öncelikli olduğu değerlendirilmiştir.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makale literatürlerinin taranmasında, derlenmesinde ve makale yazımında ve yayınlanmasında eşit oranda katkı sağlamışlardır.

ÇIKAR İLİŞKİSİ

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

Ai, Y., Zhao, Y., Nelson, B., Birt, D. F., Wang, T. and Jane, J. L. (2013). Characterization and In Vivo Hydrolysis of Amylose-Stearic Acid Complex. *Cereal Chem*, 91(5): 466-472.

Aleixandre, A., Benavent-Gil, Y., Moreira, R. and Rosell, C. M. (2021) In vitro digestibility of gels from different starches: Relationship between kinetic parameters and microstructure, *Food Hydrocolloid*, 120: 106909.

Bede, D., Zaixiang, L. (2021). Recent developments in resistant starch as a functional food. *Starch*, 73(3-4), 2000139.

Bojarczuk, A., Skapska, S., Khaneghah, A. M., Marszałek, K. (2022). Health benefits of resistant

starch: A review of the literature. *J Funct Foods*, 93: 105094.

Chi, C., Li X., Zhang Y., Chen L., Li L., Wang Z. (2017). Digestibility and supramolecular structural changes of maize starch by non-covalent interactions with gallic acid. *Food Func*, 8: 720-730.

Chi, C., Li, X., Feng, T., Zeng, X., Chen, L., Li, L. (2018). Improvement in nutritional attributes of rice starch with dodecyl gallate complexation: A molecular dynamic simulation and in vitro study. *J Agr Food Chem*, 66: 9282-9290.

Chumsri, P., Panpipat, W., Cheong, L. Z., Chaijan, M. (2022). Formation of intermediate amylose rice starch-lipid complex assisted by ultrasonication. *Food*, 11: 2430.

Cui, J., Zheng, B., Liu, Y., Chen, L., Li, B., Li, L. (2021). Insights into the effect of structural alternations on the digestibility of rice starch-fatty acid complexes prepared by high-pressure homogenization. *Food Sci Technol*, 136: 110294.

De Martino P., Cockburn D.W. (2020). Resistant starch: impact on the gut microbiome and health. *Curr Opin Biotechnol*, 61:66-71.

Deng, N., Deng, Z., Tang, C., Liu, C., Luo, S., Chen, T., Hu, X. (2021). Formation, structure and properties of the starch-polyphenol inclusion complex: A review. *Trend Food Sci Tech*, 112: 667-675.

Di Marco, A. E., Ixtaina, V. Y., Tomás, M. C. (2022). Analytical and technological aspects of amylose inclusion complexes for potential applications in functional foods. *Food Biosci*, 47: 101625.

Do, M.H., Seo, Y.S., Park, H.Y. (2021). Polysaccharides: bowel health and gut microbiota. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 61: 1-13.

Dong, H., Vasanthan, T. (2020). Amylase resistance of corn, faba bean, and field pea starches as influenced by three different phosphorylation (cross-linking) techniques. *Food Hydrocolloid*, 101: 105506.

Fan, H., Chen, Z., Xu, L., Wen, Y., Li, H., Wang, J., Sun, B. (2022). Both alkyl chain length and V-amylose structure affect the structural and digestive stability of amylose-alkylresorcinols

- inclusion complexes. *Carbohydr Polym*, 292: 119567.
- Faruk A. M., Dhital S., Li C., Zhang B., Huang Q. (2018). Effects of palm oil on structural and in vitro digestion properties of cooked rice starches. *Int J Biol Macr*, 07: 1080-1085.
- Garcia- Hernandez, A., Roldan- Cruz, C., Vernon- Carter, E. J., Alvarez- Ramirez, J. (2023). Stale bread waste recycling as ingredient for fresh oven- baked white bread: Effects on dough viscoelasticity, bread molecular organization, texture and starch digestibility. *J Sci Food Agr*, <https://doi.org/10.1002/jsfa.12442>
- Gutierrez A.S.A., Guo J., Feng J., Tan L., Kong L. (2020). Inhibition of starch digestion by gallic acid and alkyl gallates. *Food Hydrocolloid*, 102:105603.
- Guo, Z., Zhao, B., Chen, J., Chen, L. and Zheng, B. (2019). Insight into the characterization and digestion of lotus seed starch-tea polyphenol complexes prepared under high hydrostatic pressure. *Food Chem*, 297: 124992.
- Guo, J., Kong, L. (2021). Inhibition of in vitro starch digestion by ascorbyl palmitate and its inclusion complex with starch. *Food Hydrocolloid*, 121: 107032.
- Guo, J., Shi, L., Kong, L. (2023). Structure-digestibility relationship of starch inclusion complex with salicylic acid. *Carbohydr Polym*, 299: 120147.
- Hasjim, J., Lee, S. O., Hendrich, S., Setiawan, S., Ai, Y. F., Jane, J. L. (2010). Characterization of a novel resistant-starch and its effects on postprandial plasma glucose and insulin responses. *Cereal Chem*, 87: 257-262.
- Hasjim, J., Ai, Y., Jane, J.L. (2013). Novel Applications of Amylose-Lipid Complex as Resistant Starch Type 5. *Resistant Starch: Sources, Applications and Health Benefits*. Eds: Shi, Y.C, Maningat, C.C. John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, UK.
- Han M., Bao W., Wu Y., Ouyang J. (2020), Insights into the effects of caffeic acid and amylose on in vitro digestibility of maize starch-caffeic acid complex. *Int J Biol Macr*, 162: 922-930.
- Hay, W. T., Behle, R. W., Fanta, G. F., Felker, F. C., Peterson, S. C., Selling, G. W. (2017). Effect of spray drying on the properties of amylose-hexadecylammonium chloride inclusion complexes. *Carbohydr Polym*, 157: 1050-1056.
- Hernandez, H. A. R., Gutiérrez, T. J., Bello-Pérez, L. A. (2022). Can starch-polyphenol V-type complexes be considered as resistant starch?. *Food Hydrocolloid*, 124: 107226.
- Jiang, F., Du, C., Jiang, W., Wang, L., Du, S. K. (2020). The preparation, formation, fermentability, and applications of resistant starch. *Int J Bio Macr*, 150: 1155-1161.
- Kaimal, A. M., Mujumdar, A. S., Thorat, B. N. (2021). Resistant starch from millets: Recent developments and applications in food industries. *Trend Food Sci Tech*, 111: 563-580.
- Kan L., Capuano E., Oliviero T., Renzetti S. (2022). Wheat starch-tannic acid complexes modulate physicochemical and rheological properties of wheat starch and its digestibility. *Food Hydrocolloid*, 126: 107459.
- Kang, X., Gao, W., Wang, B., Yu, B., Guo, L., Cui, B., Abd El-Aty, A. M. (2021). Effect of moist and dry-heat treatment processes on the structure, physicochemical properties, and in vitro digestibility of wheat starch-lauric acid complexes. *Food Chem*, 351: 129303.
- Li, X., Gao, X., Lu, J., Mao, X., Wang, Y., Feng, D., Gao, W. (2019). Complex formation, physicochemical properties of different concentration of palmitic acid yam (*Dioscorea pposita* Thunb.) starch preparation mixtures. *Food Sci Technol*, 101: 130-137.
- Li, M., Ndiaye, C., Corbin, S., Foegeding, E. A., Ferruzzi, M. G. (2020). Starch-phenolic complexes are built on physical CH- π interactions and can persist after hydrothermal treatments altering hydrodynamic radius and digestibility of model starch-based foods. *Food Chem*, 308: 125577.
- Li, Q., Dong, Y., Gao, Y., Du, S. K., Li, W., Yu, X. (2021). Functional properties and structural characteristics of starch-fatty acid complexes prepared at high temperature. *J Agr Food Chem*, 69: 9076-9085.

- Lu, X., Shi, C., Zhu, J., Li, Y. and Huang, Q. (2019). Structure of starch-fatty acid complexes produced via hydrothermal treatment. *Food Hydrocolloid*, 88: 58-67.
- Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M. C., Brunton, N., Gibney, E. R. and Lyng, J. (2021). Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chem*, 338: 128119.
- Pivetta, F. P., Silva, M. N. D., Tagliapietra, B. L., Richards, N. S. D. S. (2019). Addition of green banana biomass as partial substitute for fat and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* in requeijão cremoso processed cheese. *Food Sci Technol*, 40: 451-457.
- Putseys, J. A., Lamberts, L. and Delcour, A. J. (2010). Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. *J Cereal Sci*, 51: 238-247.
- Qin, R., Wang, J., Chao, C., Yu, J., Copeland, L., Wang, S., Wang, S. (2021). RS5 produced more butyric acid through regulating the microbial community of human gut microbiota. *J Agr Food Chem*, 69: 3209-3218.
- Sinhmar, A., Pathera, A. K., Sharma, S., Nehra, M., Thory, R., Nain, V. (2023). Impact of Various Modification Methods on Physicochemical and Functional Properties of Starch: A Review. *Starch*, 75: 2200117.
- Sudlapa, P., Suwannaporn, P. (2023). Dual complexation using heat moisture treatment and pre-gelatinization to enhance Starch-Phenolic complex and control digestibility. *Food Hydrocolloid*, 136: 108280.
- Sun S., Hong Y., Gu Z., Cheng L., Li Z., Li C. (2019). An investigation into the structure and digestibility of starch-oleic acid complexes prepared under various complexing temperatures. *Int J Biol Macr*, 138: 966-974.
- Sun, L., Miao, M. (2020). Dietary polyphenols modulate starch digestion and glycaemic level: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 60:541-555.
- Tan, L., Kong, L. (2020). Starch-guest inclusion complexes: Formation, structure, and enzymatic digestion. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 60: 780-790.
- Tang J., Liang Q., Ren X., Raza H., Ma H. (2022). Insights into ultrasound-induced starch-lipid complexes to understand physicochemical and nutritional interventions. *Int J Biol Macr*, 222: 950-960.
- Tufvesson F., Wahlgren M., Eliasson A.C. (2003). Formation of amylose-lipid complexes and effects of temperature treatment. *Starch*, 55: 61-71.
- Wang, S., Zheng, M., Yu, J., Wang, S., Copeland, L. (2017). Insights into the formation and structures of starch-protein-lipid complexes. *J Agr Food Chem*, 65(9): 1960-1966.
- Wang S., Wu T., Cui W., Liu M., Wu Y., Zhao C. (2020). Structure and in vitro digestibility on complex of corn starch with soy isoflavone. *Food Sci Nutr*, 8: 6061-6068.
- Xu J., Ma Z., Li, X. Liu L., Hu X. (2020). A more pronounced effect of type III resistant starch vs. type II resistant starch on ameliorating hyperlipidemia in high fat diet-fed mice is associated with its supramolecular structural characteristics. *Food Funct*, 11: 1982-1995.
- Zhang B., Huang Q., Luo F.x., Fu X. (2012). Structural characterizations and digestibility of debranched high-amylose maize starch complexed with lauric acid. *Food Hydrocolloid*, 28: 174-181.
- Zhao, Y. S., Hasjim, J., Li, L., Jane, J. L., Hendrich, S., Birt, D. F. (2011). Inhibition of Azoxymethane-Induced Preneoplastic Lesions in the Rat Colon by a Cooked Stearic Acid Complexed High-Amylose Cornstarch. *J Agr Food Chem*, 59: 9700-9708.
- Zheng Y., Yin X., Kong X., Chen S., Xu E., Liu D. (2021). Introduction of chlorogenic acid during extrusion affects the physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of rice flour. *Food Hydrocolloid*, 116: 106652.



ETİLEN TUTUCU İÇEREN AKTİF AMBALAJLAMANIN VE DEPOLAMA SICAKLIĞININ KİRAZ DOMATESİN HASAT SONRASI KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Tuncay Tiribolulu, Zehra Ayhan*

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

Geliş / Received: 27.03.2023; Kabul / Accepted: 15.08.2023; Online baskı / Published online: 28.08.2023

Tiribolulu, T., Ayhan, Z. (2023). Etilen tutucu içeren aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin hasat sonrası kalitesi üzerine etkileri. GIDA (2023) 48 (5) 934-951 doi: 10.15237/gida.GD23042

Tiribolulu, T., Ayhan, Z. (2023). The influence of ethylene scavenging-active packaging and storage temperature on post harvest quality of cherry tomatoes. GIDA (2023) 48 (5) 934-951 doi: 10.15237/gida.GD23042

ÖZ

Bu çalışmanın amacı kiraz tipi domatesin (*Lycopersicon esculentum* L.) hasat sonrası kalitesi ve raf ömrüne etilen tutucu-aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının etkisinin belirlenmesidir. Kiraz tipi domates, yapısında etilen tutucu katkı içeren düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) ambalajda ve katkısız LDPE ambalajda pasif modifiye atmosfer paketlenme (MAP) altında, 4°C ve 10°C'de %60 bağıl nemde 32 gün süreyle depolanmıştır. Ambalajsız domates kontrol grubunu oluşturmuştur. Depolama sürecinde tepe boşluğu oksijen, karbondioksit ve etilen konsantrasyonu, ağırlık kaybı, fiziksel analizler (renk, tekstür), kimyasal analizler (%briks, pH, titrasyon asitliği, likopen) ve duyu analizi gerçekleştirilmiştir. Aktif ambalajlanmış kiraz domatesinde 4°C'de %6.5 oksijen oranında denge atmosferi sağlanmıştır, ancak 10°C'de oksijen oranı riskli seviyenin (%2'nin) altına düşmüştür. Depolama sonunda en az etilen üretimi 4°C'de etilen tutucu içeren aktif ambalajlarda gerçekleşmiştir. Fiziksel, kimyasal ve duyu analiz sonuçları da dikkate alındığında etilen tutucu içeren aktif ambalajlarda kiraz domatesin 4°C'de 32 gün raf ömrüne sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Aktif ambalajlama, depolama sıcaklığı, etilen tutucu, hasat sonrası kalite, kiraz domates, raf ömrü, soğuk zararı

THE INFLUENCE OF ETHYLENE SCAVENGING-ACTIVE PACKAGING AND STORAGE TEMPERATURE ON POST HARVEST QUALITY OF CHERRY TOMATOES

ABSTRACT

The influence of ethylene scavenging-active packaging and storage temperature on the postharvest quality and shelf life of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* L.) was investigated. The tomatoes were packaged with ethylene absorber incorporated LDPE bags and control LDPE under passive modified atmosphere (MAP), and stored at 4°C and 10°C and 60% relative humidity for 32 days. Unpackaged products were the control groups. During storage, headspace gas analysis, ethylene concentration, mass loss, physical (color and texture) and chemical analyses (brix, pH, titratable acidity, lycopene) and sensory evaluation were performed. Active packages were successfully reached

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: zehraayhan@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 3858

☎: (+90) 264 295 5601

Tuncay Tiribolulu; ORCID no: 0009-0008-9867-1983

Zehra Ayhan; ORCID no: 0000-0001-9114-4445

equilibrium atmosphere with 6.5% oxygen content (O_2 %) at 4°C. However, O_2 % decreased below critical level of 2% at 10°C. The minimum ethylene concentration was determined in active packages at 4°C. In conclusion, considering physical, chemical and sensory properties, the shelf life of the cherry tomatoes was suggested as 32 days at 4°C in active packages.

Keywords: Active packaging, cherry tomato, chilling injury, ethylene scavengers, post-harvest quality, shelf life, storage temperature

GİRİŞ

Gerek üretim hacmi, gerekse beslenmedeki ayrıntılı katkısı dolayısıyla dünyadaki en önemli tarımsal ürünlerden biri olan domates, taze veya işlenmiş olarak kullanılabilir (Kadalk vd., 2001). Domates gibi hasattan sonra renk değişimi ile birlikte, tadı değişen ve yumuşayan meyveler klimakterik meyveler olarak adlandırılmakta ve bu meyvelerde olgunlaşma ile birlikte, solunum ve etilen üretimi de artmaktadır (Kasım ve Kasım, 2007). Domates gibi meyvelerin en önemli özellikleri, hasat yapıldıktan sonra canlılıklarını ve fizyolojik olarak solunumlarını devam ettirmeleridir (Sousa vd., 2017). Solunumda alınan oksijen, hücrenin yapısında bulunan nişasta, şeker ve organik asit gibi karmaşık bileşiklerin yavaş bir hızla oksidasyonu için kullanılırken; çevreye karbondioksit (CO_2 , su ve etilen gibi bazı uçucu metabolizma ürünleri ile bir miktar ısı bırakırlar. Meyve ve sebzelerde solunumun devam etmesi sonucunda ortama verilen etilen ve CO_2 gibi ürünler kontrol altına alınmadığı takdirde bir süre sonra üründe su ve renk kayıpları yanı sıra olgunlaşmanın da hızlanmasına neden olmakta, bu da ürünün raf ömrünü kısaltmaktadır (Batu, 1999). Dolayısıyla domateste hasat sonrası muhafaza teknolojilerinde, solunum hızının yavaşlatılması ve etilen üretiminin kontrol edilmesi çok önemlidir (Fagundes vd., 2015).

Solunum hızı ne kadar yavaş olursa ürünün olgunlaşması, yumuşaması ve genel olarak bozulması yavaşlamaktadır (Sousa vd., 2017; Demir, 2015). Solunumu etkileyen en önemli faktörlerden birisi sıcaklıktır. Ancak her bahçe ürününün tolere edebileceği bir sıcaklık derecesi vardır. Hasat sonrası dönemde ürün kayıplarına neden olan önemli fizyolojik bozulmalardan birisi soğuk zararlanmasıdır. Soğuk zararlanmasının ana nedeni, hücre membranının zarar görmesidir. Bu da etilen üretimi, solunumun hızlanması, fotosentezde azalma, enerji üretiminde sorunlar,

etanol ve asetaldehit gibi bileşiklerin birikimine yol açar (Küşümler, 2011; Halloran vd., 1996).

Domates düşük sıcaklıklarda depolandığında soğuk hassasiyetine sahip bir üründür ve 10°C'nin altındaki sıcaklıklara maruz kaldığında üşüme zararına uğrayabilmektedir. Üşüme zararı ürünlerde buruşmaya, siyah ve beyaz noktalara ve sararmaya sebebiyet vermektedir. 15°C'nin üzerinde ise çürümelere ve sararmalara neden olduğu belirtilmiştir. Bu sebeplerle ürünlerin muhafazası için kritik sıcaklıkların dışına çıkılması ürünlerde kalite kayıplarına yol açmaktadır (Li ve vd., 2014; Kasım ve Kasım, 2007; Sabır ve Ağar, 2008). Bu kalite kayıplarının önüne geçilebilmesi için MAP gibi ambalajlama teknolojileri uygulanmaktadır (Farber vd., 2003).

MAP meyve ve sebzelerde üşüme zararını hafifletmek için kullanılan yöntemlerden biridir. Modifiye atmosferin, solunum hızını, etilen üretimini, etanol ve asetaldehit birikimini ve su kaybını azaltarak soğuk zararının önlenmesinde faydalı olduğu tespit edilmiştir (Fahmy ve Nakano, 2014). MAP'ta ambalaj içi atmosfer bileşimi ürüne uygun olarak değiştirilerek olgunlaşmayı yavaşlatmakta ve bu nedenle birçok meyve ve sebzelerin hasat sonrası ömrünü uzatmak için muhafaza, taşıma ve dağıtım sürecinde kullanılmaktadır (Şen vd., 2016). Ancak taze meyve ve sebzelerin raf ömrünün uzatılması ve kalite kayıplarının önlenmesinde MAP kullanımının tek başına yeterli olmadığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda MAP'ın aktif ambalajlama ile beraber kullanılmasının ürünlerdeki kalite kayıplarını en aza indirdiği ve raf ömrünün uzatıldığı tespit edilmiştir (Ayhan, 2010; 2019).

Aktif ambalajlama, emici veya yayıcı sistemlerdir ve poşetlerde (şase olarak), veya doğrudan ambalaj malzemesine dâhil edilerek uygulanmaktadır. Önemli aktif ambalajlama

sistemleri; etilen tutucular, oksijen tutucular, etanol yayıcılar, karbondioksit tutuculardır ve antimikrobiyal ambalajlamadır (Charles vd., 2004; Ayhan 2010). Meyve ve sebze grubu ürünlerin raf ömrünün uzatılmasında ürünün etilen gazı üretiminin baskılanması veya üretilen etilenin ise ortamdaki uzaklaştırılması en önemli hususlardan biridir (Li vd., 2014). Bu amaçla etileni absorbe eden çeşitli etilen tutuculardan yararlanılmaktadır. Zeolit, potasyum permanganat ve paladyum gibi bileşikler etilen tutucu maddeler olup bunlardan en yaygın kullanılanı zeolittir (Yıldırım vd., 2018).

Domates yüksek sıcaklık derecelerinde muhafaza edildiğinde hızlı bozulması, hem etilen hem de soğutma sıcaklıklarına (10°C altı) karşı hassas olması nedeniyle, hasat sonrası kaliteyi korumak ve raf ömürlerini uzatmak için farklı ambalajlama teknolojilerine ihtiyaç vardır (Li vd., 2014). Bu tür gıdaların muhafazası ile ilgili çalışmaların büyük bir bölümünde kontrollü atmosferde depolama üzerine çalışılmış, özellikle etilen tutucu içeren ambalaj malzemesinin kullanımına yönelik çalışmalar daha sınırlı sayıda kalmıştır (Sezer vd., 2017).

Bu çalışmada etilen tutucu içeren aktif polietilen (PE) ambalaj ile farklı depolama sıcaklığının pasif modifiye atmosfer paketlenme altında kiraz domatesin hasat sonrası fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerine ve raf ömrüne etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan kiraz domates 1 gün önce meyve sebze halinden tedarik edilmiştir. Çalışmada 2 farklı ambalaj materyali kullanılmıştır. Yapısında etilen tutucu içeren düşük yoğunluklu polietilen (aktif LDPE) ambalajlar PEAKfresh (Peakfresh Products, Almanya) firmasından tedarik edilmiştir. PEAKfresh ambalajın kalınlığı 25 µm, oksijen geçiş hızı (OTR) 22°C ve % 0 bağıl nemde 23000-24000 cc/m²/gün, su buharı geçiş hızı (WVTR) 22°C ve % 90 bağıl nemde 25-27 g/m²/gün, etilen tutma oranı 22°C ve % 90 bağıl nemde 3900 cc/m²/gün'dür. Katkısız LDPE ambalaj filmi Sümer Plastik A.Ş.' den (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir. Ambalaj filminin

kalınlığı 25µm, oksijen geçiş hızı (OTR, 22°C ve %0 bağıl nemde) 4500 cc/m²/gün, su buharı geçiş hızı (WVTR, 37.8±1.1°C ve %90 bağıl nemde) 7.36 g/m²/gün'dür.

Yöntem

Ürünlerin Hazırlanması ve Ambalajlanması

Katkısız LDPE, bobin olarak temin edilmiş olup ısı yapıştırma makinesi (ME-400 CFN, Mercier Corporation, Tayvan) ile 100°C'de yapıştırılarak torba ambalaj haline getirilmiştir. Elde edilen ambalaj boyutları 17×20 cm² dir. Torba haline getirilen ambalajlarda ısı kaynak sızdırmazlığı boya penetrasyon testi (sızdırmazlık) ile belirlenmiştir (Arndt, 2001).

Kullanılacak atmosfer koşullarının belirlenmesi amacıyla çalışmaya başlamadan önce ambalajlarda denge atmosferi sağlamak amacıyla ön denemeler yapılmıştır. Ön denemelere göre ürün:tepe boşluğu oranı ve uygulanacak atmosfer koşulları belirlenmiştir. Ön denemelerde aktif ve pasif modifiye atmosfer koşullarında 1:1 ve 1:1,5 ürün:tepe boşluğu oranları denenmiştir. Ön denemelerde elde edilen sonuçlar ışığında 1:1 tepe boşluğunda pasif MAP (%79 N₂ and %21 O₂) uygun bulunmuştur. Kiraz domates (450 ± 50 g) etilen tutucu içeren LDPE (Peakfresh, P4°C ve P10°C) ve katkısız LDPE (ambalajlı kontrol, K4°C ve K10°C) ile ambalajlanmıştır. Ambalajsız domatesler (açık kontrol, A4°C ve A10°C) ikinci kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Hazırlanan domates ambalajları tek odalı ambalajlama makinesi (Reepack rv 300, İtalya) kullanılarak pasif MAP (%21 O₂, %79 N₂) altında kapatılmıştır. Ambalajlı domatesler iki gruba, ayrılarak 4° ve 10°C'de muhafaza edilmiştir. Muhafazanın 0, 8, 16, 24 ve 32. günlerinde kalite analizleri gerçekleştirilmiştir. Her analiz günü için her uygulamadan 3 paralel hazırlanmıştır. Ağırlık kaybı ölçümleri için her uygulamadan 3 paralel farklı bir set olarak hazırlanmıştır.

Ağırlık Kaybı

Depolama öncesi ağırlıkları belirlenen örneklerin ağırlığı her analiz gününde ±0.1 g hassasiyetindeki terazi (Sartorius, GE 2101, Almanya) ile tartularak yüzde (%) ağırlık kaybı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Denklem 1).

$$\% \text{ Ağırlık Kaybı} = \frac{0.\text{gün örnek ağırlığı} - \text{analiz günü örnek ağırlığı}}{0.\text{gün örnek ağırlığı}} \times 100 \quad (1)$$

Tepe Boşluğu Oksijen, Karbondioksit ve Etilen Konsantrasyonu Analizi

Analiz günlerinde tepe boşluğu oksijen ve karbondioksit (%v/v) konsantrasyonları gaz analizörü (Witt Oxybaby, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Ambalajın üzerine ölçüm öncesinde yapıştırılan septumdan analizörün iğnesi ile girilerek ölçüm yapılmıştır. Her bir paralelden 2 ölçüm yapılmış olup, her uygulama için 6 ölçümün ortalaması alınmıştır (Sezer ve Ayhan, 2017).

Etilen konsantrasyonunun belirlenebilmesi için %99 saflığında etilen gazı içeren tüpten 5 farklı konsantrasyon olacak şekilde (20 µL etilen standardı+ 80 µL hava, 40 µL etilen standardı+ 60 µL hava, 60 µL etilen standardı+ 40 µL hava, 80 µL etilen standardı+ 20 µL hava, 100 µL etilen standardı) 100 µL gaz kaçırmaz şırınga ile çekilmiş ve alev iyonizasyon dedektörüne (FID) sahip gaz kromatografisine (GC) (Shimadzu, Model GC-2010, Japonya) enjekte edilmiş ve 5 farklı konsantrasyonun alkonma süreleri dikkate alınarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem kullanılarak ambalajlanan örneklerde tepe boşluğu etilen konsantrasyonu (ppm) belirlenmiştir. Ambalaj içindeki etilen gaz konsantrasyonunu belirlemek için ambalajlı kontrol ve PEAKfresh ambalajdan gaz kaçırmaz şırınga ile 1 mL etilen gaz örneği alınarak etilen konsantrasyonu gaz kromatografisi ile belirlenmiştir (Tian vd., 2004). GC' de kolon olarak Poropak-Q (1.8m) kullanılmıştır. Kullanılan kromatografik koşullar: Taşıyıcı gaz; azot, fırın sıcaklığı; 50°C, enjektör sıcaklığı; 210°C, dedektör sıcaklığı: 250°C olarak ayarlanmıştır.

Fiziksel Analizler

Domateste fiziksel analiz olarak renk ve tekstür ölçümü yapılmıştır. Renk ölçümünde her bir paralelden 3 meyve alınarak karşılıklı orta noktasından iki ölçüm, renk ölçüm cihazı (PCE-CSM 7, Meschede, Almanya) ile yapılmış olup, L*

(L= 0 siyah, L= 100 beyaz), a* (-a= yeşillik, +a= kırmızılık) ve b* (-b=mavilik, +b= sarılık) değerleri belirlenmiştir (Guine vd., 2014). Her ambalajdan 3 örnek alınmış olup, her bir uygulama için 18 ölçümün ortalaması hesaplanmıştır.

Üründe meydana gelen yumuşama ve sertleşmeyi belirlemek için tekstür analizi yapılmıştır. Her bir domatesin karşılıklı 2 noktasında 2mm çapında silindirik prob ve 5mm/s hız ve 7mm penetrasyon mesafesi kullanılarak tekstür analiz cihazı (TA.XT Plus, İngiltere) ile ölçüm yapılmıştır (Choi vd., 2015). Elde edilen maksimum penetrasyon kuvveti (N) ürünün yumuşaklık/sertliğinin ifade edilmesinde kullanılmıştır. Her bir paralelden 3 domates alınmış olup, her uygulama için 18 ölçümün ortalaması alınmıştır.

Kimyasal Analizler

Kimyasal analizlerden suda çözünür kuru madde miktarı (SÇKM), pH ölçümü ve titrasyon asitliği AOAC (2005)'e göre yapılmıştır. Ayrıca domateste likopen konsantrasyonu (Choi vd., 2014) ölçülmüştür. Her paralelden 2 ölçüm yapılmış, her uygulama için 6 ölçümün ortalaması alınmıştır. Kimyasal analizler için öncelikle her bir ambalajdan 3 domates alınarak karıştırıcı (Waring, Almanya) yardımıyla homojenize edilmiştir. Kimyasal analizlerde her paralelden 2 ölçüm yapılmış ve her uygulama için 6 ölçümün ortalaması alınmıştır.

Suda çözünür kuru madde miktarı (%briks)

Suda çözünür kuru madde (SÇKM) tayini için homojenize edilen örneklerden refraktometreye (Atago N-50, Japonya) 1-2 damla alınarak okunan değer, %Briks olarak ifade edilmiştir...

pH analizi

pH ölçümleri için homojenize edilen çözeltilerden 20g alınıp 200mL'lik balon jodede saf su ile çizgisine kadar tamamlanmış ve ardından hazırlanan çözelti filtre kâğıdından geçirilmiştir. Oluşan çözeltilerden bir behere 20 ml alınarak pH metre (WTW-315i, Weilheim, Almanya) ile ölçüm yapılmıştır.

Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği (%) için homojenize edilen çözeltilerden 20 g alınıp 200 ml'lik balon jode saf su ile çizgisine kadar tamamlanmış ve ardından hazırlanan çözeltiler filtre kâğıdından geçirilmiştir. Oluşan çözeltilerden 25 ml bir erlene alınarak 0.1N NaOH ile pH 8.1'e kadar titre edilmiş ve % sitrik asit cinsinden titrasyon asitliği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Denklem 2).

$$\text{Titrasyon Asitliği \%} = \frac{V \cdot F \cdot E \cdot 100}{M} \quad (2)$$

V: Harcanan NaOH miktarı, ml

F: 0.1 N Baz çözeltisinin faktörü

E: 1 ml 0.1 N NaOH'in eşdeğeri asit miktarı, g

M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı, ml veya g

Likopen konsantrasyonu

Likopen analizi için homojenize edilen domatesten 1g örnek alınmıştır. Alınan örneğe 2:1:1 oranında 16 ml'lik hekzan/etanol/aseton karışımı ilave edilmiştir. 1 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalanmasının ardından tüpe 1 ml deiyonize su ilave edilmiş ve 3 dk çalkalanmıştır. Numuneler daha sonra her iki fazın ayrılması için oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiş ve oluşan üst tabaka UV-vis spektrofotometresinde 503 nm'de absorbansı okunarak aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (Denklem 3) (Choi vd., 2015).

$$\text{Likopen (mg/kg)} = \frac{A_{503} \cdot 536,9 \cdot 16 \cdot 0,5}{1 \cdot 172} \quad (3)$$

A_{503} , 503 nm'de ölçülen absorbans olup, likopenin molekül ağırlığı 536.9 g/mol, karışım solventinin hacmi 16 ml, solventte altta kalan ile üst kısmın birbirine oranı 0.5, hekzan içinde likopen için molar sönümlenme katsayısı (extinction coefficient) 172 mM^{-1} , eklenen domates miktarı 1 g olarak alınmıştır.

Duyusal Değerlendirme

Her analiz gününde renk, tat, tekstür, koku ve genel ürün beğenisi deneyimli 6 panelist tarafından 1-5 dereceli skalada değerlendirilmiştir. Yüzey rengi değerlendirmesinde (1 = çok kötü/buruşuk/reng kaybı, 3 = kabul edilebilir, 5 = çok iyi/pürüzsüz/istenen kırmızı renk), tekstür değerlendirmesinde (1 = yumuşak, 3 = orta, 5 = sıkı/sert), tat değerlendirmesinde (1 = bozuk/istenmeyen tat/tat kaybı, 3 = kabul edilebilir, 5 = istenen/yoğun ürün tadı), genel

ürün beğenisi (1 = hiç beğenmedim, 3 = kabul edilebilir, 5 = çok beğendim) olarak belirlenmiştir.

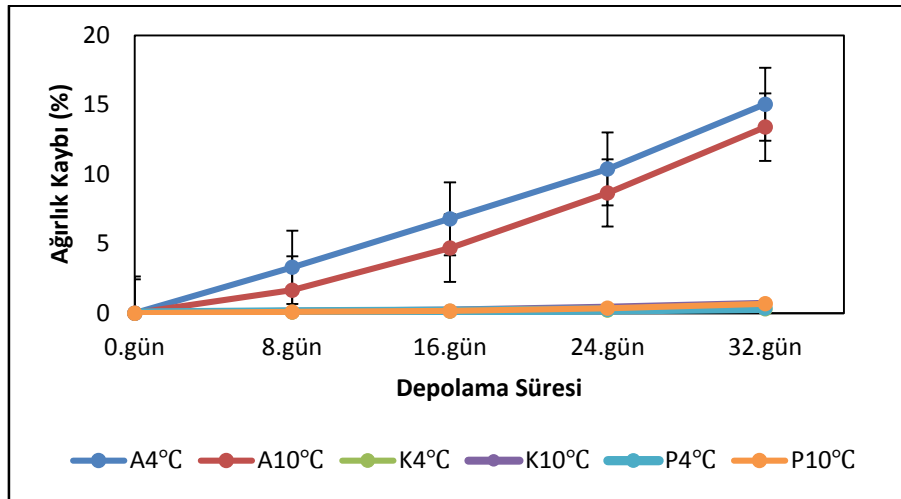
İstatistiksel Analiz

Çalışma parametrelerinin (uygulama, sıcaklık ve depolama süresi) incelenen ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyusal kalitesi üzerindeki etkileri IBM SPSS 20 istatistik programı kullanılarak varyans analizi ile belirlenmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen istatistik analiz sonuçları $P \leq 0.05$ önem düzeyine göre değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Ağırlık Kaybı

Aktif ambalajlama ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin ağırlık kaybı (%) üzerine etkisi Şekil 1.'de verilmiştir. Ağırlık kaybı taze meyve ve sebzelerde ekonomik kayıp ve raf ömrünün kısalması ve birçok biyokimyasal olayı etkilemesi nedeniyle önemli bir parametredir. Ağırlık kaybı artışı ile meyve albenisi ve pazar kalitesi de olumsuz etkilenmektedir (Sezer vd., 2017). Ağırlık kaybı 4°C 'de depolanan, etilen tutucu içeren LDPE ve katkısız LDPE gruplarda sırasıyla %0.35 ve %0.30'dur. 10°C 'de depolanan gruplarda ise katkılı ve katkısız LDPE gruplarda sırasıyla %0.68 ve %0.67 bulunmuştur. Ambalajsız gruplarda ise 4° ve 10°C 'de sırasıyla %15.04 ve %13.39'dur. Ambalajsız ürünlerde meydana gelen yüksek düzeydeki ağırlık kaybına yüzeyden gerçekleşen su kaybı yol açmaktadır. Ambalajlı gruplarda gerçekleşen ağırlık kaybı ihmal edilebilecek düzeyde bulunmuştur ve istatistiksel açıdan aralarında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($P > 0.05$). Choi vd. (2015) yaptıkları çalışmada kiraz tipi domatesteki çalışmamıza benzer bir şekilde 9 günlük depolama sonunda kontrol grubunda %3 ağırlık kaybı bulurken, pasif MAP ile ambalajlanan grupta ihmal edilebilecek düzeyde ağırlık kaybı gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Ağırlık kaybının ambalajlı gruplarda düşük olması kullanılan PE bazlı malzemelerin nem geçirgenliğinin düşük olması ile ilişkilendirilebilir. Genellikle ambalajsız olarak satışa sunulan kiraz tipi domateslerde %10 ve üzerinde gerçekleşen ağırlık kaybının çok önemli ekonomik kayıplara neden olduğu belirtilmiştir (Sezer vd., 2017).



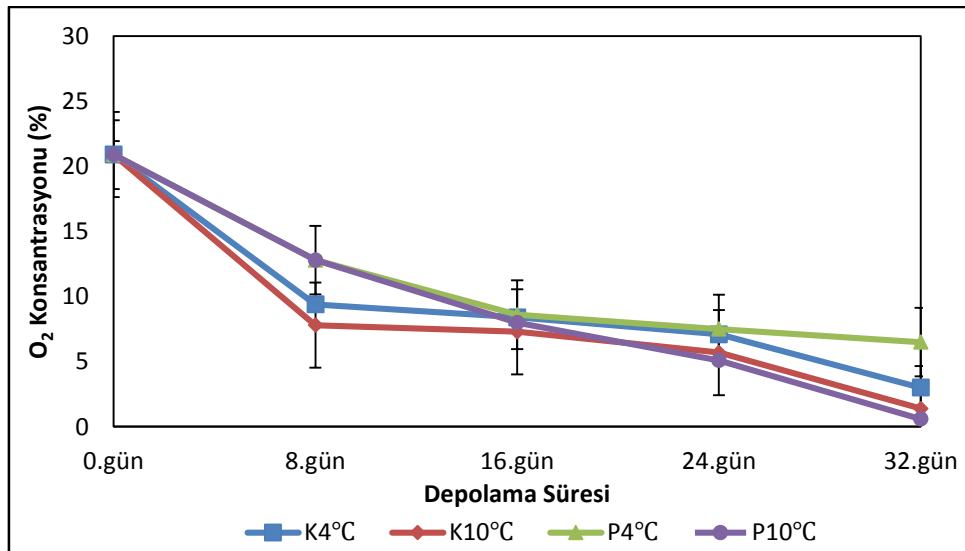
Şekil 1. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin ağırlık kaybına etkisi (A4°C:4°C'de ambalajsız, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE K10°C: 10°C'de katkısız LDPE P4°C: 4°C'de etilen tutucu içeren LDPE P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE)

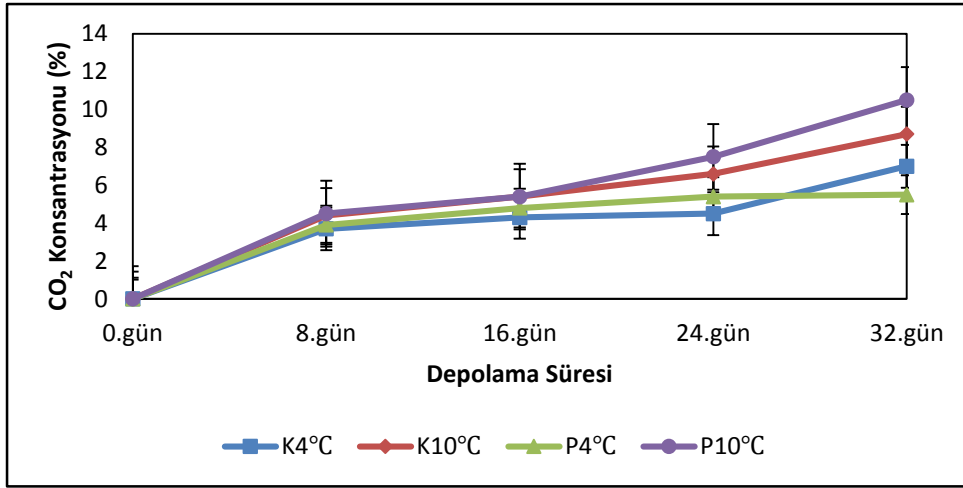
Figure 1. The effects of active packaging and storage temperature on mass loss of cherry tomatoes (A4°C: unpackaged at 4°C, A10°C: unpackaged at 10°C, K4°C: control LDPE without additive at 4°C, K10°C: control LDPE without additive at 10°C, P4°C: active LDPE with ethylene scavenger at 4°C, P10°C: active LDPE with ethylene scavenger at 10°C)

Tepe Boşluğu Gaz Bileşimi

Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının tepe boşluğundaki oksijen (% O₂) ve karbondioksit (CO₂) üzerine etkileri Şekil 2'de verilmiştir. Domates gibi hasat sonrası

solunumunu devam ettiren meyve-sebze grubu ürünlerde oksijen seviyesinin anaerobik fermentasyonun başlamasına neden olabilecek %2 düzeyinin üzerinde kalması ve denge atmosferin oluşması amaçlanmıştır.





Şekil 2. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin tepe boşluğu oksijen ve karbondioksit oranına etkisi (K4°C: 4 °C'de katkısız LDPE, K10°C: 10 °C'de katkısız LDPE, P4°C: 4 °C'de etilen tutucu içeren LDPE, P10°C: 10 °C'de etilen tutucu içeren LDPE)

Figure 2. The effects of active packaging and storage temperature on headspace oxygen and carbon dioxide (K4°C: control LDPE without additive at 4°C, K10°C: control LDPE without additive at 10°C, P4°C: active LDPE with ethylene scavenger at 4°C, P10°C: active LDPE with ethylene scavenger at 10°C)

Şekil 2'de görüldüğü gibi %O₂ konsantrasyonu tüm uygulamalarda 8. günde hızlı bir düşüş göstermiştir. 10°C'de depolanan ambalajlı ürünlerde depolamanın sonunda O₂ seviyesinin kritik değer olan %2'nin altına düştüğü görülmüştür. 10°C'de domateslerin solunum hızının artmasına bağlı olarak oksijen tüketiminin artması sebebiyle oksijen oranı açısından depolama boyunca denge atmosfer oluşmamıştır. 4°C'de katkısız LDPE ile ambalajlanan (K4°C) ürünlerde ise depolama boyunca denge atmosfer sağlanamamıştır. 24. günün ardından %O₂ seviyesinde önemli derecede düşüş meydana gelmiştir. 24. günde %7.1 olan O₂ seviyesi depolamanın sonunda %3'e düşmüştür. Depolamanın 24. gününden itibaren bu grupta etilen konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak ürünün solunumu hızlanmış ve O₂ seviyesinin düşmesine neden olmuştur. 4°C'de etilen tutucu içeren LDPE ile ambalajlanan (P4°C) ürünlerde ise 16.günde denge atmosfer sağlanmış olup O₂ oranı 32. günde %6.5'te kalmıştır. Zeolit içeren LDPE'nin yüksek oksijen geçirgenliğine sahip olması, etilenin ortamdaki uzaklaştırılması ve 4°C'de ürünün solunum hızının daha düşük olması gibi nedenlerle ambalaj içerisindeki oksijen seviyesi kritik seviyenin (%2) altına düşmemiştir.

Genellikle pasif MAP'ta denge atmosferin sağlanması için solunumun yavaşlaması ve CO₂'nin belli bir miktar artıp. O₂'nin azalması istenir (Maleki vd., 2018). Çalışmamızda bu etkiye 4°C'de etilen tutucu içeren aktif LDPE ambalajlarda (P4°C) ulaşılmıştır.

Şekil 2 incelendiğinde ise başlangıçta %0 olan CO₂ seviyesi depolamanın 16.gününde tüm uygulamalarda %5 seviyesindeyken depolamanın sonunda sadece P4 °C uygulamasında %5 seviyesinde kalmıştır. Katkısız kontrol ambalajda malzemenin geçirgenliğinin daha düşük olması ve ürünün solunumu nedeniyle %CO₂'nin arttığı düşünülmektedir. P4°C grubunda ise malzemenin OTR'sinin daha yüksek olması ve etilen tutucunun varlığı ürünün solunum hızını kontrol altına almış ve CO₂ konsantrasyonunun artmasına engel olmuştur. P10°C uygulamasında ise sıcaklık artışına bağlı olarak ürünün solunum hızının arttığı ve buna bağlı olarak %CO₂'nin arttığı düşünülmektedir.

Domateste tepe boşluğu gaz analizi sonuçları incelendiğinde 4°C'de depolanan ambalajlarda (K4°C ve P4°C) oksijen seviyesi %2'nin üzerinde kalmıştır. Ancak katkısız LDPE ile ambalajlanan

grupta denge atmosfer oluşmamıştır. Etilen tutucu içeren LDPE ile ambalajlanan grupta solunum yavaşladığı ve etilen konsantrasyonu kontrol altına alındığı için denge atmosfer oluşmuştur. Demir (2015) yaptığı çalışmada aktif ve pasif modifiye atmosfer paketlenme altında kiraz domatesleri etilen tutucu şase içeren ve içermeyen polietilen ile ambalajlamışlardır. 28 günlük depolama sonunda etilen tutucu içeren pasif ambalajlarda O₂ düşüşünün yavaş gerçekleştiği belirtilmiştir. Etilen tutucu içeren uygulamalarda O₂ konsantrasyonu düşüşünde görülen bu farklılık etilen tutucu içeren ürünün solunum ve olgunlaşma üzerinde etkili olan etilenin ortamdaki uzaklaştırılarak solunumun yavaşlatılması, bunun sonucunda da O₂ kullanımının daha az olması ile açıklanmaktadır. Aktif modifiye atmosfer paketlenmede ise başlangıçtaki %5 O₂ konsantrasyonunun depolama sonunda %2.3'e düştüğü gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada etilen tutucu içeren ve içermeyen tüm gruplarda CO₂ oranının %9-10 aralığında değiştiği ve etilenin CO₂ üzerinde bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Tüm gruplarda CO₂ oranındaki yükselmenin mikrobiyal yükün artmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Ancak bu çalışmada etilen konsantrasyonu rapor edilmemiştir.

Etilen Konsantrasyonu

Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının tepe boşluğu etilen konsantrasyonu üzerine etkisi Şekil 3'te verilmiştir. Tüm uygulamalarda ilk 8 günde etilen konsantrasyonunda artış meydana gelmiştir. Etilen konsantrasyonu depolamanın 8. gününde K4°C ve P4°C uygulamaları için sırasıyla 1.04 ppm ve 1.00 ppm olarak ölçülmüştür. 10°C'de depolanan ürünlerde ise K10°C ve P10°C uygulamaları için sırasıyla 1.45 ppm ve 1.05 ppm olarak ölçülmüştür. Etilen konsantrasyonu açısından 4°C'de depolanan gruplar arasında 32. günde anlamlı bir değişim oluşmazken, 10°C'de depolanan uygulamalar arasındaki fark önemli bulunmuştur (P≤0.05). Farklı depolama sıcaklıklarının etilen konsantrasyonu üzerine etkisinin istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (P≤0.05). Depolama sonunda 4°C'de depolanan ürünlerde K4°C ve P4°C uygulamaları için etilen konsantrasyonu sırasıyla 1.18 ppm ve 0.96 ppm iken, 10°C'de depolanan

ürünlerde sırasıyla 1.67 ppm ve 1.30 ppm'dir. 10°C'de depolanan ürünlerde solunum hızının yüksek olması etilen konsantrasyonunun yükselmesine sebep olmuştur. Fagundes vd. (2015) kiraz tipi domateste yaptıkları çalışmada çalışmamıza benzer şekilde 7. günde 1.00 ppm olan etilen konsantrasyonunu, depolama sonunda kontrol grubunda (pasif MAP) 1.50 ppm, aktif MAP (%5 O₂ - %5 CO₂ - %90 N₂) uygulanan grupta ise 1.20 ppm olarak rapor etmişlerdir. Ticari etilen tutucu filmler genellikle etilen tutucu olarak zeolit içermektedir, ancak Tzeng vd. (2019) zeolitin adsorpsiyon kapasitesinin sınırlı olduğunu belirtmiştir. Tzeng vd (2019) paladyum esaslı zeolit (Pd/zeolit) içeren etilen tutucu sistemi muz için test etmiş ve depolamanın ilk 11 gününde etilen üretimi olmadığını ve 28. günde etilen oranının Pd/zeolit içermeyen kontrol grubuna göre %83 düzeyinde daha düşük olduğunu rapor etmiştir.

Fiziksel Analizler

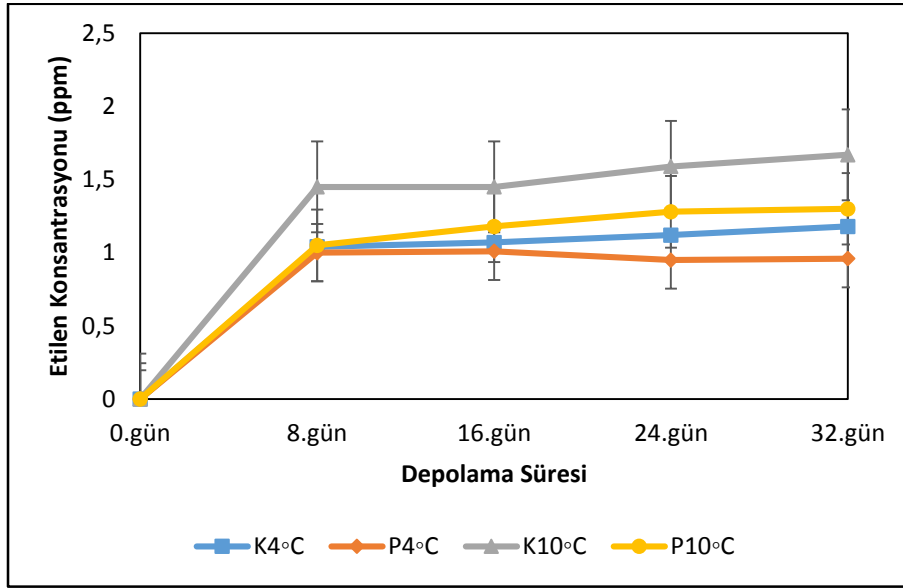
Renk

Aktif ambalajlama, depolama sıcaklığı ve süresinin renk (L*, a*, b*) üzerine etkisi Çizelge 1.'de verilmiştir. Renk. olgun meyve ve sebzelerde raf ömrünü etkileyen en önemli parametrelerden biridir (Fagundes vd., 2015). Depolama süresinin ve sıcaklık*depolama süresinin L* değeri üzerine etkisi önemli bulunmuştur (P≤0,05). 4°C'de etilen tutucu içeren polietilen (P4°C) ile ambalajlanan ürünlerin L* değerinde depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmezken (P>0,05), diğer uygulamalarda depolama süresince yaşanan düşüş önemli bulunmuştur (P≤0,05). L* değerindeki düşüş mikrobiyal gelişme veya depolama sonunda muhtemel üşüme zararına bağlı ürün yüzeyinde meydana gelen değişiklikler ile ilişkilendirilebilir. Depolamanın sonunda uygulamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklar bulunmuş ve domateste L* değeri 34.46 olarak en iyi P4°C grubu ambalajlarda korunmuştur.

Aktif ambalajlama ve depolama süresinin domateste a* değeri üzerine etkisi önemli bulunmuştur (P≤0.05) (Çizelge 1). Domateste kırmızılığı ifade eden a* değerinde depolama süresince etilen tutucu içeren uygulamalarda

önemli bir değişim olmazken, katkısız kontrol ve ambalajsız gruplarda düşüş yaşanmıştır. Depolama sonunda ambalajsız gruplar ile katkısız kontrol grupları arasındaki fark ise önemsizdir ($P>0.05$). a^* değerinde meydana gelen düşüş, artan etilen konsantrasyonuna bağlı hızlı

olgunlaşma ile ilişkilendirilebilir. Domateste hızlı olgunlaşma ürünün rengini olumsuz etkilemekte ve ürünün esmerleşmesine yol açmaktadır. a^* değerinde yaşanan bu değişimi b^* değerinde elde edilen sonuçlar da desteklemektedir.



Şekil 3. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin etilen konsantrasyonu üzerine etkisi (K4°C: 4°C’de katkısız LDPE, K10°C: 10°C’de katkısız LDPE, P4°C: 4°C’de etilen tutucu içeren LDPE, P10°C: 10°C’de etilen tutucu içeren LDPE)

Figure 3. The effects of active packaging and storage temperature on headspace ethylene concentration (K4°C: control LDPE without additive at 4°C, K10°C: control LDPE without additive at 10°C, P4°C: active LDPE with ethylene scavenger at 4°C, P10°C: active LDPE with ethylene scavenger at 10°C)

Aktif ambalajlama, depolama süresi ve uygulama*depolama süresinin b^* değeri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P\leq 0.05$) (Çizelge 1). Üründe sarılığı ifade eden b^* değerinde etilen tutucu içeren gruplar P4°C ve P10°C hariç depolama boyunca anlamlı derecede düşüş gözlenmiştir. b^* değerinde meydana gelen düşüş ürünlerde renk değişiminin arttığını göstermektedir ki, bu durum a^* değerinin azalmasıyla da desteklenmektedir. Sonuç olarak P4°C ve P10°C uygulamalarında kiraz domatesler depolama boyunca kırmızı rengini daha iyi korumuştur.

gününde arttığı, ardından düştüğü belirtilmiştir. En az değişimin aktif modifiye atmosfer paketeleme yapılan ambalajlarda ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Etilen tutucu içeren aktif MAP uygulamasının kokteyl domatesin olgunlaşmasını geciktirdiği ve rengini koruduğu belirtilmiştir. Kontrol uygulamalarında ise etilen üretiminin olgunlaşmayı hızlandırarak renk değişimini engelleyemediği belirtilmiştir. b^* değerinde de depolama süresi sonunda en fazla düşüşün kontrol uygulamalarında olduğu, etilen tutucu içeren aktif MAP uygulamasından en iyi sonucun alındığı belirtilmiştir (Demir, 2015).

Yapılan bir çalışmada başlangıçta 19.90 olan a^* değerinin 28 günlük depolama süresinin ilk 14

Domateste etilen tutucu içeren aktif ambalajlama uygulaması

Çizelge 1. Aktif ambalajlama ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin L*, a* ve b* renk değerlerine etkisi

Table 1. Effects of active packaging and storage temperature on L a* and b* values of cherry tomatoes*

	L* değeri (L* value)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	34.07 ± 1.50Aa	33.37 ± 1.07Ca	33.97 ± 1.52Ba	33.95 ± 2.91BCa	31.40 ± 1.08CDb
K4°C	34.07 ± 1.50Aab	33.25 ± 1.22Cb	34.34 ± 1.43ABab	35.37 ± 1.27Aa	31.54 ± 0.99CDc
P4°C	34.07 ± 1.50Aa	35.28 ± 1.13ABa	35.07 ± 1.25Aa	34.47 ± 1.46Ca	34.46 ± 1.37Aa
A10°C	34.07 ± 1.50Aa	35.03 ± 0.95Ba	34.50 ± 0.92ABa	31.89 ± 1.67Db	32.82 ± 2.28Bb
K10°C	34.07 ± 1.50Aa	34.52 ± 1.36Ba	34.25 ± 1.75ABa	34.78 ± 1.25ABa	31.25 ± 1.00Db
P10°C	34.07 ± 1.50Ab	36.08 ± 2.50Aa	34.33 ± 2.38ABb	33.88 ± 1.41Ab	32.13 ± 1.25BCc

	a* değeri (a* value)				
	0.gün	8.gün	16.gün	24.gün	32.gün
A4°C	21.88 ± 2.34Aab	22.71 ± 2.20Aa	20.44 ± 2.85Abc	17.46 ± 2.91Bd	18.62 ± 2.30Bcd
K4°C	21.88 ± 2.34Aab	23.32 ± 2.35Aa	19.54 ± 2.18Ac	16.29 ± 2.24Bd	18.60 ± 1.15Bc
P4°C	21.88 ± 2.34Aab	23.33 ± 1.70Aa	20.30 ± 2.65Abc	19.82 ± 3.16Ac	21.11 ± 2.88Aab
A10°C	21.88 ± 2.34Aab	22.92 ± 2.55Aa	21.20 ± 2.42Ab	16.22 ± 3.02Bc	17.74 ± 1.23Bc
K10°C	21.88 ± 2.34Aab	23.32 ± 1.84Aa	20.40 ± 2.55Ab	16.83 ± 2.90Bc	18.34 ± 1.11Bcd
P10°C	21.88 ± 2.34Aab	23.81 ± 2.50Aa	22.55 ± 2.38Aa	17.00 ± 3.54Bc	19.68 ± 2.79ABb

	b* değeri (b* value)				
	0.gün	8.gün	16.gün	24.gün	32.gün
A4°C	19.47 ± 1.59Aa	18.31 ± 1.36Bab	17.97 ± 2.82Ab	15.75 ± 2.27Bc	17.17 ± 0.93Bb
K4°C	19.47 ± 1.59Aa	18.60 ± 2.51Ba	16.24 ± 2.27Ab	11.04 ± 1.40Dc	16.84 ± 1.45Bb
P4°C	19.47 ± 1.59Aa	20.14 ± 1.40Aa	19.53 ± 1.73Aa	18.64 ± 2.25Aab	19.32 ± 2.19Aa
A10°C	19.47 ± 1.59Aa	18.28 ± 1.99Ba	16.71 ± 1.20Ab	15.37 ± 2.39Bb	15.98 ± 2.63Bb
K10°C	19.47 ± 1.59Aa	17.95 ± 1.45Ba	17.61 ± 3.03Ab	12.63 ± 1.96Cd	15.81 ± 1.71Bc
P10°C	19.47 ± 1.59Aa	19.10 ± 2.01ABa	17.91 ± 2.27Ab	18.53 ± 2.42Bab	18.70 ± 2.24Aa

A4°C: 4°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE, P4°C: 4°C'de etilen tutucu içeren LDPE, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K10°C: 10°C'de katkısız LDPE, P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE

Aynı sütunda benzer büyük harflerin bulunduğu ortalama değerler (P>0.05) istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı satırdaki benzer küçük harflerin bulunduğu ortalama değerler (P>0.05) istatistiksel olarak anlamlı değildir

A4°C: *unpacked at 4°C*, A10°C: *unpacked at 10°C*, K4°C: *control LDPE without additive at 4°C*, K10°C: *control LDPE without additive at 10°C*, P4°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 4°C*, P10°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 10°C*

Tekstür

Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının penetrasyon kuvveti (N) üzerine etkisi Çizelge 2'de verilmiştir. Penetrasyon kuvveti (N) ürün sertliği hakkında bilgi vermektedir. Aktif ambalajlamanın, depolama sıcaklığının ve süresinin domateste penetrasyon kuvveti üzerine etkisinin önemli olduğu görülmektedir (P≤0.05). 4°C'de depolanan ve etilen tutucu içeren LDPE ile ambalajlanan grupta (P4°C) depolama süresi boyunca meyve kabuk sertliği korunmuştur. Bu grupta başlangıçta 5.81N olan penetrasyon kuvveti, depolamanın sonunda 4.84N ölçülmüş ve en az yumuşamanın meydana geldiği uygulama olmuştur. Diğer gruplarda ciddi oranda

yumuşama gözlenmiştir ve meydana gelen bu yumuşamalar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P≤0.05). 10°C'de depolanan ürünlerde solunum hızının daha yüksek olmasıyla birlikte gerçekleşen olgunlaşma sonucunda ürünlerde daha fazla yumuşama meydana gelmiştir. 10°C'de depolanan gruplarda en yüksek penetrasyon kuvveti 2.74N ile ambalajsız gruplarda ölçülmüştür. Bu durum ambalajsız üründe su kaybından dolayı gerçekleşen kuruma ile ilişkilendirilebilir. 4°C'de depolanan ürünlerde, 10°C'ye göre daha az yumuşama gerçekleşmiştir. 4°C'de domatesin solunum hızının düşük olması ve olgunlaşmanın gecikmesi ürünlerin yumuşamasını önlemiştir.

Çizelge 2. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin tekstürüne (penetrasyon kuvvetine) etkisi

Table 2. Effects of active packaging and storage temperature on texture (penetration force) of cherry tomatoes

	Penetrasyon Kuvveti (N) Penetration Force (N)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	5.81 ± 0.49Aa	5.40 ± 0.47ABa	4.71 ± 0.54Ab	2.76 ± 0.87Bd	3.68 ± 0.53Bc
K4°C	5.81 ± 0.49Aa	5.44 ± 0.63ABa	4.02 ± 0.92Bb	3.49 ± 0.53Ab	3.61 ± 1.07Bb
P4°C	5.81 ± 0.49Aa	5.19 ± 0.69Ba	4.89 ± 0.46Aab	4.93 ± 0.51Aab	4.84 ± 0.65Aab
A10°C	5.81 ± 0.49Aa	5.68 ± 0.58Aa	5.13 ± 0.41Ab	2.46 ± 0.73Bc	2.74 ± 0.70Cc
K10°C	5.81 ± 0.49Aa	5.48 ± 0.76ABa	2.57 ± 1.23Cb	1.13 ± 0.39Cc	1.67 ± 0.44Dc
P10°C	5.81 ± 0.49Aa	5.64 ± 0.51ABa	4.67 ± 0.68Ab	1.36 ± 0.49Cd	2.51 ± 0.32Cc

A4°C: 4°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE, P4°C: 4 °C'de etilen tutucu içeren LDPE, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K10°C: 10°C'de katkısız LDPE, P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE

Aynı sütunda benzer büyük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı satırdaki benzer küçük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir. A4°C: *unpackaged at 4°C*, A10°C: *unpackaged at 10°C*, K4°C: *control LDPE without additive at 4°C*, K10°C: *control LDPE without additive at 10°C*, P4°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 4°C*, P10°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 10°C*

There is no statistical difference between applications with the same capital letter in the same column on a given storage day ($P > 0.05$). There is no statistical difference between the storage times with the same lowercase letter in the same line for a given application ($P > 0.05$).

Kimyasal Analizler

Suda çözünür kuru madde miktarı (%Briks)

Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının suda çözünür kuru madde (SÇKM) üzerine etkisi Çizelge 3'te verilmiştir. Uygulama*sıcaklık*depolama süresinin briks üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Depolama süresi ilerledikçe tüm uygulamalarda önemli düzeyde düşüş görülmüştür. Depolamanın başlangıcında %5.90 olan SÇKM değeri. depolamanın sonunda K4°C grubunda %3.90'a, P4°C grubunda 4.70'e, K10°C grubunda 4.30'a ve P10°C grubunda ise 3.80'e düşmüştür. Depolama sonunda en az değişim 4°C'de depolanan ve etilen tutucu içeren aktif LDPE ambalajlı (P4°C) ürünlerde meydana gelmiştir. 4°C'de etilen tutucu içeren grupta solunumun yavaş olması ve etilenin uzaklaştırılmasından dolayı olgunlaşmanın kontrol altına alındığı ve bu nedenle %briksteeki değişimin daha az olduğu düşünülmektedir. Depolama sonunda en düşük SÇKM, 4°C ve 10°C'de depolanan ambalajsız gruplarda sırasıyla 3.60 ve 3.30 olarak tespit edilmiştir. Domateste suda çözünür maddelerin %65'ini şeker oluşturmaktadır, suda çözünür diğer maddeler ise organik asitler, tuzlar, vitaminler, serbest amino

asitler ve diğer bazı maddelerdir (Demir. 2015). Depolama süresi boyunca brikste meydana gelen düşüş ürün içeriğindeki şekerlerin solunum ile kullanılmasıyla açıklanabilmektedir (Halloran vd., 1996)

Depolama sonunda P4°C ve K10°C ile diğer uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Ambalajlı muhafazanın nem kaybını azaltarakta SÇKM'nin korunmasında etkili olduğu bilinmektedir (Sabır ve Açar, 2008; Halloran vd. 1996).

pH

Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının pH üzerine etkisi Çizelge 4'te verilmiştir. Aktif ambalajlama, depolama sıcaklığı ve süresinin pH değeri üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). 4°C ve 10°C'de depolanan örneklerde depolama boyunca gerçekleşen değişim önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). Depolama sonunda uygulamalar arasındaki farklar da önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). Demir (2015) yaptığı çalışmada etilen tutucu içeren ve içermeyen aktif ve pasif MAP ile ambalajlanan kiraz domateslerin pH değerinde 28 günlük

depolama boyunca artış meydana geldiğini ve depolama sonunda 4.30 ile 4.50 arasında değiştiğini belirtmiştir. Daş vd. (2006) ise yaptığı çalışmada pH değerlerinin 3.0 ile 4.0 aralığında olduğunu ve depolama süresi boyunca inişler ve çıkışlar olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan

çalışmalara göre domateslerde pH'nın ürün çeşidine göre farklılık gösterdiği, MAP uygulamasının bazı çalışmalarda pH üzerine etkisinin olduğu bazılarında ise herhangi bir etkisinin olmadığı görülmektedir (Gil vd., 2002; Daş vd., 2006).

Çizelge 3. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin suda çözünür kuru madde miktarına etkisi

Table 3. Effects of active packaging and storage temperature on water soluble dry matter of cherry tomatoes

	Suda Çözünür Kuru Madde Miktarı (% Briks)				
	Water Soluble Dry Matter (Brix%)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	5.90 ± 0.23Aa	5.00 ± 0.23ABCb	4.90 ± 0.32Abc	4.50 ± 0.24BCc	3.60 ± 0.20Bd
K4°C	5.90 ± 0.23Aa	5.30 ± 0.28Ab	4.80 ± 0.26Abc	5.10 ± 0.17Abc	3.90 ± 0.30BCd
P4°C	5.90 ± 0.23Aa	4.50 ± 0.45Cb	5.00 ± 0.41Ab	4.80 ± 0.40ABb	4.70 ± 0.27Ab
A10°C	5.90 ± 0.23Aa	5.20 ± 0.41ABb	5.10 ± 0.20Ab	3.90 ± 0.40Bc	3.30 ± 0.30BCd
K10°C	5.90 ± 0.23Aa	4.80 ± 0.46ABCb	4.40 ± 0.24	4.60 ± 0.17ABb	4.30 ± 0.08Abc
P10°C	5.90 ± 0.23Aa	4.70 ± 0.34BCb	4.30 ± 0.24Bc	4.10 ± 0.53CDc	3.80 ± 0.31Bc

A4°C: 4°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE, P4°C: 4 °C'de etilen tutucu içeren LDPE, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K10°C: 10°C'de katkısız LDPE, P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE.

Aynı sütunda benzer büyük harflerin bulunduğu ortalama değerler (P>0.05) istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı satırdaki benzer küçük harflerin bulunduğu ortalama değerler (P>0.05) istatistiksel olarak anlamlı değildir.

A4°C: *unpacked at 4°C*, A10°C: *unpacked at 10°C*, K4°C: *control LDPE without additive at 4°C*, K10°C: *control LDPE without additive at 10°C*, P4°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 4°C*, P10°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 10°C*. There is no statistical difference between applications with the same capital letter in the same column on a given storage day (P > 0.05). There is no statistical difference between the storage times with the same lowercase letter in the same line for a given application (P > 0.05).

Çizelge 4. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin pH'sına etkisi

Table 4. Effects of active packaging and storage temperature on pH of cherry tomatoes

	pH				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	4.60 ± 0.02Aab	4.46 ± 0.05Cc	4.77 ± 0.3Aa	4.70 ± 0.07Bab	4.41 ± 0.13Abc
K4°C	4.60 ± 0.02Aab	4.55 ± 0.03Bbc	4.56 ± 0.02Bbc	4.69 ± 0.07Ba	4.57 ± 0.03Abc
P4°C	4.60 ± 0.02Aab	4.60 ± 0.10Aab	4.67 ± 0.09ABa	4.69 ± 0.08Ba	4.50 ± 0.09Ab
A10°C	4.60 ± 0.02Aab	4.64 ± 0.06Aab	4.65 ± 0.05ABab	4.69 ± 0.14Ba	4.56 ± 0.05Aab
K10°C	4.60 ± 0.02Aab	4.64 ± 0.03Aab	4.66 ± 0.02ABab	4.77 ± 0.06Aa	4.58 ± 0.12Aab
P10°C	4.60 ± 0.02Aab	4.61 ± 0.07Aab	4.73 ± 0.09Aa	4.74 ± 0.09Aa	4.54 ± 0.03Ab

A4°C: 4°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE, P4°C: 4 °C'de etilen tutucu içeren LDPE, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K10°C: 10°C'de katkısız LDPE, P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE.

Aynı sütunda benzer büyük harflerin bulunduğu ortalama değerler (P>0.05) istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı satırdaki benzer küçük harflerin bulunduğu ortalama değerler (P>0.05) istatistiksel olarak anlamlı değildir.

A4°C: *unpacked at 4°C*, A10°C: *unpacked at 10°C*, K4°C: *control LDPE without additive at 4°C*, K10°C: *control LDPE without additive at 10°C*, P4°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 4°C*, P10°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 10°C*. There is no statistical difference between applications with the same capital letter in the same column on a given storage day (P > 0.05). There is no statistical difference between the storage times with the same lowercase letter in the same line for a given application (P > 0.05).

Titrasyon asitliği (%)

Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının titrasyon asitliği üzerine etkisi Çizelge 5'te verilmiştir. Yalnızca uygulama*sıcaklık etkileşiminin TA değeri üzerine etkisinin önemli olduğu görülmektedir ($P \leq 0.05$). Tüm uygulamalarda depolama süresince başlangıç değerine kıyasla önemli bir değişim ortaya çıkmamıştır ($p > 0.05$). Etilen tutucu sistemlerin ve depolama sıcaklığının kiraz domateslerin titrasyon asitliği üzerine önemli bir etkisinin olmadığı

belirlenmiştir ($P > 0.05$). Ayrıca depolama sonunda uygulamalar arasında titrasyon asitliği açısından önemli bir fark olmadığı da görülmektedir ($P > 0.05$). Başlangıçta %0.67 olarak ölçülen TA değeri depolamanın sonunda tüm gruplarda %0.66-%0.70 aralığında ölçülmüştür. Solunum hızı ve etilen üretimi gibi 2 temel faktörün kontrol altına alınması, meyve ve sebzeler için kalite göstergesi olan renk, asitlik ve tekstür gibi temel kalite parametreleri de yakından etkilemektedir (Çavuşoğlu, 2014).

Çizelge 5. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin titrasyon asitliğine etkisi
Table 5. Effects of active packaging and storage temperature on titratable acidity of cherry tomatoes

	Titrasyon Asitliği (%Sitrik asit) Titratable acidity (citric acid %)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	0.67 ± 0.02Ab	0.76 ± 0.06Aa	0.43 ± 0.06ABc	0.40 ± 0.04Bc	0.70 ± 0.05Aab
K4°C	0.67 ± 0.02Aa	0.70 ± 0.05ABa	0.50 ± 0.02Ac	0.40 ± 0.02Bd	0.68 ± 0.06Aa
P4°C	0.67 ± 0.02Aab	0.69 ± 0.08ABa	0.39 ± 0.01Bd	0.46 ± 0.02Ac	0.72 ± 0.03Aa
A10°C	0.67 ± 0.02Ab	0.78 ± 0.06Aa	0.47 ± 0.06ABc	0.38 ± 0.07Bd	0.69 ± 0.07Ab
K10°C	0.67 ± 0.02Aa	0.63 ± 0.07Ba	0.43 ± 0.09ABb	0.36 ± 0.03Bbc	0.71 ± 0.04Aa
P10°C	0.67 ± 0.02Aa	0.72 ± 0.07Aa	0.41 ± 0.03Bc	0.40 ± 0.04Bc	0.66 ± 0.05Aa

A4°C: 4°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE, P4°C: 4 °C'de etilen tutucu içeren LDPE, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K10°C: 10°C'de katkısız LDPE, P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE.

Aynı sütunda benzer büyük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı satırdaki benzer küçük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir.

A4°C: *unpacked at 4°C*, A10°C: *unpacked at 10°C*, K4°C: *control LDPE without additive at 4°C*, K10°C: *control LDPE without additive at 10°C*, P4°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 4°C*, P10°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 10°C*. There is no statistical difference between applications with the same capital letter in the same column on a given storage day ($P > 0.05$). There is no statistical difference between the storage times with the same lowercase letter in the same line for a given application ($P > 0.05$).

Likopen konsantrasyonu

Likopen domates ve benzeri ürünlere kırmızı rengini veren ve domateste yüksek miktarda bulunan karotenoidlerden biridir. Günümüzün önemli hastalığı olan kanserin ve kalp hastalıklarının azaltılmasında önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Bu sebeplerden dolayı domateste likopenin korunması önemlidir (Ilahy vd., 2011; Demir, 2015). Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin likopen konsantrasyonu üzerine etkisi Çizelge 6'da gösterilmiştir. Depolama sıcaklığı ve süresinin likopen konsantrasyonu üzerine etkisinin önemli olduğu görülmektedir ($P \leq 0.05$). Depolama sonunda en fazla likopen kaybı ambalajsız uygulamalarda gözlenmiştir. Atmosferik oksijen ile sürekli temas halinde bulunan ürünlerin

likopen konsantrasyonlarında azalma meydana gelmektedir (İzgi, 2012).. Modifiye atmosfer paketlenen likopen içeriğini koruduğu bilinmektedir (Oliveira-Bouzas vd., 2021). 4°C'de aktif ambalajlama ile modifiye atmosfer paketlenen (P4°C) birlikte kullanılması ürünün likopen içeriğine en olumlu etki eden ortamı oluşturmuştur. Nitekim bu grupta başlangıçta likopen miktarı 20.49 ppm iken depolamanın sonunda 20.77 ppm olmuştur. Etilen tutucu sistemlerin kullanımının likopen konsantrasyonunun korunmasında etkili olduğu görülmektedir. Diğer tüm uygulamalarda depolama süresince azalma meydana gelmiş ve bu azalmanın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Ambalajsız ürünlerde depolamanın başında 20.49 ppm olan likopen konsantrasyonu depolamanın

sonunda A4°C grubunda 15.46 ppm bulunurken, A10°C grubunda 13.71 ppm bulunmuştur. Katkısız LDPE grubu ambalajlarda, depolama sonunda K4°C grubunda 17.51 ppm bulunurken, K10°C grubunda 16.71 ppm bulunmuştur. Sonuç olarak tüm uygulamalarda 4°C'de depolanan örneklerin, 10°C'de depolanan örneklerle göre daha iyi sonuçlar verdiği görülmüş ve depolama sıcaklığının likopen konsantrasyonu üzerine etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Likopen kaybı üzerine en önemli faktörlerin depolama sıcaklığı ve süresi ile oksijen ve ışık olduğu belirtilmiştir. Depolama süresi uzadıkça likopen kaybı artmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda

yapılan depolama işlemlerinde likopen kayıplarının daha fazla olması beklenmektedir (İzgi, 2012).

Likopen domatese kırmızı rengini veren en önemli pigment olduğu için likopendeki değişim domatesin rengini de etkilemektedir. Bu durumda renk analiz sonuçları ve likopen analiz sonuçlarının paralellik göstermesi beklenmektedir. Nitekim aldığımız sonuçlardan P4°C grubunda depolama sonunda likopen miktarı aynı kaldığı gibi a* değerinde de istatistiki olarak önemli farklılık gözlenmemiştir.

Çizelge 6. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin likopen konsantrasyonuna etkisi

Table 6. Effects of active packaging and storage temperature on lycopene concentration of cherry tomatoes

	Likopen Konsantrasyonu (ppm) Lycopene Concentration (ppm)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	20.49 ± 5.67Aa	17.82 ± 2.94Bb	16.10 ± 2.95Bbc	15.53 ± 2.58Cc	15.46 ± 4.03Cc
K4°C	20.49 ± 5.67Aa	18.82 ± 1.39ABb	16.77 ± 2.43Bc	18.91 ± 3.94Ab	17.51 ± 2.44Bbc
P4°C	20.49 ± 5.67Aa	19.42 ± 1.29Aa	17.70 ± 3.84Ab	18.12 ± 2.17Ab	20.77 ± 1.17Aa
A10°C	20.49 ± 5.67Aa	19.61 ± 2.25Aa	17.09 ± 2.85Bb	16.50 ± 0.71Bb	13.71 ± 2.11Dc
K10°C	20.49 ± 5.67Aa	18.56 ± 2.98ABb	18.15 ± 3.88Ab	17.25 ± 3.74Bb	16.71 ± 0.75BCc
P10°C	20.49 ± 5.67Aa	17.69 ± 3.66Bb	17.61 ± 3.48Ab	17.45 ± 2.32Bb	16.74 ± 0.52BCb

A4°C: 4°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE, P4°C: 4°C'de etilen tutucu içeren LDPE, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K10°C: 10°C'de katkısız LDPE, P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE.

Aynı sütunda benzer büyük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Aynı satırdaki benzer küçük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir.

A4°C: *unpacked at 4°C*, A10°C: *unpacked at 10°C*, K4°C: *control LDPE without additive at 4°C*, K10°C: *control LDPE without additive at 10°C*, P4°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 4°C*, P10°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 10°C*.

There is no statistical difference between applications with the same capital letter in the same column on a given storage day ($P > 0.05$).

There is no statistical difference between the storage times with the same lowercase letter in the same line for a given application ($P > 0.05$).

Duyusal Değerlendirme

Aktif ambalajlamanın ve farklı depolama sıcaklıklarının kiraz tipi domateslerin duyuşal özelliklerine etkisi Çizelge 7'de verilmiştir. Kiraz domateste duyuşal nitelikler olarak kabuk rengi, tekstür, tat ve genel ürün beğenisi değerlendirilmiştir. Domates kabuk renginde tüm gruplarda depolama boyunca azalma meydana gelmiştir. 4°C'de depolanan etilen tutucu içeren ambalajda (P4°C) depolama boyunca domates kabul edilebilir bulunmuştur. Ambalajsız ürünlerin kabul edilebilirliği 4°C'de 8. günle sınırlı kalırken, 10°C'de 16 gündür. K4°C grubu ise 24.

günde kabul edilebilir bulunmuştur. Depolama sonunda 4°C'de etilen tutucu içeren grup renk açısından kabul edilebilirken, kontrol grupları ve ambalajsız gruplar kabul edilebilir bulunmamıştır. Renk analizi de duyuşal analizi desteklemekte olup 32. günde L* değeri en yüksek uygulama P4°C olmuştur. Depolama sıcaklığının ve aktif ambalajlamanın kabuk rengi üzerine etkisi önemli bulunmuştur.

Tekstür değerlendirmesinde ise depolama sonunda tüm gruplar kabul edilebilirlik sınırının altında kalmıştır. 24. günde P4°C ve K4°C kabul

edilebilir bulunmuş, diğer grupların kabul edilebilirliği 16. günle sınırlı kalmıştır. Tekstür analizi sonuçları da bu sonuçlarla paralellik göstermektedir. P4°C uygulaması hariç diğer uygulamalarda 16. günden itibaren yumuşama meydana gelmiştir. Depolama sıcaklığının ve aktif ambalajlamanın sertlik üzerine etkisi önemli bulunmuştur.

Kiraz domateslerin tat değerlendirmesinde depolamanın sonunda sadece P4°C grubu kabul edilebilir bulunurken diğer gruplarda 32. günde tadım yapılamamıştır. A4°C ve P10°C grubunun kabul edilebilirliği 8. günle sınırlı kalırken. A10°C ve K10°C grupları 16. günle sınırlı kalmıştır. K4°C ise 24. gün kabul edilebilir olmasına rağmen 32. günde tadım yapılamaz duruma gelmiştir. P10°C grubundaki örneklerde depolamanın 24. gününde meydana gelen ve gözle görünür mikrobiyal gelişim (küf gelişimi) nedeniyle tadım yapılamamıştır. Depolama sıcaklığının ve aktif ambalajlamanın tat üzerine etkisi önemli bulunmuştur.

Genel ürün beğenisi açısından depolama sonunda kabul edilebilir bulunan domates grubu P4°C olmuştur. Depolama sonunda diğer grupların sınırın altında kalması ürün yüzeyinde meydana gelen görünür mikrobiyal gelişim ile ilişkilendirilebilir. Sonuç olarak zeolit içeren LDPE ambalajdaki domates 4°C'de tüm duyuşal nitelikler ve genel ürün beğenisi açısından 32 günlük depolama süresince kabul edilebilir bulunmuştur.

Domateste referans sıcaklık 10-12°C olarak önerilmesine rağmen (Oliveira-Bouzas vd., 2021) tüm duyuşal kriterlerde 4°C'de daha iyi sonuçlar alınmıştır. Yapılan diğer analizler de bu durumu desteklemektedir. 4°C'de ürün solunum hızının yavaş olması, etilen üretiminin düşük olması ve tepe boşluğu O₂ konsantrasyonunun denge atmosfer oluşturması sebebiyle 4°C'de duyuşal açıdan ve diğer kalite parametreleri açısından daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 7. Aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin duyuşal özelliklerine etkisi
Table 7. Effects of active packaging and storage temperature on sensory attributes and overall product acceptability

	Renk (Color)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	2.50±0.45Bb	2.00±1.10Bb	1.00±0.32Bc
K4°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	4.30±0.34Aa	3.50±0.55Ab	1.00±0.22Bc
P4°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	4.75±0.22Aa	3.50±0.53Ab	3.00±0.44Ab
A10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	4.50±0.33Aa	1.00±0.87Cb	1.00±0.38Bb
K10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.00±0.78Bb	1.00±0.33Cc	1.00±0.14Bc
P10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.00±0.66Bb	1.25±0.45Cc	1.00±0.13Bc
	Tekstür (Texture)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	5.00±0.0Aa	4.50±0.24Aa	3.50±0.13ABb	2.00±0.55Bc	1.00±0.14Bd
K4°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.14Aa	4.00±0.35Aab	3.00±0.40Ab	1.25±0.23Bc
P4°C	5.00±0.0Aa	4.50±0.26Aa	4.25±0.31Aa	3.00±0.42Ab	2.75±0.32Ab
A10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	4.25±0.40Ab	1.00±0.33Cc	1.00±0.43Bc
K10°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.15Aa	3.25±0.30Bb	1.00±0.20Cc	1.00±0.38Bc
P10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.50±0.40ABb	1.00±0.22Cc	1.00±0.14Bc
	Tat (Taste)				
	0.gün Day 0	8.gün Day 8	16.gün Day 16	24.gün Day 24	32.gün Day 32
A4°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.20Aa	2.75±0.54Bb	2.00±0.48Bb	T.Y
K4°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.20Aa	3.75±0.58ABa	3.00±0.50Ab	T.Y
P4°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.22Aa	4.50±0.33Aa	3.00±0.44Ab	3.00±0.48Ab
A10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.25±0.40Bb	T.Y*	T.Y
K10°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.16Aa	3.00±0.50Bb	1.00±0.22Cc	T.Y
P10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	2.75±0.64Bb	T.Y	T.Y

Domateste etilen tutucu içeren aktif ambalajlama uygulaması

Genel Ürün Beğenisi (Overall Product Acceptability)

A4°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.00±0.58Bb	2.00±1.15Bc	1.00±0.22Bc
K4°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.75±0.44ABb	3.00±0.57Ab	1.00±0.26Bc
P4°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.19Aa	4.50±0.25Aa	3.25±0.34Ab	3.00±0.45Ab
A10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.50±0.47ABb	1.00±0.33Cc	1.00±0.33Bc
K10°C	5.00±0.0Aa	4.75±0.22Aa	3.00±0.35Bb	1.00±0.55Cc	1.00±0.47Bc
P10°C	5.00±0.0Aa	5.00±0.0Aa	3.25±0.57Bb	1.50±0.75BCc	1.00±0.18Bc

A4°C: 4°C'de ambalajsız, K4°C: 4°C'de katkısız LDPE, P4°C: 4°C'de etilen tutucu içeren LDPE, A10°C: 10°C'de ambalajsız, K10°C: 10°C'de katkısız LDPE, P10°C: 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE.

TY: Tadım yapılmadı.

Aynı sütunda benzer büyük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı satırdaki benzer küçük harflerin bulunduğu ortalama değerler ($P>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildir.

A4°C: *unpacked at 4°C*, A10°C: *unpacked at 10°C*, K4°C: *control LDPE without additive at 4°C*, K10°C: *control LDPE without additive at 10°C*, P4°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 4°C*, P10°C: *active LDPE with ethylene scavenger at 10°C*. There is no statistical difference between applications with the same capital letter in the same column on a given storage day ($P > 0.05$). There is no statistical difference between the storage times with the same lowercase letter in the same line for a given application ($P > 0.05$).

SONUÇ

Kiraz domateste elde edilen veriler dikkate alındığında en etkili uygulamanın 4°C'de depolanan ve etilen tutucu içeren aktif ambalaj olduğu görülmektedir. Bu grupta etilen tutucunun varlığı, 4°C'de solunum hızının düşük olması ve malzemenin oksijen geçirgenliğinin yüksek olması sebebiyle tepe boşluğu oksijen oranı depolama boyunca kritik seviye olan %2'nin altına inmemiştir. 10°C'de depolanan ve etilen tutucu içeren uygulamada (P10°C) ise düşük soğuk zararına rağmen, solunum hızının yüksek olması sebebiyle olgunlaşma geciktirilememiş ve buna bağlı olarak denge atmosfer oluşturulamamıştır. Ayrıca 10°C'de depolanan domateste yumuşamanın daha fazla olması kalitenin olumsuz etkilendiğinin göstergesidir. Etilen tutucu içermeyen katkısız PE ile ambalajlanan gruplarda ise etilen tutucunun olmaması sebebiyle etilen konsantrasyonu yükselmiş ve ürün kalitesini olumsuz etkilemiştir. Bu sonuçlar ışığında, 4°C ve 10°C'de ambalajsız ve etilen tutucu içermeyen LDPE ile ambalajlanan kiraz domateslerin raf ömrü en az 16 gün olarak belirlenirken, 10°C'de etilen tutucu içeren LDPE ambalajdaki domateslerin raf ömrü en az 24 gün, 4°C'de etilen tutucu içeren LDPE ambalajdaki domateslerin raf ömrü ise en az 32 gün olarak tespit edilmiştir. Domates ülkemizde genellikle ambalajsız satılan bir üründür. Yaptığımız çalışmada da görüldüğü gibi ambalajsız ürünlerde yüksek düzeylerde kütle kaybı meydana gelmiştir ve ürünlerin raf ömrünün kılmasına yol açmıştır. Etilen tutucu içeren

LDPE ambalaj malzemesi kullanılarak kiraz domatesin raf ömrü 4°C'de 16 günden 32 güne kadar uzatılmıştır. Ambalajsız ürünlerle kıyaslayacak olursak, kiraz domatesin raf ömründe %100 artış sağlanmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Tuncay Tribolulu: Deneysel tasarım, formal analizler, taslak metnin yazımı
Zehra Ayhan: Hipotezin kurulumu, deneysel tasarım, taslak ve orijinal metnin yazımı ve revizyonu. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Arndt, G. W. (2001). Examination of flexible package for integrity. In: *Bacteriological Analytical Manual*, G.J. Jackson, R.I. Merker, R. Bander (Eds.) (8th Edition.). AOAC International, Gaithersburg, MD.

AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. 18th Edition Arlington, Virginia, USA. Ayhan, Z. (2010). Application of modified atmosphere packaging with new concepts for respiring foods. *Acta Horticulturae*, 876,137-142.

Ayhan, Z. (2019). Packaging and the shelf life of fruits and vegetables. *Reference Module in Food Sciences*. Elsevier., pp. 1–5. doi:

- Batu, A. (1999). Domatesin solunum hızı üzerine ortam sıcaklığı ve hasat olgunluğunun etkileri. *Journal of Agriculture and Forestry*, 23: 473-481.
- Charles, F., Sanchez, J., Gontard, N. (2004). Absorption kinetics of oxygen and carbon dioxide scavengers as part of active modified atmosphere packaging. *Journal of Food Engineering*, 72: 1-7.
- Choi, D.S., Park, S.H., Choi, S.R., Kim, J.S., Chun, H.H. (2014). The combined effects of ultraviolet-C irradiation and modified atmosphere packaging for inactivating *Salmonella Enterica Serovar Typhimurium* and extending the shelf life of cherry tomatoes during cold storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 3: 19-30.
- Çavuşoğlu, G. (2014). Farklı doz ozon gazı uygulamalarının hasat sonrası soğukta saklama sırasında brokoli, hıyar ve domates kalitesi üzerindeki etkisinin incelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye.
- Daş, E., Gürakan, C., Bayındırlı, A. (2006). Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella Enteritidis* on cherry tomatoes. *Food Microbiology*, 23(5): 430-438.
- Demir, S.S. (2015). Modifiye atmosferde paketlenen Tyty F1 kokteyl domatesinin kalite ve raf ömrü üzerine etkisi. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Hatay, Türkiye.
- Fagundes, C., Moraes, K., Gago, M.B., Palou, L., Maraschin, M., Monteiro, M.M. (2015). Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 109: 73-81.
- Fahmy, K., Nakano, K. (2014). Optimal design of modified atmosphere packaging for alleviating chilling injury in cucumber fruit. *Environmental Control in Biology*, 52(4): 233-240.
- Farber, J.M., Harris, L.J., Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T.V., Gorney, J.R., Garret, E.H., Busta, F.F. (2003). Microbiological safety of controlled atmosphere and modified atmosphere packaging and fresh cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2:142-160.
- Gil, M. I., Conesa, M. A., Artes, F., (2002). Quality changes in fresh cut tomato as affected by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 25 (2): 199-207.
- Guine, R., Henrique, F., Barroca, M. (2014). Influence of drying treatments on the physical and chemical properties of cucumber. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 8: 195-206.
- Halloran, N., Çağırın, R., Kasım, M.U. (1996). Sebzelelerde hasat sonrası üşüme zararı. *Gıda*, 21(5): 359-366.
- Ilahy, R., Hdider, C., Menucci, M.S., Tlili, I., Dalessandro, G. (2011). Antioxidant activity and bioactive compound changes during fruit ripening of high-lycopene tomato cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24: 588-595.
- İzgi, C. (2012). Farklı kurutma metodlarının domatesteki likopen miktarına etkisi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye.
- Kadalkal, Ç., Artık, N., Nas, S. (2001). Domates doku ve küf karakteristikleri, domates ürünlerinde küf sayımı ve küfü azaltma olanakları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7(2): 251-260.
- Kasım, R., Kasım, M.U. (2007). Sebzelelerde etilenin önemi ve 1-metilsiklopropan (1-MCP)'in kullanımı. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2): 227-231.
- Küşümler A. (2011). Ultraviyole (UV-C) ışını uygulamasının patlıcan ve hıyarlarda soğuk zararlanması üzerine etkisi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul, Türkiye.
- Li, J., Yang, S., Wang, Q., Li, Y., Wang, Q. (2014). Effects of ionized air treatments on postharvest physiology and quality of fresh cucumber. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38: 271-277.
- Maleki, G., Sedagat, N., Woltering, E., Farhoodi M., Muhebbi, M. (2018). Chitosan limonene

- coating in combination with modified atmosphere packaging preserve postharvest quality of cucumber during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12: 1610-1621. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9776-6>.
- Sabır, F., Ağar, İ. (2008). Modifiye atmosferde muhafazanın çengelköy hıyar çeşidinde meyve kalitesi üzerine etkileri. *Alatarm Dergisi*, 7(1): 29-35.
- Sezer, E., Ayhan, Z., Çelikkol, T., Güner, F. (2017). Zeolit katkılı aktif polietilen ambalaj malzemesinin kivi meyvesinin kalite özellikleri ve raf ömrüne etkisi. *Gıda Dergisi*, 42(3): 277-286.
- Sezer, E., Ayhan, Z. (2017). Meyve ve sebzelerde etilen tutucu içeren aktif ambalajlama sistemlerinin uygulanması ve raf ömrüne etkisi. *Akademik Gıda*, 15(2): 182-191.
- Sousa A.R., Oliviera, J.C., Gallagher, M.J. (2017). Determination of the respiration rate parameters of cherry tomatoes and their joint confidence regions using closed systems. *Journal of Food Engineering*, 206: 13-22.
- Şen, F., Teksür, P., Türk B. (2016). Perakende modifiye atmosfer ambalajlarının kiraz meyvelerinin depo ve raf ömrüne etkilerinin araştırılması. VII. Bahçe Ürünlerinde Muhafaza ve Pazarlama Sempozyumu 1: 100-104.
- Tian, S., Jiang, A., Xu, Y., Wang, Y. (2004). Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage. *Food Chemistry*, 87: 43-49.
- Tzeng, JH, Weng, CH, Huang, JW, Shiesh, CC, Lin, YH, Lin, YT. (2019). Application of palladium-modified zeolite for prolonging postharvest shelf life of banana. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99: 3467-3474.
- Olveira-Bouzas, V., Pita-Calvo, C., Vazquez-Oderiz, M, L, Romero-Rodríguez, M.A. (2021) Evaluation of a modified atmosphere packaging system in pallets to extend the shelf-life of the stored tomato at cooling temperature. *Food Chemistry*, 364 (2021) 130309.
- Yildirim, S., Röcker, B, Pettersen, M.K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Radusine, T., Suminska, P., Marcos, B., Coma, V. (2018). Active packaging applications for food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17: 165-199.

SAĞLIKLI HAYVANLARDAN ALINAN SÜT ÖRNEKLERİNDE POTANSİYEL PATOJENLER VE ÇOKLU ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ: *STREPTOCOCCUS* SPP. SUŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Nisa Sipahi^{*1}, Cansu Çelik Doğan²

¹Düzce Üniversitesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veterinerlik Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü

Geliş/Received: 30.05.2023; Kabul / Accepted: 22.08.2023; Online baskı / Published online: 31.08.2023

Sipahi, N, Doğan Çelik, C. (2023). Sağlıklı hayvanlardan alınan süt örneklerinde potansiyel patojenler ve çoklu antibiyotik dirençliliği: *Streptococcus* spp. suşlarının değerlendirilmesi. GIDA (2023) 48 (5) 952-962 doi: 10.15237/gida.GD23065

Sipahi, N, Doğan Çelik, C. (2023) Presence of the potential pathogens and multiple antibiotic resistance in milk from healthy animals: Evaluation of *Streptococcus* spp. strains. GIDA (2023) 48 (5) 952-962 doi: 10.15237/gida.GD23065

ÖZ

Çiğ sütün içerdiği mikroorganizma çeşitliliği ve bunların direnç profili potansiyel olarak insan sağlığı ve gıda endüstrisi için bir tehlike arz etmektedir. Bu çalışmada sağlıklı hayvanlardan elde edilen süt örneklerinin patojen ihtivası yönünden incelenmesi, sütün yaygın kontaminantı *Streptococcus* spp. prevalansının ve antibiyotik direnç profillerinin araştırılması amaçlanmıştır. 249 süt örneğinden *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecalis* ve *Macroccoccus caseolyticus* olmak üzere 358 izolat elde edilmiştir. Streptokok prevalansı %24.58 olarak tespit edilmiştir. Streptokok izolatlarının en fazla aminoglikozid sınıfına dirençli olduğu, ardından sırasıyla kinolon, tetrasiklin, makrolid, beta laktam, nitrofuran ve fenikole karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum çiğ süt tüketiminin gıda kaynaklı enfeksiyon için potansiyel bir risk olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle tüketicilerin pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinden kaçınması, çiğ sütün antibiyotik direnci yönünden daha fazla izlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik direnci, *Streptococcus* spp., süt, patojen, halk sağlığı

PRESENCE OF THE POTENTIAL PATHOGENS AND MULTIPLE ANTIBIOTIC RESISTANCE IN MILK FROM HEALTHY ANIMALS: EVALUATION OF *STREPTOCOCCUS* SPP. STRAINS

ABSTRACT

The variety of microorganisms contained in raw milk and their resistance profile potentially pose a danger to human health and the food industry. This study was aimed to investigate pathogen content of milk samples obtained from healthy animals and the prevalence of *Streptococcus*, a common contaminant of milk, and antibiotic resistance profiles. In total, 358 isolates, including *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecalis* and *Macroccoccus caseolyticus*, were obtained from 249 milk samples. The prevalence of streptococci was found 24.58%. Streptococcal isolates were found most resistant to the aminoglycoside class, followed by quinolone, tetracycline, macrolide, beta lactam, nitrofuran and phenicol resistance respectively.

*Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉: sipahi.nisa@gmail.com

☎: (+90) 850 800 8181

☎: (+90) 380 542 1103

Nisa Sipahi; ORCID no: 0000-0001-8915-3545

Cansu Çelik Doğan; ORCID no: 0000-0002-9508-7473

This situation has shown that the consumption of raw milk can be a potential risk for foodborne infection. Hence, it was thought that consumers should avoid unpasteurized milk and dairy products, monitor raw milk more in terms of antibiotic resistance, and take the necessary precautions.

Keywords: Antibiotic resistance, *Streptococcus* spp., milk, pathogen, public health

GİRİŞ

Süt ürünleri diğer hayvansal gıda ürünleri gibi, insan beslenmesinde önemli bir role sahiptir. Çünkü içerdiği vitamin, mineral ve protein açısından oldukça zengin bir gıdadır. Bununla birlikte ülke ekonomilerinde de önemli bir yere sahip ticari bir üründür (Miclean vd., 2019).

Sütün mikrobiyal yükü ilk sağıldığında düşük olmasına karşın içerdiği mikroorganizma çeşitliliği önemlidir. Çünkü hayvansal gıda kaynaklı hastalıklar için süt önemli bir bulaş kaynağıdır. Bununla birlikte çiğ süt mikrobiyotası çiftlik ortamını yansıtmaktadır. Dolayısıyla çiğ sütlerden elde edilen mikrobiyal yükün bilinmesi ve mikroorganizmaların tanımlanması, sadece toplum sağlığı açısından önemli değil, aynı zamanda hayvan sağlığı ve süt verimi açısından da oldukça önemli bir konudur (Sezener vd., 2019; Sharun vd., 2021; Başar ve Heperkan, 2021).

Sütte en çok izole edilen tür *Staphylococcus aureus*'tur. *S. aureus*'tan sonra sağlığı tehdit eden en önemli fırsatçılar *Streptococcus* türleridir. Bu iki tür aynı zamanda hayvanlarda süt verimini olumsuz etkileyen mastitis hastalığında neden olmaktadır. Mastitis hayvanlarda meme bezinin yangısı olmakla birlikte süt kalitesini de olumsuz etkileyen bir durumdur (Sharun vd., 2021). *Streptococcus agalactiae* en yaygın rastlanan streptokok türüdür. *S. agalactiae* biyofilm oluşturarak konaktaki yerinde ısrarcı olmakta ve aynı zamanda meme bezine kolonize olmaktadır (Delibaş ve Türkyılmaz, 2018; Cheng ve Han 2020; Chiesa vd., 2020). Ayrıca *S. agalactiae* (Grup B streptokoktur), insan bağırsak yolunun ve vajinasının bir komensalidir. Bununla birlikte yenidoğanlarda ve yaşlılarda, potansiyel olarak ölümcül enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir (Sorensen vd., 2019). Sütte oldukça yaygın rastlanılan *Streptococcus* spp. türleri sadece mastitis etmeni değil genel anlamda bulaşıcı ve çevresel patojenler olarak sınıflandırılmaktadır. Konak üzerinde yaşayanları sığırlar arasında sağım yoluyla bulaşabilmekte ve zoonoz özellik göstermektedir. Çevresel olan türleri ise konakçı dışında yaşamını sürdürüp

ineğin çevresindeki normal mikrobiyotanın bir parçasıdır ve yine insan sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturmaktadır (Cheng ve Han, 2020; Kabelitz vd., 2021).

Sütte patojenlerin ihtivası dışında diğer bir önemli konu bakterilerin taşıdığı genetik elementlerdir. Bu noktada hayvanlarda antibiyotik direnç konusu önem kazanmaktadır. Süt üreticiliğinde yaygın antibiyotik kullanımı, hastalık sağaltımında zorluklara sebep olurken sonrasında gıda zincirine girebilecek ve insan sağlığını etkileyebilecek antimikrobiyal dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkma riskini artırmaktadır (Kabelitz vd., 2021). Son yıllarda antibiyotik direnci fazlaca artış göstermiş ve giderek büyüyen bir krize dönmüştür (Skočková vd., 2015; Ahmed 2021). Çünkü bakteriler bu direnç genlerini horizontal ve vertikal olarak türler arası yayabilmektedir (Read ve Woods, 2014; Andersson vd., 2020) ve direnç gelişimi için antibiyotiğe maruz kalmak zaruri bir durum değildir. Dolayısıyla antimikrobiyal direnç sağlayan genlerin aktarımı ve yayılımı sadece çevresel patojenlerle olmamakta aynı zamanda bakteriyel doğal ekosistemler de bu konuda belirleyici olmaktadır (Gueimonde vd., 2013; Sipahi vd., 2019). Bu hususta hayvansal kaynaklı gıdalar ve gıda kaynaklı patojenler direnç genlerinin kaynağı konumundadır. Süt ise buna en iyi örnektir. Çünkü süt çok farklı etmenlerden kontamine olmakta ve hatta kaynatma ya da pastörizasyon işlemleri sonrasında bile bakterilerin ürettikleri bazı genetik ve metabolik ürünler sütte varlığını devam ettirebilmektedir. Bu sebeple süt mikrobiyotasının mevcut durumu ve bu popülasyonun direnç profilinin belirlenmesi önemlidir (Fusco vd., 2020; Güneri ve Kızılyıldırım, 2022).

Antimikrobiyal ajan direncinin potansiyel riskleri, insan sağlığı ve gıda endüstrisinde yaratacağı endişeler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Gerçek şu ki antimikrobiyal ajan direnci Dünya üzerinde birçok sektör için yük oluşturmaktadır. Bu çalışmada sağlıklı hayvanlardan elde edilen süt örneklerinde

Streptococcus spp. türlerinin varlığının ve antibiyotik direnç profillerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Örneklerin Toplanması ve Kültür

Süt örnekleri direkt olarak sağlıklı görünen hayvanlardan (süt ineklerinden) el ile sağım şeklinde toplanmıştır. İstanbul-Düzce ve çevresinden (Türkiye) toplanan 249 süt örneğinin her biri steril bir falkona sağılmış ve direkt olarak laboratuvara getirilmiştir. Sağım işlemi öncesi meme başı steril su ile yıkanmıştır. Örnekler Haziran - Ekim 2022 tarihleri arasında köy tipi besi çiftliklerinden toplanmıştır. Her bir süt örneği aynı gün %5 defibrine koyun kanı içeren Columbia Agar Base (Condalab, İspanya) besiyerine ekilmiştir. 37°C'de 24 sa inkübasyon sonrası farklı koloniler seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Kültür için Tyryptic Soy Agar (TSA), (Merck, Almanya) ve Tyryptic Soy Broth (TSB) (Condalab, İspanya) besiyerleri kullanılmıştır.

Bakterilerin Tanımlanması

Saflaştırılan kültürlerde sırasıyla Gram boyama, katalaz, oksidaz, oksidasyon/fermantasyon, indol, metil red (MR), voges proskauer (VP) ve sitrat testleri yapılmıştır. Sonrasında identifikasyon için sekans yönteminden yararlanılmıştır. Tüm izolatların katı kültürlerinden alınan kolonilerden DNA ekstraksiyonu TE buffer ile (10mM Tris-HCl ve 1mM EDTA, pH:8.0) kaynatılarak yapılmıştır. İzolatların 16S rRNA gen dizi analizleri için konvensiyonel PCR yönteminden yararlanılmıştır. Çalışmada F- ATT CTA GAG TTT GAT CAT GGC TCA; R-ATG GTA CCG TGT GAC GGG CGG TGT GTA primerleri (Brosius vd., 1978) ve PCR mix (K0171 Thermo Scientific) 10 pmol reverse ve forward primerler ile PCR water kullanılmıştır. Termal döngüde ilk denatürasyon 95°C'de 2 dakika, 35 döngü için her döngüde 94°C'de 1 dakika, 50 °C'de 1 dakika, 72 °C'de 2 dakika, son döngüden sonra 72 °C'de 5 dakikada gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri Macrogen firmasına (Wageningen, Hollanda) gönderilerek dizi analizi yapılmıştır. Sonuçların karşılaştırılması BLAST programı kullanılarak GenBank veri tabanı ile yapılmıştır.

Antibiyotik Direnç Profili

Bu çalışmada *Streptococcus* izolatları sütteki majör patojen olarak değerlendirilmiş ve sadece *Streptococcus* spp. olarak tanımlanan izolatlarda antibiyotik direnç profilleri Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) tarafından önerilen disk difüzyon testi ile belirlenmiştir (CLSI 2019). Çalışmada 8 ayrı sınıftan 21 farklı antibiyotik diski (Bioanalyse, Türkiye) kullanılmıştır. Bunlar; vankomisin (30 µg), penisilin-G (10U), streptomisin (10µg), tetrasiklin (30 µg), kanamisin (30 µg), neomisin (30 µg), nitrofurantoin (300 µg), eritromisin (15 µg), imipenem (10 µg), gentamisin (10 µg), amoksisilin-klavulanik asit (30 µg), ampisilin sulbaktam (20 µg), kloramfenikol (30 µg), siprofloksasin (5 µg), ofloksasin (10 µg), nalidiksik asit (30 µg), seftazidim, (30 µg), sefotaksim (30 µg), aztrenoam (30 µg), sefoksitin (30 µg), oksasilin (1 µg). Test sonuçları duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir.

Çoklu Antibiyotik Direnci

Yukarıda bahsedilen kinolon, nitrofuran, beta laktam, aminoglikozid, glikopeptid, tetrasiklin, kloramfenikol ve makrolid gruplarından farklı antibiyotikler kullanılmıştır. Test edilen antibiyotiklerden 3 ve daha fazlasına karşı direnç gösteren izolatlar çoklu antibiyotik dirençli olarak kabul edilmiştir (de Jong vd., 2018).

BULGULAR VE TARTIŞMA

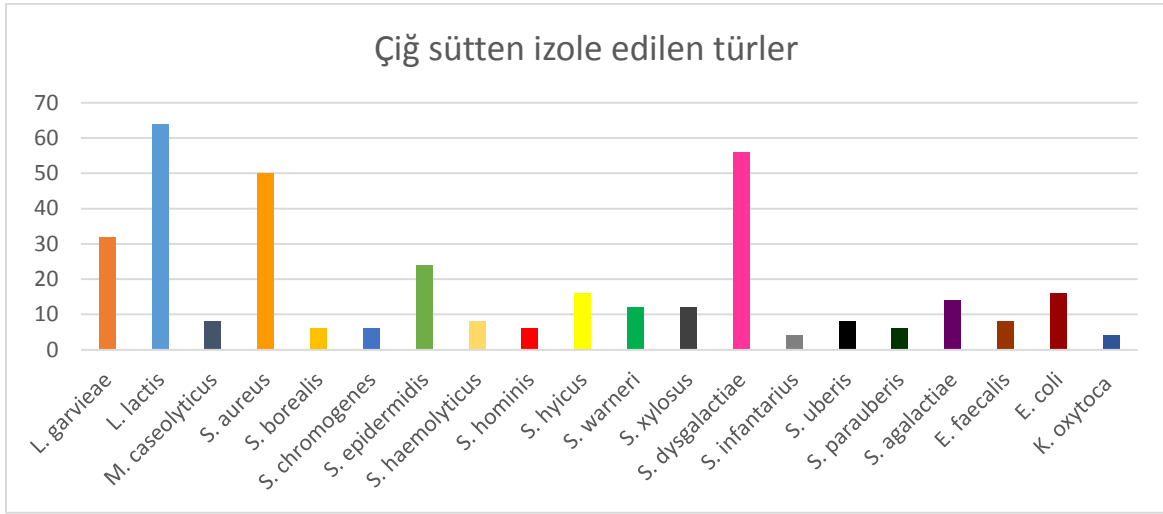
Çiğ süt tüketiminin artan popülaritesine ilişkin olası faydaları konusunda tartışmalar devam etmektedir. Bununla birlikte, çiğ sütün patojen bakterilerle kontamine olması durumunda süt kaynaklı hastalıklara yakalanma riski nedeniyle Gıda ve İlaç İdaresi ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri gibi düzenleyici veya halk sağlığı kuruluşlarının önemli endişeleri bulunmaktadır. Hatta kaynatma veya diğer işlemler sonrasında bile bakterilerin ürettikleri bazı genetik ve metabolik ürünlerin sütte varlığını devam ettirmesi sağlık açısından risk teşkil ettiği bildirilmektedir (Lucey, 2015).

Süt Örneklerinden Elde Edilen İzolatlar

Süt, mikroorganizmaların gelişmesi için oldukça uygun bir ortamdır ve sütün mikrobiyal yükü ne

oranda ise bozunma hızı da o oranda artmaktadır (Başar ve Heperkan 2020). Dolayısıyla sağlıklı hayvanlardan toplanan çiğ süt örneklerinin mikrobiyotasının bilinmesi hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından potansiyel riski ortaya koyduğundan oldukça önemlidir. Bu çalışmada sağlıklı görünen hayvanlardan toplanan 249 süt örneğinden *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecalis* ve *Macrococcus caseolyticus* olmak üzere toplam 358 izolat elde edilmiştir. En yüksek %17.87 oranda *L. lactis* elde edilmiştir. Sonrasında en yüksek olarak *S. dysgalactiae* %15.64

ve %13.96 *S. aureus* suşları izole edilmiştir. En önemli çevresel etkenlerden *E. coli* %4.46 ve *S. epidermidis* %6.7 oranında tespit edilmiştir. Çalışmada toplam elde edilen izolatların %23.46'sı *Streptococcus* spp. olarak tanımlanmıştır. Diğer bir deyişle 5 farklı türden toplam 88 adet *Streptococcus* spp. türüne rastlanmıştır. *Streptococcus* spp.'nin türe göre tespiti şu şekilde olmuştur: Bunlar *S. dysgalactiae* (n=56), *S. agalactiae* (n=14), *S. uberis* (n=8), *S. infantarius* (n=4), *S. parauberis* (n=6) şeklindedir. Elde edilen izolatların türe göre dağılımı Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Çiğ süttlerden izole edilen bakterilerin türe göre izolat sayısı (n)
Figure 1. Number of isolates of bacteria isolated from raw milk by species (n)

Çalışmada izole edilen türlerin büyük çoğunluğu fırsatçı patojen özelliğindedir. Bu patojenlerin neden olabileceği subkronik mastitis ise bir süre hiçbir semptom vermeden gelişebilir ve çiğ süt kalitesini insan tüketimi için olumsuz etkileyebilir. Ayrıca yüksek oranda fırsatçı ajan içeren sütler, diğer gıdaların (peynir yoğurt gibi) eldesi için prosese uygun değildir (Guzmán-Luna vd., 2022). Bu çalışmaya benzer şekilde semptom göstermeyen ve sağlıklı görünen hayvanlardan alınan süt örneklerinde Cervinkova vd. (2013) başta koagülaz negatif stafilokok olmak üzere (%53.5), sırasıyla diğer oranında streptokok türlerini (%11.7) (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* and *S. uberis*) ve diğer potansiyel patojenleri tespit ederken Sorge vd. (2021) süt örneklerinden yüksek oranda *L. lactis*, *L. garvieae*, *E. faecalis*, *E.*

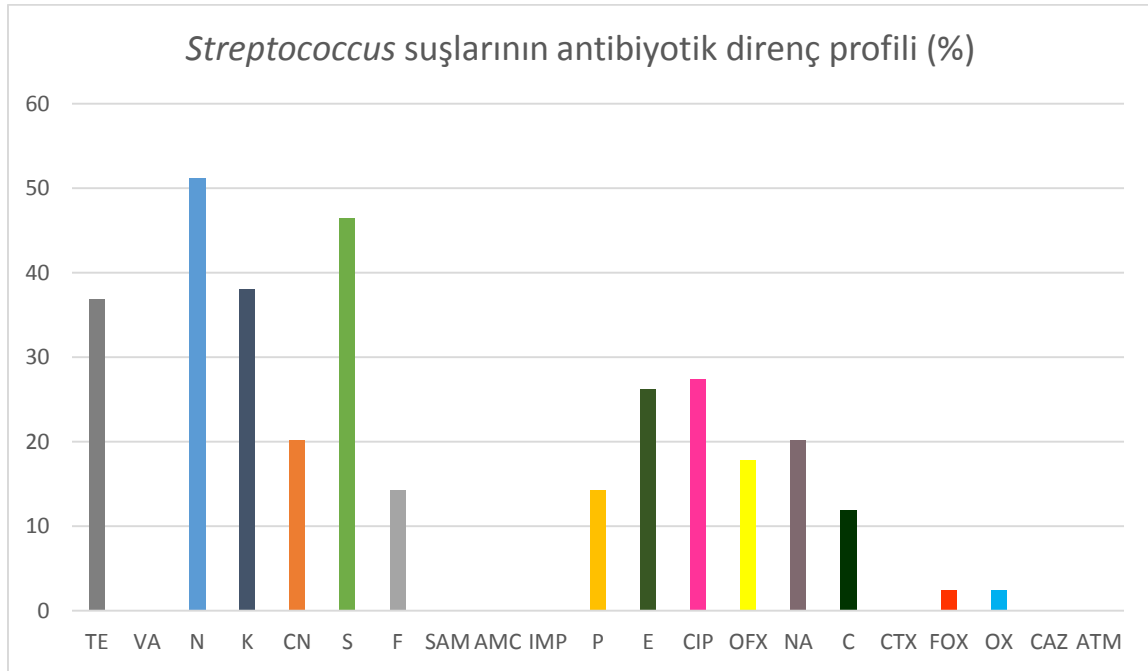
faecium, *S. uberis* tespit etmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada 735 süt örneği incelenmiş ve toplam 64 (% 8,71) izolat streptokok olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 22 izolat *S. agalactiae*, 13 izolat *S. dysgalactiae* ve 29 izolat *S. uberis* olarak tespit edilmiştir (Tian vd., 2019).

İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri

Dünya çapında sütün yaygın kontaminantı olan streptokok türleri sahip olduğu virülans faktörleri ve antimikrobiyal direnç genleri aracılığıyla insan sağlığı için tehdit oluşturmaktadır (Pérez vd., 2020). Bu çalışmada toplanan süt örneklerinin aerob bakteriyel mikrobiyotası tespit edilmiş olup sadece streptokok türlerinin antibiyotik direnç profili araştırılmıştır. Bu çalışmada tespit edilen *Streptococcus* spp. izolatlarının antibiyotik

duyarlılıklarının daha önce kaydedilen sonuçlarla nispeten benzerlik gösterdiği görülmektedir. Çalışmada en yüksek oranda neomisin (%51.19) direnci görülmüştür. Bunu sırasıyla streptomisine (%46.42), kanamisine (%38.09) ve tetrasikline (%36.9) karşı tespit edilen direnç oranları izlemiştir. En düşük direnç sefoksitin (%2.38) ve oksasiline (%2.38) karşı görülmüşken, vankomisin, ampisilin-sülbaktam, amoksisilin-klavulanik asit, imipenem, sefotaksim, seftazidim ve aztrenoama karşı dirençli suş tespit edilmemiştir. Tüm *Streptococcus* spp. suşlarında tespit edilen direnç profili Şekil 2'de gösterilmiştir. En önemli patojen olan *S. agalactiae* için bu direnç durumu yine en yüksek olarak neomisine karşı

görülmüş ve buna göre toplam 56 *S. agalactiae* izolatının 32'sinde direnç saptanmıştır. Benzer şekilde streptomisine 30, kanamisine 29, tetrasikline 25, siprofloksasine 22, eritromisine 17, penisiline 11, ofloksasine ve nalidiksik aside 13, tetrasikline 10, nitrofurantoin ve kloramfenikole karşı 7, sefoksitin ve oksasiline karşı 2'şer izolatta direnç tespit edilmiştir (Çizelge 1). Çalışmada sadece 2 farklı *S. dysgalactiae* suşunda beta laktam grubu antibiyotiklere (FOX ve OX) karşı direnç gözlenmiştir (Çizelge 2). Bu iki suş ayrıca test edilen antibiyotiklerin %66'sına karşı dirençli olarak tespit edilmiştir. Diğer suşların tür içindeki direnç dağılımları Çizelge 2 ve 3'te verilmiştir.



Şekil 2. *Streptococcus* spp. izolatlarının antibiyotik direnç profili: TE: Tetrasiklin, VA: Vankomisin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampisilin-sülbaktam, AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, IMP: Imipenem, E: Eritromisin, CIP: Siprofloksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik asit, C: Kloramfenikol, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, OX: Oksaslin, CAZ: Seftazidim, ATM: Aztrenoam.

Figure 2. The antibiotic resistance profile of streptococcal isolates: TE: Tetracycline, VA: Vancomycin, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampicillin-sulbactam, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Tetracycline, VA: Vancomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Nalidixic acid, C: Chloramphenicol, CTX: Cefotaxime, FOX: Cefoxitin, OX: Oxacilin, CAZ: Ceftazidime, ATM: Aztrenoam.

Sütten izole edilen *Streptococcus* spp. suşlarının antibiyotik direnç profili

Çizelge 1. *S. agalactiae*'nin antibiyotik direncinin tür içinde değerlendirilmesi
Table 1. Evaluation of antibiotic resistance of *S. agalactiae* within the species

Antibiyotik Direnç Oranları (n=14)					
Antibiotic Resistance Rates					
	n (%)		n (%)		n (%)
TE	5 (35.7)	E	3 (21.4)	SAM	-
VA	-	CIP	1 (7.1)	AMC	-
N	7 (50)	OF	2 (14.2)	IMP	-
K	2 (14.2)	NA	2 (14.2)	P	1 (7.14)
CN	5 (35.7)	C	3 (21.4)	OX	-
S	5 (35.7)	CTX	-	CAZ	-
F	1 (7.1)	FOX	-	ATM	-

TE: Tetrasiklin, VA: Vankomisin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampisilin-sulbaktam, AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, IMP: Imipenem, E: Eritromisin, CIP: Siprofloksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik asit, C: Kloramfenikol, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, OX: Oksaslin, CAZ: Seftazidim, ATM: Aztrenoam.

TE: Tetracycline, VA: Vancomycin, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampicillin-sulbactam, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Nalidixic acid, C: Chloramphenicol, CTX: Cefotaxime, FOX: Cefoxitin, OX: Oxacilin, CAZ: Ceftazidime, ATM: Aztrenoam.

Çizelge 2. *S. dysgalactiae*'nin antibiyotik direncinin tür içinde değerlendirilmesi
Table 2. Evaluation of antibiotic resistance of *S. dysgalactiae* within the species

Antibiyotik Direnç Oranları (n=56)					
Antibiotic Resistance Rates					
	n (%)		n (%)		n (%)
TE	25 (44,6)	E	17 (30,3)	SAM	-
VA	-	CIP	22 (39,2)	AMC	-
N	32 (57,1)	OFX	13 (23,2)	IMP	-
K	29 (51,7)	NA	13 (23,2)	P	11 (19,6)
CN	10 (17,8)	C	7 (12,5)	OX	2 (3,57)
S	30 (53,5)	CTX	-	CAZ	-
F	7 (12,5)	FOX	-	ATM	-

TE: Tetrasiklin, VA: Vankomisin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampisilin-sulbaktam, AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, IMP: Imipenem, E: Eritromisin, CIP: Siprofloksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik asit, C: Kloramfenikol, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, OX: Oksaslin, CAZ: Seftazidim, ATM: Aztrenoam.

TE: Tetracycline, VA: Vancomycin, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampicillin-sulbactam, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Nalidixic acid, C: Chloramphenicol, CTX: Cefotaxime, FOX: Cefoxitin, OX: Oxacilin, CAZ: Ceftazidime, ATM: Aztrenoam.

Çizelge 3. Diğer suşların antibiyotik direncinin tür içinde değerlendirilmesi
Table 3. Evaluation of antibiotic resistance of other strains within the species

	<i>S. infantarius</i> (n=4)	<i>S. uberis</i> (n=6) n(%)	<i>S. parauberis</i> (n=4)
TE	-	-	1 (25)
N	4 (100)	-	-
K	-	1 (16.6)	-
CN	-	2 (33.3)	-
S	4 (100)	-	-
F	3 (75)	1 (16.6)	-
E	-	-	2 (50)
NA	-	2 (33.3)	-

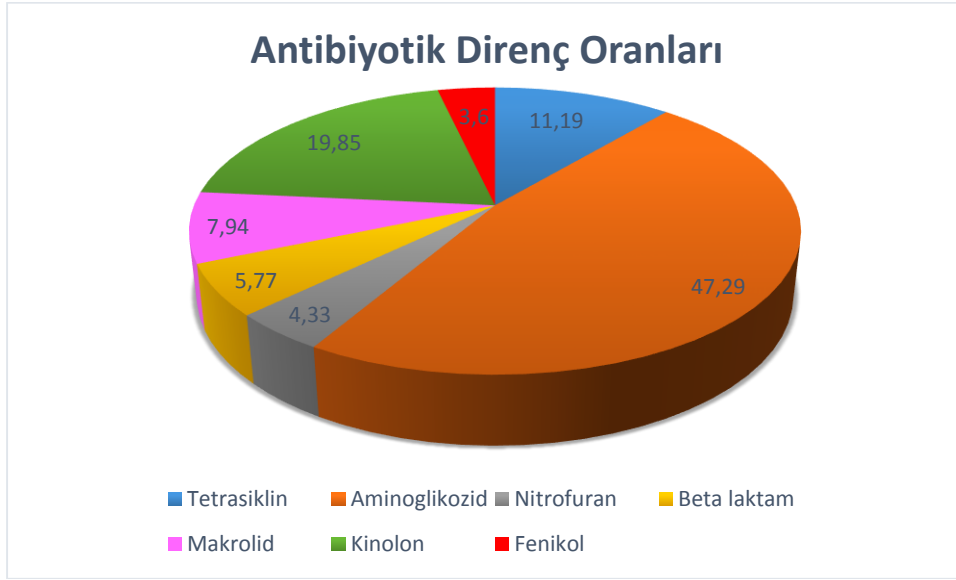
Test edilen diğer antibiyotiklere direnç rastlanmamıştır. O sebeple tabloda verilmemiştir. TE: Tetrasiklin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, E: Eritromisin, NA: Nalidiksik asit. There was no resistance to other antibiotics tested. For this reason, it is not given in the table. TE: Tetracycline, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, E: Erythromycin, NA: Nalidixic acid.

Antibiyotik tedavisi, sığır mastitisini ve insan enfeksiyonunu kontrol etmek için önemli bir araçtır; ancak bakteriler kullanılan antibiyotiklere karşı sıklıkla direnç geliştirmektedir (Kou vd., 2021). Emam vd. (2021), çalışmalarında tetrasiklin (%90), ampicilin (%80), rifampin (%60), sülfametoksazol/trimetoprim (%50), gentamisin (%45), eritromisin ve nalidiksik asit (%40), kloramfenikol (%30) ve streptomisine (%25) karşı yüksek direnç gösterdiğini bildirmiştir. Tian vd. (2019) çalışmalarında streptokok izolatlarının tetrasikline karşı en yüksek direnç oranına (% 98.44) sahip olduğunu, oksasilin (% 98.44), penisilin G (% 96.88) ve doksisisiklin (% 96.88) antibiyotiklerine karşı belirtilen oranda dirençli olduğunu ve en düşük direncin ise siprofloksasine karşı geliştiğini (% 1.56) tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada çiğ süttten *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnç profili incelenmiş ve en yüksek olarak klindamisin direnci %80, tetrasiklin direnci %16 olarak tespit edilmiştir (Keyvan, 2019). Bu çalışmada klindamisin antibiyotiğine ya da diğer linkosamid grubundan bir antibiyotik test edilmemiştir. Çalışmada seçilen antibiyotikler streptokok suşları ve çiftliklerde yaygın kullanılan antibiyotik grupları düşünülerek seçilmiştir. İleriki çalışmalarda antibiyotik spektrumlarının genişletilmesi faydalı olabilir. Bununla birlikte bu çalışmada yüksek oranda tespit edilen antibiyotik dirençliliğine yemlere takviye olarak antimikrobiyal ajan ilavesi ya da düzensiz ve sık antibiyotik tedavisi neden olmuş olabilir. Çünkü

yapılan çalışmalar veterinerlikte ve tıpta antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı ile antropojenik aktivitelerin çevrede antibiyotik direnç genlerinin dağılımına, bunun da zorluklara neden olduğunu göstermektedir (Berendonk vd., 2015). Güneydoğu Asya'da antimikrobiyal kullanım üzerine yapılan bir araştırmada, yem hariç, bu bölgedeki çiftçilerin kg canlı domuz başına 46 mg farklı antimikrobiyal bileşik ve kg canlı tavuk başına yılda 52-276 mg uyguladığını göstermiştir (Nhung vd., 2016). Yine benzer şekilde tavuk, hindi ve sığır çiftliklerinde verilen antibiyotiklerin %84'nün profilaktik amaçlı verildiği bildirilmiştir (Zalewska vd., 2021). Bunun dışında özellikle büyükbaş hayvan çiftliklerinde yemlerde antibiyotik ilavesi olduğuna ve bunun olumsuz sonuçlarına vurgu yapan çalışmalar da mevcuttur (Companyó vd., 2009; İrkin vd., 2019; Küçükbüğrü ve Acaröz, 2020).

Çoklu Antibiyotik Direnç Profili

Toplamda 88 adet *Streptococcus* spp. izolatının %64.28'inde çoklu antibiyotik direnci görülmüştür. İzolatların 2'si 7 ayrı sınıfa, 6'sı 5 farklı sınıfa, 7'si 4 farklı sınıftan antibiyotiğe karşı direnç göstermiştir. 38 izolat ise 3 farklı sınıftan antibiyotiğe karşı dirençli olarak saptanmıştır. En fazla aminoglikozid sınıfına karşı direnç saptanmışken, glikopeptid laktam olmayan antibiyotik vankomisine karşı dirençli izolat görülmemiştir.



Şekil 3. *Streptococcus* spp. izolatlarının antibiyotik sınıflarına göre direnç oranları (%)
Figure 3. *Streptococcus* spp. resistance rates of isolates according to antibiotic classes (%)

Toplum sağlığı açısından oldukça önemli bir ajan olan antibiyotikler bir yandan sağaltımda başarı sağlarken diğer yandan kullanılan antibiyotiğe karşı bakterilerin dirençli olmasına neden olmaktadır (Sipahi vd., 2013). Bu nedenle çeşitli hayvansal kaynaklı gıdaların incelendiği örneklerde antibiyotik direncine sıklıkla rastlanmaktadır. Süt bu açıdan önemli bir kaynaktır. Saed vd. (2020) incelediği süt örneklerinde izole ettiği streptokok türlerinde en fazla direnci linkozamidlere ve makrolid grubu antibiyotiklere karşı görüldüğü belirtilerek çoklu antibiyotik direncinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada çiğ süttten izole edilen *S. agalactiae* türlerinin %100 oranında en az 3 veya daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Zhao vd., 2022). Gerçekleştirilen bu çalışmada *S. agalactiae* türlerinin %50'sinden fazlasının ve genel olarak izolatların %64'ünden fazlasının çoklu antibiyotik direnci göstermesi yüksek oranda direnç olarak yorumlanmıştır. Bu durum streptokok enfeksiyonlarının önemini arttırmakta ve insan sağlığı açısından çok büyük risk olarak düşünülmüştür. Çünkü hâlihazırda streptokok enfeksiyonları toplumda önemli enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bu suşların beraberinde yüksek çoklu direnç göstermeleri endişe yaratmaktadır. Yapılan başka bir çalışmada ise süttten izole edilen

S. uberis suşlarında oldukça düşük (%6.4) olduğu bildirilmiştir (Magagula vd., 2023). Bu sonuç bizim çalışmamızla *S. uberis*'in tür içi değerlendirmesiyle paralellik göstermektedir. Diğer yandan bu çalışmada *S. dysgalactiae* izolatları *S. uberis*'in aksine yüksek çoklu direnç göstermiştir. Süttten izole edilen bakterilerde yüksek antimikrobiyal ajan direnci görülmesi ise genel olarak toplum sağlığı açısından önemli bir sorundur.

SONUÇ

Patojen mikroorganizmaların süttteki varlığının bilinmesi süttün kalitesi ve toplum sağlığı açısından önemlidir. Bu çalışmada incelenen süt örneklerinde bazı patojen suşların yüksek oranda var olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada gerek insan sağlığı gerekse de hayvan refahı ve süt verimi açısından oldukça önemli olan *Streptococcus* spp. suşlarının direnç profili incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Streptococcus* spp. izolatları nispeten yüksek sayıda çoklu ilaca dirençli olarak belirlenmiştir. *Streptococcus* spp. izolatlarının en yaygın olarak aminoglikozid sınıfına dirençli olduğu, ardından sırasıyla kinolon, tetrasiklin, makrolid, beta laktam, nitrofuran ve fenikole karşı dirençlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum süt tüketiminin gıda kaynaklı enfeksiyon için potansiyel bir risk olabileceğini göstermiştir. Bu

nedenele tüketicilerin pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinden kaçınması önerilmektedir. Ayrıca sağlık riskini temsil edebilecek gıdaları tanımak ve gıda kaynaklı enfeksiyonların etkili tedavisini sağlamak için *Streptococcus* spp prevalansının yanı sıra ortaya çıkan antimikrobiyal direncin daha fazla izlenmesi gerekmektedir. Çünkü bakteriyel direnç sürekli bir değişim halindedir ve süt insan besini olarak halk arasında çok önemli bir yere sahiptir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu çalışmayla ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Yazarlar (NS ve CC) araştırma kaynaklarının elde edilmesinde ve deneylerin yürütülmesinde ortak katkı sağlamıştır. Makalenin yazımı ve revizyonu NS tarafından gerçekleştirilmiştir. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKÇA

Ahmed, I. M. (2021). Detection of CTX-M gene in extended spectrum β -lactamases producing Enterobacteriaceae isolated from bovine milk. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(2), 397-402. Doi: 10.33899/ijvs.2020.126909.1412

Andersson, D. I., Balaban, N. Q., Baquero, F. (2020). Antibiotic resistance: turning evolutionary principles into clinical reality. *FEMS Microbiol Review*, 44(2), 171-188. Doi: 10.1093/femsre/uaa001

Başar, C. S., Heperkan, Z. D. (2021). Sütün mikrobiyotası ve bozulmasına yol açan önemli bakteriler. *Gıda*, 46(3), 660-668. Doi: 10.15237/gida.GD21034

Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., ... & Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature reviews microbiology*, 13(5), 310-317.

Brosius, J., Palmer, M.L., Kennedy, P.J., Noller, H.F. (1978). Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 75, 4801-4805. Doi: 10.1073/pnas.75.10.4801

Cervinkova, D., Vlkova, H., Borodacova, I., Makovcova, J., Babak, V., Lorencova, A., Jaglic, Z. (2013). Prevalence of mastitis pathogens in milk from clinically healthy cows. *Veterinarni Medicina*, 58(11), 567-575.

Cheng, W. N., Han, S. G. (2020). Bovine mastitis: Risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments-A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1699. Doi: 10.5713/ajas.20.0156

Chiesa, L. M., DeCastelli, L., Nobile, M., Martucci, F., Mosconi, G., Fontana, M., Panseri, S. (2020). Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. *Lwt*, 131, 109783. Doi: 10.1016/j.lwt.2020.109783

CLSI (2019). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA ABD.

de Jong A, Simjee S, El Garch F ve ark. (2018). Antimicrobial susceptibility of enterococci recovered from healthy cattle, pigs and chickens in nine EU countries (EASSA Study) to critically important antibiotics. *Veterinary Microbiology*, 216, 168-175. Doi: 10.1016/j.vetmic.2018.02.010

Companyó, R., Granados, M., Guiteras, J. ve Prat, M. D. (2009). Antibiotics in food: Legislation and validation of analytical methodologies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(4), 877-891. doi:10.1007/s00216-009-2969-4

Delibaş, Y., Türkyılmaz, S. (2018). Detection of Some Bacteriocin Genes in *Enterococcus faecium* Isolates Obtained from Mastitic Bovine Milk Samples. *Van Veterinary Journal*, 29(1).

Emam, A., El-Diasty, M., Abdelkhalek, A. (2021). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* isolated from Raw Milk in Dakahlia Governorate, Egypt. *Zagazig Veterinary Journal*, 49(1), 67-77. Doi: 10.21608/ZVJZ.2021.64186.1131

Fusco, V., Chieffi, D., Fanelli, F., Logrieco, A. F., Cho, G. S., Kabisch, J., Franz, C. M. (2020). Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Comprehensive Reviews*

- in *Food Science and Food Safety*, 19(4), 2013-2049. Doi: 10.1111/1541-4337.12568
- Gueimonde, M.; Sánchez, B.; G. de los Reyes-Gavilán, C.; Margolles, A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front Microbiol*, 2013, 4, 202. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00202>
- Guneri, C. O., Kızılyıldırım, S. (2022). Tüketime sunulan çiğ sütlerde *Escherichia coli* O157: H7 araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(3), 441-447. Doi: 10.22312/sdusbed.1202809
- Guzmán-Luna, P., Nag, R., Martínez, I., Mauricio-Iglesias, M., Hospido, A., & Cummins, E. (2022). Quantifying current and future raw milk losses due to bovine mastitis on European dairy farms under climate change scenarios. *Science of the Total Environment*, 833. Doi: 155149. 10.1016/j.scitotenv.2022.155149
- İrkin, R., Batu, Z. ve Özbek, K. (2019). Hayvansal besinlerdeki antibiyotik kalıntılarının insan sağlığına etkileri. *International Aegean Symposium on Innovative Interdisciplinary Scientific Researches Proceedings Book*.
- Kabelitz, T., Aubry, E., van Vorst, K., Amon, T., & Fulde, M. (2021). The role of *Streptococcus* spp. in bovine mastitis. *Microorganisms*, 9(7), 1497. Doi: 10.3390/microorganisms9071497
- Keyvan, E. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında antibiyotik direnç özelliklerinin tespiti. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. 2019; 90(1): 9-14.
- Kou, X., Cai, H., Huang, S., Ni, Y., Luo, B., Qian, H., Wang, X. (2021). Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw milk in Northern Xinjiang, China. *Frontiers in Microbiology*, 12, 705947. Doi: 10.3389/fmicb.2021.705947
- Küçükbuğru, N., Acaröz, U. (2020). Gıdalarda antibiyotik kalıntıları ve halk sağlığına etkileri. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 11(3), 161-167. Doi:10.38137/vetfarmatoksbulen.822713
- Lucey, J. A. (2015). Raw milk consumption: risks and benefits. *Nutrition Today*, 50(4), 189. doi: 10.1097/NT.0000000000000108
- Magagula, S., Petzer, I. M., Famuyide, I. M., & Karzis, J. (2023). Biofilm expression and antimicrobial resistance patterns of *Streptococcus uberis* isolated from milk samples of dairy cows in South Africa. *Journal of Dairy Research*, 90(1), 42-46. Doi: 10.1017/S0022029923000158.
- Miclean, M., Cadar, O., Levei, E. A., Roman, R., Ozunu, A., & Levei, L. (2019). Metal (Pb, Cu, Cd, and Zn) transfer along food chain and health risk assessment through raw milk consumption from free-range cows. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(21), 4064. Doi: 10.3390/ijerph16214064
- Nhung, N. T., Cuong, N. V., Thwaites, G., and Carrique-Mas, J. (2016). Antimicrobial usage and antimicrobial resistance in animal production in southeast asia: a review. *Antibiotics* 5:37. doi: 10.3390/antibiotics5040037
- Pérez, V. K. C., da Costa, G. M., Guimaraes, A. S., Heinemann, M. B., Lage, A. P., & Dorneles, E. M. S. (2020). Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 792-802. Doi: 10.1016/j.jgar.2020.06.010
- Read, A. F., Woods, R. J. (2014). Antibiotic resistance management. *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2014(1), 147. Doi:10.1093/emph/eou024
- Saed, H. A. E. M. R., Ibrahim, H. M. M. (2020). Antimicrobial profile of multidrug-resistant *Streptococcus* spp. isolated from dairy cows with clinical mastitis. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(2), 186. Doi: 10.5455/javar.2020.g409
- Sezener, M. G., Findık, A., Ergüden, V. E., Akgöz, S., Gülhan, T., Çiftci, A. (2019). The Determination of Antibiotic Resistances and Some Virulence Genes of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis. *JAES*, 2019, 4.2: 182-187. Doi: 10.35229/jaes.571977
- Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Gugjoo, M. B., Iqbal Yattoo, M.; Patel, S. K., Chaicumpa, W. (2021). Advances in therapeutic and management approaches of bovine mastitis: a

- comprehensive review. *Veterinary Quarterly* 41(1), 107-136. Doi: 10.1080/01652176.2021.1882713
- Sipahi, N., Karakaya, E., İkiz, S. (2019). Phenotypic and genotypic investigation of the heavy metal resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from cattle stool samples. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 43(5), 684-691. Doi: 10.3906/vet-1903-82
- Sipahi, N., Mutlu, C., Akkan, T. (2013). Giresun İlinde tüketime sunulan bazı balıklardan izole edilen Enterobacteriaceae üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik düzeyleri. *Gıda*, 38(6), 343-349. Doi: 10.5505/gida.2013.55264
- Skočková, A., Bogdanovičová, K., Koláčková, I., Karpíšková, R. (2015). Antimicrobial-resistant and extended-spectrum β -Lactamase-producing *Escherichia coli* in raw cow's milk. *Journal of Food Protection*, 78(1), 72-77. Doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-250
- Sørensen, U. B. S., Klaas, I. C., Boes, J., & Farre, M. (2019). The distribution of clones of *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci) among herdspersons and dairy cows demonstrates lack of host specificity for some lineages. *Veterinary Microbiology*, 235, 71-79. Doi: 10.1016/j.vetmic.2019.06.008
- Sorge, U. S., Huber-Schlenstedt, R., Schierling, K. (2021). In vitro antimicrobial resistance profiles of *Streptococcus uberis*, *Lactococcus* spp., and *Enterococcus* spp. from quarter milk samples of cows between 2015 and 2019 in Southern Germany. *Journal of Dairy Science*, 104(5), 5998-6012. Doi: 10.3168/jds.2020-19896
- Tian, X. Y., Zheng, N., Han, R. W., Ho, H., Wang, J., Wang, Y. T., Yu, Z. N. (2019). Antimicrobial resistance and virulence genes of *Streptococcus* isolated from dairy cows with mastitis in China. *Microbial Pathogenesis*, 131, 33-39.
- Zalewska, M., Błażejewska, A., Czapko, A., & Popowska, M. (2021). Antibiotics and antibiotic resistance genes in animal manure—consequences of its application in agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 640. Doi: 10.3389/fmicb.2021.610656
- Zhao, Y., Shao, W., Wang, F., Ma, J. (2022). Chen from mastitis milk samples in China. *Journal of Veterinary Research* 66, 581-590. Doi: 10.2478/jvetres-2022-0069



**THE USE OF REFRACTANCE WINDOW-DRIED EGG POWDER IN CAKE
PRODUCTION**

**Zeynep Tuğçe Akdağ, Zeynep Elif Catalyıldız,
Hümeýra Cetin-Babaoglu, Sultan Arslan-Tontul***

Selçuk University, Agricultural Faculty, Food Engineering Department, Konya, Türkiye

Received /Geliş: 08.06.2023; Accepted /Kabul: 23.08.2023; Published online /Online baskı: 31.08.2023

Akdağ, Z. T., Catalyıldız, Z. E., Çetin Babaoglu, H., Arslan Tontul, S. (2023). The use of refractance window-dried egg powder in cake production. *GIDA* (2023) 48 (5) 963-971 doi: 10.15237/gida.GD23069

Akdağ, Z. T., Catalyıldız, Z. E., Çetin Babaoglu, H., Arslan Tontul, S. (2023). Kırınım pencereleli kurutucu ile üretilmiş toz yumurtanın kek üretiminde kullanımı. *GIDA* (2023) 48 (5) 963-971 doi: 10.15237/gida.GD23069

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the use of refractance window-dried egg powders in cake production. It was found that liquid egg white (WL) resulted in the lowest batter density of 1.05 g/mL, followed by egg white powder (WP) at 1.16 g/mL. The highest specific volume was determined in WL samples at 2.71 ml/g, followed by WP samples at 2.46 mL/g. In addition, the use of powdered eggs reduced baking loss but also caused a decrease in the crumb lightness value. Furthermore, the usage of WP had a positive effect on the hardness value of cake samples, which decreased from 884.01 g to 720.53 g. Finally, the alternative use of egg powder had a positive effect on crumb appearance, increasing both cell count and total cell area. Therefore, the incorporation of powdered eggs by refractance window drying instead of liquid eggs in cake production can be considered an applicable approach due to the various benefits it offers.

Keywords: Techno-functional properties, egg powder, refractance window drying, cake

**KIRINIM PENCERELİ KURUTUCU İLE ÜRETİLMİŞ TOZ YUMURTANIN KEK
ÜRETİMİNDE KULLANIMI**

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, kırınım pencereleli kurutma ile kurutulmuş yumurta tozlarının kek üretiminde kullanımının araştırılmasıdır. Çalışmada, en düşük hamur yoğunluğunun 1.05 g/mL ile sıvı yumurta akı (SYA) kullanılarak üretilen keklerde elde edildiği ve bunu 1.16 g/mL ile yumurta akı tozu (TYA) kullanılan kek örneklerinin takip ettiği bulunmuştur. En yüksek özgül hacim 2.71 ml/g ile SYA örneklerinde belirlenirken, bunu 2.46 mL/g ile TYA örnekleri izlemiştir. Buna ek olarak, toz yumurta kullanımını pişme kaybını azaltmış, ancak aynı zamanda kabuk parlaklık değerinde bir düşüşe neden olmuştur. Ayrıca, TYA kullanımının kek örneklerinin sertlik değeri üzerinde olumlu bir etkisi olmuş ve 884.01 g değerinden 720.53 g değerine düşmüştür. Son olarak, yumurta tozunun alternatif kullanımı, hem gözenek sayısını hem de toplam gözenek alanını artırarak kek içi görünümü üzerinde olumlu bir etkiye sahip olmuştur. Bu nedenle, kek üretiminde sıvı yumurta yerine kırınım pencere ile üretilmiş toz yumurta kullanımı, sunduğu çeşitli faydalar nedeniyle uygulanabilir olarak değerlendirilebilir.

Anahtar kelimeler: Kek kalite özellikleri, toz yumurta, kırınım pencereleli kurutma, kek

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: sultan.arslan@selcuk.edu.tr

☎: (+90) 332 223 2937

☎: (+90) 332 241 0108

Zeynep Tuğçe Akdağ; ORCID no: 0000-0003-4852-8923

Zeynep Elif Catalyıldız; ORCID no: 0000-0003-0779-7916

Hümeýra Çetin Babaoglu; ORCID no: 0000-0001-9115-6470

Sultan Arslan Tontul; ORCID no: 0000-0003-1557-7948

INTRODUCTION

The egg is considered a vital source of high-quality protein for human nutrition due to its well-balanced essential amino acid composition and high digestibility. The annual global consumption rate of hen eggs is nearly 150 per person (Gautron et al., 2022). Although the consumption of eggs in their shell form has decreased over the years, the consumption of processed egg products has increased (Rao and Labuza, 2012). Apart from its high nutritive value, the egg is widely used as the primary ingredient in bakery products due to its superior technological properties, such as foaming and emulsion-forming capacity. In particular, egg whites are used in aerated for emulsion-forming and puffed products as foaming agents (Chang et al., 2020). The egg is considered an essential ingredient in cakes and other sweet bakery products due to its unique foaming, solubility, emulsification, and coagulation qualities. Eggs play a critical role in baked goods by serving several purposes, including binding, leavening, tenderizing, and emulsifying the mixtures, as well as contributing flavour, colour, and nutritional content (Ratnayake et al., 2012).

In industrial applications, pasteurized liquid egg white or whole egg is generally preferred due to difficulties and hygienic problems associated with processing of shell eggs. However, the short storage time of pasteurized eggs and cold-storage requirements have encouraged bakery producers to seek new alternatives to liquid eggs. From a technological perspective, powdered forms of the eggs are much more suitable for application than liquid eggs as they have a longer shelf life and are more convenient for long-distance transport. Furthermore, egg powders enable precise dosing methods to be used in the formulation during large-scale production (Lechevalier et al., 2013; Chang et al., 2021). The demand for egg powder is increasing as it has been realized that it is useful in the production of bakery foods, bakery mixes, mayonnaise and salad dressings, confections, ice cream, pasta, and many convenience foods (Rao and Labuza, 2012). However, the usage of powdered egg products is still met with some reservations due to the possibility of deterioration

of solubility, foaming and emulsifying capacity and stability (Chang et al., 2021). Therefore, finding practical ways to enhance the functional capabilities of powdered egg products for effective use in food production is crucial (Chang et al., 2020).

Egg powders were first developed for the military due to their practical advantages during times of war (Lechevalier et al., 2013). By dehydration, the moisture content and water activity of liquid eggs are decreased to less than 5% and 0.2, respectively, thereby extending the shelf life to 1-2 years. Furthermore, when considering the dry matter of liquid egg yolk and white, drying offers several advantages. To obtain 1 kg of dried egg yolk, 2.3 kg of liquid is required, and 8.5 kg of liquid egg white is required to obtain the same amount of dry matter. Therefore, egg white powder is much more useful in terms of transportation compared to liquid forms (Lechevalier et al., 2013). Several drying techniques can be applied in the production of powdered egg products, with spray drying being the most commonly used technique. However, the high temperatures used during spray drying can negatively affect the functional properties of egg proteins. Additionally, spray-dried egg powder has poor solubility, which results in particle agglomeration in aqueous media. To overcome this problem, the surface of the egg powder is coated with sugar solutions (Lechevalier et al., 2013). Freeze-drying and pan-drying are other commonly used techniques for producing egg powder (Chauhan and Sharma, 2003). Pan-drying was developed for drying egg white in flake or granule form and preferred for making aerated confectionaries (Lechevalier et al., 2013). Although freeze-drying produces high quality egg powder, the cost of the process limits the usage in large scale. Therefore, the industry is seeking novel drying methods that can be applied for production of egg powder without any significant change in technological properties compared to liquid counterparts.

During the production of egg powder, process parameters can alter rheological and interface functions. Foaming capacity is one of these

critical functions, as it provides the desired structure and texture with greater volume to the final product. Previous studies demonstrated that mid-heat treatment can improve the foaming ability of egg white by increasing its surface hydrophobicity. However, thermolabile egg white proteins, such as conalbumin, can denature and become insoluble (Franke and Kiebling, 2002; Song et al., 2009). Consequently, some authors have argued that powdered egg products cannot meet the demands of cakes and need to be modified (Tang et al., 2022). While most previous studies have focused on the drying of egg white, yolk and whole egg and determined changes in technological properties, the effects of this replacement on the acceptability of the product in terms of texture, volume and sensory features have not been studied. Therefore, the data published to date is insufficient to decide whether powdered egg products meet the special requirements of food producers. To address this gap, the present study aims to evaluate the usability of egg powders produced by refractance window drying, a new generation drying technique, in the production of cakes as an alternative to liquid counterparts.

MATERIALS and METHOD

Production of Egg Powder

In egg powder production, pasteurized liquid white and whole egg (Anako, Konya, Türkiye) were used. Liquid egg samples were foamed by a mixer (Hobart, N50, Germany) for 5 min, and spread on a dryer film of pilot-scale refractance window dryer (InfraRWD, NFDS, Türkiye) with 2 mm thickness. The liquid egg white was dried at 80°C for 10 min and the liquid whole egg was dried at 90°C for 5 min. The drying temperatures and time were determined by preliminary studies. The egg powders were milled and stored in sealed bags at refrigeration temperature till cake production.

Production of Cake Samples

In the designed study, four different formulated cakes were produced using liquid egg white, liquid whole egg, powdered egg white, and powdered whole egg. The liquid egg white was separated from the egg yolk and the chalaza was removed.

The cake mix was prepared with an equal ratio of flour, egg, vegetable oil, and sugar. The vanilla and baking powder were added as 0.6% of the cake mix (Arslan-Tontul et al., 2019). The egg powders were used in the mix formulation after being suspended in water with the same dry matter content as liquid egg samples. For this purpose, 12 g white egg powder was resuspended with 88 g water, and 25 g whole egg powder was resuspended with 75 ml water. To prepare the cake mix, liquid egg samples or dehydrated egg powders and sugar were mixed for 5 min by a blender (Hobart, N50, Germany), remained ingredients were added and mixed again for 5 min. The cake mix was weighed 50 g into the molds and baked at 200°C for 20 in an electrical oven (Simens, HN678G4S6, Germany). The baked cake samples were cooled to room temperature and analysed.

Determination of mix density, cake height, and weight

Mix density was calculated by determination of the volume of 10 g batter. The height and weight of the cake were measured using a digital calliper and analytical balance.

Baking loss

Baking loss of the liquid and egg powder containing cake was calculated by weighing the batter (W_f) and cake (W_c) (Singh, Benjakul, & Karnjanapratum, 2019).

$$\text{Baking loss \% (w/w)} = ((W_f - W_c) / W_f) \times 100$$

Specific volume

The specific volume of cake samples was evaluated by the rapeseed displacement method and calculated through the volume/mass ratio and expressed in mL/g (AACC, 2000).

Colour Measurement

L^* , a^* , and b^* colour values of the cake crust were measured by the colour meter (Chroma meter CR-400, Konica Minolta, Japan). Parameter L^* represents the light-dark spectrum with a range of 0 (black) to 100 (white). Parameter a^* represents red-green colour with positive a^* values indicating redness and negative a^* values indicating greenness. Parameter b^* represents yellow-blue

colour with positive b^* values indicating yellowness and negative b^* values indicating blueness (Arslan-Tontul et al., 2022).

Texture Profile Analysis

The texture profile analysis (TPA) of the cake was determined by a texture analyser (TA-XT plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK). The sample was sliced to 2.5 cm and TPA was performed by using an aluminum 25 mm diameter cylindrical probe (P36/R), 5-kg load cell, 50% penetration depth, at a compression rate of 3 mm/s and 5 s gap between two compressions. Pre and post-test speeds were 2 mm/s and 3 mm/s, respectively (AACC, 2000).

Digital image analysis

Image analysis was carried out by cake slices. The image of the slice was captured with a flatbed scanner (M2070 HP laserjet scanner, USA), and saved as bitmap files and sRGB colour. A square field of image (4x4 cm) was cropped and converted to greyscale (8-bit) using ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). The images were pre-processed (contrast enhancement, sharpening, and noise reduction) to improve image quality, and the total number of cells and total cell area was determined after the threshold intensity was adjusted (Arslan-Tontul et al., 2022).

Statistical Analysis

The cake production was duplicated, and analysis was carried out in two parallels. The data were subjected to analysis of variance, and appropriate mean separation was conducted using Duncan's Multiple-Range Test ($p < 0.05$). All statistical calculations were performed by SAS Statistical Software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

RESULTS and DISCUSSION

Physical quality characteristics of batter and cake samples

The mix density of batters produced by liquid egg and egg powder is given in Table 1. In general, the density of batter formulated using the white parts of the egg was lower than that produced by the whole egg. Statistically, the density of batter formulated using liquid and powder whole egg

was in a similar range ($p > 0.05$). The lowest batter density was obtained when using of liquid egg white (1.05 g/mL), followed by egg white powder at 1.16 g/mL. The lower batter density is expected to result in high air retention, which means high foaming capacity. It has been reported that the greater air content of the batter caused the lower density (Tang et al., 2022). Foam volume, which is connected to bubble formation and stability, can be used to describe foaming properties. The final foaming capacity during foam formation depends on the pace of protein unfolding and adsorption at the interface. Hydrophobic and hydrophilic groups on the protein molecule eventually adsorb to the air-water interface during whipping and partially unfold there. Thus, it forms the batter density (Chang et al., 2020). This result shows that there is a limited decrease in the foaming capacity of egg white when dried by the refractance window dryer. However, previous studies have indicated that drying increases the foaming capacity of egg white. Ayadi et al. (2008) found that the foaming capacity of the dried egg white at 120°C is four times higher than that of the fresh sample, but increased drying temperatures caused a decrease in foaming capacity. Tang et al. (2022) reported that batter density was higher in powdered egg used formulates than in liquid white eggs. This discrepancy may be attributed to the diversity of drying techniques.

After baking, the changes in height and weight of the cake were determined (Table 1). In contrast to batter density, the measurements of height and weight were statistically similar in cake samples produced using liquid and powdered egg white. The lowest height was measured in the sample containing liquid egg white (EL) at 36.88 mm, and cakes containing egg powder and liquid egg white were in a similar range (44.98-48.96 mm). After baking, the weight of the cake was significantly affected by the use of liquid or powdered egg usage ($p < 0.05$). In general, the weight of cake samples produced using egg white was higher than that of the samples containing whole egg. The weight of WL and WP were measured as 45.07 g and 45.32 g, respectively. This result is attributed to the high water-holding capacity of

egg white proteins. On the other hand, the weight of EP was measured as 43.93 g, which was higher than EL (42.94 g). Additionally, these results showed that refractance window dried egg

powder can be used as an alternative to the liquid egg in cake production without any deterioration in physical features.

Table 1. Some physical properties of cake samples

Features	Samples			
	WL	WP	EL	EP
Batter density (g/mL)	1.05 ± 0.01 ^c	1.16 ± 0.05 ^b	1.29 ± 0.01 ^a	1.24 ± 0.03 ^a
Height (mm)	48.96 ± 0.35 ^a	45.50 ± 1.10 ^a	36.88 ± 0.81 ^b	44.98 ± 3.42 ^a
Weight (g)	45.07 ± 0.17 ^a	45.32 ± 0.20 ^a	42.94 ± 0.10 ^c	43.93 ± 0.41 ^b
Specific volume (mL/g)	2.71 ± 0.28 ^a	2.46 ± 0.12 ^{ba}	1.94 ± 0.05 ^b	1.85 ± 0.07 ^b
Baking loss (%)	9.86 ± 0.33 ^{bc}	9.72 ± 0.77 ^c	14.13 ± 0.21 ^a	12.15 ± 0.82 ^{ba}

WL: Liquid egg white, WP: Egg white powder, EL: Liquid whole egg, EP: Whole egg powder. The superscript letters, in the same line, indicate that are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

The specific volume is an important quality parameter for bakery products as it indicates higher gas retention and a softer crumb texture in the final product. Furthermore, consumers tend to prefer foods with higher volume. The use of liquid or powdered eggs had a significant impact on the specific volume of cakes ($p < 0.05$, Table 1). The main difference in the specific volume of cakes was obtained between egg white and whole egg. The highest specific volume was determined in WL samples at 2.71 ml/g, followed by WP samples at 2.46 mL/g. This result was considered well-correlated with batter density. The specific volume of cake is positively correlated with the foaming capacity and stability of the mix. Well-aerated and stable foams are expected to result in high specific volume. During whipping, egg protein groups are exposed to the gas and liquid phases, respectively. The viscoelasticity of the water/gas interface, which is produced by the protein-protein interaction, is correlated with the stability of the created foam. The proper protein transition may improve protein-protein interaction at the interface, decrease unfolding time, and increase adsorption rate, all of which benefit foaming properties (Chang et al., 2020). In the present study, although the weight and height of cakes formulated with liquid and powdered egg white were similar, it was considered that drying affected the functional properties of egg white proteins to a limited extent. However, in most studies, heat treatment on egg white proteins has been reported to improve their foaming ability

because the denatured proteins adsorb more easily to the air bubble surface (Song et al., 2009).

From an economic standpoint, baking loss is a significant disadvantage to the production process due to both the higher batter volume handling during commercial procedures and the loss of product weight (Ratnayake et al., 2012). The use of powdered egg white significantly affected the baking loss ($p < 0.05$), and the lowest loss value was determined in WP as 9.72%. Additionally, the highest cooking loss was obtained in EL at 14.13%, followed by EP at 12.15%. These results suggest that the denaturation occurring in the drying process may decrease the water release ratio of egg proteins and increase their water retention capacity. Similar results were reported by previous studies. Xu et al. (2022) found that the weight loss of cake produced by egg yolk powder ranged from 8.39% to 10.02%. Ratnayake et al. (2012) found that the baking loss values of yellow cakes produced by liquid and dried whole eggs were in the similar range of 8%. The authors also declared that none of the egg replacers were able to produce acceptable quality products at 100% (w/w) replacement of dry egg in the formulation.

Crumb and crust colour features

Colour is a crucial factor in food products as it reflects freshness and baking quality, which can affect consumer choices (Xu et al., 2022). The colour of foods depends on various factors such

as ingredient interactions and/or changes, and heat-induced colour changes during processing (Ratnayake et al., 2012). The crumb and crust colour of samples are presented in Table 2. The L* and b* colour values of the crust were insignificantly affected by egg powder usage ($p>0.05$), and changed between 52.32-59.37 and 25.37-26.75, respectively. On the other hand, egg powder usage significantly affected the redness of the crust, and the highest a* value was detected in EL as 12.66.

The usage of egg powder led to a decrease in crumb lightness value. The highest L* value was detected in cake formulated by the liquid whole egg at 73.80, while the lowest lightness was observed in WP and EP. Additionally, a* colour

values were also significantly affected, and egg powder usage led to an increase in redness value. This result may be attributed to Maillard-related product formation during the drying of egg powders. Furthermore, the b* value was lower in cake samples produced by liquid or powdered egg white. A similar result was also reported by Song et al. (2009) who investigated the usage of irradiated liquid or powder eggs in angel cake production. The authors found that the usage of egg powder increased the a* value and decreased the b* colour value. Ratnayake et al. (2012) reported that the crust colour of yellow cakes produced by dried and liquid whole egg was similar; however, using dried egg powder decreased crumb a* value and increased L*.

Table 2. Colour and texture features of cake samples

Features	Samples			
	WL	WP	EL	EP
Crust colour				
L*	53.09 ± 2.51 ^a	59.37 ± 4.09 ^a	53.96 ± 0.85 ^a	52.32 ± 7.61 ^a
a*	10.23 ± 1.42 ^{ba}	6.73 ± 0.93 ^b	12.66 ± 0.29 ^a	10.43 ± 2.12 ^{ba}
b*	26.43 ± 0.54 ^a	26.75 ± 0.12 ^a	25.37 ± 1.10 ^a	26.32 ± 3.99 ^a
Crumb colour				
L*	68.84 ± 1.27 ^{ba}	65.44 ± 1.19 ^b	73.80 ± 2.31 ^a	66.20 ± 1.53 ^b
a*	-1.93 ± 0.19 ^{ba}	-0.62 ± 0.66 ^a	-3.81 ± 0.64 ^b	-1.31 ± 0.20 ^a
b*	14.77 ± 0.17 ^c	16.48 ± 1.65 ^c	25.84 ± 0.33 ^a	21.65 ± 0.04 ^b
Texture profile				
Hardness	884.01 ± 39.56 ^a	720.53 ± 20.06 ^b	618.62 ± 3.77 ^c	568.43 ± 1.44 ^c
Springiness	0.94 ± 0.01 ^a	0.89 ± 0.01 ^b	0.86 ± 0.00 ^c	0.88 ± 0.00 ^b
Cohesiveness	0.77 ± 0.00 ^a	0.67 ± 0.00 ^b	0.58 ± 0.00 ^c	0.55 ± 0.01 ^d
Chewiness	639.25 ± 18.75 ^a	425.34 ± 13.84 ^b	318.64 ± 12.26 ^c	274.38 ± 0.77 ^c
Resilience	0.32 ± 0.01 ^a	0.25 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.01 ^d	0.21 ± 0.01 ^c

WL: Liquid egg white, WP: Egg white powder, EL: Liquid whole egg, EP: Whole egg powder. The superscript letters, in the same line, indicate that are significantly different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

Texture profile

The texture profile results are presented in Table 2. The usage of powdered egg white had a positive effect on the hardness value of cake samples, decreasing it from 884.01 g to 720.53 g. Additionally, the hardness value of EL and EP was in a statistically similar range. Similar results were also reported by previous studies. Song et al. (2009) reported that the hardness value of cake decreased with the usage of egg white powder. Ratnayake et al. (2012) reported similar hardness

values for liquid or dried whole eggs; however, after 7 days of storage, dried eggs showed higher hardness. Zarringhalami et al., (2021) reported that the hardness values decreased by increasing egg white powder amount from 10 to 25% in the gluten-free bread samples. This result was attributed to the reduction of surface tension by egg white and the stabilization of air bubbles in the batter, thereby reducing hardness and improving texture (Han et al., 2019). However, contrary results have also been reported such as

Tang et al. (2022) who found that the hardness value increased by egg white powder usage instead of liquid white egg, while elasticity decreased.

Likewise, the usage of egg powder decreased the springiness value of cake samples along with hardness. The lowest springiness value was measured in EL at 0.86. Cakes produced with whole egg had lower cohesiveness value than those produced with egg white powder, which caused a more cohesive crumb texture. The highest cohesiveness values were detected in WL at 0.77.

Similar to the cohesiveness value, chewiness was affected by both liquid-powdered and white-whole forms of the egg. The usage of egg white powder led to a decrease in the chewiness of the cake from 639.25 to 425.34. Additionally, the

usage of liquid or powdered whole eggs had an insignificant effect on crumb chewiness. Similar results were also obtained in resilience value.

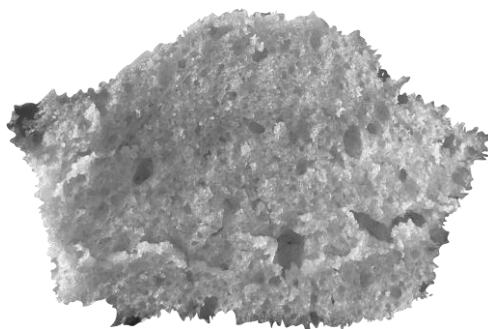
Image analysis

The alternative usage of egg powder had a positive effect on crumb appearance and increased both cell count and total cell area. The highest cell count and total cell area were detected in WP at 3304 and 97430.50 mm², respectively. These results are considered promising because the image structure improves when liquid egg products changed to powder forms. During the baking process, the structure of the cake is formed by the pasting of starch and the solidification of egg white protein, while sugar controls the rise and fall of the cake (Wilderjans et al., 2008). Therefore, the structure of egg protein is directly correlated with crumb appearance.

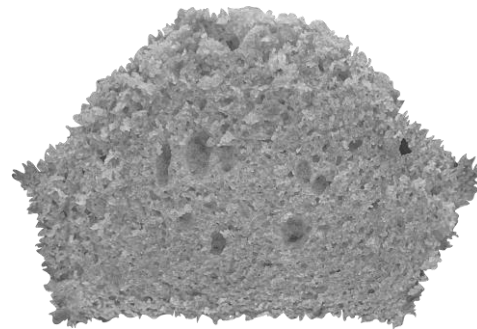
Table 3. Crumb cell count and total cell area of cake samples

Cake	Crumb cell count	Total cell area (mm ²)
WL	2947.50 ± 176 ^{ba}	43377.50 ± 150 ^{bc}
WP	3304.00 ± 150 ^a	97430.50 ± 163 ^a
EL	2223.50 ± 23 ^b	24271.50 ± 59 ^c
EP	3263.00 ± 44 ^a	74409.50 ± 25 ^{ba}

WL: Liquid egg white, WP: Egg white powder, EL: Liquid whole egg, EP: Whole egg powder. The superscript letters, in the same line, indicate that are significantly different by Duncan’s multiple range test (*P*<0.05).



WL



WP

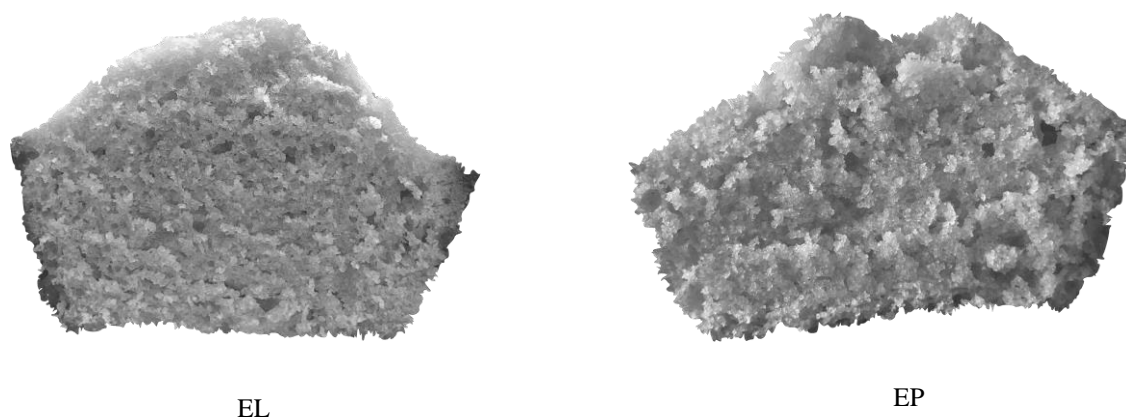


Figure 1. Cross-sectional image of cake samples produced by liquid egg white (WL) and whole egg (EL) and powder of egg white (WP) and whole egg (EP)

CONCLUSION

This is the first to demonstrate the usability of refractance window-dried egg powders in industrial cake formulation. The results showed that most of the physical quality characteristics remained similar when egg white powder was used instead of liquid egg white. Furthermore, the physical properties of cake samples were superior when using whole egg powder compared to the liquid whole egg. The use of powdered egg led to a softer crumb texture and had a positive effect on crumb appearance.

Overall, the study suggests that refractance window-dried egg powders can be a viable alternative to liquid eggs in cake formulations, as they produce cakes with similar physical quality characteristics. However, further research is needed to optimize the use of these powders in cake formulations and to investigate their impact on other sensory characteristics of the cakes.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported financially by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK project no: 1919B012110225). The authors also thank to Dr. İsmail Tontul for help in the production of egg powders.

CONFLICT TO INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest

AUTHORSHIP CONTRIBUTION

ZTA, ZEC: Investigation, Formal analysis; HCB: Data curation, Methodology, SAT: Project administration, Writing - Review & Editing.

REFERENCES

- AACC. (2000). Approved Methods of Analysis. 11th ed. Method 55-50.01, Method 74-10.02, Retrieved from Minnesota, USA.
- Arslan-Tontul, S., Çetin-Babaoğlu, H., Aslan, M., Tontul, İ. (2022). Refractance window drying in the production of instant baker's yeast and its effect on the quality characteristics of bread. *J Food Sci*, 87(11), 4771-5152.
- Arslan-Tontul, S., Erbas, M., Gorgulu, A. (2019). The Use of probiotic loaded single and double layered microcapsules in cake production. *Probiotics Antimicrob Protein*, 11(3), 840-849.
- Ayadi, M. A., Khemakhem, M., Belgith, H., Attia, H. (2008). Effect of moderate spray drying conditions on functionality of dried egg white and whole egg. *J Food Sci*, 73(6), E281-E287.
- Chang, C., Xu, Y., Shi, M., Su, Y., Li, X., Li, J., Yang, Y. (2020). Effect of dry-heat and guar gum on properties of egg white powder: Analysis of forming capacity and baking performance. *Food Hydrocolloid*, 99, 105333.
- Chang, C. H., Su, Y. J., Gu, L. P., Li, J. H., Yang, Y. J. (2021). Microwave induced glycosylation of egg white protein: study on physicochemical

- properties and baking performance. *Food Hydrocolloid*, 118, 106569.
- Chauhan, V. S., Sharma, A. (2003). Studies on organoleptic properties of food products from fresh egg and egg powder through principal component analysis. *Food*, 47(2), 102-105.
- Franke, K., Kießling, M. (2002). Influence of spray drying conditions on functionality of dried whole egg. *J Sci Food Agric*, 82(15), 1837-1841.
- Gautron, J., Dombre, C., Nau, F., Feidt, C., Guillier, L. (2022). Review: Production factors affecting the quality of chicken table eggs and egg products in Europe. *Animal*, 16, 100425.
- Han, A., Romero, H. M., Nishijima, N., Ichimura, T., Handa, A., Xu, C., Zhang, Y. J. F. H. (2019). Effect of egg white solids on the rheological properties and bread making performance of gluten-free batter. *Food Hydrocolloid*, 87, 287-296.
- Lechevalier, V., Nau, F., Jeantet, R. (2013). 19 - Powdered egg. In B. Bhandari, N. Bansal, M. Zhang, & P. Schuck (Eds.), *Handbook of Food Powders* (pp. 484-512): Woodhead Publishing.
- Rao, Q., Labuza, T. P. (2012). Effect of moisture content on selected physicochemical properties of two commercial hen egg white powders. *Food Chem*, 132(1), 373-384.
- Ratnayake, W. S., Geera, B., Rybak, D. A. (2012). Effects of Egg and Egg Replacers on Yellow Cake Product Quality. *J Food Process Preserv*, 36(1), 21-29.
- Singh, A., Benjakul, S., & Karnjanapratum, S. (2019). Use of ultrasonicated squid ovary powder as a replacer of egg white powder in cake. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 2083-2092.
- Song, H. P., Kim, B., Choe, J. H., Jung, S., Kim, K. S., Kim, D. H., Jo, C. (2009). Improvement of foaming ability of egg white product by irradiation and its application. *Radiat Phys Chem*, 78(3), 217-221.
- Tang, T., Wu, S., Tang, S., Xiao, N., Wu, L., Tu, Y., Xu, M. (2022). Effect of modified egg white powder on the properties of angel cakes. *J Food Eng*, 326, 111012.
- Wilderjans, E., Pareyt, B., Goesaert, H., Brijs, K., Delcour, J. A. (2008). The role of gluten in a pound cake system: A model approach based on gluten–starch blends. *Food Chem*, 110(4), 909-915.
- Xu, L., Echeverria-Jaramillo, E., Shin, W.-S. (2022). Physicochemical properties of muffins prepared with lutein & zeaxanthin-enriched egg yolk powder. *LWT Food Sci Technol*, 156, 113017.
- Zarringhalami, S., Ganjloo, A., Nasrabadi, Z. M. (2021). Optimization xanthan gum, Roselle seed and egg white powders levels based on textural and sensory properties of gluten-free rice bread. *J Food Sci Technol*, 58(3), 1124-1131.

ULTRASON DESTEKLİ ELMA ATIK ÖZÜTLERİNİN BAZI BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ

Hülya Şen Arslan*

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Karaman, Türkiye

Geliş/Received: 13.06.2023; Kabul /Accepted: 29.08.2023; Online baskı /Published online: 05.09.2023

Şen Arslan, H. (2023). Ultrason destekli elma atık özütlerinin bazı biyoaktif özellikleri. GIDA (2023) 48 (5) 972-980 doi: 10.15237/gida.GD23070

Şen Arslan, H. (2023) Some bioactive properties of ultrasound supported apple waste extracts. GIDA (2023) 48 (5) 972-980 doi: 10.15237/gida.GD23070

ÖZ

Araştırmada elma atıklarının (yaprak, kabuk, posa) ultrason destekli su banyosunda 40 °C, %50 (333W) güç ve 2 saat sürede metanol ile alınan özütlerinin toplam fenolik madde miktarı (TFMM), antioksidan aktivitesi, *E. faecalis* ve *S. mutans* inhibisyonu ve kolon kanser hücresi üzerine etkisi araştırılmıştır. Özütler içinde TFMM bakımından en yüksek değer yaprağa (104.72 mg/g) aittir. Atıkların antioksidan aktivitesi hem DPPH hem de ABTS yöntemiyle değerlendirilmiş ve her iki yöntemde de özütlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Özütlerin patojenler üzerine antimikrobiyal aktivitesi olduğu bulunmuştur. Ayrıca; yaprak ve kabuk özütlerinin *E. faecalis*'e karşı posaya göre daha fazla inhibisyon potansiyeli olduğu görülmüştür. *S. mutans* üzerine en yüksek etkiyi ise yaprak özütleri göstermiştir. Çalışmada kullanılan kolon kanser (HT-29) hücresini özütlerin baskıladığı sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, elma atıklarından ultrason ile alınan özütlerin patojen mikroorganizmalar ve kolon kanser hücresi üzerine inhibisyon aktivitesini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Antikanserojen, fenolik, kabuk, posa, yaprak

SOME BIOACTIVE PROPERTIES OF ULTRASOUND SUPPORTED APPLE WASTE EXTRACTS

ABSTRACT

In the study, extracts of apple waste were taken in an ultrasound assisted water bath at 40 °C, 50% (333W) power and 2 hours with methanol. The total phenolic content (TFMM) and antioxidant activity of these extracts; *E. faecalis* and *S. mutans* inhibition and its effect on colon cancer were investigated. Among the extracts, the highest value in terms of TFMM belongs to the leaf (104.72 mg/g). The antioxidant activity of the wastes was evaluated by both DPPH and ABTS methods, and it was found that the extracts had high antioxidant activity in both methods. The extracts were found to have antimicrobial activity on pathogens. Moreover; It was observed that leaf and peel extracts had more inhibition potential against *E. faecalis* than pulp. Leaf extracts showed the highest effect on *S. mutans*. It was concluded that the extracts used in the study suppressed colon cancer (HT-29) cells.

Key words: Anticancer, phenolic, peel, pulp, leaf

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: hsenarlan@kmu.edu.tr

☎: (+90) 0332 226 2000-5453

Hülya Şen Arslan; ORCID no: 0000-0003-0116-9062

GİRİŞ

Elma, güçlü anti-enflamatuar etkileri ve kronik hastalıkları önleme yeteneği yüksek olan insan sağlığına faydalı çeşitli besinler içerir (Samanta vd., 2023). Bunlar arasında C vitamini, çözünür lif ve farklı polifenoller (flavanoller, flavonoller, floridzin, prosiyanidin, klorojenik asit, antosiyanin) bulunur (Weichselbaum vd., 2010). Günümüzde elma posasından (kabuklar, tohumlar, çekirdek, sap ve kaliks) fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu büyük ilgi görmektedir (Kruczek vd., 2023). Atıkların değerlendirilmesi ve sürdürülebilir gıda üretimi, gıda endüstrisinde dikkat edilmesi gereken önemli noktalar. Gıda endüstrisi, başka amaçlar için kullanılmak üzere muazzam bir potansiyele sahip olan büyük miktarda doğal yan ürün oluşturmaktadır (Putra vd., 2023). Ayrıca tüketicilerin doğal ürünler konusunda bilinçlenmesi, bu değerli yan ürünlerin kullanımına yönelik büyük ilgiye yol açmıştır. Elma posası, elma suyunun veya elma şarabı üretiminin endüstriyel olarak işlenmesinden kaynaklanan katı atık ürünüdür ve potansiyel bir gıda antioksidan kaynağı olarak kabul edilebilir (Wu vd., 2023). Elmanın meyve suyu veya elma şarabına işlenmesinden sonra elmadan yaklaşık olarak %30 oranında atık çıkmaktadır. Küresel olarak elma posası olarak bilinen meyvenin posası, kabuğu, tohumları ve sapından oluşan 3,5 milyon ton kadarını temsil etmektedir (Teshome vd., 2023). Bu yan ürüne değer katmak için ekonomik fayda sağlamanın yanı sıra hayvan yemi, pektin geri kazanımı, enzim, etanol ve sitrik asit üretimi gibi verimli atık yönetimi stratejileri sağlayan farklı işlemler yapılmaktadır (Wani vd., 2023).

Bitki ürünlerinden polifenol ekstraksiyonunun farklı yöntemleri arasında geleneksel çözgen ekstraksiyonu enzimatik, ultrason, mikrodalga, atımlı elektrik alanları ve diğer işlemlerle desteklenen ekstraksiyonlar yer alır. (Acosta-Estrada vd., 2014; Barba vd., 2015; Caballero-Valdés vd., 2016; Ameer, 2017). Fenolik bileşiklerin etkinliğini artırmak için, ultrason birçok araştırmacı tarafından başarıyla uygulanmış ve minimum sürede daha iyi ekstraksiyon verimi elde edilmiştir (Avhad vd., 2014; Zhang vd., 2017). Ultrason, prob sonikatör veya banyo sonikatör cihazı kullanılarak doğrudan veya

dolaylı yöntemde çalıştırılır (Panadare ve Rathod, 2017). Ultrason daha önce elmalardan polifenol ekstraksiyonu için kullanılmıştır (Buvaneshwaran vd., 2023; Assefi vd., 2023; Gao vd., 2023). Tüm bu yaklaşımların ve sonuçların ışığı altında mevcut çalışmada; elma atıklarından %80'lik metanol ile ultrason destekli alınan özütlerin toplam fenolik madde miktarını (TFMM) belirlemek ve özütlerin antioksidan, antikanserojen ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL YÖNTEM

Materyal

Araştırmada *Galaxy Gala* elma ve yaprakları Karaman ilinde bulunan ağaçlardan Ekim ayının ilk haftası toplanıp Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvara getirilen elmalar kaba kirlerinden uzaklaştırmak için yıkanmıştır. Elmaların yaprağı ayrılıp ve kabuğu soyulduktan sonra katı meyve sıkacağı (Bosch, Germany) kullanılarak meyve suyu ve posa çıkarılmıştır. Posa, yaprak ve kabuklar (-18°C)'de 2 saat süreyle dondurulmuştur. Dondurulmuş numuneler liyofilizatörde (ScanvacCoolSafe 4-15 L Freeze Dreyer 95/55-80, Lyngø, Danimarka) (-101°C)'de %8 nem içeriğine kadar düşmesi için 3 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler toz haline getirilinceye kadar öğütülmüştür ve bekleme olmadan ekstraksiyon işlemine alınmıştır.

Yöntem

Ekstraksiyon Koşulları

20 g toz haline getirilmiş elma atıklarına 100 ml %80'lik metanol ilave edilmiştir. Ekstraksiyon koşulları İlbağ vd. (2013) tarafından yapılan çalışmanın elma atıklarına göre modifiye edilmesiyle sıcaklık 40 °C, güç %50 (333W) ve süre 2 saat olarak belirlenmiştir. Ultrasonik su banyosunun (Wiseclean, WUC-D10H, Kore) özütleme işlemi boyunca 40 °C'de sabit kalması sağlanmıştır. Özütler Whatman 1 filtre kâğıdından geçirilerek süzüntü elde edilmiştir. Elde edilen süzüntüler analiz süresine kadar -18 °C'de depolanmıştır.

Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Özütlerin toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi (Singleton ve Rossi, 1965). Baştan, 0.4 ml seyreltilmiş örneklere 2 ml folin reaktifi (0.2 N) eklenmiştir. Bundan sonra, 1.6 ml sodyum karbonat çözeltisi (%7.5) eklenmiştir. Karanlıkta oda sıcaklığında 1 saat reaksiyondan sonra UV-spektrofotometre kullanılarak 765 nm'de örneklerin absorbanları ölçülmüştür. TFMM belirlenirken kullanılan standart bileşiğin Folin&Ciocalteu reaktifi ile tepkimesi ifade edilen standart fenolik bileşiğe göre farklı düzeylerde olmaktadır. Bu amaçla TFMM, elma atıklarının gramı başına miligram gallik asit eşdeğeri (mg GAE) olarak ifade edilmiştir.

DPPH radikal süpürücü aktivitesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi (Blois, 1958)'e göre ölçülmüştür. 0.1 ml seyreltilmiş numune, 3.9 ml DPPH metanol çözeltisine (0.1 mM) ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Absorbans, UV-spektrofotometre kullanılarak 517 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar, elma atıklarının gramı başına mg TROLOX eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

ABTS⁺ radikal katyon süpürücü aktivite

ABTS⁺ (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfürik asit) metodu minör modifikasyonu ile (Miller vd., 1993) göre yapılmıştır. ABTS+ çözeltisi oda sıcaklığında (12-16 saat) inkübe edildi, ayrıca, her analiz için taze ABTS⁺ çözeltisi hazırlanmıştır. Analizden önce, ABTS⁺, başlangıçta ABTS⁺'nin absorbanı olarak kabul edilen PBS (fosfat tamponlu salin) ile 0.700 ± 0.02 arasında absorbanı ayarlanmıştır. 2 ml ABTS⁺'ye 20, 40, 60, 80 µl seyreltilmiş örnek eklenmesi üzerine, sonra karışım oda sıcaklığında 6 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Absorbans UV-spektrofotometre kullanılarak 734 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar, elma atıkları g⁻¹ başına (mg) TROLOX eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Antibakteriyel aktivite

3 farklı özütün MİK'ini (minimum inhibitör konsantrasyonu) belirlemek için mikrodilüsyon su yöntemi kullanılmıştır. *S. mutans* ve *E. faecalis* 12

saat inkübasyona bırakılarak 10⁶ koloni oluşturan birime (CFU/mL) ayarlanmıştır. MUELLER-HINTON besiyerinde bu 3 farklı özüt hazırlanmıştır. 96 gözlü steril plakalarda, 100 uL bakteri süspansiyonu içeren kuyuya özütlerin her birinden 5 farklı miktarda (2-10 µL) eklenmiştir. Her test için üçlü tekrar yapılmıştır. Negatif kontrol olarak kültür ortamı ve bakteri içeren haznelere kullanılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra tüm kuyucuklarda bulanıklık ölçümleri yapılmıştır. Bakterilerin gelişmesi, bir mikropilaka okuyucu kullanılarak 600 nm'de ölçülmüştür (Bayat vd., 2023).

Antikanserojen aktivite

3 farklı özütün epitelyal ve kanser hücre dizilerindeki (L929 ve HT-29) sitotoksitesi, Alamar blue testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücreler DMEM ortamında 37°C'de %5 CO₂ atmosferinde büyütülmüştür. Her hücre hattında, 10000 hücre büyütüldükten sonra toplanmış ve 96 oyuklu bir hücre kültürü plakasına yerleştirilmiştir. Hücreler daha sonra 24 saat boyunca 5 farklı miktarlarda (1-5 µL) numuneler (ekstraktlar) ile inkübe edilmiştir. Numuneler üç tekrar halinde hazırlanmış ve negatif kontrol oyukları olarak sadece hücreler kullanılmıştır. 24 saatlik 37 °C'de steril kabinde inkübasyonun ardından boşluklara Alamar blue reaktifi (1:10, v/v) eklenmiş ve 4 saat daha inkübe edilmiştir. Daha sonra 570 nm ve 600 nm'de spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Her numunenin hücre yaşayabilirliği hesaplanarak ve kontrol oyuklarının %100 olduğu kabul edilmiştir (Yılmaz vd., 2020; Yılmaz 2022).

İstatistik analiz

Metot kısmında bahsedilen analizlerden elde edilen sonuçlar One-Way Anova varyans analizleri SPSS 22 (IBM Corp., Armonk, New York, USA) istatistik programında yürütülmüştür. Aynı programda ortalamalar arasındaki farklılıklar ise Tukey çoklu karşılaştırma testi ile $P < 0.05$ önem düzeyinde test edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA **Toplam Fenolik Madde Miktarı**

Fenolik bileşikler, ikincil metabolitlerin önemli bir bölümünü oluşturur ve bununla birlikte insan

sağlığını destekleyen antioksidanlara önemli katkı sağlar. Elma fenolik bileşiklerce zengin meyve türleri arasında yer almaktadır. Elma içerdiği fenolik bileşikler sayesinde kolesterol, kalp hastalıkları, kanser ve astım gibi birçok hastalığın

önlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Vallée Marcotte vd., 2022; Maheshwari vd., 2022). Elma atıklarından ultrason destekli metanol ile alınan özütlerin toplam fenolik madde miktarı (TFMM) gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden Çizelge 1’ de verilmiştir.

Çizelge 1. Ultrason destekli elma atık özütlerinin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri

Örnekler	TFMM (mg GAE/g)	DPPH (mg TEAC/g)	ABTS (mg TEAC/g)
Posa	5.58 ^c ±0.12	1.25 ^c ±0.12	2.32 ^c ±0.15
Kabuk	34.23 ^b ±1.58	5.58 ^b ±0.75	65.00 ^b ±2.25
Yaprak	104.72 ^a ±1.75	11.76 ^a ±0.96	154.69 ^a ±4.74

(TFMM: Toplam fenolik madde miktarı, TEAC: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite, GAE: Gallik asit eşdeğeri, 3 tekrarlı verilerin ortalamalarının Tukey HSD testi ile karşılaştırılması sonucu oluşan gruplar ortalamalar üzerinde harfle belirtilmiştir. Farklı harfler ortalamalar arasında önemli fark olduğunu göstermektedir $P < 0.05$.)

(TFMM: Total phenolic substance amount, TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity, GAE: Gallic acid equivalent, the groups formed as a result of the comparison of the averages of the 3-replication data with the Tukey HSD test are indicated with letters on the averages. Different letters indicate that there is a significant difference between the averages $P < 0.05$.)

Çizelge 1’e göre özütlerin TFMM bakımından özütlerin aralarında istatistiki olarak önemli fark ($P < 0.05$) olduğu bulunmuştur. Özütler içinde yaprağın en yüksek TFMM değerine (104.72 mg GAE/g) sahip olduğu bulunmuştur. Kabuğun fenolik madde miktarı 34.23 mg GAE/g olarak; posanınki 5.58 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Farklı bitki kısımlarında polifenol biyosentezinin genetik kontrol altında olması beklenmektedir. Bununla birlikte, biyotik ve abiyotik stresler, fenolik içeriklerdeki mevsimsel ve yıllık değişimlere dahil olabilir (Bujor vd. 2018). Bujor vd. (2016) yaban mevsiminin yaprağı ve gövdesini incelediği çalışmada yaprağın 4 kat daha fazla fenolik bileşiğe sahip olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada da elma yaprağı özütünün kabuk ve posa özütlerine göre daha yüksek miktarda TFMM’ye sahip olduğu bulunmuştur.

Carpes vd. (2022) doğrudan elma posasında yapılan analizlerde TFMM’yi 11.42 mg GAE/g olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada bulunan sonuçlarla kıyaslandığında kullanılan elma çeşitlerinin ve ekstraksiyon koşullarının farklılığının TFMM’yi etkilediği söylenebilir. Örneğin başka bir çalışmada Zhang vd. (2016),

Golden Delicious cinsi elma kabuk ekstraktlarının 2.87 mg GAE/g değerleri ile bu çalışmada bildirilenlerden daha düşük TFMM’ye sahip olduğunu bildirmiştir. Lyu vd.’ye göre (2020) elma özleri, esas olarak fenolik ailesine ait klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit sinapik asit, p-kumaroil-kinik asit gibi biyoaktif bileşiklere sahiptir.

Antioksidan Aktivite

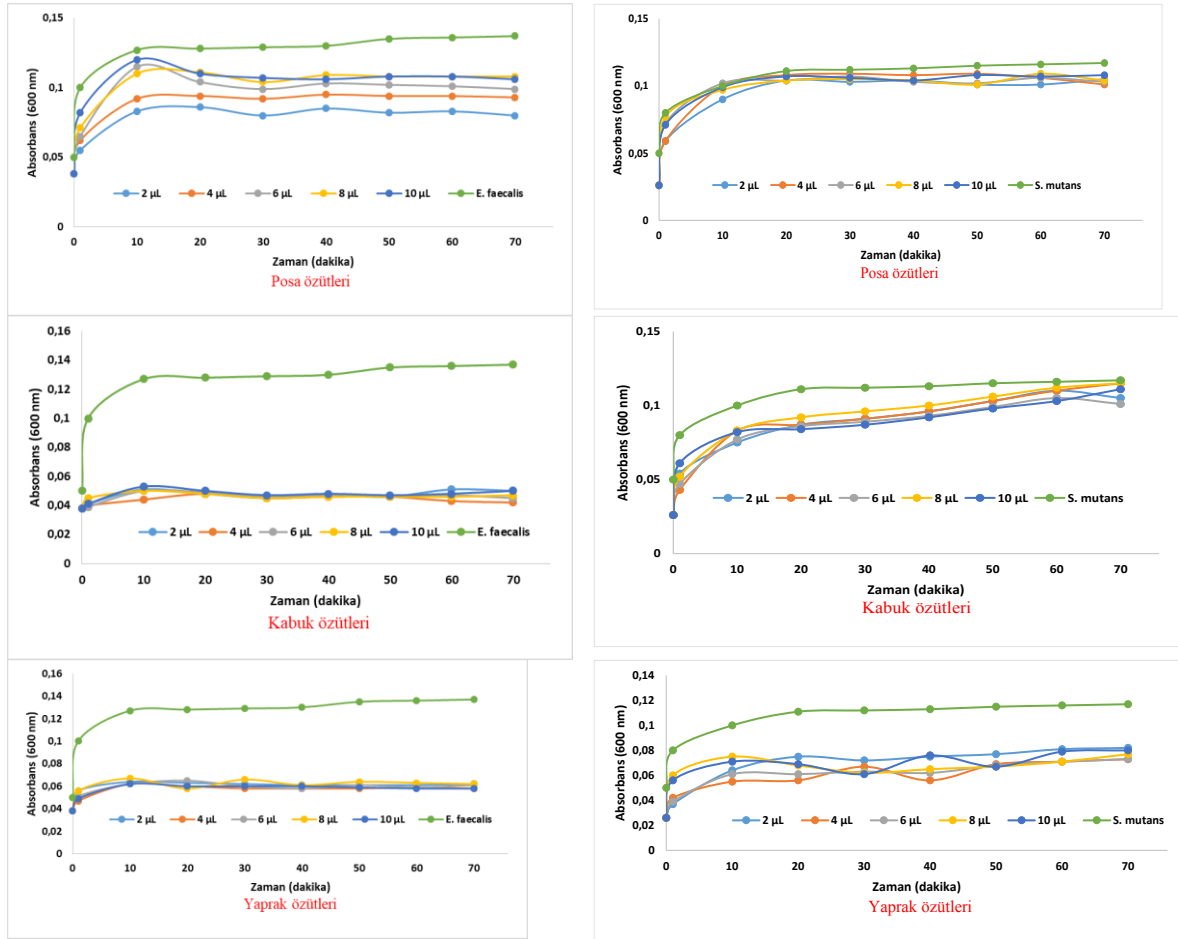
Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hastalık riskini azaltmada önemli bir rol oynamaktadır (Valko vd, 2007). Meyvede bulunan bazı antioksidanların kalp hastalıkları, kanser ve alzheimer hastalığını önlemede etkili olduğu bildirilmiştir (Kaur ve Kapoor, 2001; Boyer ve Liu, 2004; Özdemir vd, 2022). Antioksidan aktivite açısından incelenen özütler arasındaki fark ($P < 0.05$) önemli bulunmuştur. Atıkların antioksidan aktivitesi hem DPPH hem de ABTS yöntemiyle değerlendirilmiş ve hem DPPH (11.76 mg TEAC/g) hem de ABTS (154.69 mg TEAC/g) yönteminde en yüksek antioksidan aktivite yaprak özütlerinde görülmüştür. Antioksidan aktivite bakımından yaprağı sırasıyla kabuk ve posa özütleri izlemiştir (Çizelge 1).

Ultrasonun kavitasyon etkisiyle fenolikler ve askorbik asit gibi antioksidan özellik gösteren bileşiklerin ekstraksiyonunun artışı neden olduğu bilinmektedir. Sonikasyonun polifenol oksidazlar gibi oksidasyonla ilgili bazı enzimlerin inaktivasyonu sağlayarak meyve ve sebzelerde toplam antioksidan kapasite değerinde artış

meydana geldiği bildirilmiştir (Uğurlu ve Bakkalbaşı, 2023).

Antibakteriyel Aktivite

Ultrason destekli elma atık özütlerinin *S. mutans* ve *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri mikrodilüsyon su yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Antibakteriyel test sonucunda elde edilen bakteri artış sonuçları Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1: Elma özütlerinin zamana bağlı olarak patojenlerin gelişmesi üzerine etkisi

Figure 1: Effect of apple extracts on the development of pathogens over time

Yaprak ve kabuk özütlerinin *E. faecalis*'e karşı posa özütüne göre daha fazla inhibisyon potansiyeli olduğu görülmüştür. *S. mutans* üzerine en yüksek etkiyi ise yaprak özütleri göstermiştir (Şekil 1). Bakteriyel gelişme ortamına değişen miktarlarda (2-10 µL) eklenmesi, bakteriyel gelişmede bir azalmaya neden olmuştur. Miktar artışına bağlı olarak *S. mutans* ve *E. faecalis* bakterilerinin

gelişmesi azalmıştır. İki patojen bakteri de Gram pozitif olmasına rağmen elma atıklarının ultrason destekli ekstraktlarının *E. faecalis*'in inhibisyonuna karşı daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

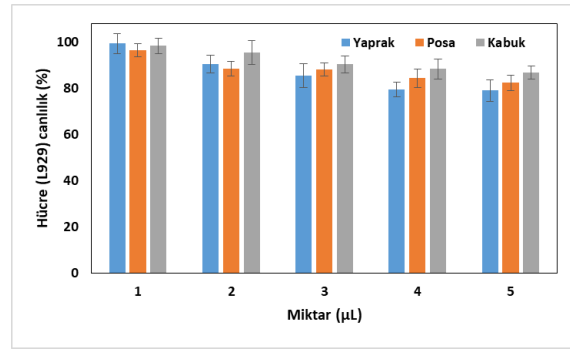
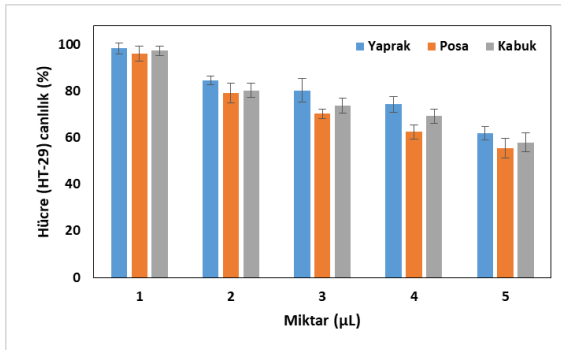
Riaz vd. (2018), elma kabuğundan elde edilen polifenollerin konsantrasyonuna bağlı olarak antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu

bildirmiştir. Zhang vd. (2016), elma posasının etil asetat ekstraktlarında sırasıyla 1.25 mg/ml ve 2.50 mg/ml MIC ile *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir. Antibakteriyel aktivite, esas olarak, aralarında floridzin, floretin, prosiyanidin ve kuersetin türevleri bulunan birkaç flavonoidin varlığına bağlanmaktadır. Ayrıca Shahbazi (2017), İran elma çeşitleri *Malus pumila*'nın seskiterpenlerinin, özellikle *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus*'a karşı antimikrobiyal ajan olarak önemli bir role sahip olduğunu belirtmiştir.

Antikanserojen Aktivite

Çalışmada kullanılan farklı miktarlardaki (1, 2, 3, 4, 5 µl) elma yaprağı, kabuğu ve posa özütleri üzerinde 24 saat süre ile L929 ve HT-29 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi için sitotoksisite testi yapılmıştır. Özütlerin L929 ve HT-29 hücrelerinde 1-5 µl miktar aralığında 24 saatlik inkübasyon sonrası Alamar mavisi yöntemi ile ölçülen hücre canlılığı üzerine etkileri Şekil 2'de gösterilmiştir. Özütlerin her biri artan konsantrasyonla birlikte sitotoksisitesi de

artmıştır. Bu yöntem, Alamar mavisi (resazurin) ismi verilen bileşiğin, canlı hücreler ile beraber resorufin bileşiğine dönüşmesiyle gerçekleşmiştir. Oksidatif şekilde bulunan mavi renkteki resazurin bir redoks boyası olarak bilinir, hücre zarından serbest bir şekilde geçerek hücreye giriş sağlar ve burada indirgenip floresans özelliği olan pembe renkteki resorufin bileşiğine dönüştüğü görülmüştür (Yılmaz vd., 2020). Ölü hücreler, metabolik aktivitelerini kaybettiği için resazurini indirgeyememiş ve floresans sinyali oluşturamamıştır. Canlı hücreler tarafından resazurinin resorufine dönüşmesiyle meydana gelen sinyaller, florometre kullanımı ile tespit edilmiş ve kaydedilmiştir. Posa ve kabuk özütlerinin kolon kanser (HT-29) hücresinde sırasıyla %44 ve %42 ölüme neden olduğu yaprak özütünün ise %38 ölüme neden olduğu görülmüştür. Aynı zamanda L929 sağlıklı hücre hattında bu ölüm oranının daha az olması (yaklaşık %15) elma atığı özütlerinin doğal antikanser ajan olarak kullanılabilirliğini göstermiştir.



Şekil 2: HT-29 ve L929 hücrelerinin sitotoksisite testi ile belirlenen yüzde canlılıkları

Figure 2: Percent viability of HT-29 and L929 cells as determined by cytotoxicity testing

Elma kabuklarından klasik yöntemle aseton ile alınan ekstraktların meme kanser hücrelerinin gelişimini azalttığı ile ilgili çalışmalar yapılmış ve meyve-sebze tüketimi meme kanserinin gelişme riskini azalttığı savunulmuştur (Sair vd., 2023). Daha önce yapılan çalışmalar, kronik hastalıklar üzerindeki potansiyel mekanizmaları için çeşitli bitki kaynaklarından izole edilen spesifik bileşikler araştırılmaya odaklanmıştır. Bununla birlikte, birkaç klinik çalışma, spesifik fitokimyasallarında antikanser özellik gösterdiğini

ortaya koymuştur (Valicente vd., 2023; Didier vd., 2023; Liao vd., 2023). Elmalar, batı diyetinde meyve fenolik tüketiminin %33'üne katkıda bulunur (Wolfe vd., 2008). Birkaç çalışma, elma özlerinin insan karaciğer kanseri HepG2 hücrelerinde, insan meme kanseri MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde ve insan kolon kanseri hücrelerinde hücresel proliferasyonu baskıladığını göstermiştir (He ve Liu, 2007; Wolfe vd., 2008; Sun vd., 2008). Çalışmamızda, elma yaprak, kabuğu ve posa özlerinin, insan kolon

kanseri hücrelerinin (HT-29) çoğalmasını başarıyla bastırdığı gözlemlenmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada, elma yaprağı, posası ve kabuklarından ultrasonik su banyosunda %80' lik metanol ile elde edilen özütlerin fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Ayrıca özütlerin kolon kanseri hücrelerini baskıladığı, *E. faecalis* ve *S. mutans*' ı inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Elma atıklarından yaprağın toplam fenolik ve antioksidan içeriklerinin posa ve kabuğa göre daha yüksek miktarda olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, elma meyvesinin posası, kabuğu ve yaprağı gıda endüstrisi tarafından doğal fonksiyonel bir bileşik olarak kullanılabilirliği tavsiye edilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar bu makalede, diğer kişiler ve kurumlar arasında herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

TEŞEKKÜR

Antikanserojen aktivite testi için gerekli olan hücre kültür ortamını sağlayan ve bu analiz için gerekli cihazların kullanılmasında ve desteklerinden dolayı Bahar Yılmaz Altınok'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46–55.

Ameer, K., Shahbaz, H. M., Kwon, J.-H. (2017). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 295–315.

Assefi, M., Lewandowski, K. U., Nankali, S., Sharafshah, A. (2023). *Antioxidants Sources*.

Avhad, D. N., Niphadkar, S. S., Rathod, V. K. (2014). Ultrasound assisted three phase partitioning of a fibrinolytic enzyme. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 628-633.

Barba, F. J., Parniakov, O., Pereira, S. A., Wiktor, A., Grimi, N., Boussetta, N., et al. (2015). Current

applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Research International*, 77, 773–798.

Bayat, R., Akin, M., Yılmaz, B., Bekmezci, M., Bayrakci, M., Sen, F. (2023). Biogenic platinum based nanoparticles: Synthesis, characterization and their applications for cell cytotoxic, antibacterial effect, and direct alcohol fuel cells. *Chemical Engineering Journal Advances*, 14, 100471.

Bolis M.S., (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical.

Boyer, J., Liu, R.H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3(1), 1-15.

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.

Bujor, O. C., Ginies, C., Popa, V. I., & Dufour, C. (2018). Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. *Food Chemistry*, 252, 356-365.

Bujor, O. C., Le Bourvellec, C., Volf, I., Popa, V. I., & Dufour, C. (2016). Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 213, 58-68.

Caballero-Valdés, E., Olivares-Mirallas, A., Soto-Maldonado, C., & Zúñiga-Hansen, M. E. (2016). Advances in technologies for producing food-relevant polyphenols. In J. R.V.-S. J. R. Cuevas Valenzuela Jose, & Pérez-Correa (Eds.). *Advances in Technologies for producing food-relevant polyphenols* (pp. 63–78).

Carpes, S. T., Bertotto, C., Bilck, A. P., Yamashita, F., Anjos, O., Siddique, M. A. B., ... Brunton, N. P. (2021). Bio-based films prepared with apple pomace: Volatiles compound composition and mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *LWT*, 144, 111241.

Didier, A. J., Stiene, J., Fang, L., Watkins, D., Dworkin, L. D., Creedon, J. F. (2023).

- Antioxidant and Anti-Tumor Effects of Dietary Vitamins A, C, and E. *Antioxidants*, 12(3), 632.
- Gao, Y., Guo, S., Zhao, Y., Ji, Q., Yun, C., Wang, S., ... Wang, H. (2023). Extraction and Preconcentration of the Main Target Polyphenols from *Empetrum nigrum* by Freeze-Ultrasonic Thawing Method Based on Synthetic Gemini Surfactant Aqueous Systems. *Food and Bioprocess Technology*, 16(4), 844-856.
- He, X., Liu, R.H. (2007). Triterpenoids isolated from apple peels have potent antiproliferative activity and may be partially responsible for apple's anticancer activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (11):4366-4370.
- İlbbay, Z., Şahin, S. ve Kırbaslar, Ş. İ. (2013). Optimisation of Ultrasound-Assisted Extraction of Rosehip (*Rosa canina* L.) with Response Surface Methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(11), 2804-2809.
- Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *International Journal of Food Science Technology*, 36(7), 703-725.
- Kruczek, M., Gumul, D., Korus, A., Buksa, K., Ziobro, R. (2023). Phenolic Compounds and Antioxidant Status of Cookies Supplemented with Apple Pomace. *Antioxidants*, 12(2), 324.
- Liao, Y. H., Chou, W. Y., Chang, C. W., Lin, M. C., Wang, C. P., Lou, P. J., Chen, T. C. (2023). Chemoprevention of oral cancer: A review and future perspectives. *Head & Neck*, 45(4), 1045-1059.
- Lyu, F., Luiz, S. F., Azeredo, D. R. P., Cruz, A. G., Ajlouni, S., Ranadheera, C. S. (2020). Apple pomace as a functional and healthy ingredient in food products: A review. *Processes*, 8, 319-333.
- Maheshwari, S., Kumar, V., Bhadauria, G., Mishra, A. (2022). Immunomodulatory potential of phytochemicals and other bioactive compounds of fruits: A review. *Food Frontiers*, 3(2), 221-238.
- Miller NJ., Rice-Evans C., Davies MJ., Gopinathan V., VE Milner A., (1993). A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and Its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. Division of Biochemistry, UMDS-Guy's Campus, London, U.K.
- Ozdemir, I.O., Tuncer, C., Solmaz, F.G., Ozturk, B. (2022). The impact of green shield bug (*Palomena prasina* [Hemiptera: Pentatomidae]) infestation on antioxidant enzyme activities in hazelnut (*Corylus avellana* L. cvs. 'Tombul,' 'Palaz' and 'Çakıldak'). *Erwerbs-Obstbau*, 65(1), 1-7.
- Panadare, D. C., Rathod, V. K. (2017). Three phase partitioning for extraction of oil: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 145-151.
- Putra, N. R., Rizkiyah, D. N., Abdul Aziz, A. H., Che Yunus, M. A., Veza, I., Harny, I., Tirta, A. (2023). Waste to Wealth of Apple Pomace Valorization by Past and Current Extraction Processes: A Review. *Sustainability*, 15(1), 830.
- Riaz, A., Lei, S., Akhtar, H. M. S., Wan, P., Chen, D., Jabbar, S., et al. (2018). Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 547-555.
- Sair, A. T., Li, Y., Zhao, W., Li, T., Liu, R. H. (2023). Anticancer activity of apple peel extracts against human breast cancer cells through insulin-like growth factor-1 signal transduction pathway. *Journal of Agriculture and Food Research*, 100507.
- Samanta, S., Chakraborty, S., Bagchi, D. (2023). Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases and the Protective Role of Natural Bioactive Components. *Journal of the American Nutrition Association*, 1-13.
- Shahbazi, Y. (2017). Antibacterial and antioxidant properties of methanolic extracts of apple (*Malus pumila*), grape (*Vitis vinifera*), pomegranate (*Punica granatum* L.) and common fig (*Ficus carica* L.) fruits. *Pharmaceutical Sciences*, 23, 308-315.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3).
- Sun, J., Liu, R.H. (2008). Apple phytochemical extracts inhibit proliferation of estrogen-dependent and estrogen-independent

- human breast cancer cells through cell cycle modulation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (24) (2008) 11661–11667.
- Teshome, E., Teka, T. A., Nandasiri, R., Rout, J. R., Harouna, D. V., Astatkie, T., Urugo, M. M. (2023). Fruit By-Products and Their Industrial Applications for Nutritional Benefits and Health Promotion: A Comprehensive Review. *Sustainability*, 15(10), 7840.
- Uğurlu, S., Bakkalbaşı, E. (2023). Yeşil Cevizlerden Ultrason Destekli Ekstraksiyon Yöntemiyle Fenolik Bileşiklerin Eldesi. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(1), 185-191.
- Valicente, V. M., Peng, C. H., Pacheco, K. N., Lin, L., Kielb, E. I., Dawoodani, E., ... Mattes, R. D. (2023). Ultra-Processed Foods and Obesity Risk: A Critical Review of Reported Mechanisms. *Advances in Nutrition*.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Vallée Marcotte, B., Verheyde, M., Pomerleau, S., Doyen, A., Couillard, C. (2022). Health benefits of apple juice consumption: A review of interventional trials on humans. *Nutrients*, 14(4), 821.
- Wani, S. M., Masoodi, F. A., Mir, S. A., Khanday, F. A. (2023). Pullulan production by *Aureobasidium pullulans* MTCC 1991 from apple pomace and its characterization. *Food Bioscience*, 51, 102254.
- Weichselbaum, E., Wyness, L., Stanner, S. (2010). Apple polyphenols and cardiovascular disease—a review of the evidence. *Nutrition Bulletin*, 35, 92–101.
- Wolfe, K.L., Kang, X. He, X., Dong, M., Zhang, Q., Liu, R.H. (2008). Cellular antioxidant activity of common fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (18): 8418–8426.
- Wu, B., Gao, K., Guo, Y., Ma, Y., Qiu, C., Song, C., Ma, H. (2023). Research progress on extraction of active components from apple processing waste. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-15.
- Yılmaz B., Bayraç A. T., Bayrakci M. (2020). Evaluation of anticancer activities of novel facile synthesized calix [n] arene sulfonamide analogs. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 190 (4): 1484-1497.
- Yılmaz, B. (2022). Release of nifedipine, furosemide, and niclosamide drugs from the biocompatible poly (HEMA) hydrogel structures. *Turkish Journal of Chemistry*, 46(5), 1710-1722.
- Yılmaz, B., Bayrac, A. T., Bayrakci, M. (2020). Evaluation of anticancer activities of novel facile synthesized calix [n] arene sulfonamide analogs. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 190, 1484-1497.
- Zhang, T., Wei, X., Miao, Z., Hassan, H., Song, Y., Fan, M. (2016). Screening for antioxidant and antibacterial activities of phenolics from Golden Delicious apple pomace. *Chemistry Central Journal*, 10, 47–55.
- Zhang, X. F., Wang, X., Luo, G. H. (2017). Ultrasound-assisted three phase partitioning of phycocyanin from *Spirulina platensis*. *European Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol, 4(1).

ADHERENCE TO THE MEDITERRANEAN DIET IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

Gülnur Pürdik Tatık¹, Anıl Evrim Güngör^{2*}

¹Lokman Hekim University, Ankara, Türkiye

²Güven Hospital, Ankara, Türkiye

Received / Geliş: 14.08.2023; Accepted / Kabul: 14.09.2023; Published online / Online baskı: 18.09.2023

Pürdik Tatık, G., Güngör, A. E. (2023). Adherence to the Mediterranean diet in patients with metabolic syndrome. *GIDA* (2023) 48 (5) 981-992 doi: 10.15237/gida.GD23093

Pürdik Tatık, G., Güngör, A. E. (2023). Metabolik sendromlu hastalarda Akdeniz diyetine uyum. *GIDA* (2023) 48 (5) 981-992 doi: 10.15237/gida.GD23093

ABSTRACT

This descriptive and cross-sectional study evaluated the adherence of patients with Metabolic Syndrome (MetS) to the Mediterranean Diet (MedDiet). Patients who met the National Cholesterol Education Program Adult Panel III (NCEP ATP III) criteria enrolled. Socio-demographic characteristics, physical activity levels, blood tests and anthropometric variables were recorded and evaluated. A 24-hour retrospective record form and Mediterranean Diet Adherence Scale (MEDAS) were used to assess nutritional consumption and adherence, respectively. Of the patients (n=203) 50.2%, 39.9% and 9.9% were non-, moderately and strictly adherent to MedDiet, respectively. MEDAS scores were correlated with body weight ($r=-0.147$; $P=0.036$), waist circumference ($r=-0.141$; $P=0.044$), HDL cholesterol ($r=0.193$; $P=0.006$). Daily omega-3 fatty acids intake increased with higher adherence to MedDiet ($P<0.001$). Significant differences were observed between non-adherent and adherent subjects in daily intakes of dietary fiber, oleic acid and total monounsaturated fatty acids. This study showed low adherence to MedDiet in patients with MetS.

Keywords: Mediterranean diet, adherence, metabolic syndrome, physical activity, anthropometric measurements

METABOLİK SENDROMLU HASTALARDA AKDENİZ DİYETİNE UYUM

ÖZ

Bu tanımlayıcı ve kesitsel çalışma, Metabolik Sendromlu (MetS) hastaların Akdeniz Diyetine (MedDiet) uyumunu değerlendirmiştir. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Paneli III (NCEP ATP III) kriterlerini karşılayan hastalar kabul edilmiştir. Sosyodemografik özellikler, fiziksel aktivite düzeyleri, kan testleri ve antropometrik değişkenler kaydedilmiştir. Besin tüketimini ve uyumu değerlendirmek için sırasıyla 24 saatlik geriye dönük kayıt formu ve Akdeniz Diyeti Uyum Ölçeği (MEDAS) kullanılmıştır. Hastaların (n=203) %9.9'u MedDiet'e sıkı bir şekilde uyumlu, %39.9'u orta derecede uyumlu, %50.2'si ise uyumlu değildi. MEDAS skorları vücut ağırlığı ($r=-0.147$; $P=0.036$), bel çevresi ($r=-0.141$; $P=0.044$), HDL kolesterol ($r=0.193$; $P=0.006$) ile ilişkiliydi. Günlük omega-3 yağ asitleri alımı, MedDiet'e uyum arttıkça arttı ($P<0.001$). Diyet lifi, oleik asit ve toplam tekli

*Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: aevrimt@gmail.com

☎: (+90) 532 617 1922

This article was produced from the master's thesis completed by the first author, under the supervision of the second author, at Lokman Hekim University, Institute of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics.

Bu araştırma, Lokman Hekim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Bilim Dal'ında ikinci yazarın danışmanlığında, birinci yazar tarafından tamamlanmış yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Gülnur Pürdik Tatık; ORCID no: 0009-0009-9392-5574

Anıl Evrim Güngör; ORCID no: 0000-0001-5936-3605

doymamış yağ asitlerinin günlük alımlarında uyumlu olmayan ve uyumlu hastalar arasında önemli farklılıklar gözlemlendi. Bu çalışma, MetS'li hastalarda MedDiet'e uyumun düşük olduğunu göstermiştir. **Anahtar kelimeler:** Akdeniz diyeti, uyum, metabolik sendrom, fiziksel aktivite, antropometrik ölçümler

INTRODUCTION

Metabolic Syndrome (MetS) is a noncommunicable disease referring to coexisting diabetes, hypertension and obesity (Bakaloudi et al., 2021). Forty-one million people die annually from noncommunicable diseases, corresponding to 7 out of 10 deaths worldwide (WHO, 2022). As a risk factor, MetS affects the prognosis and progression of Type-2 diabetes, cancer, cardiovascular disease and respiratory diseases (Kargin et al., 2019). The coexistence of three or more metabolic disorders like obesity, insulin resistance, dyslipidemia and hypertension play a role in the development of MetS (Bakaloudi et al., 2021). Its worldwide prevalence in adults is 25% and is associated with a 2- to 5-fold higher risk of early cardiovascular mortality, diabetes, coronary heart and cerebrovascular diseases, and a 1.5-fold increase in the risk of deaths of all causes (WHO, 2022).

A balanced diet and nutritional diversity are central to maintaining a healthy life. Mediterranean Diet (MedDiet) is considered one of the healthiest nutrition models (Kargin et al., 2019). It includes a complete and balanced combination of components such as extra virgin olive oil, vegetables, fresh fruits, nuts, legumes, fish and red wine, molecules with antioxidant and anti-inflammatory properties such as mono/polyunsaturated fatty acids, polyphenols, phytosterols, vitamins and minerals (Finicelli et al., 2022). Various studies have shown the health-promoting effects of MedDiet, together with lifestyle changes through increased physical activity (Kargin et al., 2019; Finicelli et al., 2022).

Cross-sectional or prospective studies have shown inverse correlations between adherence to MedDiet and the prevalence of MetS (Godos et al., 2017; Bakaloudi et al., 2021). Some studies have demonstrated the benefits of adherence to MedDiet in reducing the risk of obesity, Type-2 diabetes, cardiovascular diseases, and death from

any causes (Martínez-González et al., 2011; Franquesa et al., 2019).

The preventive effect of MedDiet on the risk and formation of MetS has been reported (Godos et al., 2017; Franquesa et al., 2019). However, studies examining whether different levels of adherence to MedDiet may positively affect MetS are limited (Bakaloudi et al., 2021). The present study evaluated the association between different levels of adherence to MedDiet and anthropometric and biochemical variables in patients with MetS.

MATERIALS AND METHODS

Study settings, time and sample selection

The present descriptive, cross-sectional study enrolled patients with MetS admitted to the Endocrine and Metabolic Diseases Polyclinic of Pamukkale University Hospital between July and September 2021.

The main inclusion criterion was a diagnosis of MetS that was determined by the physician using the National Cholesterol Education Program Adult Panel III (NCEP ATP III) criteria (Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, 2001).

Patients under 19 years and over 64 years of age, pregnant or breastfeeding women, and patients with cancer, mental disorders, eating disorders, recent diagnosis of hematological disease, recent surgery history, goiter, and anatomical abnormality in the neck region were excluded. The minimum required sample size was calculated as 175, by taking into account the prevalence of MetS as 43.3% and power 0.80 (Abacı et al., 2018).

Lokman Hekim University Ethics Committee approved the study protocol (2021/066) and the participants signed the informed consent.

Data Collection

Data were collected via face-to-face interviews. The study questionnaire included socio-demographic characteristics, medical information and nutritional habits. Biochemical variables were extracted from the patient files. Body weight and composition, height, body mass index (BMI), waist circumference (WC), waist-to-hip ratio (WHR), Neck circumference (NC) and waist-to-height ratio were obtained.

Nutritional Assessment and Anthropometric Measurements

Body weight was measured with Tanita Body Composition Analyzer BC-418 (Tanita, Illinois, USA) and height was measured with a stadiometer (AS-TARTI, Türkiye). BMI was calculated by dividing body weight (in kilograms) by the square of height (in meters) (WHO, 2021). WC was measured at the midpoint between the lower ribs and the iliac bone, and hip circumference was measured (in centimeters) horizontally from the widest circumference of the hip (WHO, 2011). WHR was calculated by dividing the WC by the hip circumference. NC was measured just below the larynx (Adam's apple) (TUBER, 2016). Systolic blood pressure and diastolic blood pressure were measured using Omron M2 Intellisense (Japan).

A "24-hour Retrospective Food Consumption Record Form" was collected from each patient to determine the energy, macro and micronutrient amounts (Pekcan, 2013). A photographic food atlas showing different quantities of foods was used to estimate the portion size of the participant in each meal (Rakıcıoğlu et al., 2009). The data were transferred to Nutrition Information System 9 software (BeBIS, Stuttgart, Germany). Energy consumption and nutrient intake were examined using the Türkiye Nutrition Guide-2015 (TUBER-2016) (12). According to the daily acceptable intake, the coverage ratio was evaluated as <67%, insufficient intake, 67-133% as adequate intake, and >133% as over-intake (Meyers et al., 2006).

Patients' adherence to MedDiet was evaluated using a 14-item Mediterranean Diet Adaptation Scale (MEDAS) (Martínez-González et al., 2016)

which is a valid and reliable scale in the local language (Pehlivanoglu et al., 2020). Responses to each item in the MEDAS are assigned "1" or "0", and the scores of 7 and above indicate an acceptable level of adherence. The scores between 7 and 9 indicate moderate and higher scores indicate strict adherence to MedDiet.

Individuals' physical activity levels were classified as inactive (<600 MET-min/week), minimally active (600-3000 MET-min/week), and very active (>3000 MET-min/week) according to the International Physical Activity Questionnaire-IPAQ (Saglam et al., 2010).

Statistical analysis

Data were analyzed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Statistics for Windows, version 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY: USA, 2011). Chi-square test was performed to determine the dependencies of categorical variables. Fisher's exact test was used when the assumptions of the chi-square analysis were not met. One-Way Analysis of Variance (ANOVA) and Kruskal-Wallis H test were used for multiple comparisons. For ANOVA analyses, in cases where variances from Post-Hoc tests were equally distributed, LSD; Mann Whitney-U test was used for Kruskal-Wallis H analysis. In cases where the distribution was not normal, Spearman correlation analysis was used for the correlation between the variables.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 203 patients with MetS (142 women and 61 men) participated. Their mean age was 46.9 ± 11.33 years. While primary education was higher among female patients, male patients had more undergraduate or higher education ($P < 0.001$). There was no significant difference in the numbers of retired male and female patients with MetS. However, the number of working people was more among male patients ($P < 0.001$) (Table 1). The incidence of MetS in Western societies is 24% and above (Bakaloudi et al., 2021), and also increases with age (Abacı et al., 2018; Oğuz, 2018). Although there was no statistically significant difference in the present study, the proportion of patients with MetS

increased with age. According to the prevalence studies in Türkiye, the frequency of MetS is very high, especially among women (Abacı et al., 2018; Oğuz, 2018). In the current study, 142 of 203 individuals with MetS were women (70%). The present study findings supported the existing literature data that the risk of MetS was higher in low-income and low-educated populations (Oğuz, 2018; Kim et al., 2018). Individuals with

low level of education lacks the ability to comply with health guidelines since they don't have sufficient knowledge of what healthy nutrition is and its importance. This may also explain why individuals with low level of education exhibit low adherence to MedDiet (Tsofliou et al., 2022) (Table 1).

Table 1: Distribution of socio-demographic characteristics of patients with Metabolic Syndrome by gender.

	Male (n=61)	Female (n=142)	Total (n=203)	X ²	P
Age (years), mean±SD	47.1±10.8	46.8±11.6	46.9±11.3	32.76 ²	0.828
Age bands, n (%)					
19-24	2 (3.3)	9 (6.3)	11 (5.4)	1.38 ¹	0.848
25-34	6 (9.8)	15 (10.6)	21 (10.3)		
35-44	15 (24.6)	29 (20.4)	44 (21.7)		
45-54	22 (36.1)	47 (33.1)	69 (34.0)		
55-64	16 (26.2)	42 (29.6)	58 (28.6)		
Education Level, n (%)					
Illiterate	1 ^a (1.6)	2 ^a (1.4)	3 (1.5)	23.32 ²	<0.001*
Literate	2 ^a (3.3)	2 ^a (1.4)	4 (2.0)		
Primary education	19 ^a (31.1)	88 ^b (62.0)	107 (52.7)		
Higher education	15 ^a (24.6)	32 ^a (22.5)	47 (23.1)		
Graduate Education	20 ^a (32.8)	16 ^b (11.3)	36 (17.7)		
Master/Doctorate	4 ^a (6.6)	2 ^b (1.4)	6 (3.0)		
Occupation, n (%)					
Worker	27 ^a (44.3)	23 ^b (16.2)	50 (24.6)	65.81 ¹	<0.001*
Officer	7 ^a (11.5)	5 ^b (3.5)	12 (5.9)		
Self-employed	9 ^a (14.7)	3 ^b (2.1)	12 (5.9)		
Retired	18 ^a (29.5)	30 ^a (21.1)	48 (23.6)		
Housewife	- (-)	81 (57.1)	81 (40.0)		

a, b: The letters a and b are used in distributions where the dependence between categorical variables is statistically significant, to reveal which variables result from the proportional differences in this significance.

SD: Standard deviation

¹Pearson Chi-square test.

²Fisher's Exact test

* P < 0.001

Of the patients, 50.2% were non-adherent, 39.9% were moderately adherent, and 9.9% were strictly adherent to MedDiet. The average adherence score was 6.4±1.8, which remained below the acceptable level (Pehlivanoglu et al., 2020) (Table 2). MedDiet shows a positive impact on metabolic and cardiovascular diseases and cognitive functions. The quality of life increased in parallel

with adherence to MedDiet in past studies (Soltani et al., 2019). Besides, MedDiet has turned into almost a 'prescription' to prevent and treat metabolic diseases (Godos et al., 2017; Soltani et al., 2019; Bakaloudi et al., 2021;). Finally, meta-analyses concluded that adherence to MedDiet prevents the development of MetS (Godos et al., 2017; Bakaloudi et al., 2021). The results of the

current study support the existing knowledge. The mean MEDAS score was 6.4 ± 1.8 , indicating that the participants overall were low-adherent to MedDiet. A meta-analysis has sought the importance of the degree of adherence and

concluded that a 2-point increase in adherence to MedDiet was associated with a 10% lower risk of death from any causes (Soltani et al., 2019) (Table 2).

Table 2: Patients' adherence to the Mediterranean Diet by gender and average adherence scores.

Adherence to Mediterranean Diet	Male	Female	Total
No adherence (<7 points), n (%)	35 (57.4)	67 (47.2)	102 (50.2)
Moderate adherence (7-8 points), n (%)	18 (29.5)	63 (44.4)	81 (39.9)
Strict adherence (≥ 9 points), n (%)	8 (13.1)	12 (8.4)	20 (9.9)
Total score, mean \pm SD	6.2 ± 2.1	6.5 ± 1.7	6.4 ± 1.8
Lower-Upper	2-11	2-10	2-11

SD: Standard deviation

There was a low, negative correlation between adherence to MedDiet and body weight ($r = -0.147$; $P = 0.036$) and WC ($r = -0.141$; $P = 0.044$) and a low, positive correlation between high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and adherence to MedDiet ($r = 0.193$; $P = 0.006$). Correlations between adherence to MedDiet and NC, hip circumference, WHR, BMI, triglyceride, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol, and hemoglobin A1c (HbA1c) were not significant. A low, positive correlation was found between adherence to MedDiet and physical activity levels ($r = 0.21$; $P = 0.003$) (Table 3). An inverse association between body weight and WC and adherence to MedDiet in the whole sample was observed. This finding is in line with the literature (Bouzas et al., 2019; Bakaloudi et al., 2021; Zhang et al., 2022). No significant correlation was found for body fat ratio, BMI, NC, and WHR. Although BMI and body weight are important factors for abdominal obesity in the definition of MetS, some studies suggested disease risk factors could be more useful than BMI and body weight (Eguaras et al., 2015; Aslani et al., 2019). The present study findings also supported the existing knowledge that adherence to MedDiet and BMI do not correlate. Concerning the association between adherence to MedDiet and WC as a measure of adiposity, several authors reported a lower incidence of MetS as adherence is improved (Eguaras et al.,

2015; Estruch et al., 2019). Both physical activity and MedDiet reduce the likelihood of developing MetS (Gallardo-Alfaro et al., 2020). A high level of adherence to MedDiet is associated with increased physical activity, which is critical for overall health (Bizzozero-Peroni et al., 2022). Similarly, in the current study, physical activity levels increased in parallel to adherence to MedDiet (Table 3).

Previous studies have reported a positive correlation between higher adherence to MedDiet and HDL-C level (Franquesa et al., 2019; Bakaloudi et al., 2021; Montemayor et al., 2022). Furthermore, MedDiet is favorable for the microbiome due to its high polyphenol content and higher adherence to the MedDiet has been linked to lower fasting triglyceride and plasma glucose levels (Bakaloudi et al., 2021; Shatwan et al., 2021; Montemayor et al., 2022). In this study, parallel to the literature, a positive correlation between HDL-C and MedDiet adherence scores was observed in the whole sample. Although the studies supported the positive effects of Mediterranean diet on cardiovascular diseases (Rees et al., 2019), correlations with triglyceride, total cholesterol, LDL-C and HbA1c were not significant in the present study. It was thought that these results were related with the patients' low adherence to the MedDiet (Table 3).

Food consumption and adherence to MedDiet

Table 4 shows average daily energy, water and nutrients intakes (macronutrients and micronutrients) according to the level of adherence to MedDiet, and their percentages of meeting the reference values according to the TUBER-2015 (TUBER. 2016). Average water consumption was higher in participants strictly adherent to MedDiet than the participants who were non- or moderately adherent ($P = 0.031$). Carbohydrate and fat consumption were lowest and fiber consumption was the highest in strictly adherent participants ($P = 0.014, 0.044, 0.047$ respectively). Macronutrient intake and MetS were investigated in 10000 Iranians aged 20 to 69 years (Hasanizadeh et al., 2020). Patients with high carbohydrate intake had 67% more probability of developing MetS than patients with high protein and fat intake (Hasanizadeh et al.,

2020). It has been suggested that the content of carbohydrates was more important than the ratio of carbohydrates consumed in MedDiet (Bakaloudi et al., 2021). Therefore, consuming complex carbohydrates instead of simple carbohydrates has been recommended (Pérez-Martínez et al., 2017). In accordance with the literature (Gallardo-Alfaro et al., 2020 ; Bakaloudi et al., 2021), the effect of the Mediterranean diet on glycemic control was manifested by a low level of HbA1c in the present study. Several studies have shown improved HbA1c and blood lipids in MetS patients consuming more fiber (Papamichou et al., 2019; Tettamanzi et al., 2021). In the present study, a parallel increase in daily fiber consumption and adherence to MedDiet were observed as reported in the literature (Dominguez et al., 2023) (Table 4).

Table 3: Correlations between MEDAS scores and anthropometric measurements, biochemical parameters and physical activity level (n=203).

Variable	MEDAS Scores	
	r	P
Anthropometric Measurements		
Body weight (kg)	-0.147	0.036*
BMI (kg/m ²)	-0.097	0.169
Body fat ratio (%)	0.003	0.968
Neck circumference (cm)	-0.126	0.072
Waist circumference (cm)	-0.141	0.044*
Hip circumference (cm)	-0.036	0.611
Waist/hip ratio	-0.134	0.055
Waist/height ratio	-0.059	0.400
Biochemical Parameters		
Systolic Blood Pressure (mmHg)	0.009	0.897
Diastolic Blood pressure (mmHg)	0.014	0.844
Fasting Plasma Glucose (mg/dL)	0.076	0.278
Triglyceride (mg/dL)	-0.099	0.160
LDL-C (mg/dL)	-0.110	0.120
HDL-C (mg/dL)	0.193	0.006**
Total cholesterol (mg/dL)	-0.131	0.065
HbA1c (%)	-0.026	0.740
Physical Activity Levels	0.210	0.003**

MEDAS: Mediterranean Diet Adherence Scale, BMI: Body Mass Index, LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol, HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol HgA1c: Hemoglobin A1c, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, r: Spearman correlation analysis.

Mediterranean diet and metabolic syndrome

Table 4: Comparison of energy, water and nutrients intakes with TUBER according to adherence to the Mediterranean Diet

Energy, water and nutrients	Adherence to the Mediterranean Diet						P	Post-hoc differences
	No adherence (a)		Moderate adherence (b)		Strict adherence (c)			
	TUBER Mean	Mean± SD	TUBER Mean	Mean± SD	TUBER Mean	Mean± SD		
Energy (kcal)	98.5	1899.2±767.3	98.5	1905±796.1	104.5	2019.9±536.9	0.804 ¹	-
Water (ml)	-	1976.4±1293.3	-	2054.8±1197.8	-	2511.5±1148.3	0.0312*	a vs. c, b vs. c
Protein (%)	-	14.9±4.9	-	16.8±11.8	-	16.4±4.1	0.129 ²	-
Fat (%)	-	38.8±10.5	-	37.7±10.6	-	36.9±9.4	0.0441*	a vs. b
CHO (%)	-	51.4±10.8	-	46.7±12.3	-	46.3±11.6	0.0141*	a vs. b
Fiber (g)	87.9	22.0±11.0	101.5	25.4±13.4	104.5	26.1±8.3	0.0472*	a vs. c
MUFA (g)	-	25.1±15.0	-	28.6±17.2	-	33.7±14.2	0.0132*	a vs. c
Oleic Acid (g)	-	22.6±14.0	-	25.8±15.5	-	30.8±13.1	0.0102*	a vs. c
PUFA (g)	-	14.1±9.8	-	14.4±10.7	-	12.7±5.8	0.990 ²	-
Omega 3 (g)	-	1.3±0.7	-	1.6±1.1	-	1.9±0.8	0.0012***	a vs. b, b vs. c, a vs. c
Omega 6 (g)	-	12.6±9.4	-	12.5±10.0	-	10.5±5.2	0.992 ²	-
Saturated Fatty Acid (g)	-	26.1±14.1	-	30.5±18.3	-	30.7±13.1	0.059 ²	-
Vitamin A (µg)	204.7	1412.5±2541.7	444.9	3034.7±9345.7	373.1	2661.3±6255.3	0.0262*	a vs. b, a vs. c
Vitamin D (µg)	16.1	2.4±2.3	18.5	2.8±2.4	22.9	3.4±3.6	0.267 ²	-
Vitamin E (mg)	141.9	16.6±13.1	144.1	16.5±10.2	127.2	14.8±5.8	0.746 ²	-
Thiamine (mg)	90.3	1.0±0.5	100.5	1.1±0.6	101.4	1.2±0.4	0.198 ¹	-
Riboflavin (mg)	119.4	1.4±0.9	166.7	1.9±2.0	186.4	2.2±1.5	0.0002***	a vs. b, b vs. c, a vs. c
Niacin (mg)	388.9	26.2±15.4	406.6	27.2±17.8	467.1	31.9±17.2	0.292 ²	-
Vitamin B6 (mg)	101.9	1.4±0.8	114.5	1.6±0.9	127.5	1.9±0.8	0.0132*	a vs. b, a vs. c
Folate (µg)	0	346.4±193.9	0	448.6±348.1	0	462.3±204.2	0.0032***	a vs. b, a vs. c
Vitamin B12 (µg)	133.3	5.3±16.7	238.22	9.5±3	204.4	8.2±13.5	0.0092***	b vs. c, a vs. c
Vitamin C (mg)	160.5	159.4±127.5	158.16	154.5±92.1	217.4	216.8±128.2	0.066 ²	-
Sodium (mg)	313.5	4500.2±7944.5	250.5	3533.4±1729.4	264.6	3665.5±1621.0	0.814 ²	-
Potassium (mg)	63.6	2990.1±1502.7	76.8	3472.8±1566.3	84.9	3988.8±1385.7	0.0101*	a vs. b, a vs. c
Calcium (mg)	73.3	706.8±355.4	85.6	832.2±426.3	87.1	839.2±352.5	0.0322*	a vs. b, a vs. c
Magnesium (mg)	92.9	295.7±136	103.6	323.1±162.3	114.3	361.0±130.3	0.068 ²	-
Selenium (µg)	22.7	15.9±31.3	24.7	17.3±32.6	42.7	29.9±60.8	0.168 ²	-
Iron (mg)	101	11.1±5.2	96.9	12.7±7.8	125.1	15.2±7.8	0.0292*	b vs. c, a vs. c
Zinc (mg)	94.6	9.6±4.6	105.5	10.7±6.0	129.8	13.3±7.0	0.080 ²	-

¹One-Way Analysis of Variance (ANOVA), ²Kruskal Wallis-H Test, TUBER mean: The average of the percentage of meeting the reference values of the 'Türkiye Nutrition Guide', TUBER: Türkiye Nutrition Guide
a vs.b: Significant difference between 'No adherence' and 'Moderate adherence', a vs.c: Significant difference between 'No adherence' and 'Strict adherence', b vs. c: Significant difference between 'Moderate adherence' and 'Strict adherence'

P: Significance was checked over normal values. * P < 0.05 ** P < 0.01 *** P < 0.001. SD: Standard deviation, CHO: Carbohydrate, MUFA: Monounsaturated fat, PUFA: Polyunsaturated fat

The daily amount of omega-3 fatty acids intake increased simultaneously with adherence level to MedDiet and there were between-group differences ($P < 0.001$). Daily oleic acid and the total amount of monounsaturated fatty acids (MUFA) intakes were low in non-adherent participants and were high in strictly adherent participants ($P = 0.013$). Concerning the fat intake in our sample, the amounts of MUFA, oleic acid, and omega-3 fatty acids were higher in those who were strictly adherent to MedDiet. Previous studies reporting high adherence demonstrated reversal of MetS outcomes and reduced prevalence of cardiometabolic risk factors (Gallardo-Alfaro et al., 2020; Montemayor et al., 2022). In this respect, the current study found a negative correlation between adherence to MedDiet and HDL levels. However, MedDiet did not significantly correlate with triglycerides and LDL-C. In terms of these metabolic syndrome parameters, it is thought that the expected results could not be achieved, due to the fact that the entire sample was a patient group and no intervention was applied. In addition, these findings are in line with the literature, supporting the importance of healthy fat consumption in MedDiet and its positive effects on MetS (Gallardo-Alfaro et al., 2020; Bakaloudi et al., 2021; (Table 4).

In terms of micronutrients, the average daily intakes of potassium, calcium, vitamin A, vitamin B6 ($p = 0.013$), vitamin B2 and folate were different between non-adherent participants compared with the moderately and strictly adherent participants ($P < 0.001$, $P = 0.003$ respectively). There were no between-group differences concerning energy, protein, omega-6, saturated fatty acids, thiamine, vitamins D, E and C, and sodium, magnesium, selenium, zinc and iron intakes. On the other hand, daily selenium, calcium, potassium and vitamin D intakes were below TUBER-2015 (TUBER, 2016) reference values in all groups. When examined in detail, the coverage ratio according to the daily acceptable intake was insufficient in potassium in the non-compliant group and in vitamin D and selenium intakes in all groups (Table 4). A lower risk of developing MetS has been reported in individuals

adopting MedDiet rich in vitamins and minerals (Eleftheriou et al., 2018; Gantenbein et al., 2021). In the current study, some micronutrient (potassium, calcium, vitamin A, vitamin B6, vitamin B2, and folate) intake was higher in patients adherent to MedDiet. The average percentages of meeting the reference intake values of vitamin D and selenium were insufficient in all adherence levels. Low vitamin D consumption is prevalent due to limited dietary sources of vitamin D (Santa et al., 2023). However, potassium intakes were insufficient in only non-adherent group. A meta-analysis has concluded that a lower risk of MetS was lower in individuals with higher potassium intake (Cai et al., 2016). This meta-analysis indirectly supports our result. Trace elements such as zinc and selenium are essential for maintaining human physiological homeostasis, and therefore, an imbalance in trace elements is considered an independent risk factor for MetS (Khazdouz et al., 2020; Djalalinia et al., 2021) (Table 4).

Strengths and limitations

This is the first cross-sectional report from Türkiye on the adherence to MedDiet in patients with MetS. However, there are several limitations to the procedures and findings. First, the sample size was small and there was no control group. Second, food consumption was assessed through self-reports which were inherently subject to errors.

In conclusion, this study showed that patients with MetS had low adherence to MedDiet. A higher level of adherence to MedDiet was associated with favorable MetS parameters (lower WC and higher HDL-C) and higher physical activity levels.

CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest or competing with the results of the presented article.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Gülnur Pürdik Tatık: Conceptualization, Data Collection, Review. Anıl Evrim Güngör: Conceptualization, Writing-Original Draft, Review, Editing.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the staff of Endocrinology and Metabolic Diseases Polyclinic of Pamukkale University Hospital, Denizli Türkiye. Dr. İlker Taşçı from the Department of Internal Medicine, University of Health Sciences Gulhane Training and Research Hospital, Ankara, Türkiye is gratefully acknowledged for his helpful review and editing of the manuscript.

REFERENCES

- Abacı, A., Kilickap, M., Goksuluk, H., Karaaslan, D., Barçın, C., Kayıkçıoğlu, M., Özer, N., Yılmaz, M. B., Şahin, M., Tokgözoğlu, L. (2018). Data on prevalence of metabolic syndrome in Türkiye: Systematic review, meta-analysis and meta-regression of epidemiological studies on cardiovascular risk factors. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 46(7): 591-601.
- Aslani, Z., Qorbani, M., Hébert, J. R., Shivappa, N., Motlagh, M. E., Asayesh, H., Mahdavi-Gorabi, A., Kelishadi, R. (2019). Association of Dietary Inflammatory Index with anthropometric indices in children and adolescents: The weight disorder survey of the Childhood and Adolescence Surveillance and Prevention of Adult Non-communicable Disease (CASPIAN)-IV study. *British Journal of Nutrition*, 121(3): 340-350.
- Bakaloudi, D. R., Chrysoula, L., Kotzakioulafi, E., Theodoridis, X., Chourdakis, M. (2021). Impact of the level of adherence to Mediterranean diet on the parameters of metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Nutrients*, 13(5): 1-25.
- Bizzozero-Peroni, B., Brazo-Sayavera, J., Martínez-Vizcaíno, V., Fernández-Rodríguez, R., López-Gil, J. F., Díaz-Goñi, V., Cavero-Redondo, I., Mesas, A. E. (2022). High adherence to the Mediterranean Diet is associated with higher physical fitness in adults: A systematic review and meta-analysis. *Advances in Nutrition (Bethesda, MedDiet.)*, 13(6): 2195-2206.
- Bouzas, C., Bibiloni, M. D. M., Julibert, A., Ruiz-Canela, M., Salas-Salvadó, J., Corella, D., Tur, J. A. (2020). Adherence to the Mediterranean lifestyle and desired body weight loss in a Mediterranean adult population with overweight: A predimed-plus study. *Nutrients*, 12(7): 2114.
- Cai, X., Li, X., Fan, W., Yu, W., Wang, S., Li, Z., Scott, E. M., Li, X. (2016). Potassium and obesity/metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of the epidemiological evidence. *Nutrients*, 8(4): 183.
- Djalalinia, S., Hasani, M., Asayesh, H., Ejtahed, H. S., Malmir, H., Kasaeian, A., Zarei, M., Baygi, F., Rastad, H., Mahdavi Gorabi, A., Qorbani, M. (2021). The effects of dietary selenium supplementation on inflammatory markers among patients with metabolic diseases: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 20(1): 1051-1062.
- Dominguez, L. J., Veronese, N., Di Bella, G., Cusumano, C., Parisi, A., Tagliaferri, F., Ciriminna, S., Barbagallo, M. (2023). Mediterranean diet in the management and prevention of obesity. *Experimental Gerontology* 174, 112121.
- Eguaras, S., Toledo, E., Buil-Cosiales, P., Salas-Salvadó, J., Corella, D., Gutierrez-Bedmar, M., Santos-Lozano, J. M., Arós, F., Fiol, M., Fitó, M., Ros, E., Serra-Majem, L., Pintó, X., Martínez, J. A., Sorlí, J. V., Muñoz, M. A., Basora, J., Estruch, R., Martínez-González, M. A. (2015). Does the Mediterranean diet counteract the adverse effects of abdominal adiposity? *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25(6): 569-574.
- Eleftheriou, D., Benetou, V., Trichopoulou, A., La Vecchia, C., Bamia, C. (2018). Mediterranean Diet and its components in relation to all-cause mortality: Meta-analysis. *British Journal of Nutrition*, 120(10): 1081-1097.
- Estruch, R., Martínez-González, M. A., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Fitó, M., Chiva-Blanch, G., Fiol, M., Gómez-Gracia, E., Arós, F., Lapetra, J., Serra-Majem, L., Pintó, X., Buil-Cosiales, P., Sorlí, J. V., Muñoz, M. A., Basora-Gallisá, J., Lamuela-Raventós, R. M., Serra-Mir, M., Ros, E., PREDIMED Study Investigators. (2019). Effect of a high-fat Mediterranean diet on bodyweight and waist circumference: A prespecified secondary outcomes analysis of the PREDIMED

- randomised controlled trial. *Lancet Diabetes & Endocrinology*, 7(5): e6-e17.
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. (2001). Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Journal of American Medical Association*, 285(19): 2486-2497.
- Finicelli, M., Di Salle, A., Galderisi, U., Peluso, G. (2022). The mediterranean diet: An update of the clinical trials. *Nutrients*, 14: 2956.
- Franquesa, M., Pujol-Busquets, G., García-Fernández, E., Rico, L., Shamirian-Pulido, L., Aguilar-Martínez, A., Medina, F. X., Serra-Majem, L., Bach-Faig, A. (2019). Mediterranean diet and cardiometabolic risk: A systematic review through evidence-based answers to key clinical questions. *Nutrients*, 11(3): 655.
- Gallardo-Alfaro, L., Bibiloni, M. D. M., Mascaró, C. M., Montemayor, S., Ruiz-Canela, M., Salas-Salvadó, J., Corella, D., Fitó, M., Romaguera, D., Vioque, J., Alonso-Gómez, Á. M., Wärnberg, J., Martínez, J. A., Serra-Majem, L., Estruch, R., Tercero-Maciá, C., Sorto-Sánchez, C., Sayón-Orea, C., García-Gavilán, J., Muñoz-Martínez, J., Tur, J. A. (2020). Leisure-time physical activity, sedentary behaviour and diet quality are associated with metabolic syndrome severity: The PREDIMED-Plus study. *Nutrients*, 12(4): 1013.
- Gantenbein, K. V., Kanaka-Gantenbein, C. (2021). Mediterranean diet as an antioxidant: The impact on metabolic health and overall wellbeing. *Nutrients*, 13(6): 1951.
- Godos, J., Zappalà, G., Bernardini, S., Giambini, I., Bes-Rastrollo, M., Martínez-González, M. (2017). Adherence to the Mediterranean diet is inversely associated with metabolic syndrome occurrence: A meta-analysis of observational studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(2): 138-148.
- Hasanzadeh, S., Nadjarzadeh, A., Mirzaei, M., Salehi-Abargouei, A., Hosseinzadeh, M. (2020). The association between macronutrient intake and the metabolic syndrome in Yazdian adult population. *Journal of Nutrition and Food Security*, 5(1): 66-75.
- Kargin, D., Tomaino, L., Serra-Majem, L. (2019). Experimental outcomes of the Mediterranean diet: Lessons learned from the Predimed randomized controlled trial. *Nutrients*, 11(12), 2991.
- Khazdouz, M., Djalalinia, S., Sarrafi Zadeh, S., Hasani, M., Shidfar, F., Ataie-Jafari, A., Asayesh, H., Zarei, M., Gorabi, A. M., Noroozi, M., Qorbani, M. (2020). Effects of zinc supplementation on cardiometabolic risk factors: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Biological Trace Element Research*, 195(2): 373-398.
- Kim, I., Song, Y. M., Ko, H., Sung, J., Lee, K., Shin, J., Shin, S. (2018). Educational disparities in risk for metabolic syndrome. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 16(8): 416-424.
- Martínez-González, M. A., García-López, M., Bes-Rastrollo, M., Toledo, E., Martínez-Lapiscina, E. H., Delgado-Rodríguez, M., Vazquez, Z., Benito, S., Beunza, J. J. (2011). Mediterranean diet and the incidence of cardiovascular disease: A Spanish cohort. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 21(4): 237-244.
- Martínez-González, M. A., García-Arellano, A., Toledo, E., Salas-Salvadó, J., Buil-Cosiales, P., Corella, D., Covas, M. I., Schröder, H., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Ruiz-Gutiérrez, V., Lapetra, J., Lamuela-Raventós, R. M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Muñoz, M. A., Wärnberg, J., Ros, E., Estruch, R., PREDIMED Study Investigators. (2012). A 14-item Mediterranean diet assessment tool and obesity indexes among high-risk subjects: The PREDIMED trial. *PloS One*, 7(8): e43134.
- Meyers, L. D., Hellwig, J. P., Otten, J. J. (2006). Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. The National Academies Press, Washington DC, USA, 19 p.
- Montemayor, S., Mascaró, C. M., Ugarriza, L., Casares, M., Llompарт, I., Abete, I., Zulet, M. Á., Martínez, J. A., Tur, J. A., Bouzas, C. (2022).

- Adherence to Mediterranean Diet and NAFLD in patients with metabolic syndrome: The FLIPAN study. *Nutrients*, 14(15): 3186.
- Oğuz A. (2018). The Prospective urban rural epidemiology (PURE) study: PURE Türkiye. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 46(7): 613-623.
- Papamichou, D., Panagiotakos, D. B., Itsiopoulos, C. (2019). Dietary patterns and management of type 2 diabetes: A systematic review of randomised clinical trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29(6): 531-543.
- Pehlivanoğlu, E. F. O., Balcıoğlu, H., Unluoğlu, I. (2020). Akdeniz Diyeti Bağlılık Ölçeği'nin Türkçe'ye Uyarlanması Geçerlilik ve Güvenilirliği. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 42(2): 160-164.
- Pekcan, G. (2013). Beslenme Durumunun Saptanması. In: *Diyet El Kitabı*, Baysal, A.; Aksoy, M., Besler, H. T., Bozkurt, N., Keçecioglu, S., Mercanlıgil, S. M., Kutluay Merdol, T., Pekcan, G., Yıldız, E. (editors). Hatiboglu Yayinlari, Ankara, Türkiye, pp. 67-142.
- Pérez-Martínez, P., Mikhailidis, D. P., Athyros, V. G., Bullo, M., Couture, P., Covas, M. I., de Koning, L., Delgado-Lista, J., Díaz-López, A., Drevon, C. A., Estruch, R., Esposito, K., Fitó, M., Garaulet, M., Giugliano, D., García-Ríos, A., Katsiki, N., Kolovou, G., Lamarche, B., Maiorino, M. I., Mena-Sánchez, G., Muñoz-Garach, A., Nikolic, D., Ordovás, J. M., Pérez-Jiménez, F., Rizzo, M., Salas-Salvadó, J., Schröder, H., Tinahones, F. J., de la Torre, R., van Ommen, B., Wopereis, S., Ros, E., López-Miranda, J. (2017). Lifestyle recommendations for the prevention and management of metabolic syndrome: An international panel recommendation. *Nutrition Reviews*, 75(5): 307-326.
- Rakicioglu N, Acar Tek N, Ayaz A, Pekcan G. (2009). *Yemek ve besin fotoğraf kataloğu: Ölçü ve miktarlar*. Ata Ofset, Ankara, Türkiye.
- Rees, K., Takeda, A., Martin, N., Ellis, L., Wijesekara, D., Vepa, A., Das, A., Hartley, L., Stranges, S. (2019). Mediterranean-style diet for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3(3): CD009825.
- Saglam, M., Arikan, H., Savci, S., Inal-Ince, D., Bosnak-Guclu, M., Karabulut, E., Tokgozoglu, L. (2010). International physical activity questionnaire: Reliability and validity of the Turkish version. *Perceptual and Motor Skills*, 111(1): 278-284.
- Santa, K., Kumazawa, Y., Nagaoka, I. (2023). Prevention of metabolic syndrome by phytochemicals and vitamin D. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3): 2627.
- Shatwan, I. M., Alhinai, E. A., Alawadhi, B., Surendran, S., Aljefree, N. M., Almoraie, N. M. (2021). High adherence to the Mediterranean diet is associated with a reduced risk of obesity among adults in gulf countries. *Nutrients*, 13(3): 995.
- Soltani, S., Jayedi, A., Shab-Bidar, S., Becerra-Tomás, N., Salas-Salvadó, J. (2019). Adherence to the Mediterranean diet in relation to all-cause mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Advances in Nutrition*, 10(6): 1029-1039.
- Tettamanzi, F., Bagnardi, V., Louca, P., Nogal, A., Monti, G. S., Mambrini, S. P., Lucchetti, E., Maestrini, S., Mazza, S., Rodriguez-Mateos, A., Scacchi, M., Valdes, A. M., Invitti, C., Menni, C. (2021). A high protein diet is more effective in improving insulin resistance and glycemic variability compared to a Mediterranean Diet-a cross-over controlled inpatient dietary study. *Nutrients*, 13(12): 4380.
- Tsofliou, F., Vlachos, D., Hughes, C., Appleton, K. M. (2022). Barriers and facilitators associated with the adoption of and adherence to a Mediterranean style diet in adults: A systematic review of published observational and qualitative studies. *Nutrients*, 14(20): 4314.
- TUBER (2016). Türkiye Beslenme Rehberi 2015 (TUBER). T. C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1031, Ankara, Türkiye.
- WHO (2011). Waist circumference and waist-hip ratio report of a WHO expert consultation. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241501491> [accessed 2 February 2023].
- WHO (2022). Noncommunicable diseases. <https://www.who.int/news-room/fact->

sheets/detail/noncommunicable-diseases
[accessed 2 February 2023].

WHO (2021). BMI classification.
<https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi/> [accessed 21 February 2021].

Zhang, X., Guo, Y., Yao, N., Wang, L., Sun, M., Xu, X., Yang, H., Sun, Y., Li, B. (2022). Association between dietary inflammatory index and metabolic syndrome: Analysis of the NHANES 2005-2016. *Frontiers in Nutrition*, 9: 991907.



DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN POMEGRANATES GROWN IN ANTALYA AND HEALTH RISK ASSESSMENT

Tarık Balkan*, Özlem Yılmaz

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Türkiye

Received /Geliş: 22.05.2023; Accepted / Kabul: 23.06.2023; Published online / Online baskı: 21.09.2023

Balkan, T., Yılmaz, Ö (2023). Determination of pesticide residues in pomegranates grown in Antalya and health risk assessment. GIDA (2023) 48 (5) 993-1003 doi: 10.15237/ gida.GD23063

Balkan, T., Yılmaz, Ö (2023). Antalya'da yetiştirilen narlarda pestisit kalıntılarının belirlenmesi ve sağlık risk değerlendirilmesi. GIDA (2023) 48 (5) 993-1003 doi: 10.15237/ gida.GD23063

ABSTRACT

Pesticide residues were screened in samples collected from pomegranate orchards in Antalya, Türkiye, and the health risks of such residues for consumers were assessed in this study. Analytical method verification was conducted to determine 260 pesticide residues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). A total of 54 pomegranate samples were analyzed using this method. Ten of pomegranate samples contained pesticide residues above European Union Maximum Residue Limits (EU-MRLs). Both buprofezin and tebuconazole were detected in two of these samples, acetamiprid in three, tebuconazole in two, deltamethrin in two, and chlorpyrifos in one. In the risk assessment, deltamethrin has the potential for chronic toxicity for consumers, and chlorpyrifos shows both acute and chronic toxicity risks.

Keywords: Acute risk, Chronic risk, LC-MS/MS, Method verification, QuEChERS

ANTALYA'DA YETİŞTİRİLEN NARLARDA PESTİSİT KALINTILARININ BELİRLENMESİ VE SAĞLIK RİSK DEĞERLENDİRMESİ

ÖZ

Antalya ili nar bahçelerinden toplanan numunelerde pestisit kalıntıları taranmış ve bu kalıntıların tüketiciler için oluşturduğu sağlık riskleri değerlendirilmiştir. Sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile 260 pestisit kalıntısının belirlenmesi için analitik metot doğrulaması yapılarak, Antalya ilinden toplanan 54 nar numunesi analiz edilmiştir. 10 nar numunesinde Avrupa Birliği Maksimum Kalıntı Limitlerinin (AB-MRL) aştığı belirlenmiştir. Bunlarda ikisinde buprofezin ve tebuconazole, üçünde acetamiprid, ikisinde tebuconazole, ikisinde deltamethrin ve birinde ise chlorpyrifos tespit edilmiştir. Tespit edilen pestisitlere yönelik risk değerlendirmesinde deltamethrin kalıntı değerlerinin tüketiciler için kronik toksisite potansiyeline sahip olduğu, chlorpyrifos kalıntı değerinin ise hem akut hem kronik toksisite riski gösterdiği belirlenmiştir.

Keywords: Akut risk, Kronik risk, LC-MS/MS, Metot doğrulama, QuEChERS

* Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: tarik.balkan@gop.edu.tr

☎: (+90) 356 252 1616-1464 / (+90) 356 252 14 88

Tarık Balkan; ORCID no: 0000-0003-4756-4842

Özlem Yılmaz; ORCID no: 0000-0001-8564-120X

INTRODUCTION

Pomegranate (*Punica granatum* L.) has high nutritional content and medicinal properties. It provides numerous health benefits such as boosting immunity, regulating blood circulation, aiding digestion, and contributing to diabetes management (Naik et al. 2022).

In 2019, global pomegranate production was estimated to be around 4 million metric tons worth 8 million USD. The highest production occurs in Iran, India, China, Turkey, and the USA (Kahramanoğlu, 2019; Venkitasamy, 2019). Pomegranate is an important product for the Turkish economy and besides its contribution to human nutrition and various alternative uses (Özalp and Yılmaz, 2013). According to the 2021 report of the Turkish Statistical Institute, approximately one-fourth of pomegranate production in Turkey comes from Antalya (TSI, 2021).

Many pests and diseases have been reported in the pomegranate orchards of Antalya province. Among them, the most common pests are *Frankliniella occidentalis* Perg., *Nezara viridula* (L.), *Siphoninus phillyreae* (Haliday), *Planococcus citri* Risco., *Ectomyelois ceratoniae* (Zell.), *Ceratitidis capitata* (Wiedemann), and the most common diseases are *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Botrytis cinerea* Pers., and *Penicillium* spp. (Şahin, 2013; İlgin, 2016). These pests and diseases cause yield and quality losses before and after harvest. Therefore, growers frequently use pesticides to prevent yield loss. According to the 2020 TUIK data, Antalya is the city in Turkey where pesticides are used the most, with 4.349.658 kg-lt (Özercan and Taşçı, 2022). These pesticides can accumulate on/in fruits, posing food safety problems (Ryberg et al., 2018) and threatening environmental health and natural balance. Between January 2020 and October 2022, 32 notifications of pesticide residues in pomegranates exported from Turkey were reported by RASFF, 22 of which were classified as having a "serious" risk level. Kuchheuser and Birringer (2022) stated that the European Commission may need additional measures due to the increasing trend in notifications regarding pomegranates imported

from Turkey. Furthermore, the limited number of residue studies on pomegranates in Turkey (Bakırcı et al., 2014; Dinçay et al., 2017; Gormez et al., 2021; Soydan et al., 2021) increases the necessity for residue monitoring studies.

Monitoring is an integral part of Good agricultural practices (GAPs). Therefore, testing samples for multiple pesticides at low levels, such as 0.01 mg/kg, is essential to ensure food safety. Electrospray ionization (ESI) liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has become the method of choice for pesticide residue analysis worldwide due to its high sensitivity, selectivity, wide scope, and ease of use (Ortelli et al, 2004; Banerjee et al., 2008).

In this study, the aims were (1) to report the verification results of multiple residue detection of 260 different pesticides in pomegranate using the QuEChERS method and LC/MS/MS (2) to investigate the pesticide residues of the samples collected from pomegranate orchards in Antalya (3) to evaluate the risk on human health.

MATERIALS AND METHOD

Sample collection and storage

The samples were collected randomly from the pomegranate orchards in Antalya, the region with the highest production in Turkey. Pomegranate samples were collected approximately 2 kg (at least five units) (EC, 2002). The samples were transported immediately to the laboratory and stored at -20 °C.

Reagents and chemicals

Pesticide reference standards were supplied by Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany). Acetonitrile (ACN) was bought by Honeywell (North Carolina, USA). Methanol (MeOH), magnesium sulfate anhydrous (MgSO₄), ammonium formate (NH₄CO₂H), sodium acetate anhydrous (NaOAc), and acetic acid (AcOH) were procured from Merck (Darmstadt, Germany). Water was purified by MP Minipure Dest Up system (Ankara, Turkey). The QuEChERS products were purchased from Restek (Bellefonte, USA).

Chromatographic analysis

The analyses were conducted on Shimadzu UHPLC Nexera™ X2, and LCMS™-8050 triple

quadrupole mass spectrometer with an electrospray ionization (ESI). The LC-MS/MS conditions were listed in Table 1.

Table 1. Operating conditions and gradient program

LC Conditions (Nexera X2)		MS Conditions (LCMS-8050)	
Column	Inertsil (ODS-4), C18 column (2.1 mm x 150 mm, 3 µm)	Ionization mode	ESI (Positive / Negative)
Oven temp.	40 °C	Desolvation line temp	250 °C
Solvent A	5 mM/L ammonium formate/deionized water	Interface temp.	300 °C
Solvent B	5 mM/L ammonium formate/methanol	Block heater temp.	400 °C
Gradient	5%B. (0 min) - 60%B. (3 min) - 70%B. (4 min) - 80%B. (6 min) - 95%B. (7 - 8.50 min) - 5%B. (8.51-15 min)	Nebulizer gas flow	2.9 L/min.
Flow rate	0.4 mL/min	Drying gas flow	10.0 L/min.
Injection vol.	10 µL	Heating gas flow	15.0 L/min.
Rinse solution	R0: 50% methanol	Dwell time	1-33 msec

Sample extraction and clean-up

The official QuEChERS AOAC Method 2007.01 was used for the extraction and clean-up procedures (Lehotay, 2007). The following QuEChERS steps are illustrated in Figure 1. Each of the samples was analyzed in triplicates with LC-MS/MS.

For recovery studies, approximately 1 kg of pomegranate sample was homogenized with a blender and 15 g of the homogenized sample was weighed into a 50 ml Falcon tube. Then, 150 µl of pesticide mixture was added to 15 g of sample and vortexed for 60 seconds (Polat and Tiryaki, 2019; Dülger and Tiryaki, 2021). The mixture was left to stand for 15 minutes to allow the pesticides to interact with the matrix. Subsequently, the steps illustrated in Figure 1 were followed.

Calculation of risk assessment

In assessing the acute and chronic risk of pesticide residues, the estimated dietary exposure was compared to toxicological values known as acute reference dose (ARfD, mg kg⁻¹ bw day⁻¹) and acceptable daily intake (ADI, mg kg⁻¹ bw day⁻¹). The short-term consumer health risk (acute hazard index, aHI) was calculated by dividing the

estimated short-term intake (ESTI, mg kg⁻¹ day⁻¹) by the acute reference. On the other hand, the long-term consumer health risk (chronic hazard index, cHI) was calculated by dividing the estimated daily intake (EDI, mg kg⁻¹ day⁻¹) by the acceptable daily intake. The relevant formulas used for these calculations were as follows (Liu et al., 2016);

$$\text{ESTI} = (\text{high residue level} \times \text{food consumption}) / \text{body weight} \quad (1)$$

$$\text{aHI} = \text{ESTI} / \text{ARfD} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{EDI} = (\text{mean residue level} \times \text{food consumption}) / \text{body weight} \quad (3)$$

$$\text{cHI} = \text{EDI} / \text{ADI} \times 100 \quad (4)$$

The food is considered a risk to the consumers when the health risk index >1. The food is considered acceptable when the index is <1 (Darko and Akoto, 2008, Soydan et al., 2021; Balkan and Kara, 2022). The average body weight of an adult was considered 73.5 kg (TSI 2019), and daily consumption of pomegranate for the general population in Turkey were used as 0.01 kg·day⁻¹ (TSI, 2021).

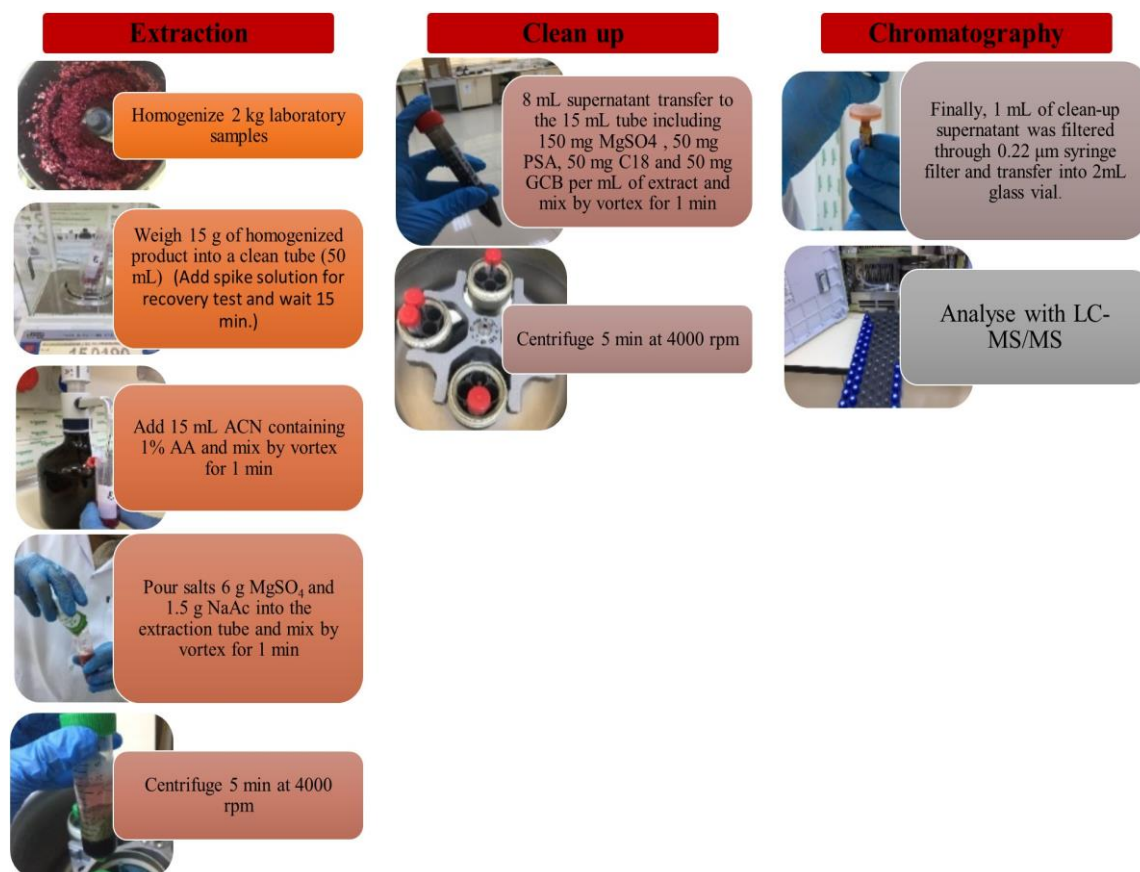


Figure 1. Analytical steps of the QuEChERS-AOAC Official Method 2007.01

RESULTS AND DISCUSSION

Method verification

In our previous study, we reported the results of the method validation analysis of 260 pesticides determined by LC-MS/MS in some leafy vegetables (Balkan and Yılmaz, 2022). This method has been verified to determine pesticide residues in pomegranates. The matrix calibration curves and calibration equations of 260 pesticides were linear ($R^2 \geq 0.990$) in the 5-200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ calibration range. The correlation coefficient (R^2) over 0.990 is an important criterion of linearity (Tiryaki et al., 2008). Calibration curves of boscalid and pyraclostrobin, which had concentrations lower than the MRL, and acetamiprid, buprofezin, chlorpyrifos, deltamethrin, and tebuconazole, which had residue concentrations higher than the MRL, are shown in Figure 2.

Detection and quantification limits

The LOD and LOQ values of pesticides detected were found to be lower than MRL values determined by the European Union for pomegranate (EC, 2022). The LODs ranged from 0.75 to 2.67 $\mu\text{g kg}^{-1}$, while LOQ values were between 2.50 and 8.90 $\mu\text{g kg}^{-1}$. The LOD and LOQ values of acetamiprid, boscalid, buprofezin, chlorpyrifos, deltamethrin, pyraclostrobin, and tebuconazole were 2.19-7.30, 0.84-2.80, 0.75-2.50, 0.87-2.90, 2.67-8.90, 1.68-5.60 and 2.49-8.30 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively (Table 2).

Precision and accuracy

Precision and accuracy of the method is evaluated by repeatability (%RSD) and recovery (%Q) (SANTE, 2021). The recovery tests were carried out using five replicates at three fortification levels of 10, 50, and 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. The recovery rates of acetamiprid, boscalid,

buprofezin, chlorpyrifos, deltamethrin, pyraclostrobin, and tebuconazole are given in Table 2. The results obtained for the other 253 pesticides were within the values stated by

SANTE recovery limits ($70\% \leq Q \leq 120\%$) and repeatability ($\leq 20\%$) (SANTE, 2021).

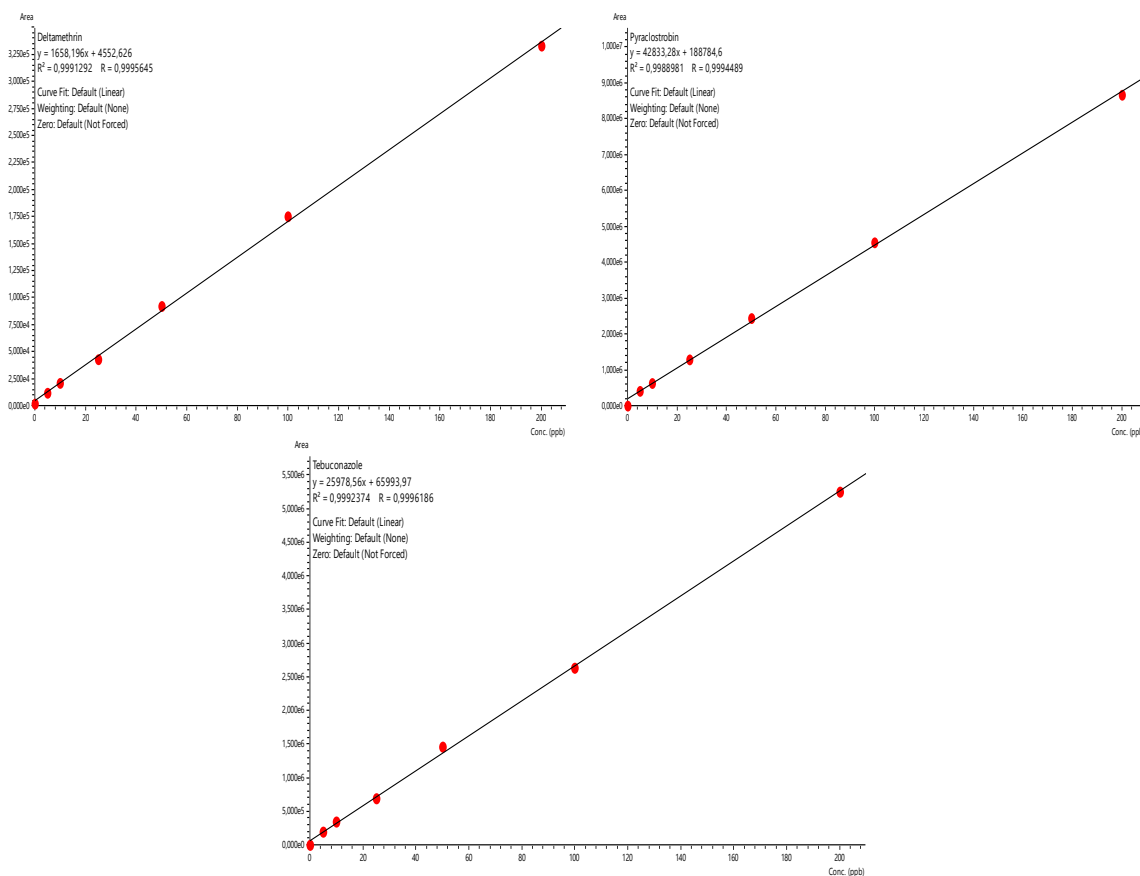


Figure 2. Calibration curves for seven pesticides in matrix-matched calibration

The findings regarding the recovery rates were in line with the method validation parameters for pesticide residue analysis (SANTE, 2021). The accuracy values, which express the closeness of the measured values to the actual values are given in Table 2. The findings indicate that QuEChERS provides effective recovery rates for 260 pesticides. As a result, the validated method can be considered a rapid and accurate approach for analyzing pomegranate residues (Tiryaki, 2016).

Pesticide residues

The study investigated 260 pesticides from various groups, including insecticides, acaricides,

nematicides, fungicides, herbicides, plant growth regulators, and some metabolites. LC-MS/MS was used for the analysis of these pesticides in pomegranate samples. Out of the 16 samples analyzed, seven different pesticides were detected. On the other hand, in 38 of the samples, no pesticide active ingredient was found. The residue levels of the detected pesticides ranged between 11.06 and 144.44 $\mu\text{g kg}^{-1}$. The results and frequency of the pesticides were presented in Table 3.

Table 2. QuEChERS-AOAC method verification data

Pesticide	Linear regression equation	R ²	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		Recovery %	RSD %
					Spiked	Measured		
Acetamiprid	Y=133556.6x + 690071.0	0.998	2.19	7.30	10	10.12	101.12	8.91
					50	53.89	107.78	10.21
					100	111.88	111.88	9.13
Boscalid	Y=14332.22x + 109937.2	0.996	0.84	2.80	10	11.05	110.50	7.57
					50	56.85	113.70	11.53
					100	111.74	111.74	12.07
Buprofezin	Y=61556.09x + 27121.12	0.999	0.75	2.50	10	9.11	91.10	8.68
					50	57.22	114.44	13.35
					100	107.50	107.50	8.37
Chlorpyrifos	Y=14913.12x + 52824.51	0.999	0.87	2.90	10	9.55	95.50	11.31
					50	57.97	115.94	12.39
					100	115.49	115.49	7.17
Deltamethrin	Y=1658.196x + 4552.626	0.999	2.67	8.90	10	11.68	116.80	12.93
					50	53.70	107.40	10.15
					100	100.74	100.74	10.52
Pyraclostrobin	Y=42833.28x + 188784.6	0.998	1.68	5.60	10	11.47	114.70	11.93
					50	55.36	110.72	13.34
					100	115.22	115.22	6.32
Tebuconazole	Y=25978x + 65993.97	0.999	2.49	8.30	10	11.39	113.90	11.42
					50	55.31	110.62	11.28
					100	108.03	108.03	6.86

Table 3. Pesticide residue levels and frequencies

Food commodity	Number of sample >LOQ and percentage, (%)	Number of sample >MRL and percentage, (%)	Pesticide	Frequency of detection	Pesticide residue ^a (mg kg^{-1})	Number of sample >MRL	MRL ^b (mg kg^{-1})
Pomegranate	16 (29.6)	10 (18.5)	Acetamiprid	3	0.013- 0.014-0.018	3	0.01
			Boscalid	7	0.018-0.088	-	2
			Buprofezin	2	0.016- 0.024	2	0.01
			Chlorpyrifos	1	0.102	1	0.01
			Deltamethrin	2	0.028- 0.144	2	0.01
			Pyraclostrobin	1	0.014	-	0.02
			Tebuconazole	5	0.011- 0.075	4	0.02

^a Mean of three analytical portions, ^b EU pesticide database (European Commission, 2022)

The results were evaluated according to EU-MRL. Residue values from 10 out of 16 pomegranate samples (18.5%) exceeded the MRL. Concentrations of acetamiprid, buprofezin, chlorpyrifos, deltamethrin, and tebuconazole were higher than the MRL. Additionally, six samples contained two different pesticides.

In Turkey, acetamiprid is licensed for use against *Siphoninus philyreae*, *Planococcus citri*, *Aphis punicae*. The acetamiprid residue level was found to be higher than the MRL values in 3 samples. Buprofezin is licensed in Turkey for control against *Alternaria alternata*. The residue of buprofezin exceeded the MRL in 2 samples. The use of chlorpyrifos was terminated in May 2020 and was banned in Turkey. According to the

previous license information, it has been used against many pests, especially sucking insects in orchards. Interestingly, the chlorpyrifos residue concentration exceeded the EU-MRL by 102 times in one sample.

Deltamethrin is licensed in Turkey for control against *Ceratitis capitata*. The deltamethrin residue level in 2 samples were higher than the MRL. Tebuconazole is licensed in Turkey for against control *Phytophthora* spp. The tebuconazole residue level in 4 samples were higher than the MRL. Boscalid and pyraclostrobin is licensed in Turkey for control against *Alternaria alternata*. These licensed active ingredients are sold as mixed preparations containing 25.2% boscalid and 12.8% pyraclostrobin. The boscalid residue in 7 samples and pyraclostrobin residue in 1 sample were lower than the MRL.

Dinçay et al. (2017) found malathion in 17.1% and spinosad in 9.1% of 187 pomegranate samples collected in 2013, while malathion was found in 14.3% and spinosad in 15.4% of 91 pomegranate samples collected in 2014, Turkey. They stated that the active ingredients in these samples did not exceed the MRL. Savant et al. (2010) detected chlorpyrifos residues lower than the MRL in a pomegranate sample from India.

The residues of imidacloprid were found below the specified MRL in two fresh fruit samples collected from retail markets in India (Uttare et al., 2012). In a study conducted in India, acephate thiamethoxam, imidacloprid, carbendazim, tebuconazole, difenoconazole, profenofos, quinalphos, novaluron, thiophanate methyl, and acetamiprid were found lower than MRL in whole pomegranate samples from the markets (Naik et al. 2022). Soydan et al. (2021) detected pesticide residues higher than MRL in 7 of 157 pomegranate samples. In this study, pesticide residues were higher than MRL in 10 out of 54 pomegranate samples.

Uçan et al. (2009), Ersoy et al. (2011), Bakırcı et al. (2014), and Ersoy (2019) conducted separate investigations on pesticide residues in pomegranate samples. In their respective studies, they found no detectable levels pesticides in the samples. In this study, no detectable pesticide residue was found in 38 pomegranate samples, while quantifiable pesticide residues were found in 16 samples.

Health risk assessment

The risk analysis was conducted for seven detected pesticides, and the results were presented in Table 4.

Table 4. The results of long-term and short-term risk assessments

Food commodity	Pesticide	ADI* (mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹)	ARfD* (mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹)	Long-term risk		Short-term risk	
				EDI (mg kg ⁻¹ day ⁻¹)	cHI	ESTI (mg kg ⁻¹ day ⁻¹)	aHI
Pomegranate	Acetamiprid	0.025	0.025	1.71E-05	0.07	2.08E-05	0.08
	Boscalid	0.04	/	4.85E-05	0.12	9.76E-05	/
	Buprofezin	0.01	0.05	2.30E-05	0.23	2.75E-05	0.05
	Chlorpyrifos	0.001	0.005	1.13E-04	11.32	1.13E-04	2.26
	Deltamethrin	0.01	0.025	9.50E-05	0.95	1.59E-04	0.63
	Pyraclostrobin	0.03	0.03	1.56E-05	0.05	1.56E-05	0.05
	Tebuconazole	0.03	0.03	5.14E-05	0.17	8.28E-05	0.28

*ARfD and ADI were adopted from IUPAC pesticides properties database (IUPAC, 2022).

The symbol of “/” represented that there was no authorized value for ARfD. and the corresponding risk index could not be computed.

The short-term risk assessment revealed that chlorpyrifos level poses a high risk with a value of 2.2631, while all other aHI values were less than 1, indicating a negligible acute risk. Similarly, the long-term risk assessment revealed that chlorpyrifos level possesses high risk with a value of 11.3155, while all other cHI values were less than 1, indicating a negligible acute risk. However, the cHI value of deltamethrin (0.9501) is quite close to the limit value. These findings suggest that the acute and chronic risks associated with pesticide exposure through the consumption of pomegranate should be taken into consideration.

In the literature review, a study conducted in Turkey examined the health risks arising from pesticide residues in pomegranate. The hazard quotient values reported in the study conducted by Soydan et al. (2021) indicated that pomegranate consumption does not pose a public health problem. Similarly, other studies conducted by Saleh et al. (2020), Matadha et al. (2021), and Tripathy et al. (2022) also reported that there is no significant potential human risk to consumers from pesticide residues in pomegranate.

CONCLUSIONS

This study aimed to investigate pesticide residues in pomegranates produced in Antalya province and assess the related health risks. Among the 54 samples analyzed, seven different pesticides were detected in 16 samples. The residue levels of 5 pesticides exceeded the MRLs. Our study results indicate that some negative situations posing potential risks to human health may be encountered. To prevent such scenarios, raising awareness among producers and plant protection product sellers about the impacts of pesticides on the environment and human health is crucial. In addition, it would be appropriate to encourage producers to implement good agricultural practices (GAPs) and integrated pesticide management (IPM).

In conclusion, conducting more comprehensive research on pesticides and performing routine residue analyses are essential to ensure food safety and protect public health. In addition, increasing

the number of pesticides investigated in this type of analysis is important to obtain more comprehensive results.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

TB made significant contributions to the design and execution of the study. ÖY contributed to the conduct of research. TB and ÖY performed the experiments. TB and ÖY calculated, analysed and interpreted data. TB attended in designing and writing the manuscript. TB gave final confirmation for the submission of revised version. All authors read, approved final manuscript.

REFERENCES

- Bakırcı, G.T., Acay, D.B.Y., Bakırcı, F., Ötleş, S. (2014). Pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean region, Turkey. *Food Chemistry*, 160; 379-392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.051>.
- Banerjee, K., Oulkar, D.P., Patil, S.B., Patil, S.H., Dasgupta, S., Savant, R., Adsule, P.G. (2008). Single-laboratory validation and uncertainty analysis of 82 pesticides determined in pomegranate, apple, and orange by ethyl acetate extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 91(6); 1435–1445.
- Balkan, T., Kara, K. (2022). Determination of pesticide residues and risk assessment in some vegetables grown in Tokat province. *Plant Protection Bulletin*, 62(2); 26-35, <https://doi.org/10.16955/bitkorb.1053952>.
- Balkan, T., Yılmaz, Ö. (2022). Method validation, residue and risk assessment of 260 pesticides in some leafy vegetables using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 384; 132516, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132516>.
- Darko, G., Akoto, O. (2008). Dietary intake of organophosphorus pesticide residues through vegetables from Kumasi, Ghana. *Food and*

- Chemical Toxicology*, 46(12); 3703-3706, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.049>.
- Dinçay, O., Civelek, H. S., Görmez, E. (2017). Residue analysis of insecticides used for control of Mediterranean Fruit Fly [*Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)] in Izmir's satsuma (mandarin) and Antalya's pomegranates. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(2); 231-238 (in Turkish with English abstract), <https://doi.org/10.20289/zfdergi.387346>.
- Dülger, H., Tiryaki, O. (2021). Investigation of pesticide residues in peach and nectarine sampled from Çanakkale, Turkey, and consumer dietary risk assessment. *Environmental monitoring and assessment*, 193; 561, <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09349-8>.
- Ersoy N., Tatlı Ö., Özcan S., Evcil E., Coşkun L.Ş., Erdoğan E., 2011. Pesticide residues in some tropical and subtropical fruit species. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(2); 81-88, (in Turkish with English abstract).
- Ersoy, N. (2019). Good Agricultural Practices (GAPs) in 'Hicaznar' Pomegranate (*Punica granatum* L.) Cultivar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2); 198-209. <https://doi.org/10.29048/makufebd.637515>.
- EC, 2002. European Commission, Commission Directive 2002/63/EC of 11 July 2002 establishing community methods of sampling for the official control of pesticide residues in and on products of plant and animal origin and repealing Directive 79/700/EEC. Official Journal of the European Communities, 2, 30-43.
- EC, 2022. European Commission, European Union (EU) pesticides database. Pesticide Residues MRLs. Directorate General for Health & Consumers. <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls> Accessed September 10, 2022.
- Ilgın, T. (2016). Antalya ilinde nar üretim alanlarında ve depolanan meyvelerde görülen fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 68s.
- Gormez, E., Golge, O., Kabak, B. (2021). Quantification of fosetyl-aluminium/phosphonic acid and other highly polar residues in pomegranates using Quick Polar Pesticides method involving liquid chromatography-tandem mass spectrometry measurement. *Journal of chromatography. A*, 1642; 462038, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462038>.
- IUPAC 2022. The PPDB - Pesticide Properties Database International Union of Pure and Applied Chemistry. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/index.htm> (Accessed date: October 7, 2022).
- Kahramanoglu, İ., (2019). Trends in pomegranate sector: production, postharvest handling and marketing. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 3(2); 239-246.
- Kuchheuser, P., Birringer, M. (2022). Evaluation of specific import provisions for food products from third countries based on an analysis of RASFF notifications on pesticide residues. *Food Control*, 133;108581, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108581>.
- Lehotay S.J., 2007. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 90(2); 485-520.
- Liu, Y., Shen, D., Li, S., Ni, Z., Ding, M., Ye, C., Tang, F. (2016). Residue levels and risk assessment of pesticides in nuts of China. *Chemosphere*, 144; 645-651, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.008>.
- Matadha, N.Y., Mohapatra, S., Siddamallaiah, L. (2021). Distribution of fluopyram and tebuconazole in pomegranate tissues and their risk assessment. *Food chemistry*, 358; 129909, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129909>.
- Naik, R.H., Pallavi, M.S., Nandini, Shwetha, A., Bheemanna, M., Nidoni, R.U. (2022). Simultaneous determination of pesticide residues in pomegranate whole fruit and arils using LC-

- MS/MS. *Food Chemistry*, 387; 13286, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132865>.
- Ortelli, D., Edder, P., Corvi C. (2004). Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 520; 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.03.037>.
- Özalp, A., Yılmaz, İ. (2013). Input usage, profitability and productivity analysis of pomegranate production in Antalya province. *Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture*, 26(1); 9-26, (in Turkish with English abstract).
- Özercan, B. Taşcı, R. (2022). Investigation of Pesticide Use in Türkiye in Terms of Provinces, Regions and Pesticide Groups. *Ziraat Mühendisliği*, (375); 75-88, (in Turkish with English abstract), <https://doi.org/10.33724/zm.1120599>.
- Polat, B., Tiryaki, O. (2019). Determination of some pesticide residues in conventional-grown and IPM-grown tomato by using QuEChERS method. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 54(2); 112-117, <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1531663>.
- Ryberg, M.W., Rosenbaum R.K., Mosqueron, L., Fantke, P. (2018). Addressing bystander exposure to agricultural pesticides in life cycle impact assessment. *Chemosphere*, 197; 541–549, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.088>.
- Saleh, I.A., Khorshed, M.A., Eshmawy, M.R., Kandil, M.A. (2020). Pesticide residues in horticultural crops from domestic markets of giza, egypt: occurrence and risk assessment. *Plant Archives*, 20(1); 3862-3869.
- SANTE, 2021. SANTE/11312/2021 Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. 1–55. https://www.accredia.it/app/uploads/2021/02/SANTE_11312_2021.pdf (Accessed date: October 7, 2022).
- Savant, R.H., Banerjee, K., Utture, S.C., Patil, S.H., Dasgupta, S., Ghaste, M.S., Adsule, P.G. (2010). Multiresidue analysis of 50 pesticides in grape, pomegranate, and mango by gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 58; 1447–1454, <https://doi.org/10.1021/jf903398f>.
- Soydan, K. D., Turgut, N., Yalçın, M., Turgut, C., Karakuş, P. B. K. (2021). Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean region of Turkey and assessment of risk to consumers. *Environmental Science and Pollution Research*, 28; 27511–27519. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12580-y>.
- Şahin, Ö. (2013). Antalya ili nar alanlarında görülen zararlılar ve doğal düşmanları. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 41s.
- Tiryaki, O. (2016). Validation of QuEChERS method for the determination of some pesticide residues in two apple varieties. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51; 722-729. <https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1191922>.
- Tiryaki, O., Baysoy, D., Seçer, E., Aydın G. (2008). Testing the stability of pesticides during sample processing for the chlorpyrifos and malathion residue analysis in cucumber including matrix effects. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80(1); 38-43.
- Tripathy, V., Sharma, K.K., Mohapatra, S. et al. 2022. Persistence evaluation of fluopyram + tebuconazole residues on mango and pomegranate and their risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research* 29; 33180–33190, <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17993-3>.
- TSI, 2019. Turkey Health Interview Survey. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/DownloadIstatis?ikselTablo?p=WEBW229PP/91tMV2m71fU6pRWq2F1ZD/lzOFFk0bNDi2rjAC8QDCRN62nr2M3n1K> (Accessed date: September 10, 2022).
- TSI, 2021. Turkish Statical Institute. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Accessed date: September 10, 2022)
- Uçan, H. N., Dursun S., Gür K., Aktümsek A. (2009). Organochlorine Pesticide Residue

Analyses in Some Fruit Samples Collected from Konya City Supermarkets. *Asian Journal of Chemistry*, 21(6); 4843-4855.

Utture S.C., Banerjee, K., Kolekar, S.S., Dasgupta, S., Oulkar, D., Patil, S. H., Wagh, S.S., Adsule, P.G., Anuse, M.A. (2012). Food safety evaluation of buprofezin, dimethoate and imidacloprid residues in pomegranate. *Food Chemistry*, 131; 787-

795, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.044>.

Venkitasamy, C., Zhao, L., Zhang, R., Pan Z. (2019). Chapter 8 – Pomegranate. *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*, Academic Press, Pages 181-216. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814138-0.00008-3>.



MAYALARDA SAFRA TUZU TOLERANSININ BELİRLENMESİNDE FARKLI SICAKLIK VE BESİYERİ KULLANIMININ ETKİSİ

Bülent Çetin, Burcu Bazu Çırpıcı*

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

Geliş/Received: 02.08.2023; Kabul /Accepted: 14.09.2023; Online baskı /Published online: 21.09.2023

Çetin, B., Bazu Çırpıcı, B. (2023). Mayalarda safra tuzu toleransının belirlenmesinde farklı sıcaklık ve besiyeri kullanımının etkisi. GIDA (2023) 48 (5) 1004-1020 doi: 10.15237/ gida.GD23089

Çetin, B., Bazu Çırpıcı, B. (2023) The effect of different temperature and media usage on determining bile salt tolerance in yeasts. GIDA (2023) 48 (5) 1004-1020 doi: 10.15237/ gida.GD23089

ÖZ

Mikrobiyel karakterizasyonda deney şartları, sonuca etki eden önemli bir parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada 50 maya izolatının, safra tuzuna toleransları 3 farklı sıcaklık (26°C, 30°C ve 37°C) ve 2 farklı besiyeri (Sabouraud-2% dekstroz broth, SDB ve Yeast Peptone Dextrose Broth, YPD) koşullarında araştırılmıştır. Genel olarak 26 ve 30 °C'de her iki besiyerinde de benzer gelişim gözlenmiştir. Fakat 37 °C'de suşların gelişimlerinde SDB besiyerinde %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzunda sırasıyla dört, üç ve üç suş gelişirken, YPD besiyerinde dokuz suşun geliştiği belirlenmiştir. YPD ve SDB besiyerleri maya gelişimi açısından karşılaştırıldığında, YPD'nin farklı sıcaklık ve safra oranlarında daha fazla suşun gelişimini destekleyebildiği tespit edilmiştir. Çalışmada *Kazachstania unispora*'nın deney koşullarından en çok etkilenen tür olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Maya, safra tuzu, sıcaklık, YPD besiyeri, SDB besiyeri

THE EFFECT OF DIFFERENT TEMPERATURE AND MEDIA USAGE ON DETERMINING BILE SALT TOLERANCE IN YEASTS

ABSTRACT

In microbiological characterisation, experimental conditions emerge as a significant parameter affecting the result. In this study, the tolerance of 50 yeast isolates to bile salts was investigated under three different temperature conditions (26°C, 30°C, and 37°C) and two different media (Sabouraud-2% dextrose broth and Yeast Peptone Dextrose Broth, YPD). In general, similar growth was observed in both media at 26°C and 30°C. However, at 37°C, it was determined that four, three, and three strains developed in SDB medium with 0.3%, 0.5%, and 1% bile salt, respectively, while nine strains developed in YPD medium. When YPD and SDB media were compared in terms of yeast growth, it was observed that YPD supported the growth of a greater number of strains at different temperatures and bile ratios. The study determined that *Kazachstania unispora* was the species most affected by the experimental conditions.

Keywords: Yeast, bile salt, temperature, YPD medium, SDB medium

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: burcu.cirpici@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 1111

☎: (+90) 442 231 5878

Burcu Bazu Çırpıcı; ORCID no: 0000-0001-6353-4438

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

GİRİŞ

Mayalar, çevrede yaygın olarak bulunan tek hücreli ökaryotik mikroorganizmalardır. Aynı zamanda birçok geleneksel fermente yiyecek ve içeceğin üretiminde rol aldığı gibi gıda bozulmalarında da etkili olabilmektedir (Tamang ve Lama, 2022). Dünya genelinde gıda endüstrisinde hayvan ve insan tüketimi için en yaygın kullanılan mikroorganizma gruplarından biri mayalardır. Mayalar, sake, şarap, ekmek, kefir, elma şarabı ve bira gibi birçok yiyecek ve içeceğin üretiminde kritik bir rol oynar ve bazı peynirlerin olgunlaşma sürecinde de yer alır ve genellikle güvenli olarak kabul edilirler (Hsu ve Chou, 2021, Fernández-Pacheco vd., 2021). İnsan ve hayvan tüketiminde yer alan cinsler arasında *Saccharomyces* ve *Kluyveromyces* dikkat çekmektedir (Diosma vd., 2014). *Saccharomyces* cinsi, alkollü içeceklerde en yaygın bulunan maya türüyken *Kluyveromyces* cinsi fermente süt ürünlerinde baskın maya olarak bulunur (Tamang ve Lama, 2022).

Bir mikroorganizmanın probiyotik grubuna dahil olabilmesi için yüksek vücut sıcaklığı (37 °C), gastrointestinal sistemden geçerken pH'daki değişiklikler, mide suyuna maruz kalma, enzimler, oksijen konsantrasyonu, safra ve pankreas tuzları gibi konakçı organizmada hayatta kalmak için belirli kriterlerin üstesinden gelmesi gerekir (Fernandez-Pacheco vd., 2018). Gastrointestinal sisteme giren probiyotik adayları için in vitro seçim kriterleri arasında 37 °C'de büyüebilme, mide asiditesine ve safra tuzlarına karşı direnç, insan sindirim sisteminin elverişsiz koşullarında (örneğin sindirim enzimleri, pankreas suyu ve düşük pH) hayatta kalabilme, organik asitlerin varlığı gibi yerel strese karşı dirençli olabilme, mukus ve epitel hücrelerine patojenlerle rekabetçi yapışma, mikrobiyotayı düzenlemenin yanı sıra biyolojik fonksiyonları yerine getirerek konakçı ortamın sağlığına katkıda bulunabilme, patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite ve safra tuzlarını hidrolize etme kapasitesi yer almaktadır (García-Hernández vd., 2012, Staniszewski ve Kordowska-Wiater, 2021, Hsiung vd., 2021).

Bağırsak, yiyeceklerin sindirilmesi ve besinlerin emilmesinden sorumlu olan sindirim sistemi içinde önemli bir rol oynar. Bağırsak sağlığı, genel

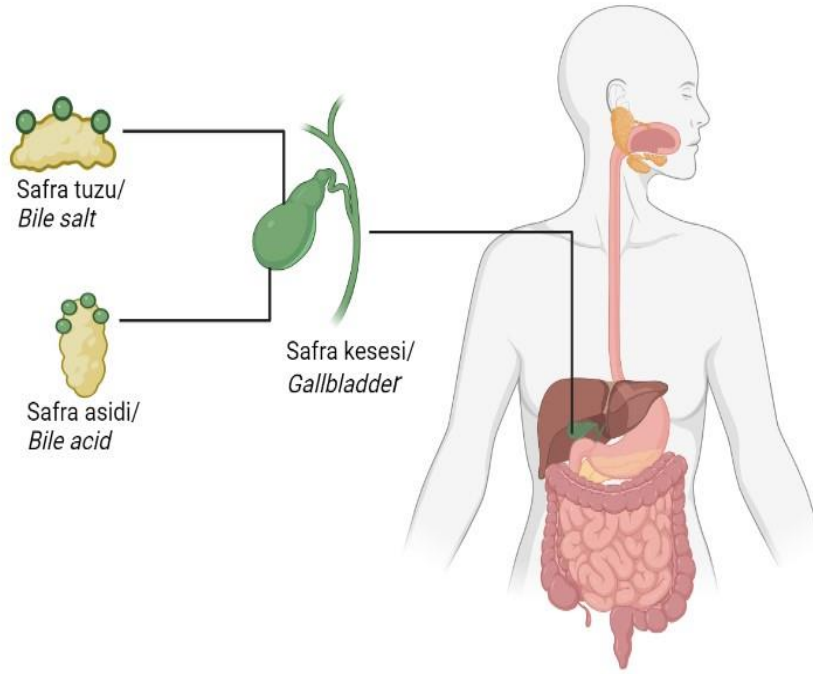
sağlık üzerinde etkili olabilir çünkü birçok simbiyotik mikroorganizma bağırsakta yaşamaktadır (Hsu ve Chou, 2021). Gastrointestinal sistemde safra tuzlarının varlığı, mikroorganizmaların canlılığını etkileyen kritik bir faktördür. Bu nedenle, potansiyel probiyotik mikroorganizmaların seçiminde kullanılan kriterler arasında safra tuzlarını tolere etme kabiliyeti öncelikle bir test olarak yer almaktadır (Chen vd., 2010, Ayyash vd., 2021, Hsiung vd., 2021). Erkkilä ve Petäjä (2000) %0.3 safra tuzu oranında gelişimin, dirençli suşları belirlemek için kritik bir konsantrasyon olduğunu belirtmişlerdir. Safra asidi konsantrasyonu, safra kesesinde ~%8, bağırsakta ~%0.2 ile %2 arasında değişir. Ancak bu değerler mutlak değildir, çünkü diyet alımı gibi faktörlere bağlı olarak safra asidi seviyelerinde kişiden kişiye farklılıklar mevcuttur (Gunn, 2000).

Safra; proteinler, kolesterol, pigmentler, iyonlar ve çeşitli safra tuzları dahil olmak üzere çok sayıda bileşenden oluşur (Merritt ve Donaldson, 2009). Safra tuzları; bilirubin, kolesterol ve fosfolipitler gibi organik bileşiklerin yanı sıra elektrolitler ve su gibi inorganik bileşikler içerir (Champe ve Harvey, 1997). Fosfatidilkolin (lesitin) ve safra tuzları, safranın miktar olarak en önemli bileşenleridir. Safra, ihtiyaç duyulduğunda karaciğerden onikiparmak bağırsağına direkt olarak safra kanalıyla geçebilir veya sindirim için anında gereksinim olmadığında safra kesesinde depolanabilir. Safra içinde en yaygın bulunan safra asitleri keno-deoksikolik asit ve kolik asittir. Safra asitleri amfipatiktir, yani moleküllerinin hem polar hem de nonpolar bir yüzeyi vardır. Bu özellikleri sayesinde bağırsakta yağları çözebilen ajanlar olarak görev yapabilirler. Şekil 1'de safranın insan vücudundaki yeri ve kısımları görülmektedir. Safra asitleri, diyetle alınan lipitlerin pankreasın sindirim enzimleri tarafından parçalanması için yardımcı olurlar (Champe ve Harvey, 1997).

Karbonhidrat ve yağ asidi metabolizmasında, amino asit ve azotlu baz biosentezinde yer alan proteinlerin ekspresyonu ve genel stres tepkisi safranın varlığından sıklıkla etkilenir (Bustos vd., 2018, Ayyash vd., 2021). Safra ve safra asitlerinin ürettiği karmaşık stresin doğası göz önüne alındığında, mikroorganizmaların tolere

edebilmesi için dışa atım (effluks) pompalama sistemlerinin varlığı, safra tuzu hidrolaz (BSH) enzimi, hücrelerin içsel homeostazı koruma yeteneği ve hücre zarının yapısında ve bileşiminde değişiklikler gibi farklı savunma mekanizmalarını kullanabildikleri görülmektedir (Bustos vd., 2018). Mikrobiyel dönüşümler arasında, BSH tarafından safra asitlerinin dekonjugasyonu en önemlisidir

(Bustos vd., 2018). Safra tuzu hidrolaz aktivitesi, mikroorganizmalar tarafından serbest bırakılan amino asitleri karbon ve azot kaynakları olarak kullanma, safra detoksifikasyonunu kolaylaştırma veya kolesterolün hücre duvarına dahil edilmesini destekleme olasılığını sağlayabilmektedir (Horáčková vd., 2018).



Şekil 1. Safranın insan vücudundaki yeri
Figure 1. The location of bile in the human body

Bu çalışmada, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan alınan 50 maya izolatının 3 farklı sıcaklık (26 °C, 30 °C ve 37 °C) ve 2 farklı besiyerindeki (Sabouraud-2% dextrose broth (SDB) ve Yeast Peptone Dextrose (YPD) broth) safra tuzuna toleransı araştırılmıştır. Böylece mayalardaki safra tuzuna toleransının belirlenmesinde farklı sıcaklık ve besiyeri kullanımının etkisi ortaya koyulmaya çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan 50 adet maya izolatu Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği

Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Temin edilen maya suşları farklı kefir danelerinden izole edilmiştir. İzolatların tanıları önceki çalışmalar çerçevesinde makroskopik, mikroskopik ve moleküler teknikler (M13 RAPD-PCR ve 26S rRNA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 6 türe ait (*Geotrichum candidum*, *Kazachstania unispora*, *Pichia fermentans*, *Kazachstania turicensis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces marxianus*) 50 farklı suş kullanılmış olup 30 izolat ile *Kazachstania unispora* en yoğun grubu temsil etmektedir. Çalışmada farklı sıcaklık, besiyeri ve safra oranları için en değişken ve hassas tür olan *Kazachstania unispora*'ya özellikle yer verilmiştir.

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

Yöntem

Maya İzolatlarının Safliklerinin Kontrolü

Kültür koleksiyonundan alınan maya izolatları safliklarının kontrolü ve safra tuzuna toleransının belirlenmesi için -80 °C dereceden çıkarılıp Potato

Dextrose Agar (PDA, Merck, Darmstadt, Almanya) agara çizilmiş ve saflik kontrolleri gerçekleştirilmiştir. Kullanılan maya suşları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan suşların kodu ve adı
Table 1. Code and name of the strains used in the study

İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	İzolat adı/ <i>Isolate name</i>	Erişim Numarası	İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	İzolat adı/ <i>Isolate name</i>	Erişim Numarası
M1	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M26	<i>Geot. candidum</i>	MN493828.1
M2	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M27	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M3	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M28	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M4	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M29	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M5	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M30	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M6	<i>Pich. fermentans</i>	MN704650.1	M31	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M7	<i>Pich. fermentans</i>	MN704650.1	M32	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1
M8	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M33	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M9	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M34	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1
M10	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M35	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M11	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M36	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M12	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M37	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M13	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M38	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M14	<i>Kazı. turicensis</i>	MH978869.1	M39	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M15	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M40	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M16	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M41	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1
M17	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M42	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1
M18	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M43	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M20	<i>Sacc. cerevisiae</i>	OR268347.1	M45	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M21	<i>Kazı. turicensis</i>	MH978869.1	M46	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M22	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M47	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M23	<i>Kazı. turicensis</i>	MH978869.1	M48	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1
M24	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1	M49	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1
M25	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M50	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1

Geot: *Geotrichum*; Kazı: *Kazıchstanıa*; Pich: *Pichia*; Sacc: *Saccharomyces*; Kluy: *Kluyveromyces*

Maya İzolatlarının Safra Tuzuna Toleransı

Maya izolatlarının safra tuzlarına karşı direncinin belirlenmesi amacıyla %0.3, %0.5 ve %1 (w/v) safra tuzları (Merck, Darmstadt, Almanya) içeren ve safra içermeyen Sabouraud-2% dextrose broth (SDB, Merck, Darmstadt, Almanya) (Et peptonu 5.0 g/L, D (+) Glikoz 20.0 g/L, Kazein peptonu 5.0 g/L) ve Yeast Peptone Dextrose broth (YPD Broth, Sigma Aldrich, Milano, İtalya) (Bakteriyolojik pepton 20.0 g/L, Glikoz 20.0 g/L, Maya ekstraktı 10.0 g/L) kullanılmıştır.

İnkübasyon 96 kuyucuklu mikro plakada yapılmış ve her bir kuyucuğa steril besiyerlerinden 140 µL ilave edilmiştir. Her bir maya izolatının maya süspansiyonu steril %0.85 FTS ile hazırlanmış ve 1.0 McFarland bulanıklığına standardize edilip (DEN-1 dansitometre; Biosan, Riga, Letonya) her bir kuyucuğa 10 µL inoküle edilmiştir. Kontrol amacıyla kullanılan kuyucuklara inokülasyon işlemi yapılmamıştır. Plakalar 26, 30 ve 37 °C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiş ve maya gelişimi 600 nm'de plaka okuyucu (Epoch, BioTek, USA)

ile yapılmıştır (Gürkan Özlü vd., 2022, Akay Yüce, 2022). Çalışma 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

Safra tuzlarına tolerans sonuçları; maya izolatları ile inkübe edilen, içinde safra tuzu bulunmayan (pozitif kontrol) sıvı besiyerleri ve içine inokülasyon yapılmayan (negatif kontrol) sıvı besiyerlerinin absorbanslarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. Absorbans sonuçlarına göre negatif kontrolden daha yüksek absorbans değerine sahip izolatlar "+", negatif kontrol ile benzer absorbans değerine sahip olanlar ise "-" olarak ifade edilmiştir.

37 °C'de gelişim göstermeyen maya suşlarının gelişme nedenlerinin sıcaklık olup olmadığını belirlemek ve suşların canlı olup olmadığını anlamak için 37 °C'den alınan aynı plâtelere önce 20 °C'de daha sonra 26 °C'de inkübe edilmiştir. Böylece mayaların canlılık kontrolü sağlanıp,

gelişme nedeninin sıcaklık kaynaklı olup olmadığı belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırma bulguları genel olarak incelendiğinde çalışmada kullanılan izolatların farklı sıcaklık, besiyeri ve safra konsantrasyonları için aynı gelişme özelliklerini göstermediği belirlenmiştir. Örneğin; %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren SDB besiyerinde 26 °C'de *Pichia fermentans* M6 ve *Saccharomyces cerevisiae* M20 izolatları gelişme göstermemiştir. *Kluyveromyces marxianus* M24 suşu ise %0.3 ve %0.5 safra içeren SDB içinde gelişme gösterirken, %1 safra içeren SDB içinde gelişmemiştir. Geriye kalan 47 suş ise %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren SDB içinde pozitif olarak gelişmiştir. 26 °C'de %0 safra bulunan SDB besiyerinde tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. SDB besiyerinde maya suşlarının farklı sıcaklıklarda safra tuzlarındaki gelişimi
Table 2. Growth of yeast strains in SDB medium at different temperatures with bile salts

İzolat kodu/ Isolate code	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M2	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M3	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M4	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M5	+	+	+	+	+	+	+	-	-
M6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M7	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M8	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M9	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M10	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M11	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M12	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M13	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M14	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M15	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M16	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M17	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M18	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M19	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M20	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

İzolot kodu/ Isolate code	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M21	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M23	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M24	+	+	-	+	+	-	+	+	+
M25	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M26	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M27	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M28	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M29	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M30	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M31	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M32	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M33	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M34	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M35	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M36	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M37	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M38	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M39	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M40	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M41	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M42	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M43	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M44	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M45	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M46	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M47	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M48	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M49	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M50	+	+	+	+	+	+	-	-	-

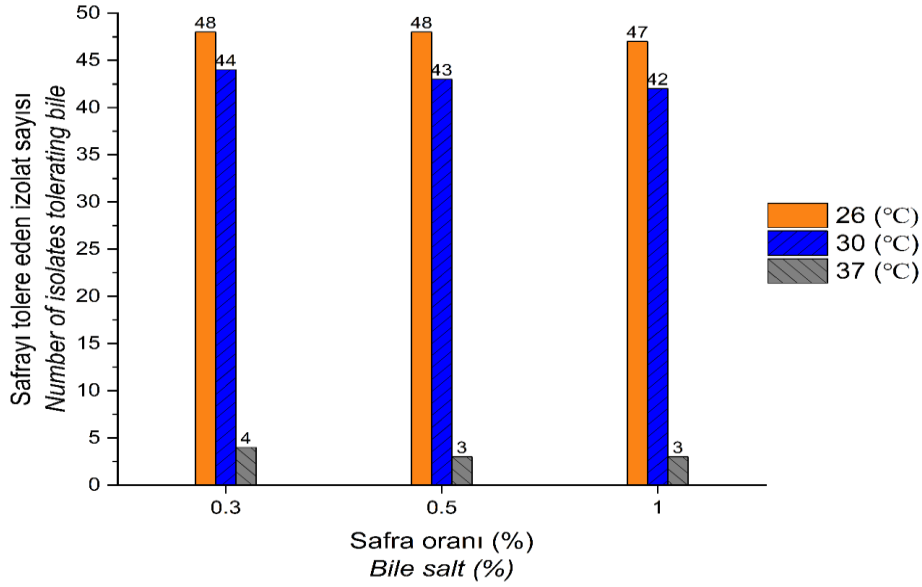
Kazachstania unispora M4, M8, M43, M47, M49 ve *P. fermentans* M6 izolatları 30 °C'de %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren SDB içinde gelişim belirlenmemiştir. *S. cerevisiae* M20 suşu %0.3 safra içeren SDB içinde gelişme gösterirken, %0.5 ve %1 safra içeren SDB içinde gelişim olmamıştır. *K. marxianus* M24 izolatı ise %0.3 ve %0.5 safra içeren SDB içinde gelişme gösterirken, %1 safra içeren SDB içinde gelişme gözlenmemiştir. Geriye kalan 42 izolat ise tüm safra oranlarında 30 °C'de SDB içinde gelişim göstermiştir. *K. unispora* M43, M47 ve *K. marxianus* M49 izolatları 30 °C'de safra içermeyen SDB besiyerinde gelişim göstermezken

diğer 47 maya izolatı gelişim sonucu vermiştir (Çizelge 2).

K. marxianus M24, M41 ve M48 numaralı maya izolatları 37 °C'de SDB içinde tüm safra oranlarında pozitif gelişim gösterirken, *K. unispora* M5 suşu sadece %0.3 safra içeren SDB içinde gelişme göstermiştir. Diğer kalan 46 suş ise 37 °C'de SDB içinde tüm safra oranlarında gelişmemiştir. Bu safra konsantrasyonunda (%0.3) gelişim göstermeyen suşlardan *K. unispora* M5, M8, *P. fermentans* M6, *Geotrichum candidum* M13, M44 ve *S. cerevisiae* M20 maya izolatları safra

içermeyen SDB besiyerinde gelişim göstermiştir. SDB içinde 50 farklı maya izolatının farklı sıcaklık ve safra tuzu oranındaki gelişimi Çizelge 2’de,

safraya tolerans gösteren izolat sayısı ise Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. SDB besiyerinde safraya tolerans gösteren izolat sayısı
Figure 2. Number of isolates tolerant to bile in SDB medium

Çalışmada kullanılan diğer besiyeri olan YPD broth besiyerinde 26 °C’de %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren ve safra içermeyen besiyerinde tüm maya izolatları gelişim göstermesine rağmen SDB’de gelişmeyen maya izolatları bulunmaktadır (Şekil 2 ve Şekil 3). Farklı oranlarda safra içeren

YPD brothda, 30 °C’de *K. unispora* M43 ve M47 suşları gelişim gösterememiştir. *K. unispora* M4 maya izolatı ise 30 °C’de sadece %0.3 safra içeren YPD broth içinde gelişme göstermiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. YPD besiyerinde maya suşlarının farklı sıcaklıklarda safra tuzlarındaki gelişimi
Table 3. Growth of yeast strains in YPD medium at different temperatures with bile salts

İzolat kodu/ Isolate code	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M2	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M3	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M4	+	+	+	+	-	-	-	-	-
M5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M7	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M9	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M10	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M11	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M12	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

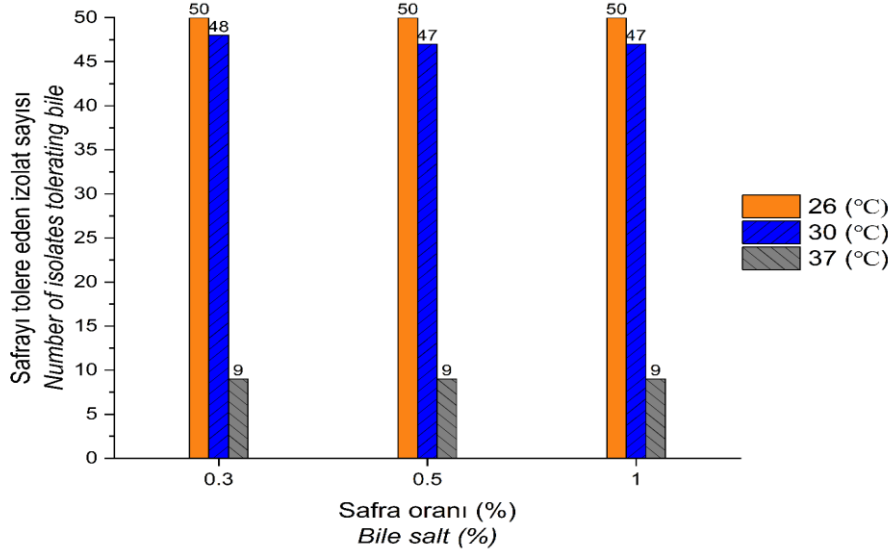
İzolot kodu/ <i>Isolate code</i>	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M13	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M14	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M15	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M16	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M17	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M18	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M19	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M21	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M23	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M24	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M25	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M26	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M27	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M28	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M29	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M30	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M31	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M32	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M33	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M34	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M35	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M36	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M37	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M38	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M39	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M40	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M41	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M42	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M43	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M44	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M45	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M46	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M47	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M48	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M49	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M50	+	+	+	+	+	+	-	-	-

K. unispora M5, M8, *P. fermentans* M6, *G. candidum* M13, M44, *S. cerevisiae* M20 ve *K. marxianus* M24, M41, M48 numaralı maya izolatları 37 °C'de YPD broth içinde tüm safra oranlarında pozitif gelişim

gösterirken, diğer 41 maya suşu herhangi bir gelişme (safra içermeyen YPD broth dahil) göstermemiştir. SDB ile mukayese edildiğinde YPD brothda daha fazla maya suşununun

gelişebildiği ancak tüm maya suşlarının gelişemediği görülmektedir. YPD broth içinde 50 farklı maya izolatının farklı sıcaklık ve safra tuzu

oranındaki gelişimi Çizelge 3'te, safraya tolerans gösteren izolat sayısı ise Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3. YPD broth içinde safraya tolerans gösteren izolat sayısı

Figure 3. Number of isolates tolerant to bile in YPD broth

SDB besiyerinde 37 °C'de, tüm safra oranlarında pozitif gelişim gösteren *K. marxianus* M24, M41 ve M48 numaralı maya izolatları hariç geriye kalan 47 izolat önce 20 °C'de daha sonra 26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Böylece maya izolatlarının canlılıkları ve gelişimleri 600 nm'de plaka okuyucu ile kontrol edilmiştir. *K. unispora* M5 suşu ise sadece %0.3 safra içeren SDB'de

gelişme gösterdiği için %0.5 ve %1 safra içeriğinde gelişiminin belirlenmesi için 20 °C ve 26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Buna göre, *P. fermentans* M7, *K. unispora* M5, M9, M11, M12, M15, M17, M22, M28 ve *G. candidum* M13, M25 suşları 20 °C ve 26 °C'de inkübasyona bırakılması ardından tüm safra konsantrasyonlarında gelişim gösterdikleri gözlenmiştir (Çizelge 4.)

Çizelge 4. SDB besiyerinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti

Table 4. Determination of the viability of yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in SDB medium at 37°C

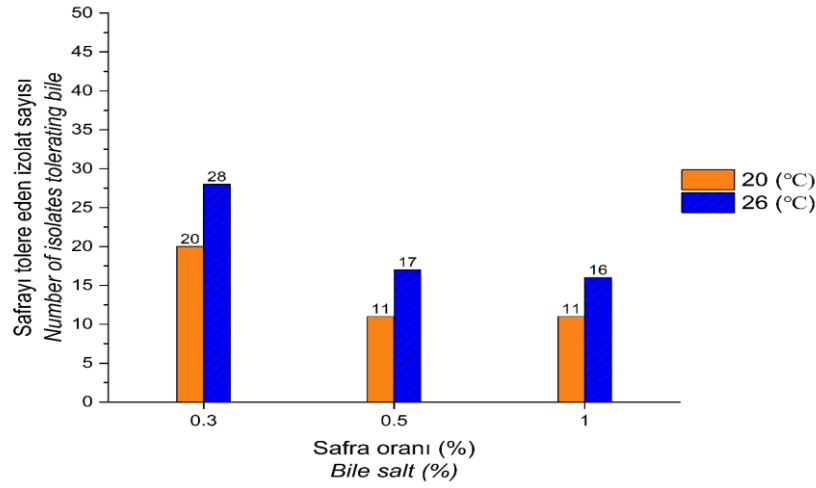
İzolat kodu/ Isolate code	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	-	-	-	+	+	-
M2	-	-	-	-	-	-
M3	-	-	-	-	-	-
M4	-	-	-	-	-	-
M5	+	+	+	+	+	+
M6	-	-	-	-	-	-
M7	+	+	+	+	+	+
M8	-	-	-	-	-	-
M9	+	+	+	+	+	+
M10	-	-	-	+	+	+

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M11	+	+	+	+	+	+
M12	+	+	+	+	+	+
M13	+	+	+	+	+	+
M14	+	-	-	+	-	-
M15	+	+	+	+	+	+
M16	-	-	-	-	-	-
M17	+	+	+	+	+	+
M18	+	-	-	+	-	-
M19	+	-	-	+	-	-
M20	+	-	-	+	-	-
M21	-	-	-	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+
M23	+	-	-	+	-	-
M25	+	+	+	+	+	+
M26	-	-	-	+	+	+
M27	+	-	-	+	-	-
M28	+	+	+	+	+	+
M29	+	-	-	+	-	-
M30	-	-	-	-	-	-
M31	-	-	-	-	-	-
M32	-	-	-	-	-	-
M33	-	-	-	-	-	-
M34	-	-	-	+	-	-
M35	-	-	-	+	-	-
M36	-	-	-	+	+	+
M37	-	-	-	+	+	+
M38	-	-	-	-	-	-
M39	-	-	-	-	-	-
M40	-	-	-	-	-	-
M42	+	-	-	+	-	-
M43	-	-	-	-	-	-
M44	-	-	-	-	-	-
M45	-	-	-	-	-	-
M46	-	-	-	+	-	-
M47	-	-	-	-	-	-
M49	-	-	-	-	-	-
M50	+	-	-	+	+	+

K. turicensis M14, M23, *K. unispora* M18, M19, M27, M29, *S. cerevisiae* M20 ve *G. candidum* M42 izolatları sadece %0.3 safra içeriğinde 20 °C ve 26 °C'de pozitif gelişme göstermiştir. *G. candidum* M50 suşu ise 20 °C'de %0.3 safra içeriğinde gelişim gösterirken 26 °C'de %0.3, %0.5 ve %1 safra içeriğinde gelişim göstermiştir. *G. candidum* M1 suşunun 20 °C'de gelişimi görülmezken 26 °C'de %0.3 ve %0.5 safra içeriğinde geliştiği belirlenmiştir. *K. unispora* M10, M36, M37 ve *G. candidum* M26 suşunun da 20 °C'de gelişimi

görülmezken 26 °C'de %0.3, %0.5 ve %1 safra oranında geliştiği belirlenmiştir. *G. candidum* M34 ve *K. unispora* M35, M46 suşları ise 20 °C'de gelişimi göstermezken 26 °C'de %0.3 safra içeren SDB içinde gelişmiştir. 19 tane maya izolatı ise hiç safra oranında gelişme göstermemiştir. SDB içinde 37 °C'de gelişim göstermeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti Çizelge 4'de, gelişenlerin sayısı ise Şekil 4'de verilmiştir.



Şekil 4. SDB besiyerinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen 47 maya izolatının 20 °C ve 26 °C'deki gelişim durumu

Figure 4. Growth status of 47 yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in SDB broth at 37°C

YPD broth besiyerinde 37 °C'de pozitif gelişim gösteren *K. unispora* M5, M8, *P. fermentans* M6, *G. candidum* M13, M44, *S. cerevisiae* M20 ve *K. marxianus* M24, M41, M48 nolu maya izolatları dışında kalan diğer tüm izolatlar (41 adet) önce 20 °C'de daha sonra 26 °C'de ayrı ayrı inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda 600 nm'de

plaka okuyucu ile plateler okunmuştur. *K. unispora* M2, M3, M9, M10, M11, M12, M15, M17, M19, M22, M27, M28, M29, M30, M31, M33, M36, M37, M38, M39, M40, *P. fermentans* M7, *G. candidum* M1, M16, M25, M26, M32, M34, M42 ve M50 izolatları inkübasyon sonunda tüm safra oranlarında gelişmiştir (Çizelge 5.)

Çizelge 5. YPD brothta 37 °C'de gelişim gösteremeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti

Table 5. Determination of the viability of yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in YPD broth at 37°C

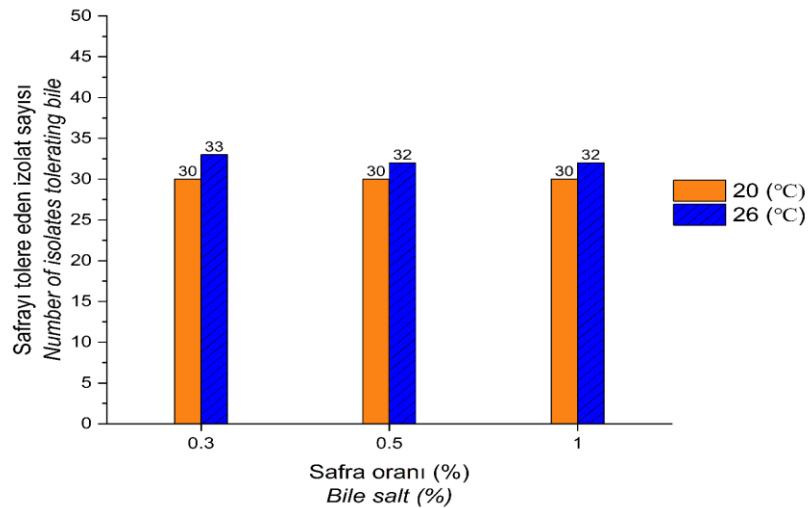
İzolat kodu/ Isolate code	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	+	+	+	+	+	+
M2	+	+	+	+	+	+
M3	+	+	+	+	+	+
M4	-	-	-	+	+	+
M7	+	+	+	+	+	+
M9	+	+	+	+	+	+
M10	+	+	+	+	+	+
M11	+	+	+	+	+	+
M12	+	+	+	+	+	+
M14	-	-	-	-	-	-
M15	+	+	+	+	+	+
M16	+	+	+	+	+	+
M17	+	+	+	+	+	+
M18	-	-	-	+	-	-
M19	+	+	+	+	+	+
M21	-	-	-	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+
M23	-	-	-	-	-	-

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M25	+	+	+	+	+	+
M26	+	+	+	+	+	+
M27	+	+	+	+	+	+
M28	+	+	+	+	+	+
M29	+	+	+	+	+	+
M30	+	+	+	+	+	+
M31	+	+	+	+	+	+
M32	+	+	+	+	+	+
M33	+	+	+	+	+	+
M34	+	+	+	+	+	+
M35	-	-	-	+	+	+
M36	+	+	+	+	+	+
M37	+	+	+	+	+	+
M38	+	+	+	+	+	+
M39	+	+	+	+	+	+
M40	+	+	+	+	+	+
M42	+	+	+	+	+	+
M43	-	-	-	-	-	-
M45	-	-	-	-	-	-
M46	-	-	-	-	-	-
M47	-	-	-	-	-	-
M49	-	-	-	-	-	-
M50	+	+	+	+	+	+

K. unispora M4 ve M35 suşları 20°C'de gelişim göstermezken 26 °C'de tüm safra oranlarında gelişim göstermektedir. *K. unispora* M18 suşu ise 20°C'de gelişim göstermezken 26 °C'de sadece %0.3 safra oranında gelişim göstermektedir.

Geriye kalan 8 suş ise her iki sıcaklıkta da gelişim göstermemiştir. Çizelge 5'de YPD broth içinde 37 °C'de gelişim göstermeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti ve gelişenlerin sayısı ise Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. YPD broth içinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen 41 maya izolatının 20 °C ve 26 °C'deki gelişim durumu

Figure 5. Growth status of 41 yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in YPD broth at 37°C

Yukarıdaki sonuçlar incelendiğinde sıcaklık ve safra konsantrasyonu ile besiyeri çeşitliliğinin denemelerde kullanılan maya izolatları üzerinde etkili faktörler olduğu gözlenmiştir. Genel gelişim özellikleri açısından bakıldığında 26 °C'de YPD besiyeri kullanımının en fazla suş gelişimine olanak tanıdığı tespit edilmiştir. Bununla beraber sıcaklık açısından en düşük oradan gelişimin 37 °C'de gerçekleştiği belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan izolatlar görüldüğü üzere farklı sıcaklık, besiyeri ve safra konsantrasyonu açısından farklı gelişim özellikleri göstermiştir. Konu ile ilgili beraber benzer çalışmaların sonuçları aşağıda sunulmuştur.

Bebek dışkısı ve Feta peyniri kaynaklı iki *S. cerevisiae* suşunun kullanıldığı bir çalışmada insan orjinli olanın %0.3 safra tuzu içeren YPD besiyerinde 37 °C'de inkübe edildiğinde safraya dirençli olduğu belirlenmiştir (Psomas vd., 2003). Bu sonuç, çalışma verileri ile mukayese edildiğinde; *S. cerevisiae* M20 suşunun 37 °C'de SDB broth içinde gelişim göstermediği halde YPD brothda gelişim açısından benzer olduğu görülmektedir.

Kumura vd. (2004) maya suşları ile yapmış olduğu çalışmada safra asidinin varlığında bağımsız olarak, 27°C'de inkübasyon yapıldığında test edilen tüm suşlarda gelişme gözlemlendiğini, 37°C'de inkübasyon yapıldığında ise sınırlı gelişme gözlemlendiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca *S. cerevisiae*'nin safra varlığında gelişebildiğini belirtmişlerdir.

Çin'deki çiftliklerden toplanan çiğ sütlerden elde edilen *G. candidum* ve *P. fermentans* suşlarının bulunduğu 19 maya izolatu %0.1, %0.3 ve %0.5 safra tuzu içeren YPD brothda 25 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Sonuç olarak %0.3 safra varlığında 19 suştan 17'sinin iyi geliştiği gözlenmiştir (Chen vd., 2010). İlgili suşlar arasında değerlendirildiğinde benzer sonuçların bizim çalışmamızda da tespit edildiği görülmektedir.

Başka bir çalışmada Portekiz salamura zeytinlerinden maya izolasyonu gerçekleştirilmiş ve 37 °C'de safra tuzuna direnci (3g/L)

incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda *S. cerevisiae* 'nın (10 suş) ve *P. fermentans* 'ın (8 suş) tüm suşlarının safraya dirençli olduğu bulunmuştur (Silva vd., 2011). Bu çalışmada ise SDB besiyerinde 37 °C'de *P. fermentans* M6, M7 ve *S. cerevisiae* M20 suşları gelişim göstermezken YPD brothta *P. fermentans* M6, *S. cerevisiae* M20 ve *Geotrichum candidum* M44 suşlarının safraya karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Fermente bir gıda olan Fura'dan elde edilen 330 maya suşu %0.3 safra tuzu ve 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüm maya suşları (*C. krusei* ve *K. marxianus* baskın türler) safraya toleranslı olup, %0.3 (w/v) oxgall içinde geliştikleri gözlenmiştir (Pedersen vd., 2012). Benzer verilere bu çalışmada da ulaşıldığı görülmektedir.

García-Hernández vd. (2012) yapmış olduğu çalışmada fermente edilmiş piliç dışkularından 9 maya suşu izole edilmiş olup %0.3 ve %0.6 safra içeren ve safra içermeyen Sabouraud dextrose agarda 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir ve tüm suşların safraya dirençli oldukları belirlenmiştir.

Diosma vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada 4 farklı kefir danesinden 34 adet maya izole etmişlerdir. İlgili çalışmada 15 adet *S. cerevisiae* suşu ve 9 adet *K. marxianus* suşu kullanılmıştır. Bu izolatların safraya dirençleri içinde %1 oranında safra tuzu bulunan YPD broth besiyerinde 30 °C'de incelemiştir. Kullanılan 11 izolat %1 safra tuzu varlığında gelişim gösterirken; %0.5 safra tuzu içeriğinde tüm izolatların gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Benzer durum çalışmada kullandığımız *S. cerevisiae* M20 ve *K. marxianus* suşlarının tümü için geçerli olduğu görülmektedir.

Gürkan (2018) tarafından yapılan çalışmada 36 farklı kaynaktan (ev yapımı kırmızı şarap, Antep peyniri, pirinç, tarhana hamuru, mısır gevreği, bebek dışkısı, anne sütü, kefir mayası, keçi kefir, yaş maya, ev yapımı limon sirkesi, probiyotik balık yemi, ev yapımı elma sirkesi, salamura turşu, çiğ inek sütü, boza, kırmızı, ev yapımı kiraz sirkesi, ekşi ekmekek hamuru, beyaz peynir, nohut ekmeği hamuru, çiğ keçi sütü, salamura zeytin, probiyotik yoğurt, probiyotik yoğurt mayası, ev yoğurdu

mayası, ev yoğurdu, köy yoğurdu mayası, Feta peyniri, ve buğday gevreği) toplam 140 adet maya izolasyonu yapılmıştır. Probiyotik ve teknolojik özellikleri en iyi olan 48 suş için tanı işlemi gerçekleştirilmiştir. İzolatların safraya toleranslarının belirlenmesi için %0.3, %0.5, %0.6 ve %1 oxgall bulunan besiyerlerinde 27 °C ve 37 °C'de inkübasyon gerçekleştirilmiştir. 27 °C'de tüm suşlar pozitif sonuç verirken, 37 °C'de %0.3 safra tuzu içeren besiyerinde 48 izolattan 42'si, %0.5 ve %0.6 safra tuzu içeren besiyerinde 39'u, %1 safra tuzu içeren besiyerinde ise 38'i gelişim göstermiştir.

Yalman (2018) tarafından yapılan çalışmada manda sütünden üretilmiş 7 adet Mozzarella ve 13 adet Beyaz peynirden toplamda 406 maya izole edilmiştir. İzole edilen mayalardan 180'i tanılanmıştır. Tanısı yapılan izolatlar 37 °C sıcaklıkta %0.3 safra tuzu varlığında test edilmiş ve 104 izolatin bu şartlarda gelişebildiği belirlenmiştir.

İtalya'nın Marche bölgesinde bulunan doğal çevre (odun, toprak, meyve tabakaları, kumtaşı çukurları, kiler ve mandıra) ve fermente ürünlerden (ekşi mayalar, peynirler, şaraplar, biralalar ve şeker kamışı suyu vb.) kendiliğinden fermente olan işlenmiş gıdalardan toplam 179 tane maya izole edilmiş ve *Kazachstania*, *Kluyveromyces*, *Pichia* ve *Saccharomyces* dahil olmak üzere 12 cins belirlenmiştir. İlgili izolatlar, %0.3 safra tuzu içeren YPD brothda 37 °C'de 48 ve 120 saat inkübe edilmişlerdir. *Kazachstania* ve *Saccharomyces* cinslerine ait tüm suşlar %0.3 safra tuzları ile 48 saat boyunca hayatta kalabildiği, sadece *S. cerevisiae* 4PV suşunun 120 saat inkübasyonun sonunda %90.9 oranında ocanlılığını koruduğu belirlenmiştir (Agarbatı vd., 2020).

Tayvan'da toplanan farklı fermente gıda ürünlerinden ve içeceklerinden 16 adet maya izole edilmiş olup bunların içerisinde 5 adet *K. marxianus*, 2 adet *K. turicensis*, 2 adet *K. unispora*, 2 adet *S. cerevisiae* suşu olduğu görülmektedir. İlgili suşlar içerisinde %0.3 safra tuzu bulunduran YPD brothta 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Yapılan testler sonucunda, *K. marxianus* JYC2614 ve *K.*

marxianus JYC2610 suşlarının safra tuzu toleransına iyi uyum sağladığı gözlemlenmiştir. *K. unispora* JYC2608 ve *K. unispora* JYC2611 suşlarının ise safra tuzu içeren YPD ortamında inhibe olduğu görülmüştür. (Hsiung vd., 2021). Benzer sonuçlar bu çalışmada da görülmektedir. *K. marxianus* suşları safra içeren besiyerlerinde 37 °C'de gelişim gösterirken, *K. unispora* suşlarının hemen hemen hepsi safra içeren besiyerlerinde 37 °C'de gelişme göstermemiştir.

Alkay vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada toplam 62 mayanın izole edildiği ekşi maya örnekleri Türkiye'nin 6 bölgesindeki köylerden toplanmıştır. Maya suşlarının FTIR (Fourier-transform infrared spektroskopisi) ile tanımlanması yapılmış olup ilgili suşlar içerisinde *S. cerevisiae* suşu yer almaktadır. Maya izolatları 37 °C'de içinde %0.3 safra bulunan besiyerinde 72 saat inkübe edilmiş ve tüm maya suşları ilk 24 saatte %0.3 safra tuzuna direnç gösterdiği bulunmuştur.

Yedi geleneksel kefir danesi ve bir geleneksel kefir örneği İran'ın farklı bölgelerinden toplanmış ve toplam 26 adet maya izole edilmiştir. İzolatlar *Pichia fermentans*, *K. marxianus* *S. cerevisiae* dahil olmak üzere dört türe ait olduğu görülmektedir. Çalışmada, izolatların 37 °C'de %0.3 safra tuzu içerisinde 8 saat inkübe edildiğinde, tüm suşların canlılıklarını koruduğu belirlenmiştir (Rahmani vd., 2022).

SDB besiyerinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen 46 maya izolatinin %0.3 safra tuzu içeriğinde 20 °C'de gelişim durumuna bakıldığında 20 tanesinin geliştiği, 26 °C'de ise 28'inin geliştiği görülmüştür. %0.5 ve %1 safra tuzu içeriğinde ise 11 suşun 20 °C'de, sırasıyla 17 ve 16 izolatin ise 26 °C'de geliştiği görülmüştür. YPD besiyerinde ise 37 °C'de gelişim gösteremeyen 41 maya izolatinin %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzu içeriğinde 20 °C'de gelişim durumuna bakıldığında 30 tanesinin geliştiği, 26 °C'de ise sırasıyla 33, 32 ve 32 maya izolatinin geliştiği görülmüştür. Görüldüğü üzere sıcaklığın maya gelişimi üzerinde etkili faktör olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, suşların aslında canlılıklarını koruyup 37 °C'de

gelişemediği, 37 °C'nin maya gelişimi açısından kısıtlayıcı bir faktör olduğu düşünülmektedir. Muhtemel probiyotik maya izolasyonunda 37 °C'nin kriter olduğu varsayılırsa, bazı izolatların gelişiminin bu sıcaklıkta gerçekleşmeyeceği ayrıca besiyeri farklılığının (YPD/SDB) sıcaklıkla beraber gelişimi etkileyen bir diğer faktör olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

YPD ve SDB besiyerleri maya gelişimi açısından kıyaslandığında, YPD'nin farklı sıcaklık ve safra oranlarında daha fazla suşun gelişimini destekleyebildiği tespit edilmiştir. Genel olarak *K. marxianus* izolatları safraya karşı en dirençli tür iken, *K. unispora* en dirençsiz tür olarak belirlenmiştir. Sıcaklık derecelerinden 37 °C'nin mayaların gelişimi açısından kısıtlayıcı faktör olduğu, diğer sıcaklık derecelerine göre bu sıcaklık derecesinde mayaların daha az geliştiği belirlenmiştir. Eğer muhtemel probiyotik maya izolasyonunda 37 °C'nin kriter gelişme sıcaklığı olduğu düşünülürse, YPD besiyerinin tercih edilmesinin daha doğru olacağı görülmektedir. Bilindiği üzere *K. unispora*, *Saccharomyces unisporus*'un güncel tür ismidir. Bu maya türü kefir üretiminde önemli rol oynamakta olup, ürünün probiyotikliği değerlendirilirken çalışmamızda verilen sonuçların göz önüne alınması faydalı olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZAR KATKILARI

Burcu Bazu Çırpıcı analizlerin yapılması, araştırma, görselleştirme, yazım-orijinal taslak, yazım- inceleme ve düzenlenmesinde; Bülent Çetin kavramsallaştırma, süpervizyon, metodoloji, yazım-orijinal taslak, yazma-inceleme ve düzenlenmesinde katkısı olmuştur.

KAYNAKLAR

Agarbatı, A., Canonico, L., Marini, E., Zannini, E., Ciani, M., Comitini, F. (2020). Potential Probiotic Yeasts Sourced from Natural Environmental and Spontaneous Processed

Foods. *Foods*, 9, 287. <https://doi.org/10.3390/foods9030287>

Akay Yüce, M. (2022). Kefir tanelerinden izole edilen bazı mikroorganizmaların probiyotik özelliklerinin in vitro karakterizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 162 s.

Alkay, Z., Dertli, E., Durak, M. Z. (2021). Investigation of probiotic potential of yeasts isolated from sourdoughs from different regions of Turkey. *Acta Alimentaria*, 50(4), 610-619. <https://doi.org/10.1556/066.2021.00150>

Ayyash, M. M., Abdalla, A. K., Alkalbani, N. S., Baig, M. A., Turner, M. S., Liu, S.-Q., Shah, N. P. (2021). Invited review: Characterization of new probiotics from dairy and nondairy products— Insights into acid tolerance, bile metabolism and tolerance, and adhesion capability. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8363-8379. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20398>

Bustos, A. Y., Font De Valdez, G., Fadda, S., Taranto, M. P. (2018). New insights into bacterial bile resistance mechanisms: the role of bile salt hydrolase and its impact on human health. *Food Research International*, 112, 250-262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.035>

Champe, P. C. , Harvey, R. A. (1997). *Biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevi Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye.

Chen, L.-S., Ma, Y., Maubois, J.-L., He, S.-H., Chen, L.-J. , Li, H.-M. (2010). Screening for the potential probiotic yeast strains from raw milk to assimilate cholesterol. *Dairy Science & Technology*, 90(5), 537-548. <https://doi.org/10.1051/dst/2010001>

Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A. , Garrote, G. L. (2014). Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 30, 43-53. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1419-9>

Erkkilä, S. , Petäjä, E. (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science*, 55(3), 297-300.

- [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00156-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00156-4)
- Fernandez-Pacheco, P., Arévalo-Villena, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Briones Pérez, A. (2018). Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. *LWT*, 97, 332-340. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.007>
- Fernández-Pacheco, P., Ramos Monge, I. M., Fernández-González, M., Poveda Colado, J. M., Arévalo-Villena, M. (2021). Safety Evaluation of Yeasts With Probiotic Potential. *Frontiers in Nutrition*, 8, 659328. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.659328>
- García-Hernández, Y., Rodríguez, Z., Brandão, L. R., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., Elías Iglesias, A., Pérez-Sánchez, T., Salabarría, R. B., Halaihel, N. (2012). Identification and in vitro screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 798-802. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.09.005>
- Gunn, J. S. (2000). Mechanisms of bacterial resistance and response to bile. *Microbes and Infection*, 2(8), 907-913. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00392-0](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00392-0)
- Gürkan, B. (2018). Çeşitli kaynaklardan probiyotik mayaların izolasyonu ve identifikasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 191 s.
- Gürkan Özlü, B., Terzi, Y., Uyar, E., Shatila, F., Yalçın, H. T. (2022). Characterization and determination of the potential probiotic yeasts isolated from dairy products. *Biologia*, 77(5), 1471-1480. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01032-8>
- Horáčková, Š., Plocková, M., Demnerová, K. (2018). Importance of microbial defence systems to bile salts and mechanisms of serum cholesterol reduction. *Biotechnology Advances*, 36(3), 682-690. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.005>
- Hsiung, R.-T., Fang, W.-T., Lepage, B. A., Hsu, S.-A., Hsu, C.-H., Chou, J.-Y. (2021). In Vitro Properties of Potential Probiotic Indigenous Yeasts Originating from Fermented Food and Beverages in Taiwan. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 113-124. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09661-8>
- Hsu, S.-A., Chou, J.-Y. (2021). Yeasts in Fermented Food and Kefir: In Vitro Characterization of Probiotic Traits. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(2), 567-582. <https://doi.org/10.36899/JAPS.2021.2.0245>
- Kumura, H., Tanoue, Y., Tsukahara, M., Tanaka, T., Shimazaki, K. (2004). Screening of Dairy Yeast Strains for Probiotic Applications. *Journal of Dairy Science*, 87(12), 4050-4056. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73546-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73546-8)
- Merritt, M. E., Donaldson, J. R. (2009). Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 58(12), 1533-1541. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.014092-0>
- Pedersen, L. L., Owusu-Kwarteng, J., Thorsen, L., Jespersen, L. (2012). Biodiversity and probiotic potential of yeasts isolated from Fura, a West African spontaneously fermented cereal. *International Journal of Food Microbiology*, 159(2), 144-51. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.016>
- Psomas, E. I., Fletouris, D. J., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N. (2003). Assimilation of cholesterol by yeast strains isolated from infant feces and Feta cheese. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3416-3422. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73945-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73945-9)
- Rahmani, B., Alimadadi, N., Attaran, B., Nasr, S. (2022). Yeasts from Iranian traditional milk kefir samples: isolation, molecular identification and their potential probiotic properties. *Letters in Applied Microbiology*, 75(5), 1264-1274. <https://doi.org/10.1111/lam.13794>
- Silva, T., Reto, M., Sol, M., Peito, A., Peres, C. M., Peres, C., Malcata, F. X. (2011). Characterization of yeasts from Portuguese brined olives, with a focus on their potentially probiotic behavior. *LWT - Food Science and Technology*, 44(6), 1349-1354. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.029>

Staniszewski, A. , Kordowska-Wiater, M. (2021). Probiotic and Potentially Probiotic Yeasts—Characteristics and Food Application. *Foods*, 10(6), 1306. <https://doi.org/10.3390/foods10061306>

Tamang, J. P. , Lama, S. (2022). Probiotic properties of yeasts in traditional fermented foods and beverages. *Journal of Applied Microbiology*, 132(5), 3533-3542. <https://doi.org/10.1111/jam.15467>

Yalman, M. (2018). Manda sütünden üretilen farklı çeşit peynirlerin karakterizasyonu, mayaların izolasyonu ve potansiyel probiyotiklerin seçilmesi. anakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Çanakkale, Türkiye, 196 s.

**KOMBU ÇAYI ÜRETİMİNDE MUŞMULA (*MESPILUS GERMANICA* L.)
KULLANIMININ ANTIOKSİDAN KAPASİTE VE BİYOERİŞİLEBİLİRLİK
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif Yıldız^{*1}, Gülşah Özcan Sınır², Didem Peren Aykas³, Ozan Gürbüz²

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Keles Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Bursa

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa

³Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın

Geliş/Received: 25.07.2023; Kabul /Accepted: 14.09.2023; Online baskı /Published online: 21.09.2023

Yıldız, E., Özcan Sınır, G., Aykas, D. P., Gurbuz, O. (2023). Kombu çayı üretiminde muşmula (*Mespilus germanica* L.) kullanımının antioksidan kapasite ve biyoerişilebilirlik üzerine etkisinin araştırılması. GIDA (2023) 48 (5) 1021-1035 doi: 10.15237/gida.GD23087

Yıldız, E., Özcan Sınır, G., Aykas, D. P., Gurbuz, O. (2023) Investigation of the effect of medlar (*Mespilus germanica* L.) usage on antioxidant capacity and bioaccessibility in Kombucha production. GIDA (2023) 48 (5) 1021-1035 doi: 10.15237/gida.GD23087

ÖZ

Kombu çayı, Kombu çayı kültüründe yer alan asetik asit bakterileri ve mayaların simbiyotik ilişkisi ile meydana gelen asetik asit ve alkol fermentasyonu ile karakterize olan ekşimsi-tatlımsı bir içecektir. Bu çalışmada sağlık açısından birçok faydası bulunan Kombu çayının biyoaktif potansiyelinin artırılması hedeflenmiştir. Muşmula (*Mespilus germanica* L.) meyvesinin farklı oranlarda (%5, %10 ve %20) yeşil çaya katılmasını takiben gerçekleşen fermentasyon ile Kombu çayı hazırlanmıştır. Bu çaylar, antioksidan kapasite, toplam fenolik madde miktarı ve biyoerişilebilirlik açısından değerlendirilmiştir. Kombu çayı örneklerine ilave edilen muşmula oranının artması ile biyoaktif potansiyelin yükseldiği gözlemlenmiştir. %20 oranında muşmula ilavesi ile biyoerişilebilir fenolik fraksiyonların DPPH metoduna göre antioksidan kapasitesi $26.21 \pm 0.25 \mu\text{mol TE/mL}$ 'den $38.54 \pm 0.08 \mu\text{mol TE/mL}$ 'ye, toplam fenolik bileşen içeriği ise $42.83 \pm 1.02 \text{ mg GAE/100 mL}$ 'den $58.13 \pm 0.64 \text{ mg GAE/100 mL}$ 'ye yükselmiştir. Muşmula meyvesi ilavesi ile hazırlanan Kombu çayı hem yüksek biyoaktif içeriğe sahip bir içecek ortaya çıkartmış hem de yabancı olarak yetişmekte olan muşmula meyvesinin endüstriyel kullanım alanını artırma potansiyeli oluşturmuştur.

Anahtar kelimeler: Kombu çayı, muşmula, antioksidan kapasite, biyoerişilebilirlik

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MEDLAR (*MESPILUS GERMANICA* L.) USAGE ON ANTIOXIDANT CAPACITY AND BIOACCESSIBILITY IN KOMBUCHA PRODUCTION

ABSTRACT

Kombucha is a sour-sweet beverage that is characterized by acetic acid and alcohol fermentation that occurs with the symbiotic relationship of acetic acid bacteria and yeasts in the kombucha culture. This study aimed to increase the bioactive potential of Kombucha, which has many health benefits.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: elifyildiz@uludag.edu.tr

☎: (+90) 224 861 3425

☎: (+90) 224 861 3121

Elif Yıldız; ORCID no: 0000-0003-1356-9012

Gülşah Özcan Sınır ORCID no: 0000-0003-3954-0058

Didem Peren Aykas; ORCID no: 0000-0002-5500-0441

Ozan Gürbüz; ORCID no: 0000-0001-7871-1628

Kombucha was prepared by fermentation following the addition of medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit to green tea at different rates (5%, 10%, and 20%). These teas were evaluated regarding antioxidant capacity, total phenolic content, and bioaccessibility. It was observed that the bioactive potential increased with the increase in the ratio of medlar added to the Kombucha samples. With the addition of medlar at the level of 20%, the antioxidant capacity of bioaccessible phenolic fractions for the DPPH method increased from $26.21 \pm 0.25 \mu\text{mol TE/mL}$ to $38.54 \pm 0.08 \mu\text{mol TE/mL}$, and the total phenolic content increased from $42.83 \pm 1.02 \text{ mg GAE/100 mL}$ to $42.83 \pm 1.02 \text{ mg GAE/100 mL}$. Kombucha prepared with the addition of medlar fruit has revealed a beverage with high bioactive content and also demonstrated the potential to increase the industrial use of the wild medlar fruit.

Keywords: Kombucha, medlar, antioxidant capacity, bioaccessibility

GİRİŞ

Gıdalar, son zamanlarda yaşanan Covid-19 pandemisinin de etkisiyle, besleyici özelliklerinden çok sağlık üzerindeki etkileri ile öne çıkmaktadır. Fermente gıdalar, bu anlamda en çok tercih edilen ürünler arasında yer almaktadır. Fermantasyon; gıdaların raf ömrünü uzatarak onları daha uzun süre tüketebilmemize, aynı zamanda, içeriği zenginleştirilmiş ve fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş yeni ürünler elde etmemize imkân sağlamakla birlikte gıdaların vücuttaki biyoerişilebilirliğini de arttırmaktadır (Farhad vd., 2010).

Kombu çayı, şekerli çayın simbiyotik bakteri ve maya kültürü (SCOBY: Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) inokülasyonu ve fermantasyonu ile elde edilen fermente bir içecektir (Jarrell vd., 2000). İnoküle edilen kültürün aktivitesiyle oluşan bu fermente içecek; genellikle farklı çay türleri (siyah, yeşil, oolong beyaz vb.) ile elde edilen sıvı faz ile bu fazın üzerinde oluşan selülozik yapıdaki biyofilm tabakasından meydana gelmektedir (Battikh vd., 2012; Chu ve Chen, 2006). Fermantasyon için; substrat içeriğindeki kafein, teofilin gibi bileşikler SCOBY hücrelerinin gelişimi için gerekli azot kaynağını, %7-15 oranında eklenen şeker ise karbon kaynağını oluşturmaktadır. Mayalar çayın içerdiği karbohidrat kaynağını invertaz enzimi ile parçalamakta ve elde ettikleri glikozdan etil alkol üretmekte iken simbiyotik bakteriler ise mayaların ürettikleri etil alkolden asetik asit oluşturmaktadır (Essawet vd., 2015). Fermantasyon sonunda oluşan ana ürünler etanol, glukonik asit ve asetik asit olup, bunlara ek olarak; şekerler, CO₂, organik asitler, suda çözünen vitaminler, E vitamini, mineraller, kafein, hidrolitik enzimler, amino asitler, proteinler, pürinler, biyojenik aminler,

lipidler, pigmentler, çay içeriğinden ileri gelen çay polifenollerini yan ürünleri oluşturmaktadır (Ivanišová vd., 2020; Jayabalan vd., 2014; Kaashyap vd., 2021).

Kombu çayının biyoaktif bileşen çeşitliliği ve miktarı hammadde olarak kullanılan çayın türüne, çay demleme parametrelerine, fermantasyonun süresi ve sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir (Zeng vd., 2017; Chang vd., 2020). Bununla birlikte, Kombu çayının sahip olduğu antioksidan ve koruyucu etki, içeriğindeki fenolik bileşiklerin yanı sıra, mikrobiyal fermantasyon sonucu üretilen yüksek organik asit içeriği ile buna bağlı olarak düşük pH değerinden ileri gelmektedir (Bhattacharya vd., 2016; Abacı vd., 2022). Kombu çayı, probiyotik etkisi ile sindirime yardımcı olması, metabolizmanın çalışmasını düzenleyici etki göstermesi, antimikrobiyal etkisi ile mikrobiyal enfeksiyonları önlemesi, antioksidan etkisi ile oksidatif stres ve antikarsinojenik etki göstermesi gibi profilaktik etkilerinden dolayı tüketicilerin her geçen gün daha da dikkatini çekmektedir (Watawana vd., 2015).

Biyoaktif potansiyeli ve maliyeti yüksek gıdalar yaygın olarak yetiştirilmekte ve günümüzde tüketiciler bu ürünlere kolayca ulaşabilmektedir. Öte yandan, kendi florasında doğal olarak yetişen ancak potansiyelinin keşfedilmediği birçok meyve, sebze ve bitki mevcuttur. Bu ürünler genellikle yerel halk tarafından bilinmekte ve geleneksel tedavilerde de kullanılmaktadır. Bu gizli kalmış meyvelerden biri de muşmula olup, henüz yeterli bilinirliğe ulaşmamıştır. Muşmula (*Mespilus germanica* L.), gülgiller familyasının bir meyvesi olup; Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde (özellikle kuzey ve batı Anadolu ve Marmara bölgelerinde) yabani olarak yetişmektedir (Glew vd., 2003).

Meyveleri yaklaşık 5 cm çapında ve küremsi şekildedir. Ekim-Kasım aylarında dalından yeşile yakın renkte ve sert halde iken toplanmakta, hasattan birkaç gün sonra olgunlaşan meyveler, açık kahve renge dönerek yenilebilir olgunluğa erişmektedir (Durul ve Unver, 2016). Genellikle meyve olarak çiğ tüketilen muşmula, ayrıca yerel halk tarafından marmelat, reçel ve sirke formunda da tüketilebilmektedir (Voaides vd., 2021). Yaprakları ile bitkisel karışımların içeriklerine dahil edilerek şifa kaynağı olarak da faydalanılmaktadır (Yıldız vd., 2022).

Muşmula meyvesinin besinsel bileşimi şekerler (glikoz, sükröz, fruktoz, pektinler vb.), organik asitler (malik, tartarik, oksalik, sitrik vb.), vitaminler (C, E), yağ asitleri, esansiyel elementler, amino asitler, proteinler ve uçucu bileşiklerden oluşmaktadır (Voaides vd., 2021). Muşmula meyvesinin biyoaktif potansiyelinin, *p*-kumarik, kafeik, ellagik, ferulik asitler ve pirogallol gibi fenolik bileşen içeriğinden ileri geldiği bilinmektedir (Voaides vd., 2021). Ayrıca mineral, polifenoller, karoten, pektin açısından zengin içeriğe de sahiptir (Akçay vd., 2016).

Çalışma kapsamında, muşmula meyvesinin yeşil çay ile üretilen Kombu çayında kullanımının, biyoaktif potansiyele olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, yeşil çay ile hazırlanan Kombu çaylarına %5, 10, 20 oranlarında muşmula meyvesi eklenerek fermente edilmiştir. Elde edilen örneklerde ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonlarda antioksidan kapasite (ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP) ve toplam fenolik bileşen analizleri yapılarak örneklerin biyoaktif potansiyeli belirlenmiş ve %biyoerişilebilirliği ortaya koyulmuştur.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Kombu çayı üretiminde kullanılan muşmula meyveleri *Mespilus germanica* L. türüne ait olup, 2022 yılı Ekim ayında, Bolu ili, Yeniçağa ilçesi Dereköy'ünden temin edilmiştir. Meyveler yeme olgunluğuna erişene kadar karanlıkta muhafaza edilmiştir. Fermantasyonlarda starter kültür olarak kullanılan SCOBY, Kombucha 2200 (İstanbul)

firmasından, pancar şekeri (Doğuş Gıda A.Ş., İstanbul) ve yeşil çay (Doğadan Gıda Ürünleri A.Ş., İstanbul) ise yerel marketlerden temin edilmiştir.

Yöntemler

Kombu çayı üretimi

Kombu çayı üretimleri; şeker fermantasyonu, kontrol olarak yeşil çaylı Kombu çayı ve muşmula ilaveli yeşil çaylı Kombu çayı örnekleri olarak gerçekleştirilmiştir (Giritlioğlu vd., 2020). Şeker fermantasyonu için sterilize edilmiş 1 L damıtık suya 30 g/L şeker ilave edilerek, starter kültür olarak SCOBY ve 100 mL (%10 oranında) önceden elde edilen yeşil çay ilave edilerek fermantasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak da yeşil çaylı Kombu çayı üretimi için; sterilize edilmiş 1 L damıtık suya 14 g/L yeşil çay eklenerek 15 dk., 100 °C'de demlenmiştir. Demlemenin sonrasında çift katlı tülbentten içerik süzülerek 28-30 °C soğutulmuş, 30 g/L şeker ilave edilmiştir. Elde edilen içeriğe SCOBY ve %10 oranında önceden yeşil çay ile fermantasyonu gerçekleştirilen Kombu çayı eklenmiştir. Muşmula ilaveli Kombu çayı örnekleri üretimi için ise; 14 g/L yeşil çay ile beraber, parçalanarak homojenize edilmiş muşmula meyvesi %5, 10 ve 20 oranında eklenerek 15 dk., 100 °C'de demlenmiştir. Demlemenin sonrasında çift katlı tülbentten içerik süzülerek 28-30 °C soğutulmuş, 30 g/L şeker ilave edilmiştir. Elde edilen içeriğe SCOBY ve %10 oranında önceden yeşil çay ile fermantasyonu gerçekleştirilen Kombu çayı eklenmiştir. Fermantasyonlar 28±2 °C'de 15 gün süre ile gerçekleştirilmiş olup, fermantasyon sonunda örnekler şişelenerek pastörize edilmiş (85 °C'de 15 dk.) ve analizlere kadar +4 °C'de depolanmıştır.

Fizikokimyasal ve Kimyasal Analizler

Kombu çayı örneklerinde toplam asitlik (asetik asit cinsinden) tayini AOAC Metot No:942.15'ya göre (AOAC, 1990); pH tayini, AOAC Metot No: 981.12'ye göre (AOAC, 1990); pH 211, Instruments S.R.L., ABD) yapılmıştır. Analizler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Bileşen Analizleri

Fenolik madde ekstraksiyonu

Kombu çayı örneklerinin ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenolik fraksiyonları Vitali vd., (2009)'ne göre hazırlanmıştır. Ekstrakte edilebilir fenolik fraksiyon (EFF) eldesi için; 2 mL örnek, HCl/metanol/su (1:80:10, v/v/v) eklenerek, 20 °C'deki çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm) (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, ABD) ekstrakte edilmiştir. Ardından 3500 rpm devir ile santrifüj edilmiş (4 °C, 10 dk.) (3 K 30, Sigma Santrifüj, Almanya) ve süpernat kısım EFF olarak ayrılmıştır.

Hidrolize edilebilir fenolik fraksiyon (HFF) eldesi için EFF'nin ayrıldığı kalıntının üzerine 20 mL metanol/H₂SO₄ (10:1, v/v) eklenerek 85 °C'deki çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm), 20 saat ekstraksiyon uygulanmıştır. Ekstraksiyonu takiben, içerik 3500 rpm devir ile santrifüj edilmiş (4 °C, 10 dk), ve sıvı kısım HFF olarak ayrılmıştır.

In-vitro biyoerişilebilir fenolik fraksiyon (BFF) için; Bouayed vd., (2012)'ye göre; 2 mL örnek, pepsin enzimi (40 mg/mL, 0.1 M HCl, Sigma-Aldrich, Almanya) eklendikten sonra 37 °C'deki çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm) 2 saat inkübe edilmiş, ardından pankreatin enzimi (2 mg/mL) ve 'bile (safra, Sigma-Aldrich, Almanya) karışımı' (12 mg/mL, Sigma-Aldrich, Almanya) eklenerek 2 saat daha çalkalama işlemine (37 °C, 250 rpm) devam edilmiştir. İşlem sonunda örnekler, santrifüj edilmiştir (15 °C, 3500 rpm, 10 dk.) ve sıvı kısım BFF olarak ayrılmıştır. Elde edilen ekstraktlar analizlere kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

Antioksidan kapasite analizleri

Kombu çayı örneklerinin antioksidan kapasitesi; ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonları açısından ABTS, DPPH, CUPRAC ve FRAP metotları olmak üzere dört farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. ABTS metodu için Apak vd., (2008)'in prosedürlerine göre; 7mM ABTS sulu çözeltisi, 2.45 mM K₂S₂O₈ sulu çözeltisi ile karıştırılarak 12-16 saat karanlıkta bekletilmiş, elde edilen çözelti 1:10 (v/v) oranında %96'lık etanol

ile seyreltilmiştir. Ekstraktlar ABTS çözeltisi ile muamele edildikten sonra, 6 dk. karanlıkta bekletilmiş, absorbansları 734 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=3159.3x-7.7738$ ($R^2=0.9997$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

CUPRAC methodu için, Apak vd., (2008)'in prosedürlerine göre; 1 mL 10 mM CuCl₂, 1 mL 7.5 mM neocuproine, 1 mL 1 M NH₄Ac, 0.1 mL ekstrakt, 3.9 mL damıtık su karıştırılmış, ardından 30 dk. karanlıkta bekletilmiştir. Absorbanslar, 450 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=12.015x-0.0013$ ($R^2=0.9997$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

DPPH metodu için, Brand-Williams vd., (1995)'nin prosedürlerine göre, 6×10^{-5} M DPPH çözeltisi ile ekstraktların muamele edilmesi, 30 dk. karanlıkta bekletilmesi ile absorbansları 515 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=3246.2x+0.7181$ ($R^2=0.9996$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

FRAP metodu için, Benzie ve Strain (1996)'in prosedürlerine göre 3 mL FRAP çözeltisi (37 °C'de inkübe edilmiş), 300 µL damıtık su ve 100 µL ekstrakt karıştırılmış, ardından 30 dk. karanlıkta (37 °C) bekletilmiştir. Absorbanslar, 595 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=39.172x+0.0283$ ($R^2=0.9998$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

Toplam Fenolik Madde Analizi

Kombu çayı örneklerinin toplam fenolik bileşen (TFB) analizi Folin-Ciocalteu metoduna göre Naczka ve Shahidi (2004)'nin prosedürleri uygulanarak yapılmıştır. %2'lik Na₂CO₃, 0.1 mol/L NaOH çözeltisi içinde çözündürülerek Lowry A çözeltisi; %0.5'lik CuSO₄, %1 NaKC₄H₄O₆ çözeltisi içerisinde çözündürülerek Lowry B çözeltisi hazırlanmıştır. Sonrasında Lowry A ve Lowry B çözeltileri, 50:1 (v/v) oranında homojen olarak karıştırılarak Lowry C çözeltisi elde edilmiştir. Analiz için, ekstraktlar Lowry C ve Folin reaktifi ile muamele edilmiş, 30 dk karanlıkta bekletilmiş, absorbanları 750 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 10-500 mg GAE (Gallik asit eşdeğeri)/L aralığındaki standart gallik asit çözeltiler ile hazırlanan $y=0.187x+0.0254$ ($R^2=0.9996$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/mL olarak ifade edilmiştir.

Fenolik bileşenlerin %biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi

Kombu çayı örneklerinin fenoliklerinin %biyoerişilebilirliği Anson vd., (2009)'na göre hesaplanmıştır (Eşitlik 1). Hesaplamaya göre %biyoerişilebilirlik, toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite analizi sonuçlarına göre elde edilen; biyoerişilebilir fenolik fraksiyonların, ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenolik fraksiyonlarının toplamına oranının, '%' olarak ifadesidir.

$$\% \text{ Biyoerişilebilirlik: } \frac{\text{BFF}}{\text{EFF} + \text{HFF}} \times 100$$

Eşitlik 1. %Biyoerişilebilirlik Hesaplaması

*EFF: Ekstrakte edilebilir fenolik fraksiyonu;
HFF: Hidrolize edilebilir fenolik fraksiyonu; BFF: Biyoerişilebilir fenolik fraksiyonu

İstatistiksel Değerlendirme

Kombu çayı örneklerine ait 3 tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarından elde edilen veriler istatistiksel olarak JMP IN 7.0.0 (Statistical Discovery from SAS 2005. Institue Inc.) programı kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiştir. LSD (Least Significant Differance) testi

uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki istatistiksel fark grupları belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA*Fizikokimyasal özellikler*

Çalışma kapsamında yeşil çaylı Kombu çayının biyoaktivitesini geliştirmek, muşmula meyvesine farklı bir kullanım alanı sağlayarak meyveye olan farkındalığı ve tüketilebilirliğini arttırmak amacı ile; yeşil çaylı Kombu çayına %5, 10 ve 20 oranında muşmula ilave edilerek Kombu çayı içecekleri elde edilmiştir. Yeşil çay yaprakları ile fermente edilmiş, yeşil çaylı Kombu çayı (YK) kontrol olarak çalışmada yer almıştır. Ayrıca; Kombu çayı fermantasyonunda kullanılan şeker ve yeşil çay içeriklerinin etkilerini belirlemek amacı ile 30 g/L şekerin SCOBY kültürü ile fermente edilmesiyle şeker fermantasyonu (ŞF) gerçekleştirilmiştir. Örneklere ait pH ve toplam asitlik değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde; 1. gün pH değerlerine göre, en yüksek değişim şeker fermantasyonunda görülmüştür. SCOBY kültürü aktivasyonu ile 7.76 ± 0.00 pH değerinde başlayan fermantasyon 15. günün sonunda, 2.71 ± 0.10 'e ulaşmıştır. Kontrol olarak değerlendirilen, YK örneği fermantasyon sonunda, 2.90 ± 0.20 pH ve 0.89 ± 0.01 g/100mL toplam asitlik (asetik asit eşdeğeri) miktarına ulaşmıştır. Oliveira vd., (2023) yeşil çay ve yeşil çaylı Kombu çaylarına değerlendirdikleri örneklerde, toplam asitlik içeriğini, yeşil çayda 0.35 g/100 mL, yeşil çaylı Kombu çayının ise 0.59 g/100 mL olarak belirlemiştir. Aynı şekilde demlenmiş, fermente edilmemiş yeşil çaya göre SCOBY kültürü ile fermantasyona tabi tutulan yeşil çaylı Kombu çayı arasında farklılığın şeker içeriği ve yeşil çay içeriğinin fermantasyonu ile elde edilen asitlik gelişiminden ileri geldiği bildirilmiştir. Kombu çayı fermantasyonu sırasında, mayalar sükrözü inverteaz enzimleri aracılığıyla hidrolize ederek fruktoz ve glikozun serbest hale geçmesini sağlamaktadır. Sonraki aşamada, bu içerikler glikoliz yoluyla etanol üretimi için substrat görevi görmektedir. Asetik asit bakterileri ise etanolü asetik asit üretiminde ve glikozun glukonik asit ile glukuronik asit dönüşümünde kullanmaktadır (Al-Mohammadi vd., 2021). Kombu çayı

fermantasyonunda oluşan organik asitler; asitlik artışı ile beraber pH değerinin azalmasına neden olmaktadır (Jakubczyk vd., 2020). Kallel vd., (2012) ise çay infüzyonunun başlangıcında 5.5

olan pH değerinin fermentasyonun sonunda yaklaşık 2.6'ya düştüğünü; oluşan organik asitlerin Kombu çayına ait karakteristik ekşi ve asidik lezzeti sağladığını belirtmiştir.

Çizelge 1. Kombu çayı örneklerinin pH ve toplam asitlik değerleri
Table 1. pH and total acidity values of Kombucha samples

Örnek Sample	pH		% Toplam asitlik** % Total acidity **
	1. Gün 1 st Day	15. Gün 15 th Day	
Şeker Fermentasyonu Sugar Fermentation	7.76±0.00 ^{a*}	2.71±0.10 ^d	0.52±0.02 ^e
Yeşil Kombu çayı Green tea Kombucha	5.82±0.00 ^b	2.90±0.20 ^b	0.89±0.01 ^d
%5 muşmula ilaveli Kombu çayı 5% medlar added Kombucha	4.31±0.10 ^c	2.94±0.10 ^a	0.97±0.00 ^c
%10 muşmula ilaveli Kombu çayı 10% medlar added Kombucha	3.98±0.00 ^d	2.80±0.20 ^c	1.13±0.02 ^b
%20 muşmula ilaveli Kombu çayı 20% medlar added Kombucha	3.80±0.00 ^e	2.70±0.10 ^d	1.17±0.00 ^a

*Tabloda verilen değerler ort±ss olarak verilmiş olup, harfler (a-e) örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade etmektedir (P <0.05). **Örneklere ait % toplam asitlik sonuçları, asetik asit eşdeğeri olarak verilmiştir. The values are given as mean±SD; letters (a-e) indicate statistical differences between samples (P <0.05). ** Total acidity % results of the samples are given as acetic acid equivalent.

Muşmula içerikli Kombu çayı içecekleri değerlendirildiğinde, kullanılan muşmula oranının artması ile (%20), pH değerinin düştüğü (2.70; %20 MK); toplam asitlik miktarının arttığı (%1.17; %20 MK) belirlenmiştir (Tablo 1). Muşmula meyvesinin asitliğinin %1.9-2.28 arasında; pH değerinin ise 3.40-3.86 arasında değiştiği bilinmekte olup; olgunlaştıkça asitliğin düştüğünü pH değerinin 3.2'den 3.5'e çıktığı bildirilmiştir (Selcuk ve Erkan, 2015). Muşmula meyvesi içeriğinde gözlenen farklılıkların çevre koşullarına, yetiştirme sürecine, olgunluk seviyesi ve toprak beslemesine bağlı olduğu, organik asit içeriğinin ise, oksalik, süksinik, fumarik, malik, tartarik, sitrik ve kinik asitten ileri geldiği belirtilmiştir (Petö vd., 2016). Kombu çayı fermentasyonunda asetik asit, glukonik asit, glukuronik asit, D-sakkarik asit 1,4-lakton ve substrata bağlı da olarak laktik asit, ana asitlik kaynaklarını oluşturmakla birlikte fermentasyon sürecinde kinik asit, oksalik asit, malik asit ve sitrik asit gelişimleri de söz konusudur (Laureys vd., 2020).

Biyoaktif potansiyel

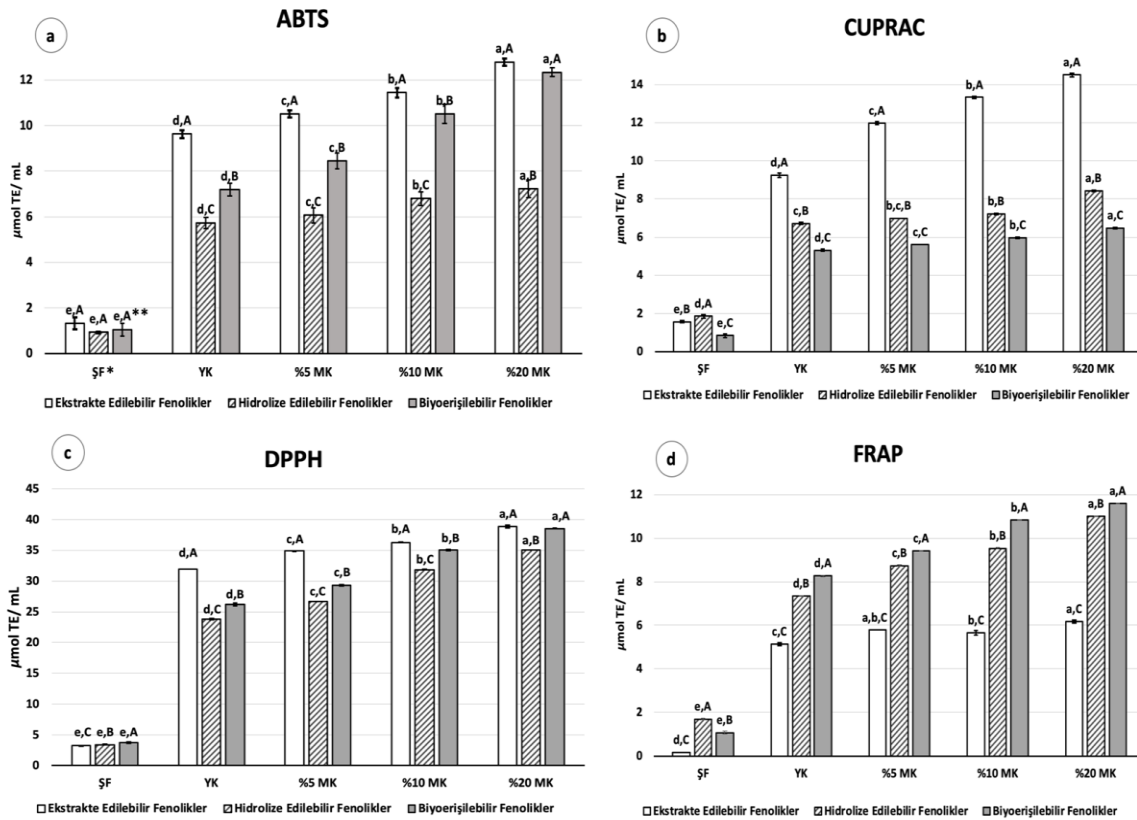
Antioksidan kapasite

Çalışma kapsamında elde edilen şeker fermentasyonu (ŞF), yeşil çay içerikli Kombu çayı (YK) ve %5, 10 ve 20 oranlarında muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay (%5 MK, %10 MK ve %20 MK) içerikli Kombu çayı örneklerinden elde edilen ekstrakte edilebilir fenolik fraksiyon (EFF), hidrolize edilebilir fenolik fraksiyon (HFF) ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonların (BFF) ABTS, CUPRAC, DPPH ve FRAP yöntemlerine göre elde edilen antioksidan kapasite analizlerinin sonuçları Şekil 1'de verilmiştir.

Kombu çayı içeceklerine muşmula eklenmesi ile biyoaktif potansiyelin yükseldiği gözlemlenmiştir. ABTS ve DPPH yöntemleri ile belirlenen antioksidan kapasite sonuçlarına göre EFF, HFF ve BFF açısından en yüksek değerler sırasıyla ABTS için 12.78, 7.22, 12.34 µmol TE/ mL ve DPPH için 38.88, 35.03, 38.54 µmol TE/ mL olarak %20 MK örneklerinde saptanmıştır. CUPRAC yöntemi ile analiz edilen EFF, HFF ve

BFF sonuçlarına göre en yüksek değerlerin sırasıyla 14.50, 8.43 ve 6.48 $\mu\text{mol TE}/\text{mL}$ ile %20 MK örneklerinde olduğu belirlenirken, HFF sonuçlarına göre YK ile %5 MK ve %5 MK ile %10 MK değerleri arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır. FRAP yöntemi ile yapılan analiz sonucuna göre EEF açısından muşmula ilavesinin yeşil çay Kombu çayının biyoaktif içeriğine katkı sağladığı ama bu farklılığın muşmula oranına bağlı olmadığı görülmüştür. Bu bağlamda, %5 MK ile

%10 MK ve %5 MK ile %20 MK arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir. FRAP ile analiz edilen HFF ve BFF'lerin en yüksek değerleri 10.99 ve 11.58 $\mu\text{mol TE}/\text{mL}$ ile %20 MK örneklerinde gösterdiği görülmüştür. Yeşil çay ve muşmula içeriğine sahip olmayan, sadece şeker ilavesi ve SCOBY ile fermente edilen şeker fermantasyonun tüm metotlara göre en düşük biyoaktif potansiyele sahip olan örnek olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).



Şekil 1. Kombu çayı örneklerine ait antioksidan kapasite analiz sonuçları a: ABTS, b: CUPRAC, c: DPPH, d: FRAP

Figure 1 Antioxidant capacity analysis results of Kombucha samples a: ABTS, b: CUPRAC, c: DPPH, d: FRAP

*ŞF: şeker fermantasyonu, YK: yeşil çaylı Kombu çayı, MK: muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay Kombu çayı. **Bar grafikler ile temsil edilen değerler $\text{ort} \pm \text{ss}$ olarak verilmiş olup, küçük harfler (a-e) farklı fenolik fraksiyonlar için örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları; büyük harfler (A-C) ise aynı örnek için farklı ekstraksiyonlar arasındaki farklılıkları ifade etmektedir ($P < 0.05$).

*ŞF: Sugar fermentation, YK: Green tea Kombucha, MK: Medlar added green tea Kombucha. **Values represented by bar graphs are given as $\text{mean} \pm \text{SD}$, lowercase letters (a-e) indicate statistical differences between samples for different phenolic fractions; capital letters (A-C) indicate differences between different extractions for the same sample ($P < 0.05$).

ABTS, CUPRAC ve DPPH metotlarına göre EFF değerleri HFF ve BFF değerlerinden daha yüksek tespit edilirken; FRAP metoduna göre ise BFF değerleri öne çıkmıştır (Şekil 1). Çeşitli antioksidan kapasite metotlarının, gıda içeriklerinin biyoaktivitesini belirlemede farklı kimyasal etkileşimler göstermesi farklılığın sebebi olarak düşünülmektedir. Kombü çayı, asidik potansiyelde bir ürün olup, antioksidan kapasite metotları farklı mekanizmalarla farklı pH değerlerinde gerçekleşmektedir. Redoks reaksiyonu pH:7 tampon ile gerçekleşirken; FRAP asidik (pH:3.6) Folin Ciocalteu metoduna göre toplam fenolik bileşen analizi ise bazik koşullarda (pH:10) gerçekleşmektedir. Fizyolojik pH'dan daha asidik koşullarda, indirgeme kapasitesi antioksidan bileşikler üzerindeki protonasyon nedeniyle baskılanabilirken, daha bazik koşullarda fenoliklerin proton ayrışması bir numunenin indirgeme kapasitesini arttırmaktadır (Apak vd., 2008). Bununla beraber, FRAP metodunun da asidik koşullarda uygulanması nedeniyle tiyol-tipi antioksidanlar belirlenemezken, CUPRAC metodu bu bileşiklerin belirlenmesinde daha hassastır. Kombü çayı örnekleri açısından da ABTS ve CUPRAC metotları, örnekler arasındaki farklılıkların gözlemlenebilmesi nedeniyle en uygun metotlar olarak öne çıkmaktadır.

Fenolik fraksiyonlar açısından ise, EFF; HFF ve BFF'dan daha yüksek değerler göstermiştir. HFF'ler ekstraksiyon sürecinde 85 °C'de 20 saat gibi daha yüksek sıcaklıkta uzun süre işlem görmesi sebebi ile yapılan çalışmalarda daha yüksek değerler gösterdiği belirlenmiştir (Yıldız, 2022). Kombü çayının fermente bir ürün olması nedeniyle, EFF ve BFF değerleri ile daha yüksek biyoaktif potansiyel ortaya koyulmasında etkili olduğu düşünülmektedir. BFF'ler ise beslenme açısından biyoaktif potansiyelin ifadesinde daha gerçekçi bir yaklaşımdır. Sindirim enzimleri (Pepsin, pankreatin, vb.) ve safra tuzları (Bile salt) içeren; insan sindirimi ile eş sıcaklık ve sürede gerçekleşen bir ekstraksiyon prosedürü içermektedir. Bu anlamda, analiz sonuçları ile ortaya koyulan %biyoerişilebilirlik değerleri de BFF değerlerinin EFF ile HFF değerlerin biyoerişilebilirliği yani vücut tarafından

kullanılabilme potansiyeli, beslenme açısından önemlidir.

Kombü çayı içerisinde ana içerik olarak bulunan şeker ve yeşil çayın Kombü çayı fermantasyonundaki etkisini belirlemek için hazırlanan örneklerden edilen sonuçlara göre; EFF, HFF ve BFF açısından sırasıyla %11.48-27.60, 2.94-16.87, 11.98-17.42 oranında biyoaktiviteye etki ettiği belirlenmiştir. En yüksek değerler CUPRAC metoduna göre belirlenen sonuçlarda elde edilmiştir.

Toplam fenolik bileşen içeriği

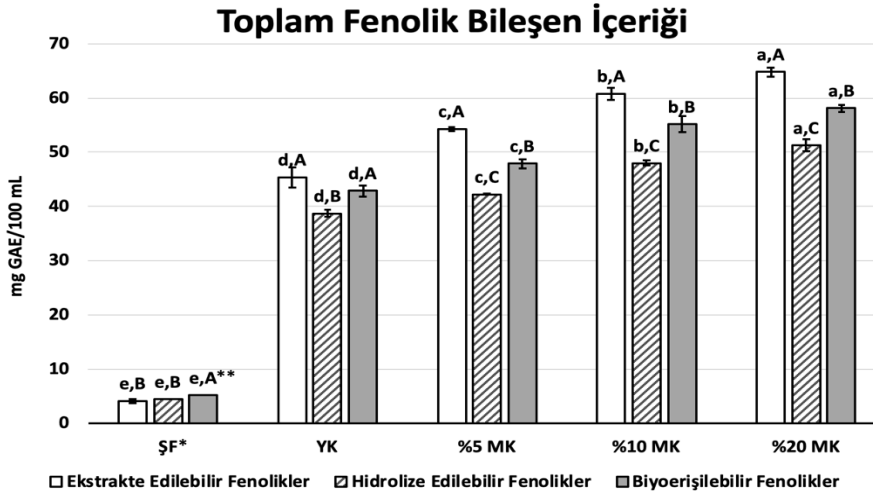
Kombü çayı örneklerine ait toplam fenolik bileşen içeriği değerleri Şekil 2'de verilmiştir. Kombü çayı içeceklerinden %20 MK örneği en yüksek biyoaktiviteyi göstermiş olup, EFF'ler HFF ve BFF'lere göre daha yüksek sonuçlar göstermiştir ($P < 0.05$). Toplam fenolik bileşen içeriği değerleri, antioksidan kapasite metotları ile kıyaslandığında ise; ABTS ve DPPH metotları ile elde edilen sonuçlarla benzer potansiyel gösterdiği gözlemlenmiştir.

Ivanišová vd., (2020) yaptıkları çalışmada Kombü çayında tespit edilen yüksek fenolik, flavanoid ve antioksidan kapasitenin fermantasyon sırasında kompleks yapıdaki fenoliklerin küçük moleküllere ayrılmasından ileri geldiğini bildirmiştir. Fermentasyon sürecinde çözünmeyen bağlı fenoliklerin gıda matrisinden ekstraksiyonu biyoaktiviteyi arttıran diğer bir unsurdur (Hurr vd. 2014). Kallel vd., (2012) yeşil çay ve siyah çay içerikli Kombü çayı örneklerinde 15 günlük fermentasyon sürecinde toplam fenolik bileşen içeriğinin arttığını belirlemiştir. Fermentasyon başlangıcında, toplam fenolik bileşen içeriği 0.78 g (GAE)/L ve 1.01 g GAE/L olan Kombü çayları, fermentasyon sonunda, 1.08 ve 1.12 g (GAE)/L değerlerine yükselmiştir.

Fenolik bileşikler, ana antioksidan grubunu temsil etmekte olup Kombü çayı içeceğinin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden sorumludur. Çay yapraklarının içeriğinden ileri gelen flavonoidler, özellikle kateşinler ve türevleri de bu anlamda öne çıkmaktadır (da Silva Júnior vd., 2022). Cardoso vd., (2020), 10 gün süreyle, yeşil ve siyah çay ile

fermente edilen Kombu çayı örneklerinin içeriğinde yaklaşık 127 fenolik bileşik bulunduğunu; bunlardan %70.2'sinin flavonoid, %18.3'ünün fenolik asitler, %8.4'ünü diğer polifenollerin, %2.3'ünün lignanlar ve %0.8'inin de stilbenlerden oluştuğunu belirlemiştir. Biyoaktif içeriğini çay yapraklarından almasına rağmen yapılan pek çok çalışma, Kombu çayının biyoaktivitesinin fermantasyon prosesinden ileri geldiğini ve çaya oranla daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Abacı vd., 2022; Bishop vd., 2022). Kombu çayı fermantasyonu sırasında; çayın içeriğindeki polifenolik maddelerin, bakteri ve mayaların oluşturduğu SCOBY'nin mikrobiyal enzimleri tarafından daha biyoerişilebilir fenolik maddelere

parçalanması; çayın fermente edilmemiş haline göre daha yüksek antioksidan potansiyele sahip olmasının nedeni olduğu düşünülmekte ve bunun sonucu olarak da toplam fenolik bileşen içeriğinin fermantasyonla artış sağladığı görülmektedir. Fermantasyon öncesine oranla, fermantasyon sonrası toplam flavonoid miktarlarındaki artışın nedenlerinden biri de bu enzimlerin polifenolik maddeleri flavonoidlere indirgemelerinden ileri geldiği bilinmektedir (Abacı vd., 2022). Fermantasyon esnasında meydana gelen bu değişimler, biyoaktivitenin artırılmasını sağladığı gibi, fermantasyon hammaddelerinin fermantasyon sonucunda elde edilen ürünle kıyaslandığında biyoerişilebilirliğini de arttırmaktadır.



Şekil 2. Kombu çayı örneklerine ait toplam fenolik içeriği sonuçları

Figure 2 Total phenolic content results of Kombucha samples a: ABTS, b: CUPRAC, c: DPPH, d: FRAP

*ŞF: şeker fermantasyonu, YK: yeşil çaylı Kombu çayı, MK: muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay Kombu çayı. **Bar grafikler ile temsil edilen değerler \pm ss olarak verilmiş olup, küçük harfler (a-e) farklı fenolik fraksiyonlar için örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları; büyük harfler (A-C) ise aynı örnek için farklı ekstraksiyonlar arasındaki farklılıkları ifade etmektedir ($P < 0.05$).

*ŞF: Sugar fermentation, YK: Green tea Kombucha, MK: Medlar added green tea Kombucha. **Values represented by bar graphs are given as mean \pm SD, lowercase letters (a-e) indicate statistical differences between samples for different phenolic fractions; capital letters (A-C) indicate differences between different extractions for the same sample ($P < 0.05$).

En yüksek biyoaktif potansiyele sahip örnek olarak, %20 MK örneği değerlendirildiğinde; muşmula ilavesi ile kontrol örneğine kıyasla EFF, HFF ve BFF'lar açısından % 42.88, 32.40, 35.73 oranında artış gözlemlenmiştir (Şekil 2, $P < 0.05$). Kombu çayına ilave edilen muşmula meyvesi biyoaktif potansiyelini zengin karoten içeriğine borçlu olup; *p*-kumarik asit, gallik asit, kuersetin,

kafeik asit, klorojenik asit, *p*-kumarik asit, *p*-aminobenzoik asit gibi fenolik bileşenlerce de zengin içeriğe sahiptir (Voaides vd., 2021). Çay yapraklarından ileri gelen çay kateşinleri ve muşmula içeriğinden ileri gelen fenolik bileşiklerin etkileşiminin; Kombu çayı biyoaktivitesi ile beraber toplam fenolik bileşen içeriğini de artırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 1.a-d, Şekil 2).

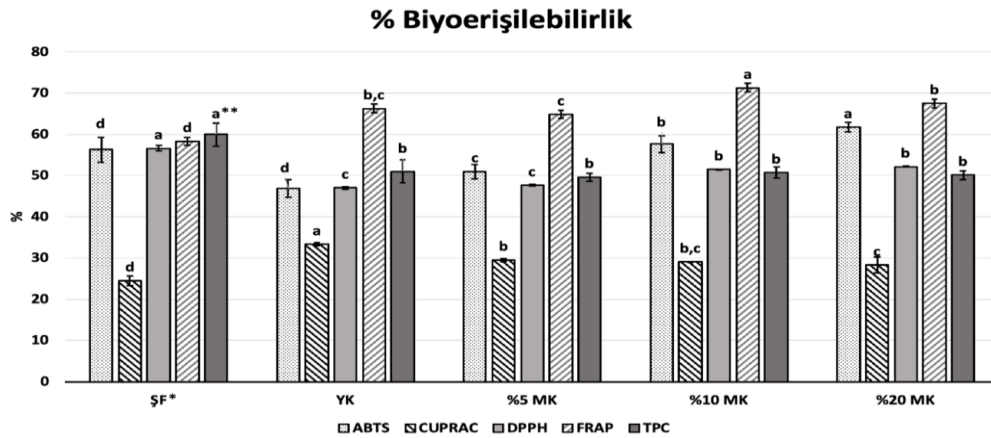
Kombu çayının sahip olduğu antioksidan ve koruyucu etki, aynı zamanda mikrobiyal fermentasyon sonucu üretilen organik asitlerden de ileri gelmektedir (Bhattacharya vd., 2016). Kombu çayının antimikrobiyal aktivitesi, esas olarak içeceğin yüksek organik asit içeriği ile buna bağlı olarak düşük pH değeri ile ilişkilendirilmiştir (Abacı vd., 2022). Ayrıca, Kombu çayını fermente etmek için kullanılan kültür de kökenine, coğrafi konumuna, fermentasyon süresine ve fermentasyon işlemi için kullanılan ortama göre mikrobiyolojik bileşimde farklılıklar gösterebilmektedir. Bu da fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve antioksidan kapasitesindeki değişimi açıklayabilmektedir (Oliveira vd., 2023).

%Biyoerişilebilirlik

Fenolik bileşiklerin içeriği; sindirim sistemindeki emilimi ve metabolizması, biyolojik etkileri üzerinde etkilidir. Gıda matrisinde genellikle ester, glikozit ve polimer formlarında bulunan fenolik bileşikler, sindirim sisteminde bulunan enzimler ve mikroflora tarafından hidrolize edilebilmektedir. Ayrıca enzimler, fenolik bileşiklerin daha fazla salınımına ve içeriğinin

artışına katkı sağlamaktadır (Tarko vd., 2013; Wojtunik-Kulesza vd., 2020).

Kombu çayı örneklerine ait antioksidan kapasite ve toplam fenolik içerik analizlerinin EEF, HEF ve BFF içeriklerin %biyoerişilebilirlik değerleri Şekil 3'de verilmiştir. Oran, fenolik fraksiyonların serbest hale geçebildikten sonra, EFF ve HFF üzerinden sindirim sistemi tarafından emilebilme potansiyelini ifade etmektedir. Sonuçlar incelendiğinde, FRAP metodu ile elde edilen veriler ile diğer metotlara nazaran daha yüksek %biyoerişilebilirlik oranına ulaşılmıştır. Örnekler açısından ise, %10 ve %20 muşmula ilaveli Kombu çayı örnekleri öne çıkmaktadır. Muşmula içeriğinde bulunun fenolik bileşikler ve yapısal içeriklerinin Kombu çayına daha fazla biyoerişilebilirlik sağladığı gözlemlenmiştir (Şekil 3, $P < 0.05$). Çay yapraklarının yanı sıra, muşmula meyvesinden ileri gelen fenolik bileşenlerin içeriği biyoerişilebilir fenoliklerin artışına destek olduğu gibi, ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenoliklere oranla, daha biyoerişilebilir fenolik bileşen içeriğine daha fazla etki ettiği görülmektedir (Şekil 3, $P < 0.05$).



Şekil 3. Kombu çayı örneklerine ait antioksidan kapasite ve toplam fenolik içeriği sonuçlarına göre %biyoerişilebilirlik sonuçları

Figure 3. Bioaccessibility % results according to antioxidant capacity and total phenolic content results of Kombucha samples

*ŞF: şeker fermentasyonu, YK: yeşil çaylı Kombu çayı, MK: muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay Kombu çayı. **Bar grafikler ile temsil edilen değerler $\text{ort} \pm \text{ss}$ olarak verilmiş olup, harfler (a-e) farklı fenolik fraksiyonlar için örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade etmektedir ($P < 0.05$).

*ŞF: Sugar fermentation, YK: Green tea Kombucha, MK: Medlar added green tea Kombucha.

**Values represented by bar graphs are given as $\text{mean} \pm \text{SD}$, and letters (a-e) indicate statistical differences between samples in terms of different phenolic fractions ($P < 0.05$).

Degirmencioglu vd., (2020) zeytin yaprağı ve bal içerikli Kombu çayı örnekleri ile yaptıkları çalışmada; 12 günlük fermentasyon süresi boyunca örneklerin ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik ekstraksiyonları açısından biyoaktif potansiyelini antioksidan kapasite (ABTS metodu) ile toplam fenolik bileşen içeriği (Folin Ciocalteu metodu) analizleri ile değerlendirmiş ve % biyoerişilebilirliğini belirlemiştir. En yüksek % biyoerişilebilirlik değerleri %1 zeytin yaprağı ve bal içerikli örneklerde elde edilmiş; % biyoerişilebilirlik değerlerindeki değişimler Kombu çayı içeriğinin kimyasal bileşimi, fermentasyonda kullanılan karbon kaynağı ve içerikte yer alan fenolik bileşenlerin birbirleri ile olan etkileşimleri ile ilişkilendirmiştir. Diğer bir çalışmada ise, farklı çay yapraklarından (Yeşil, siyah, oolong, puerh, beyaz çay) elde edilen Kombu çaylarının biyoerişilebilirliklerinde meydana gelen değişimler, fermentasyon ve ekstraksiyonu sağlayan sindirim enzimlerinin etkisi sonucunda bileşiklerin çözünürlüklerindeki değişimler ile fenolik bileşiklerin birbirleri ile olan etkileşimleriyle ilişkilendirilmiştir (Degirmencioglu vd., 2021).

Muşmula meyvesi ile ilgili olarak genellikle meyve ve yaprak içeriğinin, biyoaktif potansiyelinin belirlenmesi yönünde çalışmalar yapılmıştır (Ercisli vd., 2011; Nabavi vd., 2011; Safari vd., 2019; Yıldız vd., 2022). Gıda ürünlerde kullanımı açısından ise şarap (Wu ve Li, 2018) ve turşu (Erdoğan vd., 2006; Jiao, 2010) üretimi gerçekleştirilmiş olup; yoğurt üretiminde probiyotik mikrofloranın gelişimi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği (Jiang vd., 2017) çalışmalar bulunmaktadır. Suna, (2019) ise muşmula pestili üretimi gerçekleştirerek biyoaktif potansiyel ve biyoerişilebilirliğini değerlendirmiştir. Ayrıca son zamanlarda, muşmula ile ilgili yapılan kapsamlı derleme çalışmaları (Popović-Djordjević vd., 2023; Voaides vd., 2021) saklı kalmış bu meyvenin içeriğini ayrıntılı olarak ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, muşmula meyvesi Kombu çayı biyoaktivitesinin artırılmasını sağlamış olması ile beraber, muşmulanın Kombu çayı üretiminde

kullanımı meyvenin değerlendirilmesinde yeni bir yol olarak ortaya koyulmuştur.

SONUÇ

Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, Kombu çayı fermantasyonuna muşmula meyvesi ilavesinin antioksidan kapasite (ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP metotlarına göre) ve toplam fenolik bileşen içeriği (Folin Ciocalteu Metoduna göre) analizlerine göre biyoaktif potansiyelini zenginleştirdiği görülmüştür. Ekstrakte edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonlar, hidrolize edilebilir fraksiyonlara nazaran daha yüksek değerler göstermiş olup; en yüksek biyoaktif potansiyel %20 oranında muşmula ilavesi ile üretilen Kombu çayı örneğinde belirlenmiştir. % biyoerişilebilirlik değerleri açısından ise %10 ve %20 oranında muşmula ilave edilen Kombu çayı örnekleri öne çıkmaktadır. Zengin biyoaktif içeriğe sahip olmasına rağmen, bilinirliği çok yüksek olmayan, bu saklı kalmış meyvenin Kombu çay üretiminde kullanılabilirliğinin ortaya koyulduğu çalışma kapsamında, hem yüksek biyoaktif potansiyele sahip bir içecek ortaya çıkartmış hem de yabancı olarak yetişmekte olan muşmula meyvesinin endüstriyel kullanım alanını artırma potansiyeli oluşturmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Elif YILDIZ deneysel tasarım, üretim, analizler, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin yazımında; Gülşah ÖZCAN SİNİR deneysel tasarım, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin yazımında; Didem Peren AYKAS analizler, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin revizyonunda; Ozan GÜRBÜZ deneysel tasarım, planlama, yürütme ve makalenin yazımı ve revizyonunda katkıda bulunmuştur.

KAYNAKLAR

Abaci, N., Deniz, F.S.S., Orhan, I.E. (2022). Kombucha-An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food*

- Chemistry*, X, 14: 100302. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100302>
- Akçay, M.E., Özdemir, Y., Doğan, A. (2016). Determination of some characteristics of Akçakoca 77® a new cultivar for medlar cultivation. *Bahçe Special*, 145: 832-837.
- Al-Mohammadi, A.R., Ismaiel, A.A., Ibrahim, R.A., Moustafa, A.H., Abou Zeid, A., Enan, G. (2021). Chemical constitution and antimicrobial activity of kombucha fermented beverage. *Molecules*, 26(16): 5026. <https://doi.org/10.3390/molecules26165026>
- Anson, N.M., Selinheimo, E., Havenaar, R., Aura, A.M., Mattila, I., Lehtinen, P., Bast, A., Poutanen, K., Haenen, G.R. (2009). Bioprocessing of wheat bran improves in vitro bioaccessibility and colonic metabolism of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14): 6148-6155. <https://doi.org/10.1021/jf900492h>
- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. Maryland, USA: Association of Official Analytical, Chemists International.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Celik, S.E. (2008). Mechanism of Antioxidant Capacity Assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) Assay. *Microchimica Acta*, 160(4): 413-419. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0>
- Battikh, H., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2012). Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT-Food Science and Technology*, 47(1): 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.033>
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bhattacharya, D., Bhattacharya, S., Patra, M.M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., Koley, H., Gachhui, R. (2016). Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. *Current Microbiology*, 73: 885-896. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1136-3>
- Bishop, P., Pitts, E.R., Budner, D., Thompson-Witrick, K.A. (2022). Chemical composition of kombucha. *Beverages*, 8(3): 45. <https://doi.org/10.3390/beverages8030045>
- Bouayed J., Deußer H., Hoffmann L., Bohn T. (2012). Bioaccessible and Dialysable Polyphenols in Selected Apple Varieties Following In Vitro Digestion vs. Their Native Patterns. *Food Chemistry*, 131(4): 1466-1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cardoso, R.R., Neto, R.O., dos Santos D'Almeida, C.T., do Nascimento, T.P., Pressete, C.G., Azevedo, L., Martino, H.S.D., Cameron, L.C., Ferreira, M.S.L., de Barros, F.A.R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128: 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
- Chang, M.Y., Lin, Y.Y., Chang, Y.C., Huang, W.Y., Lin, W.S., Chen, C.Y., Huang, S.L., Lin, Y.S. (2020). Effects of infusion and storage on antioxidant activity and total phenolic content of black tea. *Applied Sciences*, 10(8): 2685. <https://doi.org/10.3390/app10082685>
- Chu, S.C., Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3): 502-507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- da Silva Júnior, J.C., Mafaldo, Í.M., de Lima Brito, I., de Magalhães Cordeiro, A.M.T. (2022). Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. *Current Research in Food Science*, 5: 360-365. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.01.023>
- Degirmencioglu, N., Yıldız, E., Guldaz, M., Gurbuz, O. (2020). Health benefits of kombucha tea enriched with olive leaf and honey. *Journal of*

- Obesity and Chronic Diseases*, 4(1): 1-5. <https://doi.org/10.17756/jocd.2020-031>
- Degirmencioglu, N., Yildiz, E., Sahan, Y., Guldaz, M., Gurbuz, O. (2021). Impact of tea leaves types on antioxidant properties and bioaccessibility of kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 58(6): 2304-2312. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04741-7>
- Durul, M.S., Unver, H. (2016). Morphological and chemical properties of medlar (*Mespilus germanica* L.) fruits and changes in quality during ripening. *Agrofor*, 1(2): 133-140.
- Ercisli, S., Sengul, M., Yildiz, H., Sener, D., Duralija, B., Voca, S., Purgar, D.D. (2012). Phytochemical and antioxidant characteristics of medlar fruits (*Mespilus germanica* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 85(1): 86.
- Erdoğan, A., Gürses, M., Güngör Sat, İ. (2006). Effects of the different temperature and saccharose concentrations on some microbiological and chemical characteristics of medlar pickle. *International Journal of Food Properties*, 9(2): 179-184. <https://doi.org/10.1080/10942910600596183>
- Essawet, N.A., Cvetković, D., Velićanski, A., Čanadanović-Brunet, J., Vulić, J., Maksimović, V., Markov, S. (2015). Polyphenols and antioxidant activities of Kombucha beverage enriched with Coffeeberry® extract. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 21(3): 399-409. <https://doi.org/10.2298/CICEQ140528042E>
- Farhad, M., Kailasapathy, K., Tamang, J.P. (2010). *Health aspects of fermented foods*. In: Fermented foods and beverages of the world, Prakash Tamang J., Kasipathy K. (ed.), CRC Press, Boca Raton, pp. 391-414.
- Giritlioğlu, N., Yıldız, E., Gürbüz, O. (2020). Kombu Çayı Üretiminde Kapari Tomurcuklarının (*Capparis* spp.) Kullanımının Fenolikler, Antioksidant Kapasite ve Biyoerişilebilirliğe Etkisi. *Akademik Gıda*, 18(4): 390-401.
- Glew, R.H., Ayaz, F.A., Sanz, C., VanderJagt, D.J., Huang, H.S., Chuang, L.T., Strnad, M. (2003). Effect of postharvest period on sugars, organic acids and fatty acids composition in commercially sold medlar (*Mespilus germanica*'Dutch') fruit. *European Food Research and Technology*, 216: 390-394. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0654-3>
- Hur, S.J., Lee, S.Y., Kim, Y.C., Choi, I., Kim, G.B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160: 346-356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., Kačániová, M. (2020). The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 1840-1846. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04217-3>
- Jakubczyk, K., Kalduńska, J., Kochman, J., Janda, K. (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9(5): 447. <https://doi.org/10.3390/antiox9050447>
- Jarrell, J., Cal, T., Bennett, J.W. (2000). The Kombucha consortia of yeasts and bacteria. *Mycologist*, 14(4): 166-170. [https://doi.org/10.1016/S0269-915X\(00\)80034-8](https://doi.org/10.1016/S0269-915X(00)80034-8)
- Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4): 538-550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.120>
- Jiang, M., Swang, X., Sun, R., Wang, J. (2017). Effects of different prebiotics on fermentation by probiotics of the medlar yoghurt. *China Dairy Industry*, 45(10): 47-50.
- Jiao, Y. (2010). Study on the technology for production of low-salt pickle with medlar, lily and functional sugar. *China Condiment*, 10: 88-90.
- Kaashyap, M., Cohen, M., Mantri, N. (2021). Microbial diversity and characteristics of kombucha as revealed by metagenomic and physicochemical analysis. *Nutrients*, 13(12): 4446. <https://doi.org/10.3390/nu13124446>

- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., Ajandouz, E.H. (2012). Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International*, 49(1): 226-232. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>
- Laureys, D., Britton, S.J., De Clippeleer, J. (2020). Kombucha tea fermentation: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3): 165-174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Asgarirad, H. (2011). The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit, stem bark and leaf. *African Journal of Biotechnology*, 10(2): 283-289.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2): 95-111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>
- Oliveira, J.T., da Costa, F.M., da Silva, T.G., Simões, G.D., dos Santos Pereira, E., da Costa, P.Q., Andreatza, R., Schenkel, P.C., Pieniz, S. (2023). Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential. *Food Chemistry*, 408: 135206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135206>
- Petö, J., Cserni, I., Hüvely, A. (2016). Some beneficial nutrient and mineral content of medlar fruits. *Gradus*, 3(1): 258-262.
- Popović-Djordjević, J., Kostić, A.Ž., Kamiloglu, S., Tomas, M., Mićanović, N., Capanoglu, E. (2023). Chemical composition, nutritional and health related properties of the medlar (*Mespilus germanica* L.): from medieval glory to underutilized fruit. *Phytochemistry Reviews*, 1-28. <https://doi.org/10.1007/s11101-023-09883-y>
- Safari, M., Ahmady-Asbchin, S. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of medlar (*Mespilus germanica* L.) leaves. *Biotechnology & biotechnological equipment*, 33(1): 372-378. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1577701>
- Selcuk, N., Erkan, M. (2015). The effects of modified and palliflex controlled atmosphere storage on postharvest quality and composition of 'Istanbul' medlar fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 99: 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.004>
- Suna, S. (2019). Effects of hot air, microwave and vacuum drying on drying characteristics and in vitro bioaccessibility of medlar fruit leather (pestil). *Food Science and Biotechnology*, 28(5): 1465-1474. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00588-7>
- Tarko, T., Duda-Chodak, A., Zajac, N. (2013). Digestion and absorption of phenolic compounds assessed by in vitro simulation methods. A review. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 64(2): 79-84.
- 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): 1462-1469. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.032>
- Voaides, C., Radu, N., Birza, E., Babeanu, N. (2021). Medlar-A Comprehensive and Integrative Review. *Plants*, 10(11): 2344. <https://doi.org/10.3390/plants10112344>
- Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B., Waisundara, V.Y. (2015). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*, 11: 1-11. <https://doi.org/10.1155/2015/591869>
- 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. <https://doi.org/10.3390/nu12051401>
- Yıldız, E. (2022). Espresso İçeren Kahve İçeceklerinin Antioksidan Kapasite, Toplam Fenolik Bileşen ve in-vitro Biyoerişilebilirliğinin Karşılaştırılması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri*

Enstitüsü Dergisi, 12(2): 791-805.
<https://doi.org/10.21597/jist.1067994>

Yildiz, E., Cinar, A., Gurbuz, O. 2022. Bioactive potential of medlar (*Mespilus germanica* L.) leaves in terms of ABTS and DPPH antioxidant capacity assays, *Food Health and Technology Innovations*. 5(10): 376-381. <https://dergipark.org.tr/en/pub/food/issue/75526/1239547>

Zeng, L., Ma, M., Li, C., Luo, L. (2017). Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *International Journal of Food Properties*, 20(1): 1-18. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.983605>

ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUK ÜRETİMİNDE KÜRLEME AJANI OLARAK PAZI TOZU KULLANIMININ NİTROZAMİN OLUŞUMUNA VE KALİTE PARAMETRELERİNE ETKİSİ

Zeynep Feyza Yılmaz Oral*

Atatürk Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Erzurum, Türkiye

Geliş / Received: 02.08.2023; Kabul / Accepted: 22.09.2023; Online baskı / Published online: 25.09.2023

Yılmaz Oral, Z. F. (2023). Isıl işlem görmüş sucuk üretiminde kürlenme ajanı olarak pazı tozu kullanımının nitrozamin oluşumuna ve kalite parametrelerine etkisi. GIDA (2023) 48 (5) 1036-1046 doi: 10.15237/gida.GD23090

Yılmaz Oral, Z. F. (2023). The effect of using swiss chard powder as a curing agent in the production of heat-treated sucuk on nitrosamine formation and quality parameters. GIDA (2023) 48 (5) 1036-1046 doi: 10.15237/gida.GD23090

ÖZ

Araştırmada ısı işlem görmüş sucuk üretiminde alternatif kürlenme ajanı olarak biyodönüştürülmüş pazı tozu (PT) kullanımının nitrozamin oluşumuna ve ürünün bazı kalite parametrelerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca pişirme derecesinin nitrozamin oluşumuna etkisi de incelenmiştir. Kürlenme ajanı olarak sentetik nitrit (SN) (150 mg/kg NaNO₂), SN (75 mg/kg NaNO₂) + PT (75 mg/kg NaNO₂'ye eşdeğer) ve PT (150 mg/kg NaNO₂'ye eş değer) içeren üç farklı ısı işlem görmüş sucuk grubu üretilmiştir. PT, pH ve TBARS değerlerinde artışa neden olmuştur. Kalıntı nitrit seviyesi ise PT ve SN + PT'den etkilenmemiştir. Muameleler arasında laktik asit bakterisi ve *Micrococcus/Staphylococcus* açısından önemli farklılıklar görülmemiştir. PT, tat ve genel kabul edilebilirlik skorlarını artırmıştır. SN + PT ve PT, N-nitrozodimetilamin, N-nitrozodietilamin ve N-nitrozopiperidin üzerinde önemli etki göstermemiştir. Belirlenen nitrozaminlerin seviyesi, pişirme süresi arttıkça artmıştır. Temel bileşen analiz sonuçlarına göre pişirme süresi, pazı tozu faktörüne göre nitrozaminler üzerinde daha fazla etki göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Isıl işlem görmüş sucuk, pazı tozu, nitrozamin, kalıntı nitrit

THE EFFECT OF USING SWISS CHARD POWDER AS A CURING AGENT IN THE PRODUCTION OF HEAT-TREATED SUCUK ON NITROSAMINE FORMATION AND QUALITY PARAMETERS

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the effect of using bioconverted swiss chard powder (SCP) as an alternative curing agent in the production of heat-treated sucuk on nitrosamine formation and its some quality parameters. In addition, the effect of cooking degree on nitrosamine formation was also investigated. Three different heat treated sucuk groups containing synthetic nitrite (SN) (150 mg/kg NaNO₂), SN (75 mg/kg NaNO₂) + SCP (equivalent to 75 mg/kg NaNO₂) or SCP (equivalent to 150 mg/kg NaNO₂) as curing agent were produced. SCP caused an increase in pH and TBARS values. However, the residual nitrite level was not affected by SCP and SN + SCP treatments. There were no significant differences in the number of lactic acid bacteria and *Micrococcus/Staphylococcus*

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: zeynep.yilmaz@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 6233

☎: (+90) 442 231 2503

Zeynep Feyza Yılmaz Oral; ORCID no: 0000-0002-6295-0509

between treatments. SCP increased taste and overall acceptability scores. SN + SCP and SCP had no significant effect on N-nitrosodimethylamine, N-nitrosodiethylamine, and N-nitrozopiperidine. The level of nitrosamines increased with increasing cooking time. According to the principal component analysis results, cooking time had a greater effect on nitrosamines than the use of swiss chard powder factor.

Keywords: Heat treated sucuk, swiss chard powder, nitrosamine, residual nitrite

GİRİŞ

Kürleme, etin tuz varlığında nitrat, nitrit veya nitrat/nitrit ile muamelesi olarak tanımlanmaktadır (Gökalp vd., 2015). Et endüstrisinde kürleme maddesinin seçimi, ürün tipine ve proses koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ancak kürleme ajanı olarak nitrat kullanılan ürünlerde, beklenen etkilerin ortaya çıkabilmesi için bu kürleme ajanının nitrite dönüşmesi gerekmektedir (Kaya ve Kaban, 2019; Jo vd., 2020).

Nitrat ve nitrit, et ürünlerinde *Clostridium botulinum* ve *Listeria monocytogenes* gibi gıda kaynaklı patojenler ile bozulmaya neden olan mikroorganizmaların inhibisyonu, lipid oksidasyonunun geciktirilmesi ve karakteristik renk ve lezzetinin gelişiminde önemli katkılar sağlamaktadır (Gökalp vd., 2015; Jo vd., 2020). Çok fonksiyonlu bir katkı maddesi olan nitrit, nitrozamin oluşumunda da önemli rol oynamaktadır (De Mey vd., 2017; Sallan vd., 2019;2020).

Nitrozaminler karsinojenik, mutajenik ve teratojenik özellik gösteren N-nitroso bileşiklerdir (Rywotycki, 1998). Uçucu ve uçucu olmayan bileşikler olarak sınıflandırılan nitrozaminler içerisinde uçucu nitrozaminlerden N-nitrozodimetilamin (NDMA) ve N-nitrozodietilamin (NDEA), insanlar için olası (Grup 2A) kanserojen bileşikler, N-nitrozopiperidin (NPIP), N-nitrozopirrolidin (NPYR), N-nitrozodibütülamın (NDBA), N-nitrozomorfolin (NMOR) ise muhtemel (Grup 2B) kanserojenik bileşikler olarak kabul edilmektedir (IARC, 2000). Nitrozaminler, bir nitrozasyon ajanı ile sekonder amin arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu oluşmaktadır (De Mey vd., 2014). Nitrozaminlerin oluşumunda, pişirme süresi, sıcaklığı ve yöntemi, ilave edilen nitrit miktarı, su aktivitesi, kalıntı nitrit miktarı, pH, nitrozasyon katalist ve inhibitörlerinin varlığı,

baharat çeşidi, mikroorganizmaların dekarboksilaz aktivitesi ve muhafaza şartları gibi pek çok faktör etkili olmaktadır (Yurcenko ve Mölder, 2007; Wang vd., 2015; Sallan vd., 2019, 2020).

Sucuk, ısıl işlem görmüş sucuk, salami gibi kuru ve kuru fermente sosilerin de yer aldığı kür edilmiş et ürünlerinde, nitrozaminlerin seviyesi ürün tipine ve nitrozamin çeşidine bağlı olarak geniş bir varyasyon göstermektedir. Bu ürünlerde NDMA, NPIP ve NPYR yaygın olarak belirlenen uçucu nitrozaminlerdir (De Mey vd., 2014; Hermann vd., 2015). Sucuk ve ısıl işlem görmüş sucukta da değişik seviyelerde nitrozaminler belirlenmiştir (Özel vd., 2010; Kaban vd., 2022; Kızılkaya vd., 2023). Fermente sosiler genellikle pişirilmeden tüketilmelerine rağmen, sucuk ve ısıl işlem görmüş sucuk tüketim alışkanlıklarından dolayı genellikle pişirilerek tüketilmektedir (Sallan vd., 2019). Bu fermente sosiler üzerinde yapılan araştırmalarda pişirme derecesi veya süresi arttıkça nitrozamin seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir (Ata, 2010; Sallan vd., 2019;2020; Kızılkaya vd., 2023). Fermente sosilerde nitrozamin oluşumunu inhibe etmek amacı ile tokoferol, askorbik asit, erithorbik asit ve polifenoller gibi antioksidan özelliğe sahip bileşiklerin kullanımına yönelik araştırmalar yürütülmüştür (Rywotycki, 2007; Herrmann vd., 2015; Wang vd., 2015, Sallan vd., 2019; 2020). Diğer taraftan alternatif kürleme ajanı olarak kereviz tozu veya kereviz suyu tozunun (Sindelar vd., 2007; Horsch vd., 2014), domates püresi ve tozu (Deda vd., 2007; Eyiler ve Öztan, 2011), biberiye ekstraktı (Doolaege vd., 2012), dereotu, ıspanak, maydanoz (Babaoğlu, 2020), ve pancar tozunun (Sucu ve Yıldız Turp, 2018) fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkilerini belirlemeye yönelik çalışmalar yürütülmüştür. Ayrıca ısıl işlem görmüş sucukta biyodönüştürülmüş kereviz tozunun nitrozamin oluşumu ve uçucu bileşik profiline yönelik bir araştırma da yürütülmüştür (Yılmaz Oral, 2022).

Pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) tozunun alternatif kürlenme ajanı olarak et ürünlerinde kullanımına yönelik çalışmalar da mevcuttur (Hwang vd., 2016; Shin vd., 2017; Kim vd., 2019; Babaoğlu, 2020; Öztürk Kerimoğlu ve Serdaroğlu, 2020). Mevcut bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak ısıl işlem görmüş sucuk üretiminde kürlenme ajanı olarak biyodönüştürülmüş pazı tozu kullanımının nitrozamin oluşumuna etkisi incelenmiştir. Ayrıca pazı tozunun ürün özelliklerine ve pazı tozu mevcudiyetinde pişirme süresinin nitrozamin oluşumuna etkileri de araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Üretimde hammadde olarak sığır eti ve et yağı kullanılmıştır. Nitratı nitrite dönüştürülmüş formdaki pazı tozu (Veg stable® 531) (%1.47 nitrit) ticari bir firmadan (Florida Food Products, ABD) temin edilmiştir. *Lactobacillus sakei* S15 (Kaya vd., 2015) ve *Staphylococcus xylosus* GM92 (Kaban ve Kaya, 2008) suşları starter kültür olarak kullanılmıştır. Suşlar üretimden önce aktifleştirilmiş ve *L. sakei* S15 10^7 kob/g, *S. xylosus* GM92 ise 10^6 kob/g oranında hamurlara ilave edilmiştir.

Isıl işlem görmüş sucuk üretimi

Üretimde Armutçu vd. (2020) tarafından verilen formülasyon kullanılmıştır. Bu formülasyon esas alınarak sentetik nitrit (150 mg/kg NaNO_2), sentetik nitrit (75 mg/kg NaNO_2) + pazı tozu (75 mg/kg NaNO_2 'ye eşdeğer) ve pazı tozu (150 mg/kg NaNO_2 'ye eş değer) içeren üç farklı sucuk hamuru hazırlanmıştır. Hamur hazırlama işlemi laboratuvar tipi kuterde (Mado Typ MTK 662, Almanya) gerçekleştirilmiş ve hamurlar pistonlu bir doldurucu (Mado Typ MTK 591, Almanya) ile kolajen kılıflara (Naturin Darm, Almanya) doldurulmuştur. Fermantasyon ($24 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de %92 ± 2 bağıl nem, 24 saat) işlemi tam otomatik bir klima ünitesinde (Reich, Almanya) gerçekleştirilmiş ve bu işlemi müteakiben örnekler pişirme fırınına (Mauting, Çekya) alınarak ısıl işleme tabi tutulmuştur. Isıl işlemde 55°C 'lik başlangıç sıcaklığı ve 64°C 'lik iç sıcaklık esas alınmıştır. Bu işlemi müteakiben örnekler tekrar klima ünitesine alınmış ve $16 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 3 gün süreyle kurutulmuştur. Üretim üç farklı zamanda

üç farklı hammadde kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Örnekleme ve pişirme işlemi

Her bir muamele grubundan fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizler için örnek alınmıştır. Pazı tozu varlığında pişirme süresinin nitrozamin oluşumuna etkisini belirlemek için örnekler 0.5 cm kalınlığında kesildikten sonra ısıtıcı plakada 180°C 'de üç farklı pişirme süresi (çiğ-0 dk, az pişmiş-1dk (her bir yüzey 0.5 dk), pişmiş-3 dk (her bir yüzey 1.5 dk)) uygulanarak pişirilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Örneklerde laktik asit bakteri sayısının belirlenmesi için MRS agar (Merck, Almanya) plakları kullanılmış ve yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. İnkübasyon, anaerobik şartlar (Anaerocult A, Merck) altında 30°C 'de 48 saat süre ile gerçekleştirilmiştir (Baumgart vd.,1993). *Micrococcus/Staphylococcus* sayımında Mannitol Salt Phenol Red Agar (MSA, Merck) plaklarına ekim yapılmış ve plaklar aerobik şartlarda 30°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir (Baumgart vd., 1993). *Enterobacteriaceae* sayımı için Violet Red Bile Dextrose (VRBD, Merck) agar plakları kullanılmış ve plaklar anaerobik ortamda (Anaerocult A, Merck) 30°C 'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir (Baumgart vd., 1993).

Fizikokimyasal analizler

pH analizi

Örneklerin pH değerinin belirlenmesi için 10 g analiz numunesine 100 ml saf su ilave edilmiş ve ultra turrax (IKA Werk T25, Almanya) ile homojenize edildikten sonra pH metre (Mettler Toledo, İsviçre) kullanılarak belirlenmiştir (Gökalp vd., 2010).

Su aktivitesi analizi

Su aktivitesinin (a_w) belirlenmesinde su aktivitesi cihazı (Novasina, TH-500 a_w Sprint) kullanılmıştır. Cihaz kullanılmadan önce 25°C 'de altı farklı tuz çözeltisi ile kalibre edilmiştir.

Tiyobarbitirik asit reaktif maddeler (TBARS) analizi

Tiyobarbitirik asit reaktif maddeler (TBARS) analizi, Lemon (1975) tarafından belirtilen metoda

göre yapılmıştır. Santrifüj tüpüne homojenize edilmiş 2 g örnek tartılmış ve üzerine TCA çözeltisinden (%7.5 TCA; %0.1 EDTA; %0.1 Propil gallat) 12 ml ilave edilmiştir. Homojenizasyon işleminden sonra Whatman 1 filtre kağıdından süzülen homojenizattan 3 ml deney tüpüne aktarılmıştır. Tüp içerisine 3 ml TBA (0.02 M) çözeltisi de ilave edildikten sonra kaynayan su banyosunda 40 dk süre ile bekletilmiştir. Soğuk su içerisinde 5 dk süre ile yapılan soğutma işleminden sonra santrifüjleme işlemi (2000 g'de 5 dk) yapılmıştır. Spektrofotometrede 530 nm'de absorbans ölçülmüş ve sonuçlar $\mu\text{mol MDA/kg}$ olarak verilmiştir.

Kalıntı nitrit analizi

Kalıntı nitrit miktarının belirlenmesi için 10 g örneğe 50 ml ultra saf su (50-60 °C) ilave edilmiş ve baget ile iyice karıştırılmıştır. Homojenizat 200 ml'lik balon jöjeye aktarılmış ve üzerine 50 ml asetonitril ilave edilerek 15 dk süreyle karıştırılmıştır. 200 ml'ye tamamlanan karışım, nitritsiz/nitratlız filtre kağıdından (MN 640 de, Macherey-Nagel) süzülüş ve müteakiben 0.45 μm 'lik fitreden geçirilmiştir. Kalıntı nitrit miktarı, HPLC/DAD (Agilent 1100, Amerika) kullanılarak saptanmıştır. Kolon olarak Hamilton PRP-X100 (5 $\mu\text{m} \times 150 \times 4.6\text{mm}$, Amerika) kullanılmış ve akış hızı 2 ml/dk'ya ayarlanmıştır. Nitrit standardı ile kurve hazırlanmış ve sonuçlar mg/kg olarak verilmiştir (NMKL 165, 2000).

Duyusal analiz

Örneklerin duyusal değerlendirmesi, 20 yarı eğitimli panelist (10 erkek, 10 kadın) ile laboratuvar paneli uygulanarak yapılmıştır. Örnekler tat, koku, renk, tekstür ve genel kabul edilebilirlik özellikleri yönünden 9 noktalı hedonik tip skala kullanılarak değerlendirilmiştir.

Nitrozamin analizi

10 g örneğe 0.1 M NaOH ilave edilmiş ve sonifikasyon işlemi uygulandıktan sonra metanol ilave edilerek homojenize edilmiştir. Örnekler santrifüjlendikten (4°C'de 10000 rpm) sonra filtre (Whatman GF/C glass microfiber filters, İngiltere) edilmiştir. Elde edilen ekstrakta %20'lik NaCl ilave edilerek ChemElut kolona (Agilent

ChemElut, 20 ml, Unbuffered, ABD) aktarılmıştır. Diklorometan ilavesinden sonra karışım Kuderna Danish düzeneği ile 1 ml'ye konsantre edilmiş ve azot altında 40 °C'de evapore (Organomation, Nitrogen Evaporatör, ABD) edilmiştir. Nitrozamin seviyesi gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS, Agilent 6890N/Agilent 5973, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Sistemde taşıyıcı gaz olarak helyum gazı, kolon olarak DB-5MS (30m x 0.25mm x 0.25 μm , Agilent) kullanılmış ve SIM modunda çalışılmıştır. Fırın sıcaklığı 50 °C'den başlatılmış ve kademeli olarak 250 °C'ye çıkarılmıştır. Tanımlamada nitrozamin standardı (EPA 521 Nitrosamine Mix, Supelco, ABD) kullanılmıştır (Wang vd., 2015). Sonuçlar $\mu\text{g/kg}$ olarak verilmiştir.

Analizin validasyonu her seviyede altı tekrar olacak şekilde farklı oranlarda (0.5- 20 $\mu\text{g/L}$) standart ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. N-Nitrosodimetilamin (NDMA, LOD = 0.32, LOQ = 0.97), N-Nitrosodietilamin (NDEA, LOD = 0.37, LOQ = 1.12), N-Nitrosometilamin (NMEA, LOD = 0.39, LOQ = 1.21), N-Nitrosopirrolidin (NPYR, LOD = 0.31, LOQ = 1.13), N-Nitrosodipropilamin (NDPA, LOD = 0.45, LOQ = 1.37), N-Nitrosopiperidine (NPIP, LOD = 0.32, LOQ = 0.98) ve N-Nitrosodibutylamin (NDBA, LOD = 0.38, LOQ = 1.14) için LOD ve LOQ değerleri belirlenmiştir.

İstatistiksel analizler

Araştırmada üç farklı muamele (sentetik nitrit (150 mg/kg NaNO₂), sentetik nitrit (75 mg/kg NaNO₂) + pazı tozu (75 mg/kg NaNO₂'ye eşdeğer) ve pazı tozu (150 mg/kg NaNO₂'ye eşdeğer)) esas alınmış ve denemeler şansa bağlı tam bloklar deneme planına uygun olarak üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Nitrozamin analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde hem muamele hem de pişirme seviyesi faktörleri dikkate alınmıştır. Sonuçlara varyans analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (SPSS 24, Chicago, ABD). Ayrıca muamele ve pişirme süresi arasındaki ilişki temel bileşen analizi ile değerlendirilmiştir (Unscrambler software, CAMO, version 10.1, Norveç).

BULGULAR VE TARTIŞMA**Mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikler**

Kürleme ajanı olarak biyodönüştürülmüş pazı tozu kullanımının ısı işlem görmüş sucuğun mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklere etkisi Çizelge 1’de gösterilmiştir. Araştırmada laktik starter kültür olarak *Lactobacillus sakei* S15 kullanılmıştır. Fermantasyon aşamasından sonra uygulanan 64 °C’lik iç sıcaklıktan dolayı son üründe laktik asit bakteri sayısı 2-3 log kob/g arasında değişim göstermiştir. Isıl işlem görmüş sucukta, üretimde uygulanan iç sıcaklığa bağlı olarak son üründeki laktik asit bakteri sayısı değişkenlik gösterebilmektedir (Armutçu vd., 2020; Yılmaz Oral ve Kaban, 2021; Çakır vd., 2013). Pazı tozu kullanımının ise laktik asit bakteri sayısı üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır (Çizelge 1). Teknolojik açıdan önem arz eden diğer bir mikroorganizma grubu

mikrokok/stafilokokların sayısı da pazı tozu kullanımından etkilenmemiştir. Uygulanan ısı işleminden dolayı gruplarda 3 log kob/g düzeyinde *Micrococcus/Staphylococcus* belirlenmiştir (Çizelge 1). Isıl işlem görmüş sucukta mikrokok/stafilokok sayısı da laktik asit bakterilerinde olduğu gibi uygulanan ısı işlem koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Armutçu vd., 2020). Kontrol grubu (SN) ile pazı tozu içeren grupların (SN+PT ve PT) *Enterobacteriaceae* sayısı saptanabilir sınırın altında (< 2 log kob/g) bulunmuştur. Fermantasyon aşamasındaki pH düşüşü ve fermantasyondan sonra uygulanan ısı işlem aşaması, bu mikroorganizmaların inaktivasyonunda önemli engel etkenlerdir (Lücke, 1985; Kaya ve Kaban, 2019; Yılmaz Oral ve Kaban, 2021).

Çizelge 1. Kürleme ajanı olarak pazı tozu kullanımının ısı işlem görmüş sucuğun mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerine etkisi

Table 1. The effect of using swiss chard powder as a curing agent on the microbiological and physicochemical properties of heat-treated sucuk

Muamele Treatment	Laktik asit bakteri (log kob/g) <i>Lactic acid bacteria</i>	<i>Micrococcus/ Staphylococcus</i> (log kob/g)	pH	a_w	TBARS (μ mol MDA/kg)	Kalıntı nitrit miktarı (mg/kg) <i>Residual nitrite amount</i>
SN- Kontrol	3.07±0.30a	3.22±0.20a	4.80±0.04b	0.929±0.002a	7.60±0.76b	9.85±1.38a
SN+PT	2.80±0.53a	3.07±0.35a	4.87±0.05ab	0.925±0.002ab	7.65±0.25b	9.20±0.37a
PT	3.33±0.35a	3.42±0.55a	4.96±0.07a	0.921±0.003b	8.80±0.27a	8.50±0.66a
P değeri P value	> 0.05	> 0.05	<0.05*	<0.05*	<0.05*	>0.05

SN-Kontrol: 150 mg/kg sentetik sodyum nitrit, SN+PT: 75 mg/kg sentetik sodyum nitrit + 75 mg/kg sentetik sodyum nitrite eş değer pazı tozu, PT: 150 mg/kg sentetik sodyum nitrite eş değer pazı tozu

SN-Control: 150 mg/kg synthetic sodium nitrite, SN+PT: 75 mg/kg synthetic sodium nitrite + 75 mg/kg synthetic sodium nitrite equivalent swiss chard powder, PT: 150 mg/kg synthetic sodium nitrite equivalent swiss chard powder

Isıl işlem görmüş sucuk gruplarının pH değeri üzerinde, pazı tozu kullanımı $P < 0.05$ düzeyinde etki göstermiştir. En yüksek ortalama pH değeri PT grubunda belirlenmiştir (Çizelge 1). Pazı tozu miktarı arttıkça pH değerinin artış gösterdiği, Öztürk Kerimoğlu ve Serdaroğlu (2020) tarafından da rapor edilmiştir. Kürleme ajanı olarak kereviz tozunun kullanıldığı ısı işlem

görmüş sucuk üzerinde yürütülen bir çalışmada da kereviz tozu içeren örneklerin daha yüksek bir pH değeri verdiği bildirilmiştir (Yılmaz Oral, 2022). Isıl işlem görmüş sucukta fermantasyon aşamasında pH genellikle 5.30’ün altına düşmektedir (Armutçu vd., 2020; Çakır vd., 2013). Mevcut bu çalışmada 24°C’lik başlangıç fermantasyon sıcaklığından dolayı son üründeki

pH değeri 5.0'in altında bulunmuştur. Isıl işlem görmüş sucuk gibi yarı-kuru fermente sosisler grubunda, su aktivitesi değeri 0.900-0.950 arasında değişim gösterebilmektedir (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Kaya ve Kaban, 2019). Bu araştırmada tüm muamele gruplarında a_w değeri 0.930'un altında tespit edilmiştir. Pazı tozu kullanımı su aktivitesinde az da olsa bir düşüşe neden olmuş ve en düşük ortalama değere sahip olan PT grubu, istatistikî açıdan kontrol grubundan farklılık göstermiştir (Çizelge 1). Bu sonuç muhtemelen pazı tozunun su tutma kapasitesinden ileri gelmektedir.

Lipid oksidasyonun derecesi hakkında bilgi veren TBARS değeri, sentetik nitrit kullanılmayan PT grubunda en yüksek değeri vermiştir. Kontrol grubu (150 mg/kg sentetik sodyum nitrit) ile SN+PT grubu (75 mg/kg sentetik sodyum nitrit + 75 mg/kg sentetik sodyum nitrite eş değer pazı tozu) arasında ise TBARS değeri açısından önemli bir farklılık görülmemiştir (Çizelge1). Kür edilmiş et ürünlerine ilave edilen sentetik nitrit, antioksidan aktivitesi ile lipid oksidasyonunun geciktirilmesi / engellenmesinde etkili olmaktadır (Honikel, 2008). Mevcut bu araştırmada belirlenen sonuçlara benzer şekilde nitrit kaynağı olarak biyodönüştürülmüş kereviz tozunun, jambon (Sindelar vd., 2007) ve ısıl işlem görmüş sucukta (Yılmaz Oral, 2022) da TBARS değerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan

Eyiler ve Öztan (2011) da frankfurterler üzerinde yaptıkları araştırmada sentetik nitrit seviyesi düşüğe lipid oksidasyonunun arttığını tespit etmişlerdir.

Mevcut bu araştırmada örneklerin kalıntı nitrit seviyesi, pazı tozu kullanımından etkilenmemiştir. Tüm gruplarda 10 mg/kg'ın altında kalıntı nitrit seviyesi tespit edilmiştir (Çizelge 1). Araştırmada starter olarak kullanılan laktik asit bakteri suşunun neden olduğu asitleşmenin, nitritin parçalanmasını hızlandırdığı düşünülmektedir (Sallan vd., 2023).

Duyusal parametreler

Tüketici için önemli bir kriter olan renk üzerinde pazı tozu kullanımının önemli bir etkisi olmamıştır (Çizelge 2). Et ürünlerinde nitritin kullanım oranının 40-50 mg/kg seviyesine kadar düşürülmesinin hem renk hem de kür lezzetinin oluşumu için yeterli olduğu ifade edilmektedir (Sebranek ve Bacus, 2007). Diğer taraftan çalışmada tekstür ve koku üzerinde de pazı tozunun etkisi görülmemiştir. Tat puanı ise pazı tozu kullanım oranına bağlı olarak artış göstermiştir. Ancak genel kabul edilebilirlik açısından en yüksek ortalama değer sadece pazı tozunun kullanıldığı PT grubunda belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Kütleme ajanı olarak pazı tozu kullanımının ısıl işlem görmüş sucuğun duyusal özelliklerine etkisi

Table 2. Effect of using swiss chard powder as curing agent on sensory properties of heat-treated sucuk

Muamele Treatment	Renk Color	Tekstür Texture	Tat Taste	Koku Odor	Genel kabul edilebilirlik Overall acceptability
SN-Kontrol	7.27±0.32a	7.40±1.01a	7.23±0.25c	7.23±0.31a	7.03±0.15b
SN+PT	7.47±0.55a	7.73±0.50a	7.46±0.23b	7.40±0.36a	7.20±0.20b
PT	7.50±0.10a	7.65±0.48a	7.80±0.20a	7.97±0.45a	7.80±0.20a
P değeri P value	> 0.05	> 0.05	< 0.01**	> 0.05	< 0.05*

SN-Kontrol: 150 mg/kg sentetik sodyum nitrit, SN+PT: 75 mg/kg sentetik sodyum nitrit + 75 mg/kg sentetik sodyum nitrite eş değer pazı tozu, PT: 150 mg/kg sentetik sodyum nitrite eş değer pazı tozu
SN-Control: 150 mg/kg synthetic sodium nitrite, SN+PT: 75 mg/kg synthetic sodium nitrite + 75 mg/kg synthetic sodium nitrite equivalent swiss chard powder, PT: 150 mg/kg synthetic sodium nitrite equivalent swiss chard powder

Nitrozaminler

Araştırmada ısı işlem görmüş sucuğun N-nitrozodimetilamin (NDMA), N-nitrozodietilamin (NDEA) ve N-nitrozopiperidin (NPIP) içeriği Çizelge 3’de verilmiştir. Örneklerin N-nitrozometiletamin (NMEA), N-nitrozopirrolidin (NPYR), N-nitrozodipropilamin (NDPA) ve N-nitrozodibütülinin (NDBA) içerikleri ise LOD değerlerinin altında tespit edilmiştir. Belirlenen

her üç nitrozamin de pazı tozu kullanımından etkilenmemiştir (Çizelge 3). Benzer şekilde Yılmaz Oral (2022) de kürlleme ajanı olarak kereviz tozu kullanımının NDMA ve NDEA seviyeleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Buna karşın kereviz tozu kaynaklı nitrit seviyesi arttıkça NPIP seviyesinin arttığı ve hatta bu artışın pişirme süresinin ilerlemesi ile daha da belirginleştiği bildirilmiştir (Yılmaz Oral, 2022).

Çizelge 3. Kürlleme ajanı olarak pazı tozu kullanımının ve pişirme süresinin ısı işlem görmüş sucuğun nitrozamin içeriğine etkisi ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Table 3. Effect of using swiss chard powder as curing agent and cooking time on nitrosamine content of heat-treated sausage ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Muamele (M) Tretament (T)	NDMA	NDEA	NPIP
SN-Kontrol	1.22±0.36a	1.20±0.42a	1.30±0.39a
SN+PT	1.17±0.35a	1.10±0.49a	1.25±0.43a
PT	1.34±0.37a	1.27±0.39a	1.45±0.44a
P değeri P value	> 0.05	> 0.05	> 0.05
Pişirme süresi (PS) (dk) Cooking time (CT)(min)			
0	0.82±0.15c	0.66±0.15c	0.89±0.25b
1	1.33±0.16b	1.32±0.13b	1.43±0.20a
3	1.57±0.18a	1.59±0.15a	1.68±0.30a
P değeri P value	<0.01**	<0.01**	<0.01**
MxPS interaksyonu TxCT interaction	> 0.05	> 0.05	> 0.05

SN-Kontrol: 150 mg/kg sentetik sodyum nitrit, SN+PT: 75 mg/kg sentetik sodyum nitrit + 75 mg/kg sentetik sodyum nitrite eş değer pazı tozu, PT: 150 mg/kg sentetik sodyum nitrite eş değer pazı tozu
SN-Control: 150 mg/kg synthetic sodium nitrite, SN+PT: 75 mg/kg synthetic sodium nitrite + 75 mg/kg synthetic sodium nitrite equivalent swiss chard powder, PT: 150 mg/kg synthetic sodium nitrite equivalent swiss chard powder

Fermente sosislerde en yaygın belirlenen nitrozamin NDMA olup bu araştırmada pişirme işlemine tabi tutulmamış örneklerde 0.82 ± 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde belirlenmiştir. NDMA, sekonder bir amin olan dimetilamin ile nitrozasyon ajanı arasında gerçekleşen reaksiyon ile oluşmaktadır. NDMA'nın diğer bir öncül maddesi ise putresindir (Sallan vd., 2023). Fermente sosislerde yaygın olarak belirlenen nitrozaminlerden biri olan NDMA'nın seviyesi oldukça değişkenlik göstermektedir. Piyasadan temin edilen ısı işlem görmüş sucuk örneklerinde NDMA seviyesi 1.71-3.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında değişmiştir (Kaban vd., 2022). Özel vd. (2010) ise en yüksek NDMA içeriğini 0.78 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak

bildirmişlerdir. Salami olarak adlandırılan kuru fermente bir sosis çeşidinde ise ortalama NDMA içeriğinin 0.84 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olduğu tespit edilmiştir (Yurkencho ve Molder, 2007). Kızılkaya vd. (2023) maksimum NDMA içeriğini sucukta 0.81 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak rapor etmişlerdir. Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC, 2000) tarafından insan için olası (Grup 2A) kanserojenik bileşikler içerisinde yer alan diğer bir nitrozamin olan NDEA (IARC, 2020), pazı tozu kullanımından etkilenmemiş ve çiğ örneklerde ortalama NDEA içeriği 0.66 ± 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Özel vd. (2010) da sucukta NDEA içeriğinin 0.10-0.95 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Çalışmada

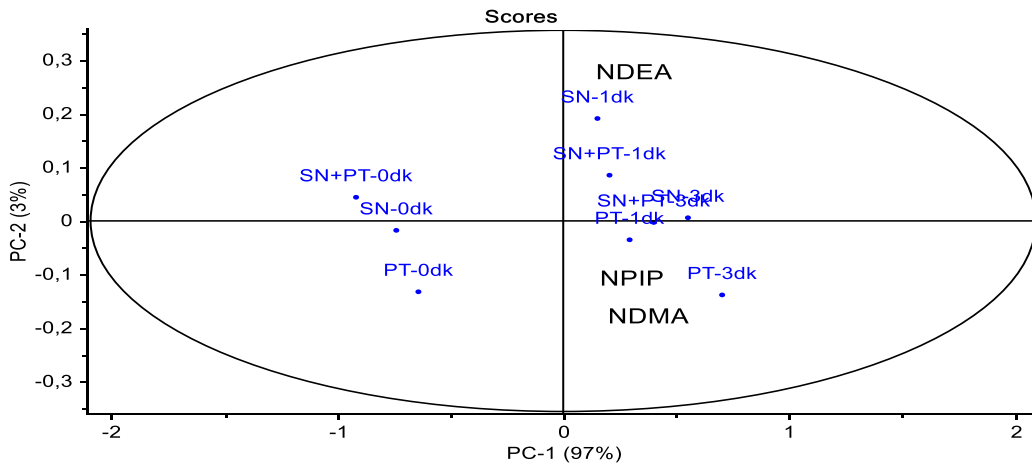
belirlenen bir diğer nitrozamin olan NPIP, IARC (2020) tarafından muhtemel (Grup 2B) kanserojenik bileşikler arasında sınıflandırılmaktadır. Bu nitrozamin de pazı tozu kullanımından etkilenmemiştir (Çizelge 3). Pek çok fermente sosis çeşidinin formülasyonunda yer alan karabiber, piperin ve piperidin içermesi nedeniyle NPIP oluşumunda önemli rol oynamaktadır (De Mey vd., 2017). Sucukta maksimum NPIP seviyesi, Kızılkaya vd. (2023) tarafından 0.95 µg/kg, Özel vd. (2010) tarafından ise 2.71 µg/kg olarak belirlenmiştir. Isıl işlem görmüş sucukta ise daha yüksek değerler rapor edilmiştir (Kaban vd., 2022).

Isıl işlem görmüş sucukta pişirme süresi arttıkça NDMA ve NDEA içerikleri artış göstermiştir. NPIP içeriği ise ısıl işlem uygulaması ile artmış ancak 1 ve 3 dakikalık ısıl işlem süresi açısından istatistiksel bir farklılık belirlenmemiştir (Çizelge 3). Nitrozamin oluşumunda pişirme sıcaklığı ve süresi oldukça önemli faktörlerdir. Pişirmenin etkinliği arttıkça nitrozaminlerin seviyesi artış göstermektedir. Sucuk ve ısıl işlem görmüş sucukta pişirme süre veya pişirme yoğunluğu arttıkça nitrozamin seviyesinin arttığı diğer araştırmalarda da ortaya konulmuştur (Sallan vd., 2019; 2020; Kızılkaya vd., 2023; Yılmaz Oral, 2022)

Mevcut bu araştırmada pazı tozunun nitrozamin oluşumuna etkisi olmadığı gibi pazı tozu kullanımı x pişirme süresi interaksyonu da önemli

bulunmamıştır (Çizelge 3). Bu sonuç, pişirme sırasında da pazı tozunun önemli bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Nitrozamin oluşumunda pişirme yöntemi de önemli bir faktördür. Ülkemizde sucuk ve ısıl işlem görmüş sucuk, tüketim alışkanlıklarından dolayı genellikle ızgara ve mangalda pişirme gibi kuru sıcaklık uygulamalarına tabi tutulmaktadır. Bu araştırma sonuçlarından da görüldüğü üzere pişirme ile nitrozamin seviyesi önemli artışlar gösterebilmektedir. Nitrozamin oluşumunda kullanılan nitrit seviyesinin yanı sıra kalıntı nitrit seviyesi de önemli bir faktördür. Mevcut bu çalışmada tüm gruplara ait kalıntı nitrit miktarları arasında da önemli bir farklılık belirlenmemiştir (Çizelge 1).

Şekil 1'de muamele grupları ile nitrozaminler arasındaki ilişki temel bileşen analizi ile değerlendirilmiştir. İlk iki temel bileşen (PC-1 %97 ve PC-2 %3), varyansın %100'ünü sağlamıştır. Pişirilmemiş gruplar (SN-0dk, SN+PT-0dk ve PT-0dk) PC1'in negatif tarafında yer alırken, 1 ve 3 dakika süre ile pişirilmiş gruplar PC1'in pozitif tarafında yer almıştır. Diğer bir ifade ile PC1, pişirilmiş ve pişirilmemiş grupları birbirinden ayırmıştır. Ayrıca ısıl işlem uygulanmış örnekler NDMA, NDEA ve NPIP ile daha yakın bir korelasyon göstermiştir. Bu sonuçlar, pişirme süresi ile nitrozamin seviyelerinin daha yakın ilişkili olduğunu göstermektedir.



Şekil 1. Muamele grupları ve nitrozaminler arasındaki ilişkinin temel bileşen analizi
Figure 1. Principal component analysis of the relationship between treatment groups and nitrosamines

SONUÇ

Türkiye pazarında önemli bir yere sahip olan ısl işlem görmüş sucuğun üretiminde kürlenme ajanı olarak 150 mg/kg düzeyinde kullanılan sentetik sodyum nitritin yerine pazı tozunun tek başına veya sentetik nitrit ile birlikte (1:1) kullanımının teknolojik açıdan önem arz eden laktik asit bakterileri ve *Micrococcus/Staphylococcus* sayısında önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Pazı tozundan kaynaklanan pH ve TBARS değerlerindeki farklılıklar ürün özelliklerini olumsuz yönde etkileyecek seviyede olmamış ve hatta bazı duyuşsal özellikler olumlu yönde etkilenmiştir. Ayrıca nitrozamin oluşumu açısından önemli bir faktör olan kalıntı nitrit seviyesinde de pazı tozu kullanımı bir farklılığa neden olmamıştır. Pazı tozu, ısl işlem görmüş sucuğun nitrozamin içeriğini de etkilememiştir. Nitrozamin açısından en önemli faktörün hem sentetik nitrit hem de pazı tozu mevcudiyetinde pişirme süresi olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak tüketime hazır bir et ürünü olan ısl işlem görmüş sucuğun pişirilerek tüketilmesinin nitrozamin riskini artırdığı ve bundan dolayı bu ürünlerin ilave bir pişirme olmadan çiğ olarak tüketilmesinin halk sağlığının korunması açısından gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde verdikleri desteklerden dolayı Atatürk Üniversitesi Gıda Analiz Laboratuvarları Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

Armutçu, Ü., Hazar, F.Y., Yılmaz Oral, Z.F., Kaban, G., Kaya, M. (2020). Effects of different internal temperature applications on quality properties of heat-treated sucuk during production. *Journal Food Processing and Preservation*, 44(6):e14455, doi.org/10.1111/jfpp.14455.

Ata, Ş. (2010). Biyolojik, gıda ve çevre örneklerindeki nitrit, nitrat, sekonder amin ve nitrozaminler. Doktora Tezi, Fen Bilimleri

Enstitüsü, Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak, Türkiye.

Babaoğlu, A.S. (2020). Kurutulmuş bazı sebze tozlarının fermente sucuk üretiminde alternatif kürlenme ajanı olarak kullanılabilme imkanları. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, Türkiye, 193 s.

Baumgart, J., Eingener, V., Firnhaber, J., Hildebrandt, G., Reenen Hoekstra, E.S., Samson, R.A., Spicher, G., Timm, F., Yarrow, D., Zschaler, R. (1993). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. (3., aktualisierte und erw.Aufl.), Hamburg, Germany.

Caplice, E., Fitzgerald, G.F. (1999). Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50 (1-2): 131- 149, doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00082-3.

Çakır, M.A., Kaya, M., Kaban, G. (2013). Effect of heat treatment on the volatile compound profile and other qualitative properties of sucuk. *Fleischwirtschaft International*, 5: 69- 74.

Deda, M.S., Bloukas, J.G., Fista, G.A. (2007). Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Science*, 76 (3): 501-508, doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.004.

De Mey, E., De Klerck, K., De Maere, H., Dewulf, L., Derdelinckx, G., Peeters, M.C., Fraeye, I., Heyden, Y.V., Paelinck, H. (2014). The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. *Meat Science*, 96: 821-828, doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.010.

De Mey, E., De Maere, H., Paelinck H., Fraeye, I. (2017). Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13): 2909-2923, doi.org/10.1080/10408398.2015.1078769.

Doolaege, E.H.A., Vossen, E., Raes, K., Meulenaer, B.D., Verhe, R., Paelinck, H., De Smet, S. (2012). Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, color stability and antioxidant

- concentrations, in reduced nitrite liver pates. *Meat Science*, 90 (4): 925-931, doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.11.034.
- Eyiler, E., Öztan, A. (2011). Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. *LWT - Food Science and Technology*, 44 (1): 307-311, doi.org/10.1016/j.lwt.2010.07.004.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek Y., Zorba, Ö. (2010). Et ve ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. Atatürk Üniv. Yayın No:751, Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Zorba, Ö. (2015). *Et Ürünleri İşleme Mühendisliği*. Atatürk Üniversitesi Yayın No:786, Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum.
- Honikel, K.O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78:68-76, doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030.
- Herrmann, S.S., Duedahl-Olesen, L., Granby, K. (2015). Occurrence of volatile and nonvolatile N-nitrosamines in processed meat products and role of heat treatment. *Food Control*, 48:163-169, doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.030.
- Horsch, A.M., Sebranek, J.G., Dickson, J.S., Niebuhr, S.E., Larson, E.M., Lavieri, N.A., Wilson, L.A. (2014). The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice concentrate compared with conventional sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. *Meat Science*, 96 (1): 400-407, doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.07.036.
- Hwang, K.E., Choi, Y.S., Song, D.H., Kim, Y.J., Ham, Y.K., Jeong, J.Y., Kim, C.J. (2016). Use of swiss chard extracts and starter culture as a natural nitrite in cooked pork patty. 62nd International Congress of Meat Science and Technology, 14-19th August 2016, Bangkok, Thailand, 1-3 pp.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (2020) Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-128 (erişim tarihi: 02.12.2022).
- Jo, K., Lee, S., Yong, H.I., Choi, Y.S., Jung, S. (2020). Nitrite sources for cured meat products. *LWT-Food Science and Technology*, 129: 109583, doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109583.
- Kaban, G., Kaya, M. (2008). Identification of lactic acid bacteria and Gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (sucuk). *Journal of Food Science*, 73 (8): 385-388, doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00906.x.
- Kaban, G., Polat, Z., Sallan, S., Kaya, M. (2022). The occurrence of volatile N-nitrosamines in heat-treated sucuk in relation to pH, aw and residual nitrite. *Journal of Food Science and Technology*, 59 (5):1748-1755, doi.org/10.1007/s13197-021-05186-2.
- Kaya, M., Güllüce, M., Kaban, G., Çınar, K., Karadayı, M., Bozoğlu, C., Sayın, B., Alaylar, B. (2015). Geleneksel sucuklardan izole edilen laktik asit bakterisi ve koagülaz negatif stafilocok suşlarının starter kültür olarak kullanım imkânları. TAGEM-13/ARGE/7, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.
- Kaya, M. ve Kaban, M. 2019. Fermente et ürünleri. In: *Gıda Biyoteknolojisi*. N. Aaran (Ed), ss.157- 195, 7. Basım, ISBN: 978-605-133-134-8, Nobel Yayıncılık, İstanbul.
- Kızılkaya, M. F., Oral, Z. F. Y., Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. (2023). Volatile nitrosamines in a dry fermented sausage "sucuk": Occurrence and effect of cooking on their formation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 119: 105284, doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105284.
- Kim, T.K., Hwang, K.E., Song, D.H., Ham, Y.K., Kim, Y.B., Paik, H.D., Choi, Y.S. (2019). Effect of natural nitrite source from Swiss chard on quality characteristics of cured pork loin. *Asian-Australasian of Animal Sciences*, 32(12):1933-1941, doi.org/10.5713/ajas.19.0117.
- Lemon, D.W. (1975). An improved TBA test for rancidity New Series Circular No:51, Halifax Laboratory, Halifax, Nova Scotia.
- Lücke, F.K. (1985). Microbiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken. In: *Microbiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken*. Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, 85-102, Germany.

- NMKL (2000). Nordic Committee of Food Analysis. Nitrite and nitrate in foodstuffs by ion chromatography, no 165.
- Özel, M.Z., Göğüş, F., Yagci, S., Hamilton, J.F., Lewis, A.C. (2010). Determination of volatile nitrosamines in various meat products using comprehensive gas chromatography– nitrogen chemiluminescence detection. *Food Chemical and Toxicology*, 48 (11): 3268- 3273, doi.org/10.1016/j.fct.2010.08.036.
- Öztürk Kerimoğlu, B., Serdaroğlu, M. (2020). Residual nitrite content of heat-treated sucuk as affected by chard powder incorporation and processing. *Gıda*, 45(4): 825 – 835, doi.org/10.15237/gida.GD20064.
- Rywotycki, R. (1998). The concentration of nitrosamines in pasteurized beef ham as influenced by heat treatment and functional additives. *Medycyna Weterynaryjna*, 54(8): 554-557.
- Rywotycki R. (2007). The effect of baking of various kinds of raw meat from different animal species and meat with functional additives on nitrosamine contamination level. *Food Chemistry*, 101 (2): 540-548. doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.012.
- Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. (2019). Nitrosamines in sucuk: Effects of black pepper, sodium ascorbate and cooking level. *Food Chemistry*, 288: 341-346, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.02.129.
- Sallan, S., Kaban, G., Şişik Oğraş, Ş., Çelik, M., Kaya, M. (2020). Nitrosamine formation in a semi-dry fermented sausage: Effects of nitrite, ascorbate and starter culture and role of cooking. *Meat Science*, 159: 1-7. doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107917.
- Sebranek, J.G. and Bacus, J.N. (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*, 77 (1): 136-147, doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025.
- Shin, D.M., Hwang, K.E., Lee, C.W., Kim, T.K., Park, Y.S., Han, S.G. (2017). Effect of Swiss chard (*Beta vulgaris* var. cicla) as nitrite replacement on color stability and shelf-life of cooked pork patties during refrigerated storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(3): 418-428, doi: 10.5851/kosfa.2017.37.3.418.
- Sindelar, J.J., Cordray, J.C., Sebranek, J.G., Love, J.A., Ahn, D.U. (2007). Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. *Journal of Food Science*, 72 (6): 388-395, doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00404.x.
- Sucu, C., Yıldız Turp, G. (2018). The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat Science*, 140: 158-166, doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.012.
- Vanga, S.K., Singh, A., Raghavan, V. (2017). Review of conventional and novel food processing methods on food allergens. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57: 2077-2094. doi.org/10.1080/10408398.2015.1045965.
- Yılmaz Oral, Z. F., Kaban, G. (2021). Effects of autochthonous strains on volatile compounds and technological properties of heat-treated sucuk. *Food Bioscience*, 43: 101140. doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101140.
- Yılmaz Oral, Z.F. (2022). Kereviz tozu kullanımının ısı işlem görmüş sucukta nitrozamin oluşumuna ve ürün özelliklerine etkisi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 94s.
- Yurcenko, S., Mölder, U. (2007). The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chemistry*, 100: 1713-1721, doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.017.
- Wang, Y., Li, F., Zhuang, H., Chen, X., Li, L., Qiao, W., Zhang, J. (2015). Effects of plant polyphenols and α -tocopherol on lipid oxidation, residual nitrites, biogenic amines and N-nitrosamines formation during ripening and storage of dry-cured bacon. *LWT-Food Science and Technology*, 60:199-206. doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.022.



DOĞAL BİYOAKTİF SEBZE ÖZÜTLERİNİN BEZE ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Mehmet Güldane*, Tuba Yağmur, Hande Çetin

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Pamukova Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme
Teknolojileri Bölümü, Sakarya, Türkiye

Geliş/Received: 23.07.2023; Kabul /Accepted: 11.09.2023; Online baskı /Published online: 03.10.2023

Güldane, M., Yağmur, T., Çetin, H. (2023). Doğal biyoaktif sebze özütlerinin beze özelliklerine etkisi. GIDA (2023) 48 (5) 1047-1059 doi: 10.15237/ gida.GD23085

Güldane, M., Yağmur, T., Çetin, H. (2023). Effect of natural bioactive extracts on meringue properties. GIDA (2023) 48 (5) 1047-1059 doi: 10.15237/ gida.GD23085

ÖZ

Bu çalışma kara havuç, kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütleriyle hazırlanan beze hamurlarının köpük özelliklerinin ve nihai ürünün renk, biyoaktif içerik ve duyu özelliklerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Genel olarak, beze formülasyonuna sebze özütlerinin ilavesiyle kontrol örneğinin (T₁) hem köpük kapasitesi hem de köpük stabilitesinde önemli düzeyde iyileşme sağlanmıştır. Nihai üründe, T₂'nin (siyah havuç özütü örneği) 60 gün depolama sonunda renk özelliklerini daha iyi koruduğu belirlendi. Ayrıca, beze örneklerinde T₂'de toplam fenolik madde içeriği ve DPPH radikal süpürme aktivitesi T₁'e kıyasla yaklaşık olarak %63 ve %172 oranında iyileşme sağlanmıştır. T₄'ün (kırmızı pancar özütü örneği) askorbik asit içeriği 36.13 ± 0.17 mg/100 g örnek ile en yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, bezelerin lezzetleri iyileştirilmelidir. Sonuç olarak, beze formülasyonuna siyah havuç (T₂) veya kırmızı pancar (T₄) özütleri ilavesinin ürün özelliklerine olumlu katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır.

Anahtar kelimeler: kara havuç, kırmızı lahana, kırmızı pancar, overrun, köpük stabilitesi, toplam fenolik madde, DPPH

EFFECT OF NATURAL BIOACTIVE EXTRACTS ON MERINGUE PROPERTIES

ABSTRACT

In this study, foam properties of meringue batters prepared with black carrot, red cabbage, and red beetroot extracts and the color, bioactive content, and sensory properties of final product were investigated. In general, addition of the extracts to meringue formulation improved both foam capacity and stability of the control (T₁). T₂ (sample with black carrot extract) was found to maintain color characteristics better even after 60 days of storage. Moreover, total phenolic matter content and DPPH radical scavenging activity of the samples were enhanced by approximately 63% and 172% in T₂ compared to T₁. Ascorbic acid in T₄ (sample with red beetroot extract) was the highest with 36.13 ± 0.17 mg/100 g. However, it can be suggested to improve the taste of the samples. In conclusion, addition of black carrot (T₂) or red beetroot (T₄) extracts to the meringue formulation was proven to contribute positively to the product properties.

Keywords: black carrot, red cabbage, red beetroot, overrun, foam stability, total phenolic matter, DPPH

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: mehmetguldane@subu.edu.tr

☎: (+90) 264 616 0800

☎: (+90) 264 616 0014

Mehmet Güldane; ORCID no: 0000-0001-7321-0496

Tuba Yağmur; ORCID no: 0009-0004-2820-2840

Hande Çetin; ORCID no: 0009-0006-8949-962X

GİRİŞ

Beze; yumurta akı ve şekerin çırpılmasıyla elde edilen köpük formundaki hamurun pişirilmesiyle üretilen bir fırıncılık ürünüdür. Beze basit yapısıyla tiramisü, melek keki, sufle, mus ve makaron gibi ürünler için temel teşkil etmektedir (Özer ve Ağan, 2020). Havalandırılmış bu tarz gıda ürünlerinin en önemli özelliği köpüklü yapılarıyla özel bir tekstüre sahip olmalarıdır. Bu ürünler ayrıca birim hacimlerinde nispeten daha az şeker içerdiklerinden özel diyet uygulamalarında da değerlendirilmektedirler (Campbell ve Mougeot, 1999).

Yüzey aktif madde içeren sıvı ortamın genellikle çırpılması veya püskürtülmesi yoluyla üretilen köpük; bir sıvı faz içerisine değişik boyutlardaki gaz hubblelerinin dağılmasıyla elde edilen termodinamik olarak stabil olmayan bir sistemi tanımlamaktadır. Katı ya da yarı katı gıda ürünlerinde atmosferik hava ürün matrisi içerisinde hapsedilerek havalandırılmış bir ürün yapısı elde edilmektedir. Köpüklü gıda ürünleri üretiminde en çok tercih edilen yüzey aktif madde proteinlerdir. Özellikle yumurta akı proteinleri üreticilerinin ihtiyaç duyduğu köpük özelliklerini sağladıklarından havalandırılmış gıda ürünlerinde yaygın şekilde kullanılmaktadırlar (Güldane ve Doğan, 2020). Son zamanlarda, literatürde yumurta akı proteinlerinin köpürme sıvısında diğer ortam bileşenleriyle etkileşimleri ve/veya bu etkileşimlerin ürün özelliklerine etkisi konusunda araştırmalar yaygınlaşmıştır (Sadahira vd., 2016).

Endüstriyel gıda ürünleri üretiminde gıda ürünlerine renk vermek, işleme süresince azalan rengi tolere etmek ve başka bir renk sağlamak gibi amaçlar doğrultusunda doğal veya sentetik renklendiriciler kullanılmaktadır. Gıda ürünlerinde sentetik renklendiriciler hem maliyet hem de renk sürekliliği için daha çok tercih edilse de tüketicilerin doğal renklendiricilerin kullanıldığı ürünlere eğilimlerinin arttığı bilimsel çalışmalarla tespit edilmiştir. Antosiyaninler, betalainler, karotenoidler ve antosiyanin olmayan fenolik bileşenler insan sağlığı üzerine iyileştirici etkileri olan ve gıda ürünlerinin duyuşal ve besinsel özelliklerini geliştirici etkisi kanıtlanmış en yaygın doğal renk maddeleridir (Özyurt vd., 2019). Gıda

endüstrisinde gıda ürünlerini renklendirmek için antosiyanince zengin doğal meyve ve sebze özütleri yaygın biçimde kullanılmaktadır. Antosiyaninler, genel olarak bitkilerin kırmızıdan mora değişen renklerinden sorumlu flavonoidlerin bir alt grubu olarak kategorize edilmektedir. Doğada 700'den fazla antosiyanin çeşidi saptanmış ve siyanidin en yaygın aglikon olarak rapor edilmiştir (Türker ve Doğan, 2022).

Siyah havuç (*Daucus carota*), kırmızı lahanaya (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*) ve kırmızı pancar (*B. vulgaris var*) ülkemizde yaygın olarak üretilen ve endüstriyel olarak kullanılan sebzelerdendir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, biyoaktif bileşenlerce zengin sebze veya sebze sularının gıda üretiminde kullanımı neticesinde ürünlerin hem besinsel hem de duyuşal özelliklerinde iyileşme sağlandığını ortaya koymuştur. Şemsiyegiller (*Umbelliferae*) familyasından siyah havuç yüksek düzeyde (~100 mg/100 g örnek) antosiyanin içermesi nedeniyle gıda ürünlerinde doğal renk maddesi olarak kullanılmaktadır (Ekici, 2011). Siyah havuç özütü, asidik pH değerlerinde parlak çilek kırmızısı tonunda renk verdiğinden meyve suları ve nektarları, alkolsüz içecekler, konserveler, jöleler ve şekerlemelerin renklendirilmesinde kullanılabilir (Khandare vd., 2010). *Brassicaceae* familyasından kırmızı lahanaya yapısındaki antosiyaninler nedeniyle gıdaların renklendirilmesinde kullanılmaktadır. Kırmızı lahanadan elde edilen antosiyaninler asidik pH'larda kırmızı bazik pH düzeylerinde mavi-yeşil renk vermektedir. Sentetik renklendiricilerin iyi bir alternatifi sayılan kırmızı lahanaya ekstraktlarından içeceklerde, şekerlemelerde ve süt ürünlerinin renklendirilmesinde yararlanılmaktadır (Mol, 2016). Ispanakgiller (*Amaranthaceae*) ailesine ait olan kırmızı pancar ülkemizde özellikle Marmara ve Ege bölgesinde üretilmektedir. Betalain yönünden zengin olan bu sebze ekstraktı özellikle et ürünleri, tatlılar ve şekerleme ürünleri ile süt ürünlerinin renklendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Yeler, 2021). Detaylı literatür araştırması sonucunda siyah havuç, kırmızı lahanaya veya kırmızı pancardan elde edilen biyoaktif özütlerin beze üretiminde kullanımı ve ürün özelliklerine etkisi konusunda herhangi bir

çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile siyah havuç, kırmızı lahana ve kırmızı pancardan mekanik olarak elde edilen sebze özütlerinin beze hamurunun köpük özelliklerine ve üretilen bezelerin renk, biyoaktif içerik ve duyuşal özelliklerine etkilerinin araştırılarak literatürdeki bu eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

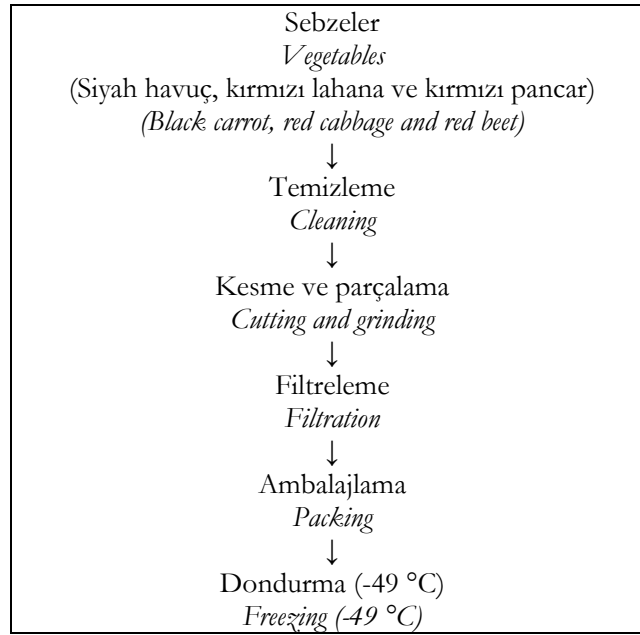
Materyal

Beze yapımında kullanılan siyah havuç, kırmızı lahana ve kırmızı pancar Sakarya Pamukova'daki yerel satıcılardan temin edilmiştir. Pudra şekeri ve ticari yumurta akı tozu Tito, Türkiye'den satın alınmıştır. Sebzeler kirletici maddelerden arındırılmış ve ekstraksiyon işlemine kadar +4 °C'de (Uğur, Türkiye) saklanmıştır. Örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına (22 ± 2 °C) ulaşmaları sağlanmıştır.

Yöntem

Sebze özütlerinin eldesi

Sebze örneklerinden biyoaktif özüt eldesi aşamaları Şekil 1'de verilmiştir. Kirlilik unsurlarından arındırılmış oda sıcaklığındaki kara havuç ve kırmızı pancar örneklerinin kabukları kabuk soyucu vasıtasıyla uzaklaştırılmıştır. Kırmızı lahana örneklerinin dış kısımları ayrılmıştır. Örnekler bir bıçak yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. 160 g örneğin bir Waring blender ile 5 dakika süresince parçalanması sağlanmıştır. Sonrasında örnekler bir muslin bezine aktararak kaba süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Süzüntüler vakum altında kaba filtre kağıdından süzümüştür. Son olarak sebze suları 12 °Briks değerine ayarlanarak temiz bir kahverengi pet şişede -49 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Siyah havuç, kırmızı lahana ve kırmızı pancarın mekanik ekstraksiyonu
Figure 1. Mechanical extraction of black carrot, red cabbage, and red beet

Beze üretimi

Biyoaktif sebze özütlerinin beze hamuru ve ürünü üzerindeki etkilerini gözlemek için pastörize yumurta akı yerine yumurta akı tozu kullanılmıştır. Taze tavuk yumurtası akının %11 düzeyinde protein içerdiği bildirilmiştir (Wouters vd., 2018). Bu nedenle yumurta akı protein tozu, standart

yumurta akı bileşimine eşdeğer su ve/veya sebze sularında çözündürülmüştür. Beze üretim formülasyonları Çizelge 1'de verilmiştir. Buna göre, yumurta akı tozu (22 g) ve pudra şekeri (150 g) su ve/veya sebze suyuna (178 g) yavaşça eklenmiş ve oda sıcaklığında (20 ± 1 °C) iki saat boyunca manyetik bir karıştırıcıda (Heidolph MR,

3001K, UK) 200 rpm'de çözülmüştür. Kontrol örneğinin hazırlanması için distile su kullanılmıştır. Köpük oluşturma çözeltisi daha sonra bir mikser (Kenwood KM070, İngiltere) aktararak 5 dakika süresince "maksimum" hızda çırpılmıştır. Hazırlanan beze hamuru bir krema sıkacağı ile yağlı kâğıt kaplı tepsilere manuel olarak mümkün olduğunca eşit büyüklükte sıkılmıştır.

Beze hamurları, fanlı bir elektrikli fırın (Kumtel, Türkiye) kullanılarak 80 °C'de 180 dakika pişirilmiştir. Sıcak bezeler laboratuvar koşullarında 20 dakika süresince bekletilerek soğutulmuş ve kilitli buzdolabı poşetlerinde serin ve rutubetsiz ortamda muhafaza edilmiştir.

Çizelge 1. Beze üretim formülasyonları
Table 1. Meringue production formulations

Örnek Sample	Siyah havuç (%) Black carrot (%)	Kırmızı lahana (%) Red cabbage (%)	Kırmızı pancar (%) Red beetroot (%)
T ₁	-	-	-
T ₂	100	-	-
T ₃	-	100	-
T ₄	-	-	100
T ₅	50	50	-
T ₆	-	50	50
T ₇	50	-	50
T ₈	33.33	33.33	33.33

(T₁: Kontrol; T₂: Siyah havuç özütü örnek; T₃: Kırmızı lahana özütü örnek; T₄: Kırmızı pancar özütü örnek; T₅: Siyah havuç ve kırmızı lahana özütü örnek; T₆: Kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek; T₇: Siyah havuç ve kırmızı pancar özütü örnek; T₈: Siyah havuç ve kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek)

(T₁: Control; T₂: Sample with black carrot extract; T₃: Sample with red cabbage extract; T₄: Sample with red beetroot extract; T₅: Sample with black carrot and red cabbage extract; T₆: Sample with red cabbage and red beetroot extract; T₇: Sample with black carrot and red beetroot extract; T₈: Sample with black carrot and red cabbage and red beetroot extract)

Beze hamurunun köpük özelliklerinin belirlenmesi

Köpük kapasitesi analizi

Beze hamurlarının köpük kapasitesi overrun (%) değerinin belirlenmesi yoluyla Güldane (2023) tarafından önerilen yöntemle saptanmıştır. Beze üretiminde, mikseleme işleminden sonra beze hamuru örnekleri önceden tartılmış belirli hacimdeki bir petri kabına içerisinde boşluk kalmayacak biçimde doldurulmuş ve petri yüzeyi plastik bir spatula ile düzleştirilerek elektronik bir terazi (Radwag PS 4500, Poland) ile tartılmıştır. Köpük kapasitesi değerleri Eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır:

$$\text{Overrun (\%)} = \frac{(x \text{ mL ön köpürme çözeltisi ağırlığı}) - (x \text{ mL köpük ağırlığı})}{x \text{ mL köpük ağırlığı}} * 100 \quad (1)$$

Köpük stabilitesi analizi

Beze örneklerinin köpük stabilitelerinin değerlendirilmesinde köpüğün yarısının beze

hamuru yapısından uzaklaştırılması için gereken süre (drenaj yarı ömrü) dikkate alınmıştır. Çırpma işleminin hemen ardından örnekler tabanında 3 mm çapında delik açılmış 280 mL hacmindeki plastik polietilen kaplara aktarılmıştır. Analiz boyunca buharlaşma kaybını en aza indirmek için kapakları sıkıca kapatılan plastik kaplar delikler en altta olacak biçimde büret standına 45° açıyla yerleştirilmiştir. Köpük örneklerinin drenajı plastik kapların her 30 dakikada bir tartılmasıyla takip edilmiş ve köpük stabilitesi sonuçları saat olarak verilmiştir (Güldane, 2023).

Bezelerde gerçekleştirilen analizler

Renk

Bezelerin L* (L* 100 beyazlık, L* 0 koyuluk), a* (+a* kırmızılık, -a* yeşillik), b* (+b* sarılık, -b* mavilik) değerleri renk ölçer (3nh, Model NR60CP, Çin) kullanılarak saptanmıştır. Örneklerin kroma (C*) ve hue açısı (H°) değerleri sırasıyla Eşitlik 2 ve Eşitlik 3 kullanılarak hesaplanmıştır. Beze örneklerinin renk stabiliteyi

(ΔE^*) Eşitlik 4 ile üretim sonrası ölçülen değerler (L^*_0, a^*_0, b^*_0) ile 60 günlük depolamadan sonra elde edilen veriler ($L^*_{60}, a^*_{60}, b^*_{60}$) arasındaki renk farklılığı hesaplanarak belirlenmiştir.

$$C^* = \sqrt{a_0^{*2} + b_0^{*2}} \quad (2)$$

$$H^\circ = \tan^{-1}\left(\frac{b_0^*}{a_0^*}\right) \quad (3)$$

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^*_{60} - L^*_0)^2 + (a^*_{60} - a^*_0)^2 + (b^*_{60} - b^*_0)^2} \quad (4)$$

Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu Beze örneklerinden biyoaktif özütlerin hazırlanmasında Michalska-Ciechanowska vd. (2020) tarafından önerilen ekstraksiyon yöntemi modifiye edilmiştir. Kısaca, örnekler Waring blender ile homojenize edildikten sonra 1 g toz örnek ve 25 mL %80 (v/v) metanol bir beher içine aktarılmıştır. Karışım 5 dakika boyunca 200 rpm'de karıştırılmış ve ardından filtre kağıdından (Whatman no:1) süzülmüştür. Süzüntü 10 dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüj cihazıyla (K242R, Centurion Scientific, İngiltere) santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatant beze örneklerinin toplam fenolik madde içeriğini ve antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde (TFM) içeriğinin belirlenmesi

Beze örneklerinin TFM içeriklerinin saptanmasında Singleton vd. (1999) tarafından önerilen modifiye yöntem kullanılmıştır. Kısaca, 40 μ L metanolik ekstrakt ve 2.4 mL distile su bir test tüpüne aktarılmış, üzerine 0.2 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (Merck, Darmstadt, Almanya) eklenerek vortekslenmiştir. Sonrasında, test tüpüne 0.6 mL %20'lik (w/v) Na_2CO_3 (Merck, Darmstadt, Almanya) çözeltisi ve 0.76 mL distile su ilave edilmiştir. Vortekslenen örnekler 2 saat karanlıkta bekletildikten sonra absorbansları 765 nm'de bir spektrofotometre (Shimadzu, UVmini-1240, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin TFM içerikleri, 0-1 mg/mL konsantrasyon aralığındaki gallik asit standart çözeltileriyle hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE)/g beze olarak ifade edilmiştir.

Antioksidan aktivite tayini

Ekstraktların antioksidan aktivite değerleri Bissar ve Ozcan (2022) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Bu amaçla, 300 μ L ekstrakt üzerine 2 mL 0.1 mM DPPH (1.1-difenil-2-pikrilhidrazil) çözeltisi eklenerek vortekslenip 30 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiş ve 517 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Örneklerin DPPH radikal süpürme aktiviteleri (RSA) Eşitlik 5'e göre belirlenmiştir.

$$DPPH(\%) = \left(\frac{A_k - A_0}{A_k}\right) * 100 \quad (5)$$

Burada, $A_k = 0$. dakikada metanolik DPPH çözeltisinin absorbans değeri, $A_0 = 30$. dakikada örnek absorbans değerini ifade etmektedir.

Askorbik asit (AA) içeriğinin belirlenmesi

Beze örneklerinin AA içeriği analizi Hırsıl (2004) tarafından önerilen modifiye bir yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 1 g homojenize beze örneği ve 10 mL oksalik asit çözeltisi (%4, w/v) bir behere aktarılarak manyetik bir karıştırıcı ile 200 rpm'de 5 dakika boyunca karıştırılmıştır. Elde edilen çözelti bir filtre kağıdından (Whatman no:1) süzülmüştür. Analiz için, 1 mL süzüntü ve 9 mL boya çözeltisi (2,6-diklorofenolindofenol Na tuzu) bir test tüpünde karıştırılmıştır. Şahit numune için 1 mL örnek ekstraktı ve 9 mL distile su başka bir test tüpünde karıştırılmıştır. Ölçüm işlemi 518 nm'de şahit numune kullanılarak sıfırlanan bir UV-VIS spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Beze örneklerinin AA içeriği 1-4 mg/100 mL standart askorbik asit çözeltileri kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi denklemi kullanılarak hesaplanmış ve 100 g örnek için mg AA eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Duyusal analiz

Beze örneklerinde tüketici tercihi testi, Pamukova Meslek Yüksekokulu akademik personeli ve öğrencilerinden oluşan 35 yarı eğitimli gönüllü panelist ile gerçekleştirilmiştir. Değerlendiriciler duyusal analiz öncesinde yeniden formüle edilmiş bezeler ve genel terminoloji hakkında bilgilendirilmiştir. Duyusal analiz amacıyla üretilen örneklerde ağırlıkça %2.5 düzeyinde şekerli vanilin kullanılmıştır. Sekiz farklı beze örneği üç basamaklı farklı sayılarla etiketlenmiş

plastik PET bir kap içinde sunulmuştur. Örnekler rastgele sırayla sunulmuş, analiz öncesinde ve tadım arasında su ikram edilmiştir. Panelistlerden numuneleri değerlendirip görünüm, yapı, tat ve kokularını 9 puanlık hedonik bir ölçek (1= hiç beğenmedim ve 9= çok beğendim) kullanarak puanlamaları istenmiştir.

İstatistiksel analiz

Örnekler arasındaki istatistiksel farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki fark $P < 0.05$ olduğunda anlamlı kabul edilmiştir. Tüm veriler Minitab istatistik yazılımı (Version17, Minitab Inc., State College, PA, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Beze hamurunun köpük özellikleri

Kara havuç, kırmızı lahana ve kırmızı pancardan elde edilen biyoaktif ekstrakt, fonksiyonel bezeler üretmek için beze formülasyonunda kullanılmıştır. Bu amaçla, yumurta akı protein tozu yüksek şekerli ortamda biyoaktif çözelti içinde çözündürülmüş ve üretim aşamasında 5 dakika süresince bir mikser ile çırpılmıştır. Böylece, bitkisel ekstraktların beze hamurunun köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi gibi köpürme özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Beze hamuru örneklerinin overrun (%) değerleri 36.78 ± 0.26 ile 47.57 ± 0.07 arasında değişmiştir. Ayrıca, kontrol örneği (T_1) ve sebze ekstraktı içeren beze hamurlarının (T_2 - T_8) köpük kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P < 0.05$). Elde edilen sonuçlara göre, biyoaktif özüt içeren beze hamurları kontrole göre daha yüksek overrun (%) değerlerine sahiptir, ancak en iyi sonuçlar T_2 (kara havuç özütü içeren örnek) ve T_4 (kırmızı pancar özütü içeren örnek) için elde edilmiştir. Bu durum, yumurta akı proteinleri ile sebze proteinleri, fenolik bileşenler ve saponinler gibi biyoaktif bileşenler arasındaki pozitif etkileşimin, hava/su yüzey gerilimini azaltarak köpük kapasitesini iyileştirdiğini göstermektedir. Benzer şekilde, gıda köpüğü oluşumunda peynir altı suyu protein izolatu ve çöven saponini kullanan Güldane ve

Doğan (2022) tarafından daha düşük köpük yoğunluğu değerleri rapor edilmiştir. Güldane (2023), soya proteini izolatının köpürme özelliğini farklı ikame oranlarında peynir altı suyu protein izolatu ile değiştirerek geliştirmiştir. Araştırmacı, en yüksek overrun (%) değerinin 1:1 ikame seviyesinde bulunduğunu belirtmiştir. Bununla birlikte, beze hamuru örneklerinin drenaj yarı ömür değerleri $19.75 \pm 0,50$ dakika ile $46.63 \pm 0,75$ dakika arasında değişmiş, en yüksek stabilite verileri T_2 için kaydedilmiştir. Bununla birlikte, T_2 , T_3 (kırmızı lahana özütü örnek) ve T_5 (kara havuç ve kırmızı lahana özütü örnek) beze hamurlarının stabiliteyi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($P > 0.05$). Beze hamuru stabilite sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, kırmızı pancar özütü haricindeki diğer biyoaktif ekstraktlar, kontrol beze hamurunun stabilitesinde iyileşmeye yol açmıştır. Bu durum fenolik bileşenler ve yumurta akı proteinleri arasındaki sinerjist etkileşimle açıklanabilir. Benzer bulgular sodyum kazeinat-gallik asit (Zhan vd., 2020) ve laktoferrin-tannik asit (Dai vd., 2022) kompleks oluşumları için de rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda köpük stabilitesindeki iyileşme köpük kabarcıklarının artan arayüzey esnekliği ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, T_4 için kırmızı pancar saponini ile yumurta akı protein etkileşimlerinin köpük stabilitesi üzerinde olumsuz etkisi Nooshkam vd. (2022) tarafından bildirilen meyan kökü ekstraktı/peynir proteini izolatu/sodyum aljinat köpük sistemi için de rapor edilmiştir. Bu üçlü sistemde köpük sisteminin reolojik (viskoelastiklik) özellikleri köpük kararlılığı açısından belirleyici olmuştur. Meyan kökü saponini köpük kabarcıklarının arayüzey elastikiyeti üzerine zayıflatıcı bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Nooshkam vd., 2022). Bununla birlikte, Güldane ve Doğan (2022) yaptıkları çalışmada çöven saponini, peynir altı suyu proteinleri ve hidrokoloidlerden oluşan köpük sisteminde biyomolekül konsantrasyonun köpük sistemi özellikleri üzerinde belirleyici etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Böylece, kompleks köpük sistemlerinde optimal bileşen konsantrasyonunun belirlenmesi önem arz etmektedir.

Çizelge 2. Beze hamurlarının köpük özellikleri
Table 2. Foam properties of meringue batters

Örnek Sample	Overrun (%)	Drenaj yarı ömrü (saat) Drainage 1/2 time (hour)
T ₁	36.78 ± 0.26 ^d	21.00 ± 0.25 ^d
T ₂	45.80 ± 0.65 ^a	46.63 ± 0.75 ^a
T ₃	39.82 ± 0.74 ^{cd}	44.56 ± 0.93 ^a
T ₄	47.57 ± 0.07 ^a	19.75 ± 0.50 ^d
T ₅	41.51 ± 0.31 ^{bc}	44.50 ± 0.13 ^a
T ₆	40.91 ± 0.07 ^{bc}	29.00 ± 0.13 ^c
T ₇	44.86 ± 0.18 ^{ab}	35.00 ± 0.50 ^b
T ₈	40.78 ± 0.47 ^{bc}	32.50 ± 0.25 ^b

Sonuçlar ortalama ± standart sapma. a-d aynı sütundaki değerler arasındaki önemli farklılıkları belirtmektedir ($P < 0.05$). (T₁: Kontrol; T₂: Siyah havuç özütü örnek; T₃: Kırmızı lahana özütü örnek; T₄: Kırmızı pancar özütü örnek; T₅: Siyah havuç ve kırmızı lahana özütü örnek; T₆: Kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek; T₇: Siyah havuç ve kırmızı pancar özütü örnek; T₈: Siyah havuç ve kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek)
Values are means ± Standard Deviation. a-d Refers the significant differences between the values in the same column ($P < 0.05$). (T₁: Control; T₂: Sample with black carrot extract; T₃: Sample with red cabbage extract; T₄: Sample with red beetroot extract; T₅: Sample with black carrot and red cabbage extract; T₆: Sample with red cabbage and red beetroot extract; T₇: Sample with black carrot and red beetroot extract; T₈: Sample with black carrot and red cabbage and red beetroot extract)

Köpük kapasitesi ve köpük kararlılığı sonuçları bir bütün olarak değerlendirildiğinde, biyoaktif özüt ilavesinin köpük özelliklerini iyileştirdiği söylenebilir. Fakat, T₂'nin her iki köpük özelliği açısından diğer örneklerden daha yüksek skorlara sahip olduğu belirlenmiştir.

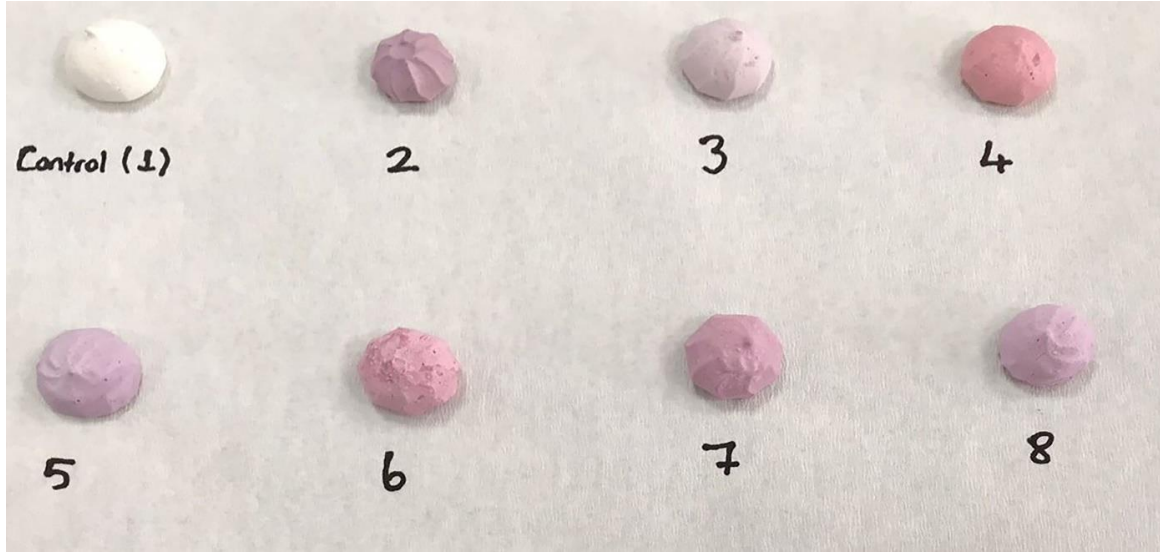
Beze örneklerinin renk özellikleri

Renk tüketici tercihlerini etkileyen önemli bir parametredir. Ticari olarak üretilen bezelerin renklendirilmesi amacıyla ponceau 4R, sunset yellow ve tartrazine gibi bazı sentetik boyalar kullanılmaktadır. Bununla birlikte, sağlıkla ilgili sorunlar nedeniyle doğal renklendiricilere olan talep her geçen gün artmaktadır (Parra-campos ve Ordóñez-santos, 2019). Farklı bitkisel özütlerin bezelerin renk değerlerine (L^* , a^* , b^* , C^* , H° ve renk değişimine (ΔE^*)) etkisi Çizelge 3'de görülmektedir. Bulgular, bezelerin renk özelliklerinin biyoaktif ekstrakt ilavesinden önemli ölçüde ($P < 0.05$) etkilendiğini göstermektedir. Ayrıca, Şekil 2'deki görselden de benzer çıkarımlar yapılabilmektedir. Beze örneklerinin L^* değerleri 70.65±0.79 ile 91.27±0.60 arasında değişmektedir. Biyoaktif ekstraktın beze formülasyonuna dahil edilmesi, kontrole kıyasla önemli ölçüde daha düşük açıklık değerleri ($P < 0.05$) ile sonuçlanmıştır. Ayrıca, a^* değerleri kontrol örneğinin düşük yeşil renge ($-a^*$)

sahip olduğunu, biyoaktif ekstrakt içeren beze örneklerinde ise kırmızı rengin ($+a^*$) baskın olduğunu göstermektedir (Çizelge 3). Ayrıca, T₄ diğer beze örneklerine kıyasla daha kırmızıdır (Şekil 2). Benzer renk farklılıkları -4.13 ± 0.58 ile 9.85 ± 0.64 arasında değişen b^* değerlerinde de gözlenmiştir (Çizelge 3). Kontrol örneğinde (T₁) sarı renk tonu baskınken, biyoaktif özüt içeren diğer örneklerin (T₂-T₈) mavi renk pigmentleri bakımından zengin olduğu görülmüştür (Şekil 2). Beze örneklerinin renk doygunluğu C^* değeri ile ifade edilmiştir. Çizelge 3'de örneklerin C^* değerlerinin 6.67 ± 0.33 ile 14.83 ± 0.16 arasında değiştiğini göstermektedir. Her bir örneğin C^* değeri istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Örnekler arasında T₄ daha yoğun bir renge işaret eden daha yüksek bir kroma değerlerine sahipken, T₃ daha düşük bir kroma değeri göstermiştir. Diğer bir renk özelliği H° renk spektrumunu göstermektedir. En düşük H° T₁ (Kontrol örneği) için 81.49 ± 0.17 olarak saptanırken, T₄ en yüksek H° değerine (352.64 ± 2.38) sahiptir. Bununla birlikte, biyoaktif özütler içeren bezelerin H° değerleri belirli bir renk spektrumu aralığında (mor-kırmızı) değişmektedir (Çizelge 3 ve Şekil 2). Beze örneklerinin renk özellikleri genel olarak değerlendirildiğinde, kontrol örneğinin rengi esasen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarıyla ilişkilendirilebilirken,

biyoaktif özütlerle hazırlanan bezelerin renkleri hem biyoaktif bileşenler hem de Maillard reaksiyonları ve ayrıca biyoaktif bileşiklerin deoksiozonlar, Amadori reaksiyon ürünleri, α -

dikarbonil bileşikleri, Strecker aldehitleri vb. gibi Maillard reaksiyon ürünleriyle etkileşimleriyle açıklanabilmektedir (Han vd., 2022).



Şekil 2. Biyoaktif sebze özütleriyle hazırlanan beze örnekleri
Figure 2. Meringue samples prepared with bioactive vegetable extracts

(T₁: Kontrol; T₂: Siyah havuç özütü örnek; T₃: Kırmızı lahana özütü örnek; T₄: Kırmızı pancar özütü örnek; T₅: Siyah havuç ve kırmızı lahana özütü örnek; T₆: Kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek; T₇: Siyah havuç ve kırmızı pancar özütü örnek; T₈: Siyah havuç ve kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek)
(T₁: Control; T₂: Sample with black carrot extract; T₃: Sample with red cabbage extract; T₄: Sample with red beetroot extract; T₅: Sample with black carrot and red cabbage extract; T₆: Sample with red cabbage and red beetroot extract; T₇: Sample with black carrot and red beetroot extract; T₈: Sample with black carrot and red cabbage and red beetroot extract)

Çizelge 3. Beze örneklerinin renk özellikleri
Table 3. Color properties of meringue samples

Örnek Sample	L*	a*	b*	C*	H°	Renk değişimi (ΔE^*) Color difference
T ₁	91.27 ± 0.60 ^a	-1.47 ± 0.16 ^g	9.85 ± 0.64 ^a	9.93 ± 0.61 ^c	81.49 ± 0.17 ^h	7.80 ± 0.10 ^a
T ₂	70.65 ± 0.79 ^f	7.27 ± 0.52 ^e	-3.76 ± 0.60 ^g	8.19 ± 0.73 ^c	332.77 ± 2.26 ^c	1.85 ± 0.02 ^f
T ₃	81.80 ± 1.45 ^b	6.02 ± 0.20 ^f	-3.08 ± 0.34 ^e	6.77 ± 0.33 ^b	331.71 ± 1.93 ^f	5.03 ± 0.01 ^b
T ₄	74.49 ± 0.77 ^e	14.70 ± 0.17 ^a	-1.90 ± 0.61 ^d	14.83 ± 0.16 ^a	352.64 ± 2.38 ^a	3.71 ± 0.01 ^d
T ₅	71.16 ± 1.03 ^f	6.02 ± 0.41 ^f	-4.13 ± 0.58 ^h	7.31 ± 0.63 ^g	325.70 ± 2.43 ^g	3.08 ± 0.01 ^e
T ₆	76.81 ± 0.38 ^d	10.22 ± 0.48 ^b	-3.40 ± 0.26 ^f	10.77 ± 0.47 ^b	341.74 ± 1.42 ^d	3.93 ± 0.00 ^{cd}
T ₇	70.93 ± 0.78 ^f	8.87 ± 0.36 ^e	-1.59 ± 0.58 ^c	9.01 ± 0.43 ^d	349.96 ± 3.53 ^c	3.95 ± 0.05 ^c
T ₈	79.21 ± 1.30 ^c	7.63 ± 0.36 ^d	-1.21 ± 0.99 ^b	7.78 ± 0.50 ^f	351.36 ± 6.78 ^b	3.74 ± 0.01 ^{cd}

Sonuçlar ortalama ± standart sapma. a-h aynı sütundaki değerler arasındaki önemli farklılıkları belirtmektedir (P < 0.05). (T₁: Kontrol; T₂: Siyah havuç özütü örnek; T₃: Kırmızı lahana özütü örnek; T₄: Kırmızı pancar özütü örnek; T₅: Siyah havuç ve kırmızı lahana özütü örnek; T₆: Kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek; T₇: Siyah havuç ve kırmızı pancar özütü örnek; T₈: Siyah havuç ve kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek)
Values are means ± Standard Deviation. a-h refers the significant differences between the values in the same column (P < 0.05). (T₁: Control; T₂: Sample with black carrot extract; T₃: Sample with red cabbage extract; T₄: Sample with red beetroot extract; T₅: Sample with black carrot and red cabbage extract; T₆: Sample with red cabbage and red beetroot extract; T₇: Sample with black carrot and red beetroot extract; T₈: Sample with black carrot and red cabbage and red beetroot extract)

Doğal renk maddelerinin en önemli sorunlarından birisi çevresel faktörler (ısı, ışık, vb.) nedeniyle işleme ve depolama sırasında spesifik renklerini kaybetmeleridir. Beze örneklerinin renk stabilitesi, depolamanın 0. ve 60. günlerindeki renk değerleri farklılığı hesaplanarak belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Renk stabilitesi değerleri 1.85 ± 0.02 ile 7.80 ± 0.10 arasında değişmekte olup, en düşük renk değişimi değeri en yüksek renk stabilitesine karşılık gelmektedir. T₂ 60 günlük depolama süresince renk açısından en stabil beze olarak saptanmıştır. Bu durum, p-kumarik, ferulik, p-hidroksibenzoik asitler gibi fenolik maddelerle asillenmiş siyah havuç antosiyaninlerinin ısı ve pH gibi çeşitli çevresel etkilere karşı daha kararlı olmasıyla açıklanabilir (Khandare vd., 2010). Genel olarak, biyoaktif özüt içeren beze örnekleri kontrole göre daha yüksek renk stabilitesine sahiptir ($P < 0.05$). Ancak, depolama sonucunda biyoaktif özüt içeren örnekler arasında da renk stabilitesi değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P < 0.05$). Dolayısıyla, biyoaktif bileşenlerin renk stabilitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu sonucuna ulaşılabılır. Renk kararlılığı sonuçları incelendiğinde, biyoaktif bileşiklerin, proteinlerin amino grupları ile indirgen şekerlerin karboksik kısımları arasında meydana gelen Maillard reaksiyonları üzerinde bir şekilde inhibisyon

etkisine sahip olduğu çıkarımı yapılabilmektedir. Biyoaktif maddelerin esmerleşme reaksiyonlarını engelleyici etkileri Han vd. (2022) tarafından ayrıntılı biçimde açıklanmıştır. Bununla birlikte, biyoaktif bileşenlerin antioksidan özellikleri, moleküler bozulma mekanizmasına etkileri ve depolama sırasında yoğunlaşma süreçleri gibi birtakım değişikliklerin de dikkate alınması gerektiği düşünülmektedir.

Beze örneklerinin biyoaktif özellikleri

Polifenoller meyve, sebze ve tahıllar gibi bitkisel kaynaklı gıdalarda doğal olarak oluşan biyoaktif bileşiklerdir (Liu vd., 2023). Sebze özütleri kullanılarak hazırlanan bezelerin TFM içerikleri 35.52 ± 0.28 ile 57.87 ± 0.44 mg GAE/100 g örnek arasında değişmektedir (Çizelge 4). Beze örneklerinden T₂ fenolik bileşiklerce en zengin iken T₁ en düşük TFM içeriğine sahiptir. Ürün formülasyonuna sebze özütleri ilavesiyle T₁'in TFM içeriği önemli oranda yaklaşık olarak %29 ile %63 arasında artırılmıştır ($P < 0.05$). Benzer sonuçlar %5 oranından keçiyoynuzu unu ilave edilen makaron örnekleri için Bissar ve Ozcan (2022) tarafından rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada kontrol makaron örneklerinin TFM içeriği (39.76 mg GAE/100 g örnek) mevcut çalışmaya yakın bulunmuştur.

Çizelge 4. Beze örneklerinin biyoaktif içerikleri

Table 4. Bioactive contents of meringue samples

Örnek Sample	Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/100 g örnek) Total phenolic matter content (mg GAE/100 g sample)	DPPH (%)	Askorbik asit içeriği (mg/100 g örnek) Ascorbic acid content (mg/100 g örnek)
T ₁ *	35.52 ± 0.28^d	31.41 ± 0.19^g	0.94 ± 0.04^h
T ₂	57.87 ± 0.44^a	85.72 ± 0.09^a	24.37 ± 0.03^c
T ₃	49.71 ± 0.60^{ab}	80.08 ± 0.05^c	14.04 ± 0.13^d
T ₄	52.81 ± 0.27^{ab}	82.57 ± 0.08^b	36.13 ± 0.17^a
T ₅	55.43 ± 0.22^{ab}	72.65 ± 0.32^d	9.68 ± 0.00^f
T ₆	54.53 ± 0.36^{ab}	63.66 ± 0.39^e	8.27 ± 0.03^g
T ₇	45.78 ± 0.20^{bc}	72.99 ± 0.18^d	31.16 ± 0.17^b
T ₈	49.84 ± 0.51^{ab}	56.64 ± 0.16^f	12.12 ± 0.13^e

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma. a-h aynı sütundaki değerler arasındaki önemli farklılıkları belirtmektedir ($P < 0.05$). (T₁: Kontrol; T₂: Siyah havuç özütü örnek; T₃: Kırmızı lahana özütü örnek; T₄: Kırmızı pancar özütü örnek; T₅: Siyah havuç ve kırmızı lahana özütü örnek; T₆: Kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek; T₇: Siyah havuç ve kırmızı pancar özütü örnek; T₈: Siyah havuç ve kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek)

Values are means \pm Standard Deviation. a-h refers the significant differences between the values in the same column ($P < 0.05$). (T₁: Control; T₂: Sample with black carrot extract; T₃: Sample with red cabbage extract; T₄: Sample with red beetroot extract; T₅: Sample with black carrot and red cabbage extract; T₆: Sample with red cabbage and red beetroot extract; T₇: Sample with black carrot and red beetroot extract; T₈: Sample with black carrot and red cabbage and red beetroot extract)

Bezelerin antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürme aktivitelerinin (RSA) saptanmasıyla belirlenmiştir. Örneklerin RSA değerleri %31.41 \pm 0.19 ile %85.72 \pm 0.09 arasında değişiklik göstermektedir (Çizelge 4). T₁ test edilen vakalar arasında en düşük RSA değerine sahiptir. Beze formülasyonuna biyoaktif sebze özütleri ilavesiyle DPPH RSA değerinde yaklaşık olarak %172 oranında artış sağlanmıştır. Öte yandan, iki ya da daha fazla bitkisel özütün karıştırılmasıyla üretilen örneklerde (T₅-T₈) tek bir bitkisel özüt kullanılarak üretilenlere (T₂-T₄) göre DPPH-RSA değerlerinde belirgin bir artış olmamıştır. Bununla birlikte, ürün formülasyona su yerine ilave edilen sebze özütlerinin genel olarak bezeler üzerinde güçlü bir antioksidan özellik sağladığı gözlemlenmiştir. Sebze özütüyle hazırlanan bezelerin antioksidan özelliklerinin gelişmiş olması, bezelerin fenolik içeriğinden kaynaklanıyor olabilir.

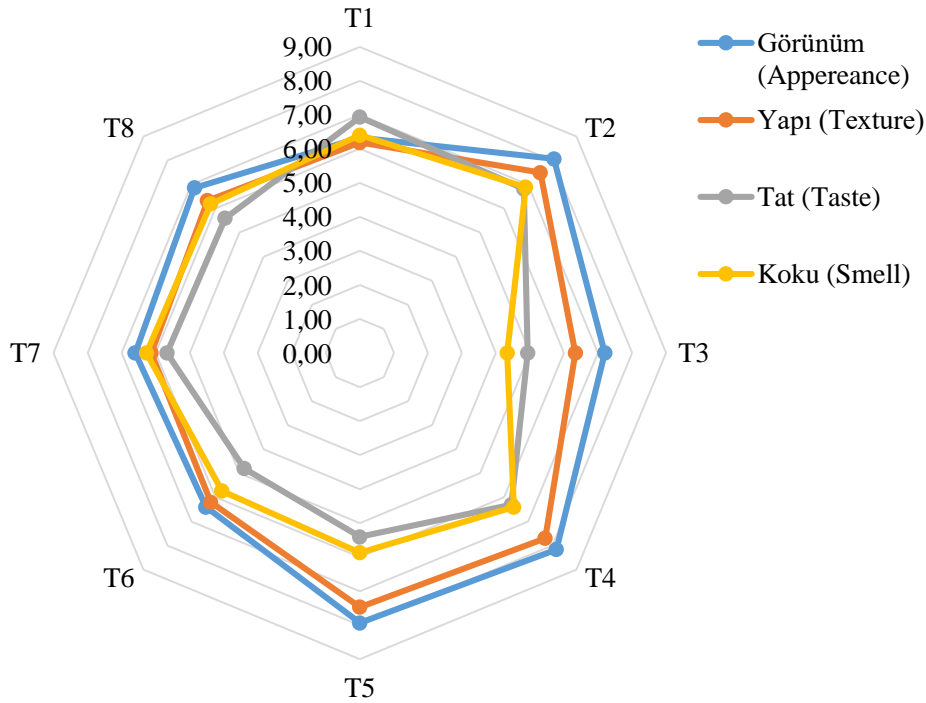
Askorbik asit (AA) bağ dokularının sentezinde rol oynaması, vücuttaki demir emilimini arttırmaya yardımcı olması, insan vücudunu oksidatif stresten koruması ve bir antioksidan olarak işlev görmesi gibi özellikleriyle insan sağlığı açısından elzem öneme sahiptir (Wickramasinghe vd., 2020). Kara havuç, kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütleri kullanılarak üretilen beze örneklerinin AA içerikleri Çizelge 4'de görülmektedir. Beze örneklerinin AA içerikleri 0.94 \pm 0.04 ile 36.13 \pm 0.17 mg/100 g arasındadır ve her bir örneğin AA içeriği istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Örneklerden T₁ en düşük C vitamini içeriğine sahipken T₄'ün en yüksek düzeyde AA içerdiği saptanmıştır. Ayrıca, beze formülasyonuna biyoaktif özüt ilavesiyle T₁'in C vitamini içerikleri önemli düzeyde artırılmıştır.

Bezelerin duyu analizi sonuçları

Üretim formülasyonu yenilenen gıdaların ticari değeri, katma değerli ürünler için kritik bir gösterge olan tüketici tercih testi ile değerlendirilmektedir. Sebze özütleri içeren (T₂-T₈) ve kontrol (T₁) beze örneklerinin duyu analizi sonuçları Şekil 3'te sunulmuştur. Beze örnekleri görünüm, doku, tat ve koku açısından değerlendirilmiştir. Test sonuçlarına göre, tüm

beze örneklerinin görünüm puanları sebze özütü ikamesi ile genel olarak artmıştır. Bunun nedeni, yeniden formüle edilmiş bezelerin kontrol örneğine göre daha çekici renkte olması olabilir (Şekil 2). Şekil 3'te yeniden formüle edilmiş beze örnekleri kontrolden daha yüksek görünüm puanlarına sahipken, T₄ en yüksek görünüm puanına (8.17) sahiptir.

Bir gıda maddesinin yapısal özelliği tüketici tercihi için önemli bir parametredir. Bu çalışmada, panelistler T₇ (siyah havuç ve kırmızı pancar özütü örneği) ile üretilen beze örneğine en düşük doku puanını verirken (6.13), T₄ en yüksek doku puanına (7.70) sahip olmuştur. Değerlendiriciler en düşük lezzet puanını T₆'ya (kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örneği) verirken (4.80), sebze suyu içermeyen T₁ en yüksek lezzet puanına (6.93) sahip olmuştur. Sebze suyu ilavesinin bezelerin tat profiline etkisi daha ayrıntılı biçimde çalışılması önerilmektedir. Koku, tüketicinin ürün tercihi üzerinde doğrudan etkisi olan önemli bir duyu parametredir. Örnekler arasında T₂ en yüksek koku skoru (6.89) almıştır. Beklendiği gibi, beze formülasyonunda sadece kırmızı lahana kullanımı (T₃) en düşük koku skoruna (4.33) neden olmuştur. Bu durum, duyu analiz amacıyla kullanılan vanilyanın yetersizliğiyle ilişkilendirilebilir. Bundan dolayı, beze örneklerinde genel olarak yumurta akı tozu ve sebze özütlerinden kaynaklanan duyu kusurlarının giderilmesi amacıyla üretimde kullanılacak vanilya miktarının da optimize edilmesi gerekmektedir.



Şekil 3. Biyoaktif sebze özütleri içeren bezelerin duysal puanlama sonuçları
Figure 3. Sensory score results for meringue samples containing bioactive vegetable extracts

(T₁: Kontrol; T₂: Siyah havuç özütü örnek; T₃: Kırmızı lahana özütü örnek; T₄: Kırmızı pancar özütü örnek; T₅: Siyah havuç ve kırmızı lahana özütü örnek; T₆: Kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek; T₇: Siyah havuç ve kırmızı pancar özütü örnek; T₈: Siyah havuç ve kırmızı lahana ve kırmızı pancar özütü örnek)
(T₁: Control; T₂: Sample with black carrot extract; T₃: Sample with red cabbage extract; T₄: Sample with red beetroot extract; T₅: Sample with black carrot and red cabbage extract; T₆: Sample with red cabbage and red beetroot extract; T₇: Sample with black carrot and red beetroot extract; T₈: Sample with black carrot and red cabbage and red beetroot extract)

SONUÇ

Bu araştırma, beze üretiminde kullanılmak üzere ekstrakte edilen bitkisel özütlerin ürün kalitesi üzerine potansiyelini ortaya koymuştur. Genel olarak, elde edilen sebze suları hem bezenin köpük özelliklerini hem de nihai ürün özelliklerini iyileştirmiştir. Özellikle kara havuç ve kırmızı pancar özütleriyle üretilen örneklerde sadece renk özellikleri değil biyoaktif özellikler ve duysal özellikler de geliştirilmiştir. Diğer taraftan, bitkisel özütler arasında test edilen özellikler için sinerjistik etkileşim görülmemiştir. Ayrıca, biyoaktivitesi artırılmış ürünlerin lezzet özelliklerinin de iyileştirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, bitkisel özütlerin farklı konsantrasyonları denenerek ürün kalite özelliklerinin optimize edilmesi önerilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Bu çalışmada Mehmet GÜLDANE, çalışmanın kurgulanması, çalışma sonuçlarının düzenlenerek yorumlanması ve makale yazımında görev almıştır. Tuba YAĞMUR çalışma analizlerinin gerçekleştirilmesinde ve Hande ÇETİN çalışmanın planlanmasında katkıda bulunmuşlardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tübitak 2209-A tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Bissar, S., Ozcan, M.M. (2022). Determination of quality parameters and gluten free macaron production from carob fruit and sorghum. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 27: 100460, doi: 10.1016/j.ijgfs.2021.100460
- Campbell, G.M., Mougeot, E. (1999). Creation and characterisation of aerated food products. *Trends in Food Science & Technology*, 10: 283–296, doi: 10.1016/S0924-2244(00)00008-X
- Dai, T., McClements, D.J., Hu, T., Chen, J., He, X., Liu, C., Sheng, J., Sun, J. (2022). Improving foam performance using colloidal protein–polyphenol complexes: Lactoferrin and tannic acid. *Food Chemistry*, 377: 131950, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131950
- Ekici, L. (2011). Üzüm Kabuğu, siyah havuç ve kırmızı lahanadan ekstrakte edilen antosiyanin bazlı renk maddelerinin biyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve bazı gıda maddelerinde renklendirici olarak kullanımı. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Kayseri, Türkiye, 249 s.
- Güldane, M. (2023). Optimizing foam quality characteristics of model food using Taguchi-based fuzzy logic method. *Journal of Food Process Engineering*, 46(8): e14384, doi: 10.1111/jfpe.14384
- Güldane, M., Dogan, M. (2022). Multi-response optimization of process parameters of saponin-based model foam using Taguchi method and gray relational analysis coupled with principal component analysis. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46: 1–14, doi: 10.1111/jfpp.16553
- Güldane, M., Doğan, M. (2020). Köpük helva üretim parametrelerinin renk ve yoğunluk özelliklerine etkisi: Taguchi matematiksel model optimizasyonu. *GIDA*, 45: 1248–1260, doi: 10.15237/gida.gd20089
- Han, Z., Zhu, M., Wan, X., Zhai, X., Ho, C. (2022). Food polyphenols and Maillard reaction: regulation effect and chemical mechanism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0: 1–17, doi: 10.1080/10408398.2022.2146653
- Hışıl, Y. (2004). *Enstrümental gıda analizleri laboratuvar deneyleri*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın no:45, Bornova, İzmir.
- Khandare, V., Walia, S., Singh, M., Kaur, C. (2010). Food and bioproducts processing black carrot (*Daucus carota* ssp . *sativus*) juice : Processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing*, 89: 482–486, doi: 10.1016/j.fbp.2010.07.007
- Liu, W., Cui, X., Zhong, Y., Ma, R., Liu, B., Xia, Y. (2023). Phenolic metabolites as therapeutic in inflammation and neoplasms : Molecular pathways explaining their efficacy. *Pharmacological Research*, 193: 106812, doi: 10.1016/j.phrs.2023.106812
- Michalska-Ciechanowska, A., Majerska, J., Brzezowska, J., Wojdylo, A., Figiel, A. (2020). The influence of maltodextrin and inulin on the physico-chemical properties of cranberry juice powders. *Chemical Engineering*, 4: 1–12, doi: 10.3390/chemengineering4010012
- Mol, Z. (2016). Kırmızı lahanada (brassica oleracea l.)’dan ekstrakte edilen antosiyaninler ile doğal mavi renk maddesi üretimi ve enkapsülasyon tekniği ile stabilitesinin artırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Samsun, Türkiye, 73 s
- Nooshkam, M., Varidi, M., Alkobeisi, F. (2022). Bioactive food foams stabilized by licorice extract/whey protein isolate/sodium alginate ternary complexes. *Food Hydrocolloids*, 126: 107488, doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107488
- Özer, Ç., Ağan, C. (2020). The influence of aging egg on foaming properties of different meringue types. *Journal of Culinary Science and Technology*, 00: 1–10, doi: 10.1080/15428052.2020.1790073
- Özyurt, V.H., Saralı, H., Ötleş, S. (2019). Betalain ekstraktlarının gıdalarda kullanım olanakları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25: 864–870, doi: 10.5505/pajes.2019.03592
- Parra-campos, A., Ordóñez-santos, L.E. (2019). Natural pigment extraction optimization from coffee exocarp and its use as a natural dye in

- French meringue. *Food Chemistry*, 285: 59–66, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.158
- Sadahira, M.S., Rodrigues, M.I., Akhtar, M., Murray, B.S., Netto, F.M. (2016). Effect of egg white protein-pectin electrostatic interactions in a high sugar content system on foaming and foam rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 58: 1–10, doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.02.007
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152–178, doi: 10.1016/j.scienta.2016.11.004
- Türker, D.A., Doğan, M. (2022). Ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent extraction of anthocyanin from black carrots: Optimization, cytotoxicity, in-vitro bioavailability. *Food and Bioprocess Processing*, 132: 99–113, doi: 10.1016/j.fbp.2022.01.002
- Wickramasinghe, Y.W.H., Wickramasinghe, I., Wijesekara, I. (2020). Effect of steam blanching, dehydration temperature & time, on the sensory and nutritional properties of a herbal tea developed from *Moringa Oleifera* leaves. *International Journal of Food Science*, doi: 10.1155/2020/5376280
- Wouters, A.G.B., Rombouts, I., Fierens, E., Brijs, K., Blecker, C., Delcour, J.A., Murray, B.S. (2018). Foaming and air-water interfacial characteristics of solutions containing both gluten hydrolysate and egg white protein. *Food Hydrocolloids*, 77: 176–186. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.09.033
- Yeler, H.B. (2021). Kırmızı pancar ve üzüm kabuğundan farklı ekstraksiyon koşullarında boyar madde üretimi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Denizli, Türkiye, 121 s
- Zhan, F., Hu, J., He, C., Sun, J., Li, J., Li, B. (2020). Complexation between sodium caseinate and gallic acid: Effects on foam properties and interfacial properties of foam. *Food Hydrocolloids*, 99: 105365, doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105365

SICAK HAVA FRİTÖZÜ VE DERİN YAĞDA KIZARTMA TEKNİĞİ İLE KIZARTILMIŞ GIDALARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Ayşe Bal*, Erdoğan Küçüköner

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

Geliş / Received: 24.07.2023; Kabul / Accepted: 05.10.2023; Online baskı / Published online: 07.10.2023

Bal, A., Küçüköner, E. (2023). Sıcak hava fritözü ve derin yağda kızartma tekniği ile kızartılmış gıdaların karşılaştırılması. GIDA (2023) 48 (5) 1060-1070 doi: 10.15237/ gida.GD23086

Bal, A., Küçüköner, E. (2023). Comprasion of foods fried by air frying and deep fat frying. GIDA (2023) 48 (5) 1060-1070 doi: 10.15237/ gida.GD23086

ÖZ

Son yıllarda insanların sağlıklı ve enerji değeri düşük gıdalar tüketme eğilimi göstermesi yeni pişirme tekniklerinin gelişmesine yol açmıştır. Sıcak hava fritözü son 10 yılda ortaya çıkan, tüketiciler tarafından kabul görmüş bir pişirme cihazıdır. Bu cihazlar klasik kızartma tekniklerine oranla daha az yağ ilavesi ile kızartma işlemine olanak sağlamaktadır. Bu sayede derin yağda kızartmaya kıyasla enerji değeri ve yağ oranı daha düşük gıdalar elde edilebilmektedir. Derin yağda kızartma tekniği en eski pişirme tekniklerinden biri olmasına rağmen pişirilen ürünün yüksek oranda yağ içermesi ve proses sırasında gıdada bazı istenmeyen bileşenler (akrilamid vb.) oluşumuna sebep olması nedeniyle tüketiciler tarafından çekinceye sebep olabilmektedir. Son yıllarda sağlıklı beslenmeye olan ilginin artması da bu tarz gıdaların tüketiminin sınırlanmasına sebep olmaktadır. Bu derlemenin amacı sıcak hava fritözü ve derin yağda kızartılan gıdalara yönelik yapılmış çalışmaların incelenerek elde edilen fiziksel, kimyasal, duyuşsal niteliklerin literatür verileri doğrultusunda açıklanmasıdır.

Anahtar kelimeler: Sıcak hava fritözü, derin yağda kızartma, akrilamid, kızartılmış gıdalar

COMPRASION OF FOODS FRIED BY AIR FRYING AND DEEP FAT FRYING

ABSTRACT

In recent years, people's tendency to consume healthy and low energy foods has led to the development of new cooking techniques. The air fryer is a consumer-accepted cooking appliance that has emerged in the last 10 years. These devices allow frying with less oil addition compared to conventional frying techniques. In this way, foods with lower energy value and fat content can be obtained compared to deep fat frying. Although deep fat frying is one of the oldest cooking techniques, it can cause hesitation by consumers due to the high fat content of the cooked product and the formation of some undesirable components (acrylamide, etc.) in the food during the process. The growth of interest in healthy eating in recent years has also led to a limitation in the consumption of such foods. The aim of this review is to examine the studies on air fried and deep fried foods and to explain the physical, chemical and sensory qualities obtained in line with the literature data.

Keywords: Air fryer, deep fat frying, acrylamide, fried foods

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉:aysebal@baka.gov.tr

☎:0(246) 224 37 37

Ayşe Bal; ORCID no: 0009-0000-0083-9613

Erdoğan Küçüköner; ORCID no: 0000-0001-9259-4800

GİRİŞ

Gıdaların tercih edilirliğinde lezzeti ve albenisinin yanı sıra enerji değeri, besleyiciliği, fonksiyonelliği, insan sağlığına etkisi gibi etmenler de önemli rol oynamaktadır. Değişen yaşam tarzı ve beraberinde insanların sağlık konusundaki endişeleri beslenme alışkanlıklarının da değişmesine yol açmaktadır. Dünyada kızartılmış gıdaların tüketiminin artması neticesinde kızartma işlemi gıda endüstrisinde de oldukça yaygın hale gelmiştir. Kızartılmış gıdalar ev içi tüketimde ve yemekhane, restoran vb. dış ortamlarda sıklıkla tüketilen gıdalardandır. Kızartma teknikleri arasında en yaygın olarak kullanılan teknik derin yağda (daldırarak) kızartmadır (Boz, 2022). Bu teknik gıdanın 150-200 °C'deki sıcaklıktaki yağa daldırılması ve istenilen süre boyunca kızartılması ile uygulanır (Manjunatha vd., 2014). Kızartma yağı gıdanın tekstürünü geliştiren, yağlı hisse sebep olan ve diğer aromaları destekleyen bir ısı transferi gerçekleşmesine katkı sağlamaktadır (Frakolaki vd., 2023). Bu esnada meydana gelen ana fizikokimyasal tepkimeler; nişasta jelatizasyonu, proteinlerin denatüre olması, esmerleşme, kabuk oluşumu ve aroma değişimidir (Tzompa-Sosa vd., 2022). Bu işlem esnasında gıda, yüksek miktarda yağ emmektedir. 2003 yılında Mellema tarafından ön işlem yapılmadan gerçekleştirilen kızartma neticesinde, patates cipsinin mevcut ağırlığının 1/3'ü kadarına karşılık gelecek miktarda yağı içine aldığı belirtilmiştir (Mellema, 2003).

Yüksek yağlı beslenmenin olumsuz etkileri tüketicileri besleyiciliği yüksek, güvenli gıdaları bulma eğilimine yönlendirmiştir. Bu arayış da yağ oranı azaltılmış kızarmış gıda üretimine olanak veren pişirme tekniklerinin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır (Giovanelli vd. 2017; Lartey vd. 2018). Bu sayede geliştirilen yenilikçi kızartma tekniklerinden biri sıcak hava ile kızartma (air frying) teknolojisidir. Bu teknikte gıdalar az miktarda yağ kullanılarak veya hiç kullanmadan yüksek hızlı hava sirkülasyonu neticesinde pişirilir. Sıcak hava fritözü ile pişirilen gıdaların albenisi; duyu özellikleri ve pişme işlemi neticesinde ortaya çıkan karakteristik niteliklerine bağlı olarak değişir (Santos vd., 2017).

KIZARTMA

Kızartma yıllardır bilinen ve tüm dünyada kullanılan pişirme tekniklerinden biridir. Sebze, meyve, hamur, tavuk, kırmızı et, balık gibi birçok ürün çeşidi bitkisel yağlar kullanılarak lezzetli bir tüketim gıdası haline dönüşmektedir. Kızarmış bir gıdanın kuru, gevrek kabuk ve yumuşak iç dokuya sahip olması kızartılmış yiyeceklerin albenisinin en önemli nedenlerinden biridir (Mellema, 2003).

Genel olarak kızarmış gıdalar ürünün yaklaşık %35-44'ü oranında oldukça yüksek bir yağ içeriğine sahiptir (Terruel vd. 2015). Bu yöntem pişen gıdanın tadı nedeniyle insanlar tarafından sıklıkla tercih edilse de kızarmış yiyeceklerin yüksek yağ içeriğinin; kanser, kalp rahatsızlıkları, obezite, diyabet ve yüksek tansiyon gibi sağlık problemlerine yol açabileceği bilinmektedir (Mesias vd., 2021). Bunun yanı sıra kızartma işlemi esnasında yüksek sıcaklık uygulaması; akrilamid oluşumu, yağ oksidasyonu, besin maddesi kaybı gibi istenmeyen durumlara sebep vermektedir (Heredia vd., 2014). Bu nedenle; yağ içeriği, bileşimi ve genel kalite parametreleri açısından optimize edilmiş kızarmış yiyeceklere ihtiyaç duyulmaktadır.

Kızartılmış gıdalar, derin yağda kızartma, vakum altında kızartma, tavada kızartma, sıcak havada kızartma gibi farklı kızartma teknikleri kullanılarak üretilebilir.

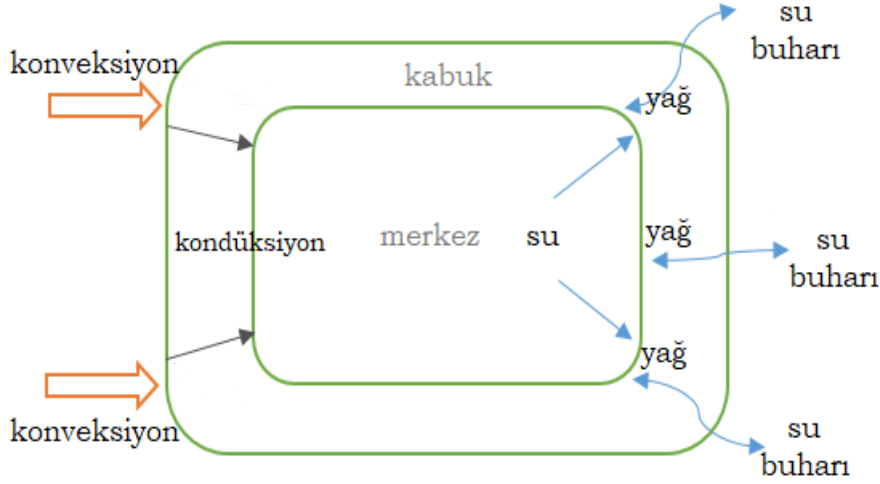
Derin Yağda Kızartma

Atmosferik kızartma veya daldırılmalı kızartma olarak da bilinen derin yağda kızartma işlemi, gıdaların 150 ila 200°C arasında değişen sıcaklıklarda yağa batırılması ile gerçekleştirilen evsel ve ticari kullanıma uygun bilindik bir gıda pişirme tekniğidir. Kızartma işleminin kısa sürede gerçekleştiği bu teknikte uniform, istenilen yapı, renk ve aromaya sahip albenisi yüksek gıdalar ortaya çıkmaktadır (Safari vd. 2018).

Kızartma işlemi esnasında ısı transferi ve kütle transferi bir arada gelişmektedir. İlk aşamada konveksiyon (taşınım) sayesinde yağdan ürünlerin yüzeyine doğru iletilen ısı kondüksiyon (iletim) yolu ile ürün yüzeyinden ürünün merkezine taşınmaktadır (Huang vd., 2022). Kütle transferi

gıdadaki nemi yağa, yağı da gıdaya taşıması açısından oldukça önemlidir. Bunun neticesinde meydana gelen gıdadaki su kaybı ve yağ emilimi tüketicinin kızartılmış gıdalarda arzu ettiği tat, altın renge sahip olma, gevreklik gibi duyuşal

özelliklerin oluşumunu sağlar (Chang vd. 2020). Derin yağda kızartma esnasında gıdadaki meydana gelen ısı ve kütle transferi Şekil 1.'de gösterilmektedir.



Şekil 1. Kızartma esnasında gıdadaki meydana gelen ısı ve kütle transferinin şematik gösterimi

Derin yağda kızartma tekniğinde işlem dört aşamalı olarak gerçekleşmektedir. Bu aşamalardan ilki gıdanın yağa daldırılması ile gıda yüzey sıcaklığının suyun kaynama noktasına ulaşmasına kadar sürdüğü ilk ısıtma işlemidir (Safari vd., 2018). Isı transferi bu aşamada konveksiyon yolu ile gerçekleşmektedir. İkinci aşamada ise (yüzey kaynaması), yağda girdap oluşumu ısı transferinin zorlamalı konveksiyon haline dönüşmesine neden olmaktadır (Al Faruq vd., 2022). Gıdanın iç sıcaklığının kaynama noktasına yükselmesi ile yüzeyde kabuk oluşumu ve kalınlaşması gerçekleşirken nem kaybı ve kabarcıklanma oranı düşmektedir. Bu şekilde gerçekleşen üçüncü aşamada ayrıca gıdadaki protein denatürasyonu ve nişasta jelatinizasyonu gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlar gerçekleşmektedir. Kabarcıklanma ve buhar çıkışının görülmediği dördüncü aşama ile kızartma prosesi tamamlanmaktadır (Safari vd. 2018).

Kızartma yağının kalitesi ve stabilitesi derin yağda kızartma işlemi açısından çok önemlidir (Cui vd. 2017). Kızartma işlemi için kullanılan yağlar, non-hidrojene sıvı ve katı yağlar veya kızartma işlemine uygun özel hidrojene yağlar olabilir. Sıvı olarak

genelde; ayçiçek, mısır, palm oleini, soya fasulyesi, aspir, yer fıstığı, pamuk tohumu, kanola ve kolza tohumu yağı gibi rafine edilmiş, kokusu giderilmiş ve ağartılmış yağlar kullanılmaktadır. Palm stearini, hindistan cevizi yağı, palm çekirdeği yağı gibi katı yağlar da kızartma yağı olarak kullanılabilir (Ghidurus, 2010).

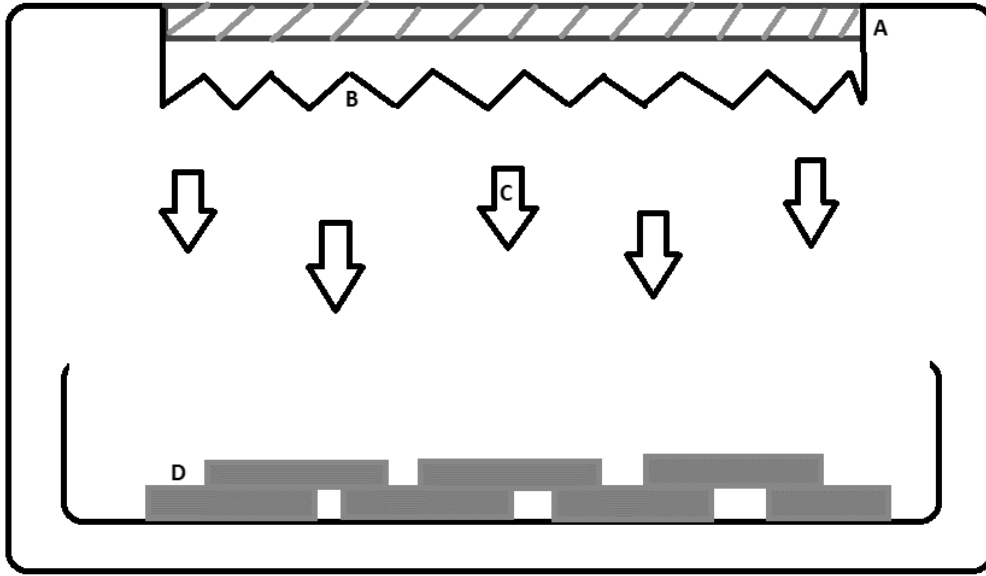
Kızartma sırasında yağ emilimi; gıdanın nem içeriği, dış yüzeyi, geometrisi, kızartma süresi, sıcaklığı, yağın çeşidi, yağın bozulması, kızartma öncesi ve sonrası işlemler gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Dehghannya ve Ngadi, 2021). Kızartma işlemi bitiminde soğuma evresinde de yağ emilimi gıda kabuğunda devam etmektedir (Arslan vd. 2018). Buharlaşmalı soğuma kaynaklı gerçekleşen vakum etkisiyle gıdanın iç basıncı düşmekte ve oluşan su yoğunlaşması ile gıda yüzeyinde yağ emilimi gerçekleşmektedir. Ayrıca drenaj esnasında da yağ emilimi gerçekleşir (Lumanlan vd., 2020).

Sıcak Hava ile Kızartma (Air Frying)

Sıcak hava ile kızartma, çok az yağ içeren veya hiç yağ içermeyen kızartmış yiyecekler üretebilmesi ile geleneksel kızartma işlemine alternatif kabul

edilen yenilikçi ve dikkat çekici bir pişirme tekniğidir. Yağ içeriği az, kızartılmış gıdalara benzer doku ve lezzete sahip gıdalar pişirmek için en yaygın kullanılan tekniklerden biridir (Castro-Lopez vd., 2023). Bu teknikte sıcak hava sirkülasyonu sayesinde yağ damlacıkları ve pişirme haznesindeki gıdanın etkileşmesi neticesinde kızartma işlemi gerçekleşir (Andrés vd., 2013).

140 °C ve daha yüksek sıcaklıklar uygulanabilen bu proseste daha kısa sürede besin öğeleri ve fenolik bileşiklerin korunması için hava sirkülasyonu daimi gerçekleşmektedir (Nandasiri vd., 2023). Sıcak hava fritözüne ait şematik diyagram Şekil 2’de gösterilmektedir.



Şekil 2. Sıcak Hava Fritözünün şematik diyagramı A: Fan, B: Isıtıcı Rezistans, C: Sıcak Hava, D: Gıda

Sıcak hava fritözünün ilk piyasaya sürülmesi Hollandalı şirket Philips tarafından 2010 yılında gerçekleştirilmiştir. Tanıtımda ürünün ana amacı geleneksel kızartmaların daha sağlıklı şekilde pişirmek olarak açıklansa da yıllar içerisinde bu ürünler birçok kullanım amacına hizmet eder hale gelmiştir. Günümüzde satışı yapılan birçok sıcak hava fritözü kızartmanın yanı sıra ızgara, közleme, hamur işleri pişirme, buharlı pişirme gibi ek özelliklere sahiptir. İngiltere’de 2022 yılında yapılan bir çalışmada son iki yılda ülke genelinde 25 milyondan fazla sıcak hava fritözü satışı gerçekleştiği belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada bu pazarın 5 yıl içinde %66 büyümesinin beklendiğine dikkat çekilmiştir (Stratview Research, 2022). Kullanımın yaygınlaşması neticesinde bu alanda bilimsel çalışmaların da artmasına sebep olmaktadır. Çizelge 1’de sıcak hava fritözü ile kızartılmış gıdalara yönelik

gerçekleştirilen çalışmalar ve bu çalışmalarda kullanılan gıdalara yer verilmiştir.

Sıcak hava fritözünde kızartma esnasında fırına benzer şekilde sıcak hava akımı ile sepette bulunan gıdanın yüzeyi eşit olarak ısıtılır. Yağ damlacıklarını içeren buğu doğrudan fritöz sepetinin içindeki gıdanın etrafında sürekli hareket edecek şekilde tasarlanmıştır. Bu sayede ısınmanın etkisiyle su buharlaşır ve yüzeyde yavaş yavaş bir kabuk oluşur (Paster, 2019; Joshy vd., 2020). Cihazın yüksek hava üfleme hızı ve havayı hareket ettiren fan sayesinde pişirme süresi, cihaz ısınma süresi geleneksel fırınlara göre daha kısa olup enerji tüketimi de daha düşüktür. Bunun yanı sıra küçük, kompakt olması, çevreye daha az ısı vermesi ve daha hızlı hava hareketi sayesinde daha gevrek kızartmalara olanak sağlaması ile fırınlardan ayrılmaktadır (Paster, 2019; Pitre, 2019; Wang vd. 2022).

Çizelge 1. Sıcak Hava Fritözü ile Kızartılmış Bazı Gıdalar (Tellez-Morales 2023)

No	Gıda	Kaynak
1	Bisküvi	Fang vd. (2022)
2	Brokoli	Hong vd. (2022)
3	Deniz Tarağı	Wang vd. (2023)
4	Domuz Göbeği	Kwon vd. (2023)
5	Donut	Ghaitaranpour vd. (2020)
6	Falafel	Fikry vd. (2021)
7	Havuç	Schmiedeskamp vd. (2022)
8	Kalamar	Luo vd. (2022)
9	Karides	Song vd. (2020)
10	Kalkuyruk Balığı	Ding vd. (2022)
11	Kırmızı soğan	Cattivelli vd. (2023)
12	Levrek fileto	Joshu vd. (2020)
13	Omlet	Oliveira vd. (2022)
14	Orkinos fileto	Negara vd. (2021)
15	Patates	Andrés vd. (2013), Heredia vd. (2014), Teruel vd. (2015), Giovanelli vd. (2017), Santos vd. (2017), Ciccone vd. (2020), Gouyo vd. (2020), Haddarah vd. (2021), Dang vd. (2022), Verma vd. (2023); Bachir vd. (2023)
16	Patlıcan	Salamatullah vd. (2021)
17	Samosa Böreği	Pande Snehal vd. (2018)
18	Sturgeon biftek	Liu vd. (2022)
19	Surimi (Balık Sosisi)	Yu vd. (2020)
20	Tatlı Patates	Abd Rahman vd. (2016), Ulus ve Allen (2020), Mokhtar ve Thow (2022)
21	Tavuk göğüs ve kanat	Lee vd. (2020)
22	Tavuk Nugget	Cao vd. (2020); Castro-López vd. (2023)
23	Tilapia Balığı	Fang vd. (2021), Fang vd. (2023), Wang vd. (2022)
24	Turpgiller	Nandasiri vd. (2023)

Çeşitli Kızartma Tekniklerinin Gıdanın Kalite Parametreleri ve Gıda Güvenliği Üzerine Etkisini İnceleyen Araştırmalar

Derin yağda kızartma ve sıcak hava fritözü ile kızartılmış gıdaların duyuşal özelliklerinde yağ alımı hızı, ısı kinetiği, madde taşıma süreçlerinden kaynaklı farklılıklar olmaktadır (Salamatullah,

2021). Sıcak hava fritözünde kızartılan gıdalar daha kabarık ve kuru görünümüne sahip olmakla beraber ağızda daha kuru bir his bırakmaktadır (Wang, 2021). Teruel vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada iki yöntemle kızartılmış patatesler duyuşal yönden karşılaştırılmış ve panelistler derin yağ ile kızartılan patateste,

kızartma kokusu alırken; sıcak hava fritözünde kumpir kokusu aldıklarını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada ürünlerin ağızda bıraktığı hissin de derin yağda kızartılarda daha yağlı bir his iken sıcak hava fritözü ile kızartılarda daha unlu his olduğu belirtilmiştir. Gouyo vd. (2020) tarafından derin yağda ve sıcak hava fritözünde kızartılmış patates kızartmasının doku özelliklerinin mekanik ve akustik açıdan karşılaştırılması için enstrümantal bir yöntem denemesi gerçekleştirilmiş ve derin yağda kızartılmış ürünlerin daha çıtır olduğu saptanmıştır.

Gıdaların nem içeriğindeki azalma sıcak hava fritözünde derin yağda kızartmaya göre daha yavaş gerçekleşmektedir. Bu fark ısı transfer hızının sıvı fazda gaz faza göre daha hızlı olmasından kaynaklanmaktadır (Teruel, 2015). Gouyo vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada kızartılmış gıdanın nem kaybının ürünün gevreklik ve sertliği üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Fang vd. (2021) tarafından tilapia derisi ile gerçekleştirdikleri çalışmada nem içeriği, derin yağda kızartma işleminde 6 dakikada %69'dan %2'ye düşerken sıcak hava fritözünde bu düşüş 10 dk'da gerçekleşmiştir. Dang vd. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada sıcak hava fritözünde kızartılmış patateslerin nem içeriğinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Gıdanın yağ emilimi iki teknikte farklı sonuçlar veren önemli kalite parametrelerinden biridir. Yapılan çalışmalarda sıcak hava fritözü ile gerçekleştirilen kızartma işleminde yağ alımının, derin yağda kızartmaya göre %90'a varan oranlarda daha az olduğu bildirilmiştir (Andres, 2012). Santos vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada farklı bitkisel yağlar ile kızartılan patatesler kalite parametreleri karşılaştırılmış ve sıcak hava fritözünde kızartılmış patateslerin yağ içeriğinin özellikle zeytinyağında kızartıldığında ortalama %70 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde Rahman vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada sıcak hava fritözünde kızartılan tatlı patatesin yağ içeriğinin, derin yağda tekniği ile kızartılan tatlı patateslere kıyasla %90.1 oranında azaldığı görülmüştür. Teruel vd. (2015), iki kızartma işleminde yağ emiliminin bu denli farklı olmasını gıdanın derin yağda kızartma

esnasında sıcak yağ ile çevrenmesi hava fritözünde ise direkt yağ ile temastan ziyade gıdanın yağ damlacıklarından oluşan buhar ile çevrenmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Fikry vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada falafel derin yağda ve sıcak hava fritözünde kızartılmış ve 178 °C'de 11 dk süre ile sıcak hava fritözünde kızartılmış falafelin optimum değerlere sahip olduğu görülmüştür. Kızartma sıcaklığı ve süresinin; nem içeriğini, sertliği, yağ içeriğini, L* değerini, duyuşal görünümü, aromayı, tadı, gevrekliği etkilediği belirtilmiştir. Sıcak hava fritözünde kızartılmış falafelin yağ içeriği daha düşük, L* değeri daha yüksek bulunmuştur. L* değerindeki farklılığın su kaybı ve yağ emilimi ile alakalı olduğu belirtilmiştir. Duyusal açıdan karşılaştırmada ise sıcak hava fritözünde kızartılmış falafelin daha gevrek, daha iyi tat, daha iyi görünüme sahip olduğu ve duyuşal skor açısından daha tercih edilebilir özellikte olduğu saptanmıştır.

Sıcak hava fritözü ile kızartılmış gıdalar daha düşük yağ içeriği ve akrilamid, PAH gibi toksik bileşenleri daha az miktarlarda içermesi nedeniyle daha sağlıklı gıdalar olarak değerlendirilmektedir (Lee, 2020). Monomerik yapıya sahip olan akrilamidin yapılan çalışmalarda memeli hayvanlar açısından mutajen, kanserojen etkiye sahip olduğu ve hayvanların sinir sistemine zarar verdiği belirtilmektedir (Jackson ve Al-Taher 2010; Nizamlioglu ve Nas 2019). Yüksek toksisiteye sahip olan akrilamid Kanser Araştırma Ajansı tarafından kanserojen (grup 2A) olduğu kabul edilen bir bileşendir (IARC, 1999). Pedreschi vd. tarafından yapılan çalışmada akrilamid miktarı ile a* renk koordinatı (kırmızı-yeşil değişim) arasında ilişki gözlenmiş ve akrilamid oluşumunun esmerleşme düzeyi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Heredia vd. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada derin yağda ve sıcak hava fritözü yöntemi ile kızartılan patateslerdeki akrilamid içeriği renk değerleri üzerinden karşılaştırılmış sıcak hava fritözü ile kızartılan gıdanın akrilamid içeriğinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, sıcak havada kızartılmış numunelerin daha vitamin içeriğinin daha iyi korunduğu belirlenmiştir (Heredia, 2014). Sun-

Lee vd. (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada tavuk eti derin yağda ve sıcak hava fritözünde kızartılması neticesinde polisiklik aromatik hidrokarbon ve akrilamid içeriği açısından değerlendirilmiştir. Çalışma neticesinde derin yağda kızartılmış tavuk etlerinin akrilamid ve PAH'ları önemli ölçüde daha yüksek içerdiği belirlenmiştir.

Dang vd. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada patates kızartması derin yağda ve sıcak hava fritözü ile kızartılmış örnekler nem, akrilamid, HMF içeriği, duyuşal nitelikler bakımından karşılaştırılmıştır. Duyusal analiz sonuçları açısından hava fritözünde kızartılan patateslerden 180 °C - 21 dakika, 190 °C - 18 dakika ve 200 °C - 18 dakikada kızartılmış olanların en iyi fiziksel özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra sıcak hava fritözü ile kızartılmış patateslerde akrilamid içeriğinin derin yağda kızartmaya kıyasla %47.5 daha az olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada akrilamid içeriğinin derin yağda kızartma işleminde HMF artışının yanı sıra lipid oksidasyonu nedeniyle daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Nandasiri vd. (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışmada Turpgiller familyasından brokoli, kırmızı lahana, lahana, kale, Brüksel lahanası sebzeleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada sebzeler sıcak hava fritözü, dondurarak kurutma, buharda pişirme ve soteleme teknikleri ile pişirilmiş ve antioksidan kapasite açısından değerlendirilmiştir. Bulgular fenolik bileşenler, flavonoid madde açısından değerlendirildiğinde sıcak hava fritözünün antioksidan kapasite açısından diğer yöntemlere kıyasla daha iyi sonuçlar verdiğini göstermiştir. Lahana ve brokoli filizi 160° C 10 dk'da sıcak hava fritözü ile kızartma işlemi sırasında en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Aynı çalışmada ısıl işlemle sebzelerin antioksidan potansiyelinin arttığı gözlenmiştir. Soteleme işleminin antioksidan aktiviteyi en az destekleyen ısıl işlem olduğu ve bu sebzeleri pişirmek için sıklıkla tercih edilen buharla pişirmenin ise antioksidan aktiviteyi geliştirme açısından sıcak hava fritözü ile pişirmenin gerisinde kaldığı görülmüştür. Salamatullah vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen

çalışmada sıcak hava fritözünde kızartılmış olan patıcanın biyoaktif açıdan özellikleri incelenmiş diğer fiziksel, kimyasal, duyuşal analizlere yer verilmemiştir. Bu çalışmada orta pişmiş patıcanın pişmemiş patıcana oranla fenolik bileşen içeriğinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Schmiedeskamp vd. (2022) tarafından havuç kullanılarak yapılan çalışmada ise karotenoid ve antioksidan kapasitesi incelenmiş ve sıcak hava fritözünün daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

SONUÇ

Sıcak hava fritözü son 10 yılda geliştirilmiş yeni bir pişirme tekniğidir. Daha az yağ içeriğine sahip kızartılmış gıda eldesi, besin değerlerinin daha iyi korunuyor olması, daha pratik uygulama şartlarına sahip olması, düşük enerji tüketimi, birçok pişirme işlemini gerçekleştirme imkânı sunması vb. avantajlara sahip olması nedeniyle dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Hem sağlık hem de çevre açısından yararı her geçen gün daha yaygınlaşmasını sağlamaktadır. Buna rağmen literatür verilerinin geliştirilmesi gerektiği açıktır. Bu alanda yapılan çalışmaların çoğunlukla patates, tatlı patates, tavuk, balık gibi gıdalarla gerçekleştirildiği görülmektedir. Yapılan çalışmalarda yağ içeriği daha düşük, toksik bileşenleri daha az içeren, renk, görünüm gibi nitelikler açısından kızartılmış gıdaya benzer, tat ve doku açısından farklılık gösteren gıdaların üretimine olanak sağladığı anlaşılmaktadır. Tüketicinin arzu ettiği kızartılmış gıda dokusu ve tadına birebir uyumlu ulaşılamadığı duyuşal analizlerde görülsede tüketici tercihlerinin değişken olduğu da aşikârdır. Gerçekleştirilecek çalışmalarda ürün ve analiz çeşitliliğinin artırılması gerekmektedir. Günümüzde yapılan çalışmalar ev tipi sıcak hava fritözleri için geçerli olup bu teknolojinin endüstride kullanım olanakları ve uyarlanması önümüzdeki yıllarda çalışılması gereken bir alan olarak ön plana çıkmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Al Faruq, A., Khatun, M. H. A., Azam, S. M. R., Sarker, M. S. H., Mahomud, M. S., Jin, X. (2022). Recent advances in frying processes for plant-based foods. *Food Chemistry Advances* 1, doi: 10.1016/j.focha.2022.100086
- Andres, A., Arguelles, A., Castello, M. L. Heredia, A. (2012). Mass transfer and volume changes in french fries during air frying. *Food Bioprocess Technology*, 6(8): 1917-1924, doi: 10.1007/s11947-012-0861-2
- Arslan, M., Xiaobo, Z., Shi, J., Rakha, A., Hu, X., Zareef, M. Basheer, S. (2018). Oil uptake by potato chips or french fries: a review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(10), doi:10.1002/ejlt.201800058
- Bachir, N., Haddarah, A., Sepulcre, F., Pujola, M. (2023). Study the interaction of amino acids, sugars, thermal treatment and cooking technique on the formation of acrylamide in potato models. *Food Chemistry*, 408(135235), doi: 10.1016/j.foodchem.2022.135235
- Boz, H., (2022). Sıcak havada pişirilmiş (airfrying) ürünlerin özellikleri. *Gastro-Dünya Dergisi*, 1(1)
- Cao, Y., Wu, G., Zhang, F., Xu, L., Jin, Q., Huang, J., Wang, X. (2020). A comparative study of physicochemical and flavor characteristics of chicken nuggets during air frying and deep frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 97(8):901-913, doi: 10.1002/aocs.12376
- Castro-Lopez, R., Mba, O. I., Gomez-Salazar, J. A., Ceron-García, A., Ngadi, M. O., Sosa-Morales, M. E. (2023). Evaluation of chicken nuggets during air frying and deep-fat frying at different temperatures. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 31, doi: 10.1016/j.ijgfs.2022.100631
- Cattivelli, A., Di Lorenzo, A., Conte, A., Martini, S., Tagliazucchi, D. (2023). Red-skinned onion phenolic compounds stability and bioaccessibility: A comparative study between deep-frying and air-frying. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, doi: 10.1016/j.jfca.2022.105024
- Chang, C., Wu, G., Zhang, H., Jin, Q., Wang, X. (2020). Deep-fried flavor: Characteristics, formation mechanisms, and influencing factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(9):1496-1514, doi: 10.1080/10408398.2019.1575792
- Ciccone, M., Chambers, D., Chambers IV, E., Talavera, M. (2020). Determining which cooking method provides the best sensory differentiation of potatoes. *Foods*, 9(4):451-466, doi: 10.3390/foods9040451
- Cui, Y.; Hao, P.; Liu, B.; Meng, X. (2017). Effect of traditional Chinese cooking methods on fatty acid profiles of vegetable oils. *Food Chem.*, 233:77-84, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.084
- Dehghannya, J., Ngadi, M. (2021). Recent advances in microstructure characterization of fried foods: Different frying techniques and process modeling. *Trends in Food Science and Technology*, 116:786-801, doi: 10.1016/j.tifs.2021.03.033
- Ding, Y., Zhou, T., Liao, Y., Lin, H., Deng, S., Zhang, B. (2022). Comparative studies on the physicochemical and volatile flavour properties of traditional deep fried and circulating-air fried hairtail (*Trichiurus lepturus*). *Foods*, 11(17):2710, doi: 10.3390/foods11172710
- Dang, L., Qiu, C. Y., Wang, R. C., Zhang, Y., Wang, J., Liu, J. M., Yu, H. N., Wang, S. (2022). Effects of air frying on french fries: the indication role of physicochemical properties on the formation of maillard hazards, and the changes of starch digestibility. *Frontiers in Nutrition*, 9:1-12, doi: 10.3389/fnut.2022.889901
- Fang, M., Huang, G. J., Sung, W. C. (2021), Mass transfer and texture characteristics of fish skin during deep fat frying, electrostatic frying, air frying and vacuum frying, *LWT*, 137, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110494
- Fang, M., Ting, Y. S., Sung, W. C. (2022). Effects of sodium alginate, pectin and chitosan addition on the physicochemical properties, acrylamide formation and hydroxymethylfurfural generation of air fried biscuits. *Polymers*, 14(19):3961, doi: 10.3390/polym14193961
- Fang MC, Chin PS, Sung WC, Chen T. Y. (2023). Physicochemical and volatile flavor properties of

- fish skin under conventional frying, air frying and vacuum frying. *Molecules*, 28(11):4376, doi: 10.3390/molecules28114376
- Fikry, M., Khalifa, I., Sami, R., Khojah, E., Ismail, K. A., Dabbour, M. (2021). Optimization of the frying temperature and time for preparation of healthy falafel using air frying technology. *Foods*, 10(11):2567-2582, doi: 10.3390/foods10112567
- Frakolaki, G., Kekes, T., Bizymis, A., Giannou, V., Tzia, C. (2023). Fundamentals of food frying processes high-temperature processing of food products. Elsevier Inc., 227-291, doi: 10.1016/B978-0-12-818618-3.00001-X
- Ghaitaranpour, A., Mohebbi, M., Koocheki, A., Ngadi, M. O. (2020). An agent-based coupled heat and water transfer model for air frying of doughnut as a heterogeneous multiscale porous material. *Innovative Food Science & Emerging Techno.*, 61, doi: 10.1016/j.ifset.2020.102335
- Ghidurus, M., Turtoi, M., Boskou, G., Niculita, P., Stan, V. (2010). Nutritional and health aspects related to frying (I). *Romanian Biotechnological Letters*, 15(6):5675-5682
- Giovanelli, G., Torri, L., Sinelli, N., Buratti, S. (2017). Comparative study of physico-chemical and sensory characteristics of french fries prepared from frozen potatoes using different cooking systems, *Eur. Food Res. Technol.*, 243(9):1619-1631, doi: 10.1007/s00217-017-2870-x
- Gouyo, T., Mestres, C., Maraval, I., Fontez, B., Hofleitner, C., Bohuon, P. (2020). Assessment of acousticmechanical measurements for texture of French fries: comparison of deep-fat frying and air frying. *Food Research International*, 131, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108947
- Haddarah, A., Naim, E., Dankar, I., Sepulcre, F., Pujolà, M., Chkeir, M. (2021). The effect of borage, ginger and fennel extracts on acrylamide formation in French fries in deep and electric air frying. *Food Chemistry*, 350, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.12906
- Heredia, A., Castelló, M., Argüelles, A., Andrés, A. (2014). Evolution of mechanical and optical properties of french fries obtained by hot air-frying. *LWT-Food Science Technology*, 57:755-760, doi: 10.1016/j.lwt.2014.02.038
- Hong, S. J., Yoon, S., Lee, J., Jo, S. M., Jeong, H., Lee, Y., Shin, E. C. (2022). A comprehensive study for taste and odor characteristics using electronic sensors in broccoli floret with different methods of thermal processing. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(4), doi: 10.1111/jfpp.16435
- Huang, X., Zhang, Y., Karrar, E., Zhang, H., Jin, Q., Wu, G., Wang, X. (2022). Effect of moderate electric field on the quality, microstructure and oil absorption behavior of potato strips during deep-fat frying. *Journal of Food Eng.*, 313, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110751
- Jackson, L. S., Al-Taher, F. (2010). Processing issues: acrylamide, furan and trans fatty acids, In *Ensuring Global Food Safety*, 383-410, doi: 10.1016/B978-0-12-374845-4.00023-0
- Joshy, C. G., Ratheesh, G., Ninan, G., Kumar, K. A., Ravishankar, C. N. (2020). Optimizing air-frying process conditions for the development of healthy fish snack using response surface methodology under correlated observations. *J. Food Sci. Technol.*, 57:2651-2658, doi: 10.1007/s13197-020-04301-z
- Kwon, J., Kim, I., Moon, B., Lee, K. W., Jung, M., Lee, J. (2023). The effects of different cooking methods and spices on the formation of 11 HCAs in chicken wing and pork belly. *Food Control*, 147, doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109572
- Lartey, A., Marquis, G. S., Aryeetey, R., Nti, H. (2018). Lipid profile and dyslipidemia among school-age children in Urban Ghana, *BMC Public Health*, 18(1):320, doi: 10.1186/s12889-018-5196-0
- Lee, J. S., Han, J. W., Jung, M., Lee, K. W., Chung, M. S. 2020. Effects of thawing and frying methods on the formation of acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons in chicken meat, *Foods*, 9(5):573 doi: 10.3390/foods9050573
- Liu, L., Huang, P., Xie, W., Wang, J., Li, Y., Wang, H., Xu, H., Bai, F., Zhou, X., Gao, R., Zhao, Y. (2022). Effect of air fryer frying temperature on

- the quality attributes of sturgeon steak and comparison of its performance with traditional deep fat frying. *Food Science & Nutrition*, 10(2):342–353, doi: 10.1002/fsn3.2472
- Lumanlan, J. C., Fernando, W. M. A. D. B., Jayasena, V. (2020). Mechanisms of oil uptake during deep frying and applications of predrying and hydrocolloids in reducing fat content of chips. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(4):1661-1670, doi: 10.1111/ijfs.14435
- Luo, X., Hu, S., Xu, X., Du, M., Wu, C., Dong, L., Wang, Z. (2022). Improving air-fried squid quality using high internal phase emulsion coating. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5):3844-3854, doi: 10.1007/s11694-022-01459-2
- Manjunatha, S., Ravi, N., Negi, P., Raju, P., Bawa, A. (2014). Kinetics of moisture loss and oil uptake during deep fat frying of gethi (*dioscorea kamoensis kunth*) strips. *Journal of Food Science and Technology*, 51:3061-3071, doi: 10.1007/s13197-012-0841-6
- Mellema, M. (2003). Mechanism and reduction of fat uptake in deep-fat fried foods, *Trends Food Science Technology*, 14:364-373
- Mesias, M., Delgado-Andrade, C., Holgado, F., González-Mulero, L., Morales, F. J. (2021). Effect of consumer's decisions on acrylamide exposure during the preparation of french fries part 1: frying conditions, *Food and Chemical Toxicology*, 154, doi: 10.1016/j.fct.2021.112321
- Mokhtar, W. M. F. W., Thow, Z. Y. (2022). Effect of osmotic dehydration as a pre-treatment on air fried sweet potato (*Ipomoea batatas*) chips. *Journal of Agrobiotechnology*, 13(1S):64-73, doi: 10.37231/jab.2022.13.1S.311
- Nandasiri, R., Semenکو, B., Wijekoon, C. (2023). Air-frying is a better thermal processing choice for improving antioxidant properties of brassica vegetables. *Antioxidants*, 12(2):490, doi: 10.3390/antiox12020490
- Negara, B. F. S. P., Lee, M. J., Tirtawijaya, G., Cho, W. H., Sohn, J. H., Kim, J. S., Choi, J. S. (2021). Application of deep, vacuum, and air frying methods to fry chub mackerel (*Scomber japonicus*). *Processes*, 9(7):1225-1239, doi: 10.3390/pr9071225
- Nizamlioglu, N. M. ve Nas, S. (2019). Gıdalarda akrilamid oluşum mekanizmaları, gıdaların akrilamid içeriği ve sağlık üzerine etkileri. *Akademik Gıda* 17(2):232-242, doi: 10.24323/akademik-gida.613588
- Oliveira, V. S., Chávez, D. W. H., Paiva, P. R. F., Gamallo, O. D., Castro, R. N., Sawaya, A. C. H. F., Saldanha, T. (2022). Parsley (*Petroselinum crispum* Mill.): A source of bioactive compounds as a domestic strategy to minimize cholesterol oxidation during the thermal preparation of omelets. *Food Research International*, 156, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111199
- Pande Snehal, D., Deo Shrutika, K., Bhope Pritish, S., Pande Sayali, D. (2018). Comparative study of deep fat fried samosa and oxyair fried samosa. *International Journal of Science, Engineering and Management*, 3(4):146-148
- Paster, E. (2019). *Epic Air Fryer Cookbook: 100 Inspired Recipes that Take Air-Frying in Deliciously Exciting New Directions*. Harvard Common Press, Boston, USA
- Pedreschi, F., Moyano P. (2005). Oil uptake and texture development in fried potato slices, *J Food Eng.*, 70:557-563
- Pitre, U. (2019). *Every Day Easy Air Fryer: 100 Recipes Bursting with Flavor*. Houghton Mifflin Harcourt, Boston, USA
- Rahman, N. A. A., Razak, S. Z. A., Lokmanalhakim, L. A., Taip, F. S., Kamal, S. M. M. (2016). Response surface optimization for hot air-frying technique and its effects on the quality of sweet potato snack, *J. Food Process. Eng.*, 40(12507), doi: 10.1111/jfpe.12507
- Safari, A., Salamat, R., Baik, O. D. (2018). A review on heat and mass transfer coefficients during deep-fat frying: determination methods and influencing factors, *Journal of Food Engineering*, 230:114-123, doi: 10.1016/j.foodeng.2018.01.022
- Salamatullah, A., Ahmed, M., Alkaltham, M., Hayat, K., Aloumi, N., Al-Dossari, A., Al-Harbi,

- L., Arzoo, S. (2021). Effect of Air-Frying on the Bioactive Properties of Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Processes*, 9(3):435, doi: 10.3390/pr9030435
- Santos, C. S. P., Cunha, S. C., Casal, S. (2017). Deep or air frying? A comparative study with different vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 119(6), doi: 10.1002/ejlt.201600375
- Schmiedeskamp, A., Schreiner, M., Baldermann, S. (2022). Impact of cultivar selection and thermal processing by air drying, air frying, and deep frying on the carotenoid content and stability and antioxidant capacity in carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(5):1629-1639, doi: 10.1021/acs.jafc.1c05718
- Song, G., Li, L., Wang, H., Zhang, M., Yu, X., Wang, J., Xue, J., Shen, Q. (2020). Real-time assessing the lipid oxidation of prawn (*Litopenaeus vannamei*) during air-frying by iKnife coupling rapid evaporative ionization mass spectrometry. *Food Control*, 111(107066), doi: 10.1016/j.foodcont.2019.10766
- Stratview Research (2022). Top-Rated Air Fryers From Our Tests, *Consumer Reports*, www.consumerreports.org, (Erişim Tarihi: 21 Kasım 2022)
- Télez-Morales, J. A. (2023). A Review of the State of the Art of Hot Air Frying Technology. *Preprints*, doi: 10.20944/preprints202304.0766.v1
- Teruel, M. D. R., Gordon, M., Linares, M. B., Garrido, M. D., Ahromrit, A., Niranjan, K. A. (2015). Comparative study of the characteristics of french fries produced by deep fat frying and air frying. *Journal of Food Science*, 80(2):349-358, doi: 10.1111/1750-3841.12753
- Tzompa-Sosa, D. A., Dewettinck, K., Gellynck, X., Schouteten, J. J. (2022). Consumer acceptance towards potato chips fried in yellow mealworm oil. *Food Quality and Preference*, 97, doi: 10.1016/j.foodqual.2021.104487
- Ulus, H., Allen, J. (2020). Nutrient degradation in baked or air-fried sweet potato chips. *Current Developments in Nutrition*, 4(2):783, doi: 10.1093/cdn/nzaa052_052
- Verma, V., Singh, V., Chauhan, O. P., Yadav, N. (2023). Comparative evaluation of conventional and advanced frying methods on hydroxymethylfurfural and acrylamide formation in French fries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 83, doi: 10.1016/j.ifset.2022.10323
- Vinci, R. M., Mestdagh, F., De Meulenaer, B., (2012). Acrylamide formation in fried potato products—present and future, a critical review on mitigation strategies, *Food Chemistry*, 133(4):1138-1154, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.08.001
- Wang, Y., Wu, X., McClements, D. J., Chen, L., Miao, M., Jin, Z. (2021). Effect of new frying technology on starchy food quality. *Foods*, 10(8), doi: 10.3390/foods10081852
- Wang, Z. Y., Wu, Z. X., Zhao, G. H., Li, D. Y., Liu, Y. X., Qin, L., Zhou, D. Y. (2023). Effect of air frying and baking on physicochemical properties and digestive properties of scallop (*Patinopecten yessoensis*) adductor muscle. *Food Bioscience*, 52, doi: 10.1016/j.fbio.2023.102460
- Yu, X., Li, L., Xue, J., Wang, J., Song, G., Zhang, Y., Shen, Q. (2020). Effect of air-frying conditions on the quality attributes and lipidomic characteristics of surimi during processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 60, doi: 10.1016/j.ifset.2020.102305



DETERMINATION AND COMPARISON OF QUALITY CHANGES DURING STORAGE OF TURKISH PEPPER PASTE PRODUCED BY DIFFERENT METHODS

Meltem Ayda¹, Sercan Dede^{2*}, Mustafa Didin²

¹Republic of Turkey, Ministry of Agriculture and Forestry, Hatay Provincial Directorate of Agriculture and Forestry, Hatay, Turkey

²Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Hatay, Turkey

Received /Geliş: 09.12.2022; Accepted /Kabul: 03.10.2023; Published online /Online baskı: 06.10.2023

Ayda, M., Dede, S., Didin, M. (2023). Determination and comparison of quality changes during storage of Turkish pepper paste produced by different methods. GIDA (2023) 48 (5) 1071-1083 doi: 10.15237/ gida.GD22127

Ayda, M., Dede, S., Didin, M. (2023). Farklı yöntemlerle üretilen Türk biber salçalarının depolama sırasındaki kalite değişimlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması. GIDA (2023) 48 (5) 1071-1083 doi: 10.15237/ gida.GD22127

ABSTRACT

The quality and microbiological criteria of pepper pastes produced by many different methods, especially domestic and fabrication, can often be overlooked in spite of regulating certain standards. Quality problems in domestic/traditional production are at a very high rate. Thus, it was aimed to determine and compare the criteria of pepper paste produced by various methods. For this purpose, physical, chemical and microbiological analyses were conducted and results were examined. Values of pH, dry matter, titration-acidity, and color changed significantly during storage. While their brightness decreased, pastes became redder and more yellow. Microbiological analysis showed that D had the highest microbiological load due to the lack of boiling. On the other hand, A had the lowest microbiological load owing to heat treatment and aseptic-filling applications. A was followed by E, which includes both drying and boiling applications. Thus, using these two production methods in paste production can be recommended.

Keywords: Turkish Pepper paste, traditional, commercial, microbial quality, storage

FARKLI YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN TÜRK BİBER SALÇALARININ DEPOLAMA SIRASINDAKİ KALİTE DEĞİŞİMLERİNİN BELİRLENMESİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZ

Yerli ve fabrikasyon başta olmak üzere birçok farklı yöntemle üretilen biber salçalarının kalite ve mikrobiyolojik kriterleri, belirli standartlar düzenlenmesine rağmen çoğu zaman göz ardı edilebilmektedir. Yerli/geleneksel üretimde kalite sorunları çok yüksek oranda. Böylece çeşitli yöntemlerle üretilen biber salçası kriterlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmış ve sonuçlar incelenmiştir. Depolama sırasında pH, kuru madde, titrasyon asitliği ve renk değerleri önemli ölçüde değişmiştir. Parlaklıkları azalırken hamurlar daha kırmızı ve daha sarı oldu. Mikrobiyolojik analiz, D'nin kaynama olmaması

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉:sercandede01@gmail.com

☎: (+90) 326 245 5829

☎: (+90) 326 245 5832

Meltem Ayda; ORCID no: 0000-0003-4631-3662

Sercan Dede; ORCID no: 0000-0003-2049-9497

Mustafa Didin; ORCID no: 0000-0001-8444-5725

nedeniyle en yüksek mikrobiyolojik yüke sahip olduğunu gösterdi. Öte yandan A, ısıtma işlemi ve aseptik dolgu uygulamaları nedeniyle en düşük mikrobiyolojik yüke sahipti. A 'yı hem kurutma hem de kaynatma uygulamalarını içeren E izledi. Bu nedenle salça üretiminde bu iki üretim yönteminin kullanılması önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Türk biber salçası, geleneksel, ticari, mikrobiyel kalite, depolama

INTRODUCTION

Red pepper is an important plant belonging to the *Capsicum* genus of the Solanaceae family, grown in temperate climates for a year, and grown in various regions of the world in terms of production, consumption and food processing industry (Akgül, 1993; Duman ve ark., 2002). The pepper type grown in the Eastern Mediterranean region is known as *Capsicum annuum* L. (Akgül, 1993).

Especially the ripe fruits of this species, fresh and processed forms are used as colorant, pepper paste, paprika (spice) and oleoresin; especially used in meat products, soups, bakery, spice mixes, sauces, condiments, confectionery, soft drinks, vegetables, ice cream, chewing gum and pickles (Yalçın, 2008). Apart from these, it has a wide usage area in the world with its dominant color, bitterness, essential and nutritional properties (provitamin A, vitamin C, E, B1, B2, B3) and its unique aromatic structure in cosmetics and pharmacology industry (Duman et al., 2004; Serrano et al. 2010).

According to the plant production data of the Turkish Statistical Institute (TUIK), the amount of fresh pepper produced in our country between the years 2011-2021; while the production of bell pepper increased by 15%, the production of chili pepper increased by 21%, the production of pepper for paste increased by 98% (from 730493 tons to 1445275 tons) (TUIK, 2022). Moreover, Türkiye has only a 2.6% share in pepper production in the world according to 2020 year data from the Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO, 2022). In recent years, the production of pepper for pepper paste has increased in our country due to the advancement of technology used in agriculture, the widespread consumption and the increase in export demand.

Red pepper is widely used in the world, especially in the form of chili pepper, to improve the taste and flavor of dishes, as well as in different sauces such as ketchup. Although the use of red pepper as a paste (paprika paste, pepper paste) is very limited (in Spain, Mexico and Korea), it has become quite widespread in our country and in countries where Turks live densely, such as Germany, Belgium, Netherlands, England and Australia (Bozkurt and Erkmen, 2004; Bozkurt and Erkmen, 2005). Paste products are among the most important product groups in our country's food exports. Paste production aims to make tomatoes and peppers easier to consume and to preserve them for a long time without spoiling until consumption (Ismail and Revathi, 2006).

Pepper paste is defined as "Pepper paste is produced with pepper pulp, which is obtained from fresh, ripe, robust, red-colored, hot, or sweet peppers by washing thoroughly and crushing, then heating and separation from their shells, seeds, and fibers according to the procedure or without separation; in which the brix is thickened until at least 18%, excluding additional salt, and made durable by physically" in Turkish Food Codex Communiqué (TFCC) No.: 2014/6 on Paste and Puree (Anonymous, 2020).

Red pepper paste has been produced at homes with traditional methods for many years in Southern and Southeastern cities of our country, such as Gaziantep, Adana, and Şanlıurfa. It has been produced in modern facilities in recent years and has become a rapidly growing sector in many regions (Kuleasan and Okur, 2012). Academic testing of various producing methods has also been conducted (Bozkurt and Erkmen, 2004; Gogus et al., 2012; Askin Uzel, 2018). The effects of starter culture and salt on pepper pastes were also investigated by producing them via traditional and vacuum techniques (Bozkurt and Erkmen, 2005).

Paste type consumption changes as pepper paste, tomato paste or tomato-pepper mixed paste. The consumption habit of paste varies according to the people's taste and the region where they grow up. In a study investigating paste consumption habits, it was determined that 85.5% of families in Adana used pepper paste in their meals. It has also been stated that 62% of those who consume pepper paste produce it themselves at home, and 31.2% buy it from the market (Gül et al., 2005). In another study, it was revealed that 99.25% of the families living in Tokat province consumed tomato paste and 41.85% of them consumed pepper paste (Büyükbay et al., 2009). Another similar type paste of Korea, Gochujang, was reported as a healthier product by reducing fat gain, adipocyte size, serum lipid levels, leptin-secretion, tumor necrosis factor mRNA level (Ahn et al. 2006; Kim et al. 2014).

The interest in healthy and nutritious products has increased due to the increasing prevalence of urban life, the increase in the number of working people, the change in lifestyle, and the increase in education levels. Traditionally produced paste needs to be made safer by being technologically produced.

However, microbiological spoilage is one of the serious problems of the red pepper paste production sector and it is known that it can occur at every stage from raw material supply to the final product. There has been only a few studies especially on the effects of various producing techniques carried out on so far (Bozkurt and Erkmen, 2004; Bozkurt and Erkmen, 2005; Kuleasan and Okur, 2012; Gogus et al. 2015; Gamli et al., 2018, Askin Uzel, 2018). Thus, the aim of the research was to determine the quality criteria changes of pepper paste produced by using different technological/commercial and traditional methods and to compare the results obtained.

MATERIAL AND METHOD

Material

In the research, Islahiye red pepper harvested in the Islahiye district of Gaziantep in 2018 was used as the material. The red peppers were made into

pepper paste in a fruit and vegetable processing factory (Yalçinkaya Biber Baharat Limited Company) that makes commercial production in the region.

Method

Pepper Paste Production Stages

The harvested red peppers were brought to the paste processing factory in perforated sacks with the help of trailers. The red peppers in the sacks were poured onto the conveyor belts and blasted between the steel plates. The seeds of the popped peppers were washed in the drum with pressurized water. In addition to washing in the rotating drum, it was ensured that the core, stalk and garbage were separated. Washed peppers were continuously transported to the sorting band with the help of an elevator. In the sorting band, rotten, dented, defective, or green peppers and stem and leaf parts that were not suitable for paste production were separated manually. At the end of the sorting band, the red peppers were passed through crushers with an average diameter of 6-8 mm and converted into must. In order to reduce the microbial content of the wort, a preheating process (3 mins at 85 °C) was done. Then the brix was brought to 22.5 by evaporation for production A and by drying and boiling applications for productions B, C, D, and E. Afterwards, 1.5 kg salt was added and then brix values were adjusted to 28-31.5 levels by evaporating (A production) or boiling (B and E productions) or drying (C and D productions). Brix values were varied according to the method of evaporating the water in the pastes. After evaporation, pastes were made stable by tube pasteurization. In the last stage, it was packed in half-kg glass jars.

Storage Experiments

In the study, pepper paste samples produced by 5 different methods were used. The figural representation of the productions is basically as given in Figure 1. After being subjected to blasting, washing, sorting and pulping processes, the red peppers were processed into the final product in a way suitable for commercial mechanical processing (A) or home-type paste productions (B, C, D and E), which might vary

according to the regions. The methods to be applied for this purpose were carried out in the following order and procedure:

- A type paste: mechanically fabricated evaporative paste,
- B type paste: paste obtained by boiling the pulp in flat boilers,
- C type paste: paste obtained by laying and drying the pulp in the sun,

-D type paste: paste obtained by reducing the size of red pepper, which was made suitable for processing, by semi-drying in the sun and grinding,

-E type paste: paste obtained by reducing the size of the red pepper, which was made suitable for processing, by semi-drying in the sun, grinding and boiling.

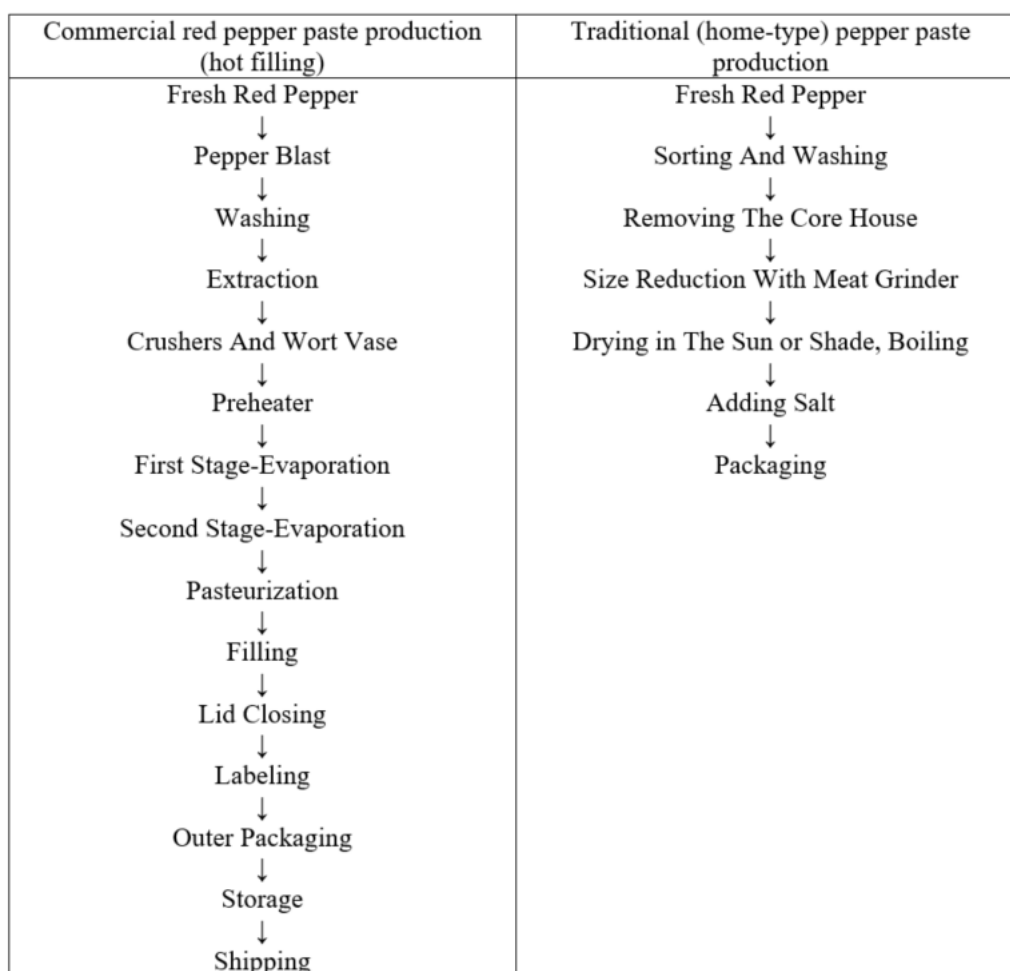


Figure 1. Commercial (left) and Traditional (right) pepper paste production stages

Brix of all paste obtained in the applied commercial and traditional production methods was adjusted to at least 28.

It has been reported that 15-46 days were enough to assess pepper pastes microbiologically for storage experiments (Bozkurt and Erkmen, 2005; Gamli et al. 2018). However, considering the case

that paste produced at home is stored in the cellar for at least a few months, storage experiments were carried out for a period of 5 months in order to observe the quality changes and microbiological effects that may occur for a longer period of time. Paste samples were packed in half kg glass jars and stored in a sterile dark cabinet at 25 °C at room condition for 5 months.

While physical and chemical analyses were carried out by taking samples from pepper pastes at the beginning of each month; microbiological analyses were made at the beginning of production and the end of storage (at the end of the 5th month). The reason for this was to store the pastes in sterile packaging and to determine the total amount of microbial load that grew until the date they were opened and consumed (home-made pepper pastes are stored for an average of 5 months and only checked whether they deteriorate while being consumed.).

Physical and Chemical Analysis

A pH-meter (Orion Star A211, Thermo Fisher Scientific, Beverly, MA, USA) was used for the measurement by immersing the electrode of the pH meter into the resulting solution (AOAC, 1995). The color values of pastes were determined with a colorimeter (Minolta CR-400, Japan) by using the Hunter scale. Color measurements were made in triple and the average of the values was taken. In the scale, “*L*” refers to the brightness of the paste, “*a*” to the redness of the paste, and “*b*” to the yellowness of the paste (Francis, 1998). Dry matter and titration acidity (as citric acid) were determined (AOAC, 2003). Salinity were determined according to the Mohr method (AOAC, 1995). Water activity was measured with a Novasina LabStart brand (Lachen, Switzerland) water activity measuring device (Ranganna, 1999).

Microbiological Analysis

AOAC standart method was applied by modification for the microbiological analysis (AOAC, 1999). 10 g pepper paste sample was taken under sterile conditions and homogenized in 90 ml sterile solution containing 0.1% peptone (Merck, Germany). After the homogenization process, the samples were diluted 1/10 with 0.1% sterile peptone water, and the samples were inoculated on the appropriate medium by spreading method. In the experiments, all microbial inoculations were made in triple from each dilution. The average of the counting results was expressed as logcfu/g.

Total Mesophilic Aerobic Bacteria (TMAB) count was determined by spreading the dilutions

prepared on petri dishes with PCA (Plate Count Agar, Merck) medium for inoculation and counting at the end of incubation at 30-32 °C for 24 hours. Dilutions of mold and yeast were taken into petri dishes and cultivated in PDA (Potato Dextrose Agar, Merck) medium and incubated at 25 °C for 3-4 days. Samples were seeded on Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck) medium to determine the number of coliform bacteria in which the petri dishes were incubated at 37 °C for one day to count (Çakır, 2000). For Total Lactic Acid Bacteria (LAB) count, 0.1 ml samples taken from the dilutions were spread on MRS Agar (Merck) medium and inoculated. Then the plates were incubated at 30-32 °C for two days and be counted of colonies.

Statistical Analysis

All of the physical and chemical experiments were performed at least in triplicate, and the results were given as the mean \pm standard deviation. In this study, firstly, the effects of the treatments (A, B, C, D and E productions) applied to pastes on the quality criteria were examined. Then, the effect of storage (5 months period) was examined by looking at the changes in the quality criteria of each paste during storage. The analysis results were compared One-way ANOVA and the DUNCAN multiple comparison tests.

RESULTS AND DISCUSSION

Evaluation of Physical and Chemical Analysis Results

Color, pH, titration acidity, salinity, dry matter and water activity analyses were performed on pepper paste samples used in the study. Since there were not many studies on Turkish pepper paste in the literature, the results of the analysis were also evaluated in terms of compliance with the TFCC. According to TFCC, the pH value of pepper paste should be 4.1-5.0; excluding added salt, it must have a brix value of at least 18%, a maximum of 10% acidity (in terms of citric acid) by mass, and a salt of at most 5% by mass in total dry matter (Anonymous, 2020).

The effect of different production methods on the physical and chemical properties of paste is given in Table 1. While lactic acid growth was not

high with the effect of heat treatment processes and aseptic filling process used in fabricated production, it has been stated that lactic acid bacterial growth and with it the titration acidity increased and the pH value decreased in pastes produced with traditional methods, especially during drying and storage (Kuleasan and Okur, 2012; Askin Uzel, 2018). However, with the application of boiling and similar heat treatments in production, the growth and number of these bacteria was considerably reduced (Jasim et al. 2002). When compared with TFCC values, it was observed that acidity values were appropriate, but some of the pH values decreased to levels not suitable for TFCC during storage. On the other

hand, salt values of pastes were found to be higher than TFCC. This was due to the high amount of salt added for preservative purposes in homemade pastes. Especially for the fabricated production method A, all values except salt were suitable for TFCC, on the other hand, all salt ratios for home-made production methods were higher than TFCC criteria (Table 1 and 2; Anonymous, 2020). As can be seen in Table 1, the effects of different production methods applied on pH, titration acidity, dry matter, water activity and salt values were found to be statistically significant (**P≤0.001).

Table 1. The effect of different production methods on the physical and chemical properties of paste

Production method	pH	Titration acidity (%)	Dry matter (%)	Water activity	Salt (%)
A	4.64±0.13 ^c	1.91±0.08 ^b	30.83±0.77 ^a	0.89±0.00 ^c	7.90±0.00 ^a
B	5.21±0.17 ^e	1.30±0.12 ^a	32.45±0.51 ^b	0.88±0.00 ^b	8.19±0.01 ^d
C	4.31±0.15 ^b	3.67±0.42 ^c	33.12±0.56 ^c	0.86±0.00 ^a	8.19±0.01 ^d
D	4.08±0.24 ^a	8.31±0.71 ^d	42.43±0.37 ^e	0.88±0.00 ^b	8.16±0.03 ^b
E	4.66±0.47 ^d	1.95±0.29 ^b	35.50±0.46 ^d	0.88±0.00 ^b	8.17±0.01 ^c
<i>P</i>	***	***	***	***	***

***P≤0.001. a-e Letters in the same column indicate statistical differences. Paste types: A: mechanically fabricated evaporative paste; B: paste obtained by boiling the pulp in flat boilers; C: paste obtained by laying and drying the pulp in the sun; D: paste obtained by reducing the size of red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun and grinding; E: paste obtained by reducing the size of the red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun, grinding and boiling.

Table 2. Changes in pH, Titration acidity, Dry matter, Water activity and Salt values during storage for each different productions applied

Production Method	Months	pH	Titration acidity (%)	Dry matter (%)	Water activity	Salt (%)
A	0	4.62±0.02 ^b	1.86±0.01 ^b	29.90±0.05 ^a	0.89±0.00	7.90±0.00
	1	4.78±0.01 ^d	2.02±0.01 ^d	30.73±0.01 ^c	0.89±0.00	7.90±0.00
	2	4.75±0.02 ^c	2.01±0.01 ^d	30.47±0.01 ^b	0.89±0.00	7.90±0.00
	3	4.73±0.03 ^c	1.80±0.01 ^a	30.84±0.02 ^d	0.89±0.00	7.90±0.00
	4	4.47±0.01 ^a	1.87±0.01 ^b	31.45±0.05 ^e	0.88±0.01	7.90±0.00
	5	4.44±0.13 ^a	1.89±0.01 ^c	32.26±0.03 ^f	0.89±0.00	7.90±0.00
<i>P</i>		***	***	***	NS	NS
B	0	5.26±0.02 ^c	1.19±0.01 ^a	32.27±0.07 ^c	0.88±0.00	8.19±0.01
	1	5.33±0.02 ^c	1.50±0.01 ^e	31.75±0.05 ^a	0.87±0.00	8.19±0.01
	2	5.42±0.04 ^f	1.21±0.01 ^b	33.26±0.03 ^f	0.87±0.00	8.19±0.01
	3	5.29±0.02 ^d	1.41±0.01 ^d	32.09±0.03 ^b	0.88±0.00	8.19±0.01
	4	5.06±0.01 ^b	1.26±0.01 ^c	32.55±0.01 ^d	0.87±0.00	8.19±0.01
	5	4.95±0.01 ^a	1.25±0.01 ^c	32.80±0.02 ^e	0.88±0.00	8.19±0.01
<i>P</i>		***	***	***	NS	NS

Quality changes of Turkish pepper paste during storage

Production Method	Months	pH	Titration acidity (%)	Dry matter (%)	Water activity	Salt (%)
C	0	4.36±0.00 ^c	3.67±0.02 ^c	32.47±0.03 ^a	0.86±0.00	8.20±0.02
	1	4.43±0.02 ^d	3.81±0.01 ^d	33.16±0.01 ^d	0.86±0.00	8.20±0.02
	2	4.43±0.02 ^d	3.24±0.01 ^b	32.80±0.02 ^c	0.86±0.00	8.20±0.02
	3	4.42±0.02 ^d	3.04±0.01 ^a	32.66±0.03 ^b	0.86±0.00	8.20±0.02
	4	4.13±0.01 ^b	4.12±0.01 ^e	33.68±0.01 ^e	0.86±0.00	8.20±0.02
	5	4.08±0.02 ^a	4.13±0.02 ^e	33.95±0.04 ^f	0.86±0.00	8.20±0.02
<i>P</i>		***	***	***	NS	NS
D	0	4.16±0.00 ^c	7.94±0.01 ^c	42.95±0.02 ^f	0.88±0.00	8.16±0.04
	1	4.25±0.01 ^d	9.32±0.01 ^f	42.76±0.04 ^e	0.88±0.00	8.16±0.04
	2	4.25±0.01 ^d	8.08±0.01 ^d	41.87±0.02 ^a	0.89±0.00	8.16±0.04
	3	4.28±0.01 ^e	9.17±0.01 ^e	42.18±0.03 ^b	0.88±0.00	8.16±0.04
	4	3.96±0.01 ^b	7.48±0.01 ^a	42.35±0.02 ^c	0.89±0.00	8.16±0.04
	5	3.71±0.01 ^a	7.86±0.03 ^b	42.45±0.02 ^d	0.89±0.00	8.16±0.04
<i>P</i>		***	***	***	NS	NS
E	0	5.18±0.02 ^c	1.91±0.01 ^d	35.63±0.02 ^b	0.89±0.00	8.18±0.02
	1	5.24±0.01 ^e	2.36±0.01 ^f	35.95±0.03 ^d	0.89±0.00	8.18±0.02
	2	5.21±0.01 ^d	2.31±0.01 ^e	34.98±0.03 ^a	0.89±0.00	8.18±0.02
	3	5.29±0.01 ^f	1.71±0.01 ^b	35.68±0.24 ^b	0.89±0.00	8.18±0.02
	4	4.96±0.01 ^b	1.67±0.01 ^a	35.83±0.24 ^c	0.89±0.00	8.18±0.02
	5	4.61±0.00 ^a	1.76±0.04 ^c	35.94±0.02 ^d	0.89±0.00	8.18±0.02
<i>P</i>		***	***	***	NS	NS

*** $P \leq 0.001$. a-f Letters in the same column indicate statistical differences. NS: Non Significant. Paste types: A: mechanically fabricated evaporative paste; B: paste obtained by boiling the pulp in flat boilers; C: paste obtained by laying and drying the pulp in the sun; D: paste obtained by reducing the size of red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun and grinding; E: paste obtained by reducing the size of the red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun, grinding and boiling.

In the research, the effects of storage period on the physical and chemical properties of paste during storage were compared the results were found statistically significant on pH, titration acidity and dry matter values of pastes, and insignificant on water activity and salt values (Table 2). It is seen that the pH decreased in all productions during storage (Table 2). LABs rapidly acidified the pastes by producing lactic acid by fermentation processes of carbohydrates in pastes, which inhibited the growth of other microorganisms by leading to the low pH 5.06 ± 0.75 in our study (Li et al. 2016; Kaur and Kaur, 2020; Medina-Torres et al. 2020). On the other hand, moisture and pH of pastes are important parameters for microbial growth and product stability. It has been reported that pH values close to neutral values support bacterial growth during storage (Bozkurt and Erkmen, 2004; Medina-Torres et al. 2020). In addition, pH

values of A and C pastes were in accordance with the TFCC No.:2014/6; however, it was observed that there was a decrease in pH values from 0 th to 5th months in all production methods. It was thought that this decrease was due to the heat treatments' affecting LAB growth applied in A, B and E productions, and the effect of drying treatments' reducing the water activity necessary for bacterial life for production type C (Orak and Demirci, 2005; Kuleasan and Okur, 2012; Gamli et al., 2018, Yassihüyük, 2012).

Accordingly, all of the pastes were in compliance with the TFCC No.:2014/6 and more than previous study based on acidity values except production type D due to lack of heat treatment and drying to stop LABs activity and similarly production type C which as a method without heat treatment (Bozkurt and Erkmen, 2004; Orak and Demirci, 2005; Li et al. 2016; Anonymous,

2020; Askin Uzel, 2018). As can be seen from Table 2, dry matter values of pastes produced vary between 29.90-42.95 which complied with the minimum 18% standard specified in the TFCC No.:2014/6. Salt values detected in pepper pastes varied between 7.9-8.2 (Table 2). Although these values were in line with previous studies (Yassihüyük, 2012; Gamli et al., 2018, Ryu et al. 2021; Ramalingam et al. 2022), they were outside the maximum 5% standard specified in the TFCC No.:2014/6 (Anonymous, 2020). The water activity values detected in pepper pastes ranged between 0.86-0.89 (Table 2) which were in line with previous literature of pepper pastes (Kaur and Kaur, 2020; Medina-Torres et al. 2020).

Color, which is one of the most important criteria in the product selection of consumers, is an important quality criterion in the selection of paste. The color of the pepper pastes produced by the traditional method is affected by variables such as heating process, evaporation in the sun, lactic acid formation as a result of fermentation, and ambient oxygen. In the literature, the resources on color analysis of Turkish pepper paste are very limited (Kuleasan and Okur, 2012; Yassihüyük, 2012; Gamli et al., 2018). In this research, the effect of different production methods on the color of paste was compared with the DUNCAN multiple comparison test and the results are given in Table 3. As it can be seen from the Table (3); The effect of different production methods applied on *L*, *a*, *b*, *C* and *H* values was found to be statistically significant (** $P \leq 0.001$). It was thought that these significancies observed in color values were due to the effect of techniques such as heat treatment, drying,

shredding, etc. applied in production and the effect of added salt which all were effective on the amount of growth of microbial life and enzymatic reactions (Orak and Demirci, 2005; Gamli et al. 2018). When the effects on the color changes during storage were compared; while the storage had no effect on the *L* value in all productions (Table 4), it was observed that method did (Table 3). Although the *L* values were the highest especially in the fabricated A production, *L* values decreased during storage in all productions (Kuleasan and Okur, 2012, Gamli et al. 2018). However, the change in *L* values during storage was found to be statistically insignificant (Table 4). For the pastes of C, D and E productions, *a* value increased during storage significantly. While the statistical effect of the storage for the pastes of A and D on the *b* value was found to be insignificant, it was observed that the *b* value increased during storage in all productions. It was observed that the red color intensity of pastes increased during storage, therefore an increase in *a* and *b* values was observed, which was compatible with the literature (Kuleasan and Okur, 2012; Gamli et al., 2018, Yassihüyük, 2012). While the statistical effect of the storage for the pastes of A, B and D productions on the *C* value was found to be insignificant, it was observed that the *C* value increased during storage in all productions, however only C and E productions' increase were found to be significant. While the statistical effect of the storage for the pastes of A and D productions on the *H* value was insignificant, it is seen that the *H* value decreased during storage for A and D productions, while it increased in other productions.

Table 3. The effect of different production methods on the color of pastes

Production Method	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C</i>	<i>H</i>
A	35.58±1.24 ^c	31.90±1.78 ^b	24.80±1.83 ^b	40.29±2.38 ^c	37.75±0.92 ^c
B	32.83±0.83 ^b	29.44±1.19 ^a	20.66±1.63 ^a	35.92±1.82 ^a	34.96±1.39 ^a
C	30.97±1.69 ^a	29.76±2.90 ^a	21.65±2.64 ^a	36.65±3.72 ^{ab}	35.80±1.40 ^{ab}
D	32.45±2.33 ^{ab}	34.03±1.14 ^b	26.05±2.18 ^b	42.94±1.52 ^c	37.30±2.58 ^{bc}
E	31.26±1.34 ^{ab}	32.22±2.97 ^b	22.37±2.83 ^a	39.16±4.01 ^{bc}	34.72±1.05 ^a
<i>P</i>	***	***	***	***	***

*** $P \leq 0.001$. a-c Letters in the same column indicate statistical differences. Paste types: A: mechanically fabricated evaporative paste; B: paste obtained by boiling the pulp in flat boilers; C: paste obtained by laying and drying the pulp in the sun; D: paste obtained by reducing the size of red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun and grinding; E: paste obtained by reducing the size of the red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun, grinding and boiling.

Quality changes of Turkish pepper paste during storage

Table 4. Color changes of paste produced by different method during storage

Production Method	Months	L	a	b	C	H
A	0	38.56±0.87	28.56±0.63	22.25±0.36	36.52±0.52	39.52±0.62
	1	37.81±0.98	29.23±0.56	23.12±0.25	38.65±0.02	38.75±0.52
	2	36.86±1.15	30.33±0.24	24.00±0.18	38.72±0.06	38.20±0.45
	3	35.17±0.11	31.95±2.16	25.09±2.95	40.07±3.32	37.51±1.25
	4	34.71±1.00	33.41±0.93	25.32±1.79	42.09±1.75	37.53±1.08
	5	33.85±0.85	34.06±0.84	26.12±1.29	42.15±1.08	36.78±1.20
<i>P</i>		NS	NS	NS	NS	NS
B	0	34.67±0.95	30.56±0.89	19.22±0.82 ^a	33.65±0.85	30.85±2.14 ^a
	1	33.92±1.05	29.97±0.62	19.48±0.95 ^a	33.78±0.91	31.12±2.20 ^a
	2	32.51±1.18	28.98±0.52	19.50±1.07 ^a	34.89±1.02	33.71±0.99 ^b
	3	33.53±0.42	28.97±0.12	19.97±0.02 ^a	35.15±0.10	34.57±0.11 ^b
	4	32.45±0.32	30.37±1.85	22.52±1.24 ^b	37.72±2.21	36.62±0.15 ^c
	5	31.82±0.65	31.25±2.01	24.01±1.22 ^c	38.72±0.06	36.84±0.25 ^c
<i>P</i>		NS	NS	*	NS	**
C	0	34.61±0.72	21.03±0.52 ^a	18.01±0.98 ^a	29.79±2.53 ^a	33.98±0.85 ^a
	1	33.45±0.63	24.12±0.30 ^b	18.52±0.52 ^a	31.55±0.55 ^b	34.02±0.32 ^a
	2	32.38±0.40	27.13±0.50 ^c	18.67±0.60 ^a	32.92±0.72 ^b	34.29±0.36 ^a
	3	31.05±0.05	28.66±0.51 ^d	21.68±0.41 ^b	35.76±0.70 ^c	37.14±0.03 ^b
	4	29.49±2.23	33.50±0.21 ^e	24.59±1.02 ^c	41.28±0.50 ^d	35.90±1.28 ^b
	5	28.74±1.64	35.92±0.25 ^f	24.89±1.46 ^c	43.77±0.48 ^c	36.85±1.45 ^b
<i>P</i>		NS	***	***	***	*
D	0	35.41±2.43	29.56±0.52 ^a	25.21±2.81	40.45±0.48	37.75±2.14
	1	34.78±2.50	30.41±1.02 ^b	25.62±2.25	41.67±0.58	38.02±2.51
	2	33.83±3.26	32.53±0.33 ^c	25.83±3.97	41.84±2.24	38.49±4.54
	3	32.33±0.29	34.76±0.05 ^d	26.34±0.82	43.67±0.48	36.94±0.93
	4	31.19±2.40	34.79±0.29 ^d	25.98±1.57	43.30±1.11	36.47±1.34
	5	30.08±2.22	36.46±0.21 ^e	26.85±0.92	43.47±0.52	36.12±1.25
<i>P</i>		NS	***	NS	NS	NS
E	0	33.63±2.13	26.78±0.84 ^a	18.75±0.82 ^a	33.82±1.93 ^a	33.12±0.03 ^a
	1	32.49±1.25	26.65±0.82 ^a	19.15±0.41 ^a	33.93±2.13 ^a	33.29±0.05 ^a
	2	31.50±1.12	28.97±0.79 ^b	19.02±0.51 ^a	34.68±0.93 ^a	33.40±0.05 ^a
	3	30.84±2.32	34.57±1.23 ^c	24.57±1.38 ^b	40.48±1.80 ^b	35.20±0.60 ^b
	4	31.43±0.33	33.11±2.80 ^c	23.50±2.00 ^b	40.32±3.41 ^b	35.56±0.03 ^b
	5	29.85±0.45	35.56±1.46 ^d	24.51±2.15 ^b	42.40±0.44 ^c	36.65±0.01 ^b
<i>P</i>		NS	*	**	*	***

P* <0.05; *P* <0.01; ****P* ≤0.001; NS: Non Significant. a-f Letters in the same column indicate statistical differences. Paste types: A: mechanically fabricated evaporative paste; B: paste obtained by boiling the pulp in flat boilers; C: paste obtained by laying and drying the pulp in the sun; D: paste obtained by reducing the size of red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun and grinding; E: paste obtained by reducing the size of the red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun, grinding and boiling.

Evaluation of Microbiological Analysis Results

Pastes deteriorate due to physical, chemical and microbiological reasons (Şentürk, 1986). For this reason, total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), yeast-mold, total lactic acid bacteria (LAB) and

coliform counts were determined by microbiological analysis of paste samples. As the determination period, only the microbiological growths at the 0th day and 5th month when they were first produced were followed (Table 5).

Table 5. Logarithmic evolution of TMAB, Yeast and Mold, LAB and Coliform in Microbiological Analysis

TMAB (logcfu/g)					
	A	B	C	D	E
0. day	<1	2.62±0.00	3.76±0.00	3.87±0.00	2.48±0.00
5. month	<1	3.33±0.00	3.89±0.00	4.02±0.00	3.02±0.00
Yeast and Mold (logcfu/g)					
	A	B	C	D	E
0. day	<1	2.60±0.00	3.20±0.00	4.20±0.00	2.62±0.00
5. month	<1	2.90±0.00	3.34±0.00	4.30±0.00	2.71±0.00
LAB (logcfu/g)					
	A	B	C	D	E
0. day	2.30±0.00	2.78±0.00	3.08±0.00	3.38±0.00	2.60±0.00
5. month	2.90±0.00	3.08±0.00	3.25±0.00	3.97±0.00	2.95±0.00
Coliform (logcfu/g)					
	A	B	C	D	E
0. day	<1	<1	<1	<1	<1
5. month	<1	<1	<1	<1	<1

*values set in logcfu/g. Paste types: A: mechanically fabricated evaporative paste; B: paste obtained by boiling the pulp in flat boilers; C: paste obtained by laying and drying the pulp in the sun; D: paste obtained by reducing the size of red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun and grinding; E: paste obtained by reducing the size of the red pepper, which is made suitable for processing, by semi-drying in the sun, grinding and boiling.

At the end of the incubation, while TMAB was not found any in A production, the number of which varied and increased during storage for B, C, D and E productions were determined (Table 5). When the TMAB numbers were examined, the highest value was observed in the form of D production, while the lowest value was in the form of A (mechanically fabricated) production. In addition, when the bacterial counts were examined in general, it was thought that there was no microbial load was found with the effect of heat treatment in the form of A production and filling under aseptic conditions. In other production methods, the numbers difference between the productions were caused by the inefficient heat treatment and drying applications during the process. Moreover, when homemade paste production techniques were compared, the microbial load was found the least in E production rather than the others was due to the use of more different processes in this production, while the advantage of the heat

treatment effect in B production was seen. In addition, the highest microbial load was seen in D production, where the least processing was done. It was observed that the number of bacteria increased at the end of the 5th month in all production methods except A.

When the total mold-yeast numbers were examined, the highest value was observed in the form of D production, while the lowest value was in the form of A (mechanically fabricated) production. Similar to TMAB values, it was observed that the number of mold-yeast increased at the end of the 5th month in all production methods except A.

When the total lactic acid bacteria numbers were examined, the highest value was observed in the form of D production, while the lowest value was in the form of A (mechanically fabricated) production. However, as stated in previous studies, lactic acid growth might occur in the

spaces between the paste despite the applied heat treatments (Kuleasan and Okur, 2012). It was observed that the total number of lactic acid bacteria increased in all production methods at the end of the 5th month.

After the incubation period of VRBA, the coliform bacteria were not found in all productions. As stated in previous studies, coliform group bacteria growth was not observed due to the effect of applied heat treatments and sterile production (Kuleasan and Okur, 2012). It was thought that this bacterial group was completely inhibited by the effect of heat in productions A, B and E, and by the effect of drying in productions of C and D, or due to the bitterness of pepper (Bozkurt and Erkmén, 2005).

In general, the findings obtained from this study were compatible with the bacterial and yeast count values made in different pepper paste products' studies (Askin Uzel, 2018; Gamli et al. 2018; Ramalingam et al. 2022). On the other hand, it was also stated that TMAB and mold-yeast numbers decreased during 21-46 days of storage in paste produced with different techniques. The reason for the decrease in that study was thought to be the decrease in the water in the environment due to the salt added in the productions (Bozkurt and Erkmén, 2004). In this study, in which the storage was extended up to 5 months, it is shown that the risk in terms of microbiology increased with long storage. Therefore, as in this study, it was thought that adding more salt may be beneficial in order to significantly reduce the amount of water in the pastes.

CONCLUSION

In this research, the effects of different production methods applied and their effects on the physical, chemical and microbiological properties of pastes during storage were examined. While significant changes were observed only in pH, titration acidity, and dry matter in pastes produced by different methods, their effects on water activity and salt values were found to be insignificant. It has been observed that the effect of different processes in production methods on the color of paste was

varied during storage. While the highest microbiological load was found in the form of D production due to the lack of neither heat treatment nor complete drying during production; the best production method was found to be A as mechanically fabricated production owing to heat treatment and aseptic filling applications. Moreover, the E production method, in which the lowest microbiological load and growth was observed due to drying and boiling applications was chosen as the best home production method. Thus, if one of the homemade paste production methods is to be preferred, the E production method is recommended when compared to the other methods mentioned in the study. However, it has been seen once again that a healthier tomato paste can be produced more sterile by fabrication by mechanical methods, as in the production of A. In this way, it will be possible to support regional development economically and to contribute to public health by ensuring that the local people consume safer products.

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 study.

CONTRIBUTIONS

MA: Data curation and data analysis, writing original draft; SD: Conceptualization, supervision, data curation and data analysis, writing, review and editing of manuscript; MD: Conceptualization, supervision, data analysis, project administration and methodology, writing, review and editing of manuscript.

ACKNOWLEDGMENT

This study was produced from Meltem Ayda's master's thesis titled "*Determination and Comparison of The Quality Criteria of Pepper Paste Using Different Methods*", which she completed in Hatay Mustafa Kemal University, Institute of Science, Department of Food Engineering in 2020.

REFERENCES

Ahn, I.S., Do, M.S., Kim, S.O., Jung, H.S., Kim, Y.I., Kim, H.J. Park, K.Y. (2006). Antiobesity

- effect of Kochujang (Korean fermented red pepper paste) extract in 3T3-L1 adipocytes, *Journal of Medicinal Food*, vol.9(1), pp. 15-21.
- Akgül, A.,(1993). *Spice Science and Technology*. Food Technology Association. No:15, Ankara, 451p. (In Turkish)
- Anonymous, (2020). *Turkish Food Codex Communiqué On Pastes And Puree* (TFCC No.:2014/6)
- AOAC, (1995). *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Washington, D.C, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC, (1999). *Official Methods of Analysis*. In Official Methods of Analysis, 16th ed.; AOAC: Washington, DC, USA.
- AOAC, (2003). *Official Methods of Analysis*, Vol. 86,No.: 6, pp.1160-1163.
- Askin Uzel, R. (2018). Preservation of sweet red pepper paste quality: effect of packing material, ozone gas and protective agent use. *Food Science and Technology*. doi:10.1590/1678-457x.13917
- Bozkurt, H., and Erkmén, O. (2004). Effects of production techniques on the quality of hot pepper paste. *Journal of Food Engineering*, 64(2), 173-178.
- Bozkurt, H., and Erkmén, O. (2005). Effect of salt, starter culture and production techniques on the quality of hot pepper paste. *Journal of Food Engineering* 69, 473-479, 2005.
- Büyükbay, E. O., Sayılı, M., Uzunöz, M. (2009). The relationship between the socio-economic characteristics of the consumers and their tomato paste consumption: The case of Tokat province. *Electronic Journal of Food Technologies*, 4, 1-7. (In Turkish)
- Cakır, I. (2000). *Food Microbiology and Applications*. Chapter 12. Coliform Group Bacteria and *E. coli*. Page 335-344. Armoni Press, Ankara. (In Turkish)
- Duman, A.D., Zorlugenç, B., Evliya B. (2002). The Importance and Problems of Red Pepper in Kahramanmaraş. *Kahramanmaraş Sütçü İmam University Journal of Science and Engineering* 5(1), 42. (In Turkish)
- Gamli, Ö. F., Eraslan, Z., and Akben, S. B. (2018). Determination of the protective effects of olive leaf extracts on microbiological and physicochemical properties of pepper paste using the image processing methods. *Journal of Food Process Engineering*, 41(7), e12861. doi:10.1111/jfpe.12861
- Gogus, F., Ozel, M.Z., Keskin, H., Kocak Yanık, D., and Lewis, A.C. (2015). Volatiles of Fresh and Commercial Sweet Red Pepper Pastes: Processing Methods and Microwave Assisted Extraction, *International Journal of Food Properties*, 18:8, 1625-1634, DOI: 10.1080/10942912.2014.923910FAO,2022. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV> Access date: 13 Oct 2022.
- Gül, A., Özel, R., Işık, H. (2005). The Factors Affecting Consumption of Pepper Paste in Adana. *Journal of Harran University Faculty of Agriculture* 9(4): 23-31. (In Turkish)
- Francis, F.J. (1998). *Colour Analyses*, In Food Analysis (S.S. Nielson, ed.) Chapman and Hall, NY, USA.
- Ismail, N. and Revathi, R., (2006). Studies on the effects of blanching time, evaporation time, temperature and hydrocolloid on physical properties of chili (*Capsicum annum* var *kulai*) puree. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie (LWT)*, 39: 91-97.
- Jasim, A., Shivhare, U. S., Ramaswamy, H. S., (2002). Fraction Conversion Kinetic Model for Thermal Degradation of Color in Red Chilli Puree and Paste. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie (LWT)*, 35, 497-503.
- Kaur, R., Kaur, K. (2020). Effect of Processing on Color, Rheology and Bioactive Compounds of Different Sweet Pepper Purees. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75, 369-375. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00824-0>
- Kim, L. H., and Lim, Y. (2014). Anti-Obesity Effect of Commercial Kochujang and Fermented Wheat Grain Products in Sprague-Dawley Rats, *The Korean Journal of Food and Nutrition*, Vol. 27, pp.641-649.
- Kuleasan, H., and Okur, M. (2012). Industrial production of traditional red pepper paste and

- prevention of spoilage during storage. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10 (2 Part 1), 241-246.
- Li, Z., Dong, L., Huang, Q., and Wang, X. (2016). Bacterial communities and volatile compounds in Doubanjiang, a Chinese traditional red pepper paste. *Journal of Applied Microbiology*, 120(6), 1585–1594. doi:10.1111/jam.13130
- Medina-Torres, N., Cuevas-Bernardino, J., Ayora-Talavera, T., Patrón-Vázquez, J., Rodríguez-Buenfil, I., & Pacheco, N. (2020). Changes in the physicochemical, rheological, biological, and sensorial properties of habanero chili pastes affected by ripening stage, natural preservative and thermal processing. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 20(1), 195-212. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim1768>
- Orak, H. H., and Demirci, M. (2005). Effect of different blanching methods and period of frozen storage on enzyme activities and some quality criterias of hot and sweet red pepper (*Capsicum annum* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(4), 641-648.
- Ramalingam, S.; Bahuguna, A.; Lim, S.; Joe, A.-R.; Lee, J.-S.; Kim, S.-Y.; Kim, M. (2022). Physicochemical, Microbial, and Volatile Compound Characteristics of Gochujang, Fermented Red Pepper Paste, Produced by Traditional Cottage Industries. *Foods*, 11, 375. <https://doi.org/10.3390/foods11030375>.
- Ranganna S (ed.), Ranganna, S. (1999). *Vitamins*, In: *Handbook of analysis and quality control for fruits and vegetables*. Tata Mcgraw Hill, New Delhi, pp 105–118.
- Ryu, J.A., Kim, E., Kim, M.J., Lee, S., Yoon, S.R., Ryu, J.G. and Kim, H.Y. (2021). Physicochemical Characteristics and Microbial Communities in Gochujang, a Traditional Korean Fermented Hot Pepper Paste. *Frontiers in Microbiology*, 11:620478. doi: 10.3389/fmicb.2020.620478.
- Serrano, M., Zapata, P. J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., and Valero, D. (2010). Antioxidant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments, *Food Chemistry*, vol. 118, pp. 497–503.
- Şentürk, A. (1986). *Studies on the Effect of Bitterness in Pepper on the Duration of Thermal Death of Microorganisms Causing Deterioration in Pepper Paste*. Çanakkale Food Control and Research Institute Directorate, Çanakkale, 1986. (In Turkish)
- TUIK, (2022). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> Access date: 13 Oct 2022.
- Yalçın, D. (2008). Critical Control Points and Hazard Analysis in Red Chilli Pepper Production, *KSU Journal of Science and Engineering*, 11: 129-137.
- Yassıhöyük, N. (2012). Ergosterol and Patulin Levels in Dried Tomatoes, Dried Peppers and Pepper Paste, Pamukkale University, Science Institute, MSc Thesis, Denizli, 62, 2012.

BIBLIOMETRIC ANALYSIS OF RESEARCH ON BEE POLLEN: GLOBAL TRENDS AND COLLABORATION PATTERNS

İlginç Kızılpinar Temizer¹, Duygu Nur Çobanoğlu^{2*}

¹Vocational High School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, Giresun University, Giresun, Turkey

²Department of Crop and Animal Production, Vocational School of Food, Agriculture and Livestock, Bingöl University, Bingöl, Turkey

Received /Geliş: 24.03.2023; Accepted /Kabul: 02.10.2023; Published online /Online baskı: 06.10.2023

Kızılpinar Temizer, İ., Çobanoğlu, D. N. (2023). *Bibliometric Analysis of Research on Bee Pollen: Global Trends and Collaboration Patterns*. GIDA (2023) 48 (5) 1084-1098 doi: 10.15237/gida.GD23036

Kızılpinar Temizer, İ., Çobanoğlu, D. N. (2023). Arı Polenini Araştırmalarının Bibliyometrik Analizi: Küresel Eğilimler ve İşbirliği Örüntüleri. GIDA (2023) 48 (5) 1084-1098 doi: 10.15237/gida.GD23036

ABSTRACT

Bee pollen is recognized for its nutritional and health benefits, drawing attention from both the scientific community and consumers as a natural functional food. This study employed bibliometric analysis, using the R program bibliometrix package and VOS viewer, to examine scientific research on bee pollen. We were evaluated 921 articles in the Web of Science databases using the keyword 'bee pollen' published between 2011-2022. Among these, 90.45% were research articles, 6.73% were reviews, 2.06% were meeting abstracts, and 0.76% were book chapters. China led with 562 articles, followed by Brazil (330), Turkey (295), Italy (190), Portugal (189), the USA (175), and Spain (158). Bee pollen was the most used keyword, followed by pollen, propolis, and honey. This is the first bibliometric study to evaluate the researches on bee pollen, and it is considered important in terms of organizing the scientific studies to be conducted on this subject.

Keywords: Pollen, bee products, bibliometric, honey, bee pollen

ARI POLENİ ARAŞTIRMALARININ BİBLİYOMETRİK ANALİZİ: KÜRESEL EĞİLİMLER VE İŞ BİRLİĞİ ÖRÜNTÜLERİ

ÖZ

Arı poleni, beslenme ve sağlık yararları açısından tanınmış, hem bilimsel toplum hem de tüketiciler tarafından doğal bir fonksiyonel gıda olarak dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, R programının bibliyometrik analiz paketi ve VOS görüntüleyici kullanılarak arı poleni üzerine yapılan bilimsel araştırmaları incelemek amacıyla bibliyometrik analiz uygulanmıştır. 'Arı poleni' anahtar kelimesini kullanarak Web of Science veri tabanlarında yapılan arama sonucunda, 2011-2022 yılları arasında yayımlanan 921 makale değerlendirmeye alınmıştır. Bu makalelerin %90.45'i araştırma makalesi, %6.73'ü derleme, %2.06'sı toplantı özetleri ve %0.76'sı kitap bölümleri olarak belirlenmiştir. Çin, 562 makale ile ilk sırayı alırken, onu Brezilya (330), Türkiye (295), İtalya (190), Portekiz (189), ABD (175) ve İspanya (158) izlemiştir. En sık kullanılan anahtar kelimeler arasında arı poleni, polen, propolis ve bal bulunmaktadır. Bu çalışma, sadece arı poleni üzerine yapılan araştırmaları değerlendiren ilk bibliyometrik çalışmadır ve bu konuda yapılacak bilimsel çalışmaların düzenlenmesi açısından önemli görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Polen, arı ürünleri, bibliyometrik, bal, arı poleni

* Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

✉:dncobanoglu@bingol.edu.tr

☎(+90) 426 216 00 12/5239

İlginç Kızılpinar Temizer; ORCID no: 0000-0003-0425-5898

Duygu Nur Çobanoğlu; ORCID no: 0000-0002-8583-8114

INTRODUCTION

The nutritional and medicinal benefits of honeybee products have long been recognized and valued. Honey and beeswax are perhaps the most well-known primary bee products (Faqihi and Taha, 2022). Also, another well-known bee product is bee pollen, which is valued for both its therapeutic and nutritional qualities (Khalifa et al., 2021). Bee pollen is widely used in the food industry owing to its health benefits and nutritional properties.

Bee pollen is a natural mix of nectar, pollen, and salivary secretions produced by honeybees (*Apis mellifera* L.). It contains proteins, carbohydrates, lipids, and a broad range of secondary metabolites, including fatty acids, amino acids, polyphenols, vitamins, phytosterols, carotenoids, enzymes, co-enzymes, and minerals (Temizer et al., 2018; Salazar-González et al., 2020; Karkar et al., 2021). Due to its constituents, bee pollen is a functional food that provides full nutrition (El Ghouizi et al., 2023). Thanks to this rich content, bee pollen has many important properties such as an antioxidant, antimicrobial, anti-atherosclerotic, and hepatoprotective effect (Temizer et al., 2018; Bridi et al., 2019; Karkar et al., 2021; Soares de Arruda et al., 2021; Adaškevičiūtė et al., 2022).

Ancient texts, including the Bible and ancient Egyptian scriptures, reference the utilization of bee pollen as a natural remedy for diverse ailments (Khalifa et al., 2021). In recent years, scientific research on bee pollen has grown significantly, with a particular focus on its numerous benefits (Tomaszewska et al., 2020; Arung et al., 2021), phenolic components, and capacity to scavenge free radicals (Sarioğlu-Bozkurt et al., 2022). The range of bee pollen products available has also expanded, including granules, tablets, candy bars, oral liquids, and tonics for human consumption (Li et al., 2018). Microbial diversity in bee pollen has also become a more prominent topic in research (Moreno Andrade et al., 2018), which will help determine the potential uses of bee pollen.

Bibliometric analysis is a common and informative method for examining and

interpreting massive volumes of scientific data. Nowadays, bibliometric analysis has gained popularity in scientific studies. There are many studies conducted with bibliometric analysis in different research fields (Donthu et al., 2020; Guo et al., 2020; Yu et al., 2020; Rejeb et al., 2022; Tlili et al., 2022). Numerous research areas have been the subject of bibliometric analysis, including artificial intelligence in COVID-19 research (Karbasi et al., 2023), mathematics education (Phan et al., 2022), tungsten-based nanomaterials (Gu et al., 2023), educational technology research trends (Murnaka, 2021), additive manufacturing in orthopaedics (Javaid and Haleem, 2019), and endogenous retroviruses (Zaib et al., 2022). However, in the literature, there are few bibliometric studies on honey bee products and apitherapy. Şenel and Demir (2018) used bibliometric analysis to investigate apitherapy in complementary therapies between 1980 and 2016. In this study, they used the Web of Science database and found that Brazil, came in first with 889 published papers, followed by the United States, China, Japan, and Turkey. The most frequently used terms were propolis, flavonoids, *Apis mellifera*, bee venom, and apoptosis. Zakaria et al. (2021) did a bibliometric analysis of honey-related publications from 2011 to 2020 to determine the trend of honey research. The United States was the top country conducting research on honey, while Food Chemistry was the top journal. The top author keywords in terms of co-occurrence were "honey," "antioxidant," "chemometric," "Manuka honey," and "antibacterial". Durazzo et al. (2021) extracted bibliometric data from the Scopus online database using keywords (honey* and health*) that focused on honey and health. Stefanis et al. (2023) did a bibliometric analysis using the Scopus database, R, and Web of Science (WoS) viewer from 2001 to 2022 to determine the outline of honey's antioxidant and antimicrobial properties. In addition, there are some bibliometric analyses on bee studies. Decourtye et al. (2019) used bibliometric analysis with science data from the Web of Science in the last 30 years (1986–2016) to explore how the impact of threats on bee populations was investigated in the published literature (a retrospective overview) and what

further studies are needed to offer mitigation options (a prospective overview). Ziegler et al. (2021) investigated papers related to the reduction in *A. mellifera* mortality through bibliometric analysis. Data on patent families were collected on the Orbit platform, while data on scientific articles were collected on the Scopus database, with a time interval of 1980–2019.

Bibliometric analysis allows researchers and other partners to obtain detailed knowledge of the field of study.

This study was conducted because there is no existing research employing bibliometric analysis using the keyword “bee pollen”. The current study was undertaken to identify and analyze publication trends related to bee pollen over the last 10 years. In this way, periods of active research with bee pollen were identified, and shifts or changes in the themes investigated were assessed. Another objective is to identify key authors, institutions, or countries contributing to research in this field by analyzing co-authorship patterns and citation networks of bee pollen. At the same time, by analyzing citation patterns in the field of bee pollen, it was determined which articles received the most citations, and the most influential studies or publications in this field were identified. The main themes or topics in the field of bee pollen research were identified. The aim of this study is to provide a comprehensive view of bee pollen studies and to contribute to future research on this matter.

MATERIAL-METHODS

Materials

This study focuses on academic documents related to bee pollen. The data for this study was collected from the electronic database "Web of Science" (Thomson Reuters, New York, NY, USA). The word "bee pollen" has been searched for in the WOS database according to all fields. The keyword search was conducted in the research areas belonging to the main headings of natural, life, physical, environmental, health, environmental, health, agricultural and food, biomedical, social, and applied sciences. The search encompassed academic documents written

between January 2011 and January 2023. The time frame of the search was chosen to capture a defined period of research production and enable the identification of trends and patterns within that time (Wang and Ma, 2015). Consequently, in this investigation, research data about bee pollen from the last ten years was employed. Therefore, screening results between 2011 and 2022 in the bibliometric analysis of bee pollen gave a valuable tool to gain insight into the current state of research and identify future research opportunities. We included the documents, book chapters (n=7), meeting abstracts (n=19), and reviews (n=62) written in English. Documents written in languages other than English were excluded.

Purpose:

The purpose of this study was to conduct a bibliometric analysis for the evaluation of research on bee pollen. Specifically, we aimed to gain insight into the current state of bee pollen research, identify keywords, key authors, institutions, countries, cooperations, and identify emerging trends in research in this field.

Scope:

This study focused on academic documents related to bee pollen. The Web of Science is a widely recognized web-based tool that provides access to a vast collection of bibliographic and citation information from leading scholarly journals. It is particularly suitable for bibliometric analysis due to its comprehensive coverage and the ability to perform straightforward queries (Kahn, 2011; Zahedi et al., 2014). By utilizing Web of Science, we could leverage its reliable source of citation data, track the impact of research over time, and identify key authors, institutions, and emerging trends in research (Song et al., 2021).

Methods

All numerical data utilized in this study, were taken from Web of Science database and loaded into R studio Bibliometrix package and VOSviewer. To evaluate the scientific research on bee pollen, we utilized the R-based Biblioshiny program, which can be accessed at <https://bibliometrix.org/> (Büyükkıdık, 2022).

This program offers several advantages for bibliometric analysis, including flexibility, reproducibility, integration with statistical analysis, an extensive package ecosystem, and support from the active R community.

The R-based Biblioshiny program allowed us to process and analyze the collected data using various bibliometric techniques. These techniques include network analysis, text mining, data visualization, and statistical analysis. By leveraging the capabilities of R and the bibliometric packages it provides, we were able to gain comprehensive insights into the research landscape surrounding bee pollen. A software program called VOSviewer (Leiden University, Leiden, Netherlands) was used to see and explore maps made from bibliographic data (Van Eck and Waltman, 2010). VOS stands for visualization of similarities. It is a free Java program that may be downloaded and utilized. This program was used in this study to analyze and visualize the co-occurrence of keywords and the co-citation of references.

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, 921 documents related to bee pollen, published between 2011 and 2022, were detected in the database WOS. Among the 921 documents, 833 (90.45%) were research articles, 62 (6.73%) were reviews, 19 (2.06%) were meeting abstracts, and 7 (0.76%) were book chapters. The most published documents were determined in 2022, with a total of 143 and the fewest were determined in 2011, with a total of 21 (Table 1). Except for 2013, the number of publications has increased in each subsequent year. The average citations per document and per document per year were 15.88 and 2.70, respectively. When we examine the graph, the number of citations has been decreasing since 2019 (Table 1). This was thought to be typical, given the amount of time that had passed since its publication.

Table 1. Annual total citation and published documents number

Year	MeanTCperArt ¹	N ²	MeanTCperYear ³	CitableYears
2011	41.1	21	3.16	13
2012	41.8	35	3.48	12
2013	37.29	28	3.39	11
2014	30.65	43	3.06	10
2015	26.16	62	2.91	9
2016	19.42	74	2.43	8
2017	18.7	80	2.67	7
2018	18.83	81	3.14	6
2019	15.13	92	3.03	5
2020	9.38	128	2.35	4
2021	5.84	134	1.95	3
2022	1.63	143	0.81	2

1: The average number of total citations per article; 2: the total number of articles; 3: the mean total citations per year

The top ten journals publishing the highest number of articles about bee pollen with their article numbers are given in Table 2. The journal that published the most articles on this subject was *Molecules* with 46 manuscripts, followed by 38 manuscripts for the *Journal of Apicultural*

Research and 21 articles for *Foods*. The research field of the *Journal of Apicultural Research* is bee science. The other top ten journals dealt with analytical chemistry, the chemistry and biochemistry of agriculture, and food. The most cited journals were *Molecules*, *Plos One*, and

Journal of Agricultural and Food Chemistry, respectively (Table 2). The fact that the two most cited articles were published in PLoS One and

Molecules demonstrates that these journals are also active in the field.

Table 2. The top 10 journals that publish the most articles and their citation numbers on bee pollen

Journal	Article number	Citation
Molecules	46	1075
Journal of Apicultural Research	38	344
Foods	21	101
Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences	20	76
Lwt-Food Science and Technology	20	395
Journal of Apicultural Science	16	210
Journal of Agricultural and Food Chemistry	14	488
Plos One	13	890
Antioxidants	12	157

Table 3 lists the most cited documents, including author, publication year, journal title, total citations, and total citations per year. First and ninth were the research papers examining the relationship between bee pollen and bees death. The 8th most-cited article examined the macronutrients in bee pollen and their

effectiveness in bee nutrition. Of the other most-cited articles, the 5th, 6th, and 7th are reviews, and the 3rd, 4th, and 10th are research studies, and they all discussed the bioactive properties and therapeutic features of bee pollen.

Table 3. The specifics of the most-cited global article

	Paper	Type	Total Citations	TC ³ per Year
1	Krupke Ch, 2012, Plos One	R ¹	544	45.33
2	Imran M, 2019, Molecules	D ²	235	47.00
3	Pascoal A, 2014, Food Chem Toxicol	R	215	21.50
4	Morais M, 2011, Food Chem Toxicol	R	193	14.85
5	Cornara L, 2017, Front Pharmacol	D	188	26.86
6	Denisov B, 2016, J Sci Food Agric	D	185	23.13
7	Komosinska-Vassev K, 2015, Evid-Based Complement Altern Med	D	181	20.11
8	Vaudo Ad, 2016, Proc Natl Acad Sci U S A	R	180	22.50
9	Kasiotis Km, 2014, Sci Total Environ	R	170	17.00
10	Feas X, 2012, Molecules	R	169	14.08

1: Research; 2: Review; 3: Total citations

Figure 1. represents the top ten countries on the theme of bee pollen. China was at the top of the list of nations with the most documents (562). It was followed by Brazil (330) and Turkey (295).

Italy, Portugal, the USA, and Spain were among the countries that publish the most articles about bee pollen. The high number of documents on the theme of bee pollen in certain countries can

be attributed to various factors. Overall, the cause-effect relationships underlying the prominence of certain countries in bee pollen research can be attributed to factors such as favorable climates, diverse flora, abundant resources, and long-standing cultural practices related to bee product utilization. China, for instance, ranked at the top with 562 documents. This was primarily due to its extensive landmass and diverse flora, creating an ideal climate for apiculture. As a result, China has emerged as the world's largest manufacturer, consumer, and exporter of bee products, including bee pollen

(Yang et al., 2013). Similarly, Brazil, located in the southern hemisphere between latitudes 0-30, benefits from a rich biodiversity and favorable climatic conditions (Roesch et al.,2009). This enabled a diverse range of bee species and abundant floral resources, leading to Brazil's significant contribution to bee pollen research and publication output. The favorable conditions in terms of climate and abundant resources have fostered a long-standing tradition of utilizing bee pollen as a functional food in China.

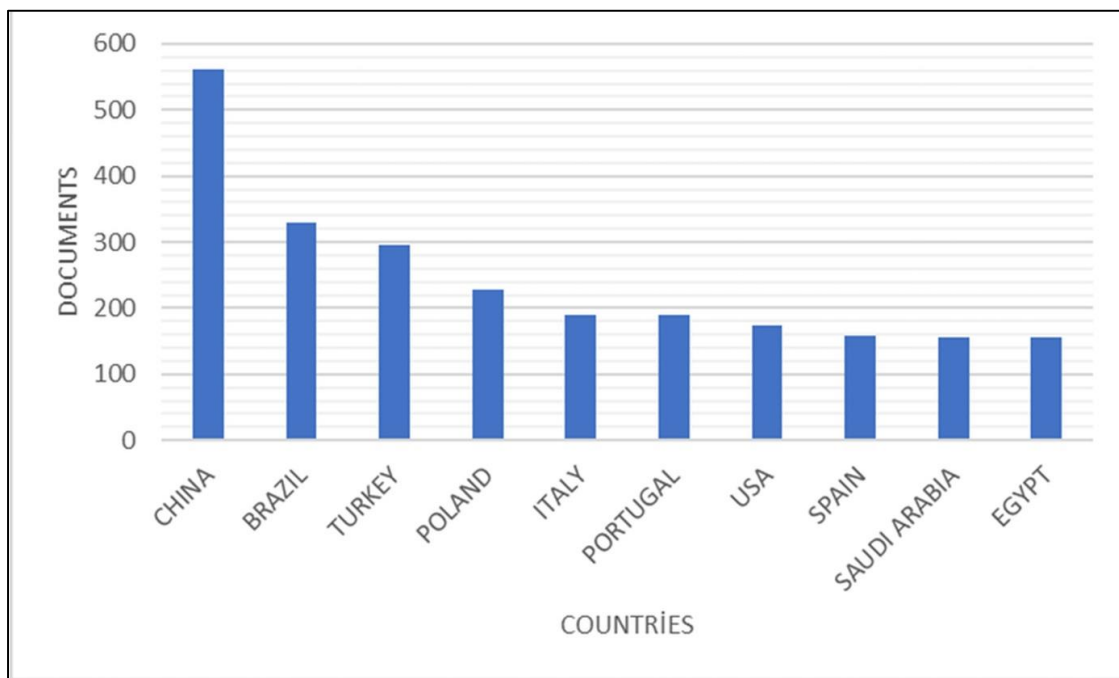


Figure 1. Countries' scientific production

Figure 2. highlights the average citation by country and shows that China (1855), USA (1336) and Poland (1306) have a total citation than others. Since the countries with the most publications, except for Saudi Arabia and Egypt, were also on the list of the most cited countries. Although China was the country with the highest number of publications (Figure 1) and citations, it ranks 9th with 13.90 in the average number of citations per article (Figure 2). Although USA ranked 7th among the countries with the most publications (175), it ranked 2nd in total citations and 1st in average citations per article. Turkey was

the 3rd country with the highest number of publications, it ranked 3rd in total citations and 10th in average citations per article. Although Iran and Greece were not among the top 10 countries that publish the most, they were the 9th and 10th in total citations and the 4th and 3rd in average citations per article, respectively.

Keywords and keyword plus assessment provided valuable insights into the aims and related topics of this study. In Table 4, the authors' keywords and keyword plus, which are derived from references in published papers, are presented.

These sets of keywords often overlap, highlighting their strong association with the subject. Notably, the top 20 keywords emphasized the source of pollen, the bioactivity

of bee pollen, and various aspects of bee products.

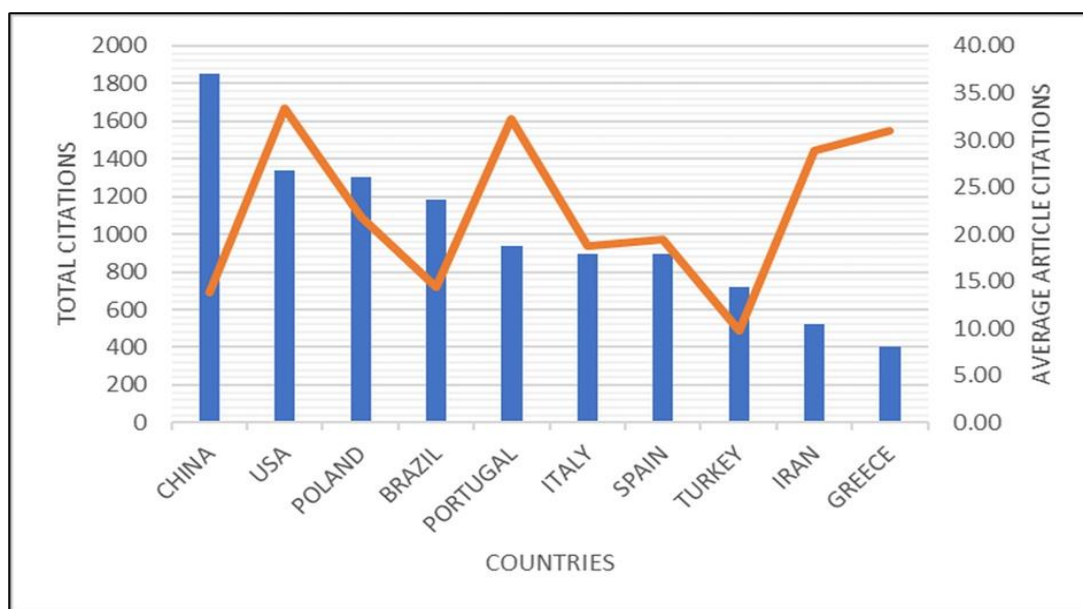


Figure 2. The total and the average citation by country

Table 4. The top 20 most keywords and keywords plus

	Author Keywords		Keywords Plus	
	Words	Occurrences	Words	Occurrences
1	bee pollen	343	chemical-composition	147
2	pollen	103	bee pollen	131
3	propolis	60	propolis	96
4	honey	59	antioxidant	94
5	antioxidant activity	45	honey	94
6	apis mellifera	44	honeybee-collected pollen	92
7	antioxidant	41	antioxidant activity	91
8	flavonoids	35	quality	74
9	bee products	33	origin	72
10	polyphenols	29	extract	61
11	bee bread	28	pollen	60
12	phenolic compounds	24	bioactive compounds	54
13	fatty acids	22	capacity	53
14	antimicrobial activity	17	extracts	53
15	nutrition	16	hymenoptera	48
16	royal jelly	16	botanical origin	43
17	antioxidant capacity	14	flavonoids	41
18	bioactive compounds	14	extraction	38
19	chemical composition	14	phenolic-compounds	37
20	oxidative stress	14	products	37

To explore the relationships among these keywords, a co-occurrence analysis was conducted using all 2511 keywords as the unit of analysis. By setting a minimum threshold of 10 occurrences per keyword, a subset of 41 keywords met this criterion. Figure 3 visually depicts the co-occurrence analysis, providing insights into the connections between these top 41 keywords and their relationships. In the co-occurrence analysis, a total of 268 links were identified among the keywords, representing the frequency of their co-occurrence in the analyzed literature. These links illustrated the interconnectedness between various keywords and shed light on their relationships. The cumulative strength of these links, totaling 797, signified the overall strength of the relationships among the keywords. This analysis unveiled the intricate web of connections between different research areas within the domain of bee pollen. The identified relationships highlight the interplay between factors such as the source of pollen, the bioactivity of bee pollen, and the diverse applications of bee products. Understanding these relationships aids in comprehending the broader scope of research and the interdependencies between various aspects of bee pollen studies. In summary, the co-occurrence analysis of the top 41 keywords revealed the relationships and interconnectedness between different research areas. The identified links and their cumulative strength provided insights into the frequency and overall strength of these relationships, contributing to a deeper understanding of the subject matter. The first cluster focused on the nutritional aspects and products related to bees. It included keywords such as amino acids, antioxidants, *Apis mellifera*, bee pollen, bee-pollen, beekeeping, broiler, fatty acids, minerals, nutrition, and protein. Researchers in this cluster were explored the nutritional composition and benefits of bee products, highlighting their potential role in human nutrition and health (Bayram, 2021). Keywords in the second cluster, including antimicrobial activity, antioxidant activity, antioxidant capacity, bee products, botanical origin, flavonoids, functional food, HPLC, and polyphenols, indicated research on the biological properties and chemical composition of bee

products (Sawicki et al., 2022). Scientists investigated the potential bioactive compounds, functional properties, and health benefits associated with these products, paving the way for their utilization as functional foods. The third cluster delved into the analytical techniques and specific aspects of honey and related products. Keywords like GC-MS, honey, honeybee, LC-MS/MS, mycotoxins, pesticides, quechers, and royal jelly suggest research focused on quality control, contaminants, and the chemical characterization of honey and its derivatives (Pang et al., 2022). Scientists in this cluster developed and applied analytical methods to ensure the safety and authenticity of honey products. Keywords in the fourth cluster, including antioxidants, apoptosis, bees, oxidative stress, phenolic compounds, and pollen, highlighted investigations into the roles of antioxidants, phenolic compounds (Mayda et al., 2020), and oxidative stress in relation to bees and apoptosis. Researchers were explored the effects of oxidative stress on bee health, the potential protective properties of antioxidants, and the underlying mechanisms involved in bee cell death (apoptosis). This cluster centered around the study of bioactive compounds, chemical composition, and the use of propolis. Keywords such as bioactive compounds, chemical composition, food analysis, probiotic, and propolis indicated research on the identification, quantification, and functional properties of bioactive compounds in propolis (Kocot et al., 2018). Scientists in this cluster also investigated the application of propolis as a potential natural product in food and health industries. Keywords bee bread and fermentation define the end cluster, which focuses on the concept of bee bread and its relationship to fermentation processes (Di Cagno et al., 2019).

These clusters provided an organized framework for understanding the different aspects and areas of research within the field of bee-related studies, allowing researchers to explore the interconnectedness of these topics and facilitate knowledge sharing and collaboration.

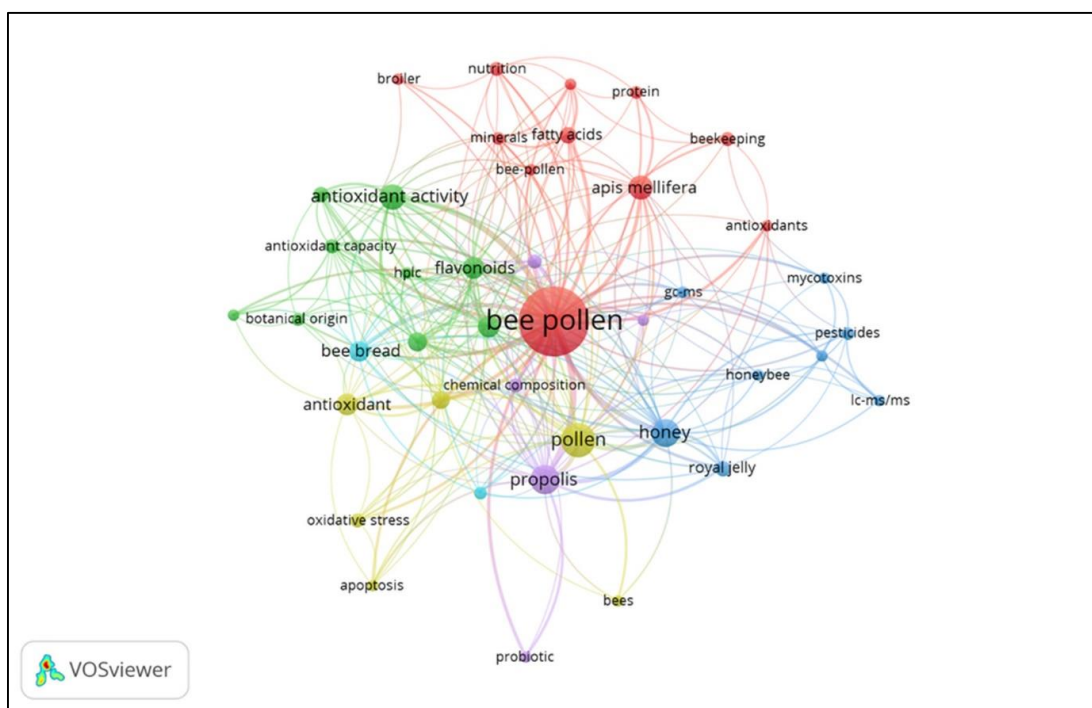


Figure 3. Co-occurrence analysis in the most popular 41 keywords

The collaboration map in Figure 4 illustrates the worldwide cooperation among researchers studying bee pollen. Each collaboration between countries was limited to less than five occurrences. The study utilized VOSviewer to perform a co-occurrence analysis with co-authors as the unit of analysis. To meet the minimum threshold of 5 occurrences per country, 46 out of 85 countries satisfied the criteria. The analysis revealed a total of 200 links among the countries, representing the frequency of co-occurrence in the research documents. The cumulative strength of these links was calculated as 408, indicating the overall strength of the relationships between the countries.

Figure 4 displays the cooperation links among the countries using lines, while 10 different colors represent the collaboration clusters of the countries. The identified clusters were as follows: Cluster 1: Belgium, Canada, Chile, France, Lithuania, Netherlands, and Ukraine.; Cluster 2: Australia, Indonesia, Iran, Japan, South Korea, Thailand, and USA; Cluster 3: England, Greece, India, Mexico, Serbia, and Slovenia; Cluster 4: Austria, Bulgaria, Germany, Romania, and

Turkey; Cluster 5: Egypt, Malaysia, Pakistan, Sweden; Cluster 6: Argentina, Brazil, Morocco, and Portugal; Cluster 7: Czech Republic, Iraq, Poland, Slovakia; Cluster 8: Colombia, Italy, Spain; Cluster 9: Algeria, Saudi Arabia, Tunisia; Cluster 10: People's Republic of China and Taiwan.

Regarding the co-authorship map of countries, it was worth mentioning that out of the 85 countries represented, 46 countries fulfilled the minimum threshold of five documents for co-authorship. Evaluating the total link strength, Egypt emerged as the most influential country with 59 documents, 1009 citations, and a total link strength of 81 (Figure 4). Following closely, Saudi Arabia held the second position with 52 documents, 668 citations, and the same total link strength of 81. Peoples Republic of China secured the third most influential spot, contributing with 141 documents, 2260 citations, and a total link strength of 64. Among the cooperation links between countries, the highest number of collaborations were observed between Arabia and Egypt, Brazil-Portugal, China-USA, and Italy-Egypt.

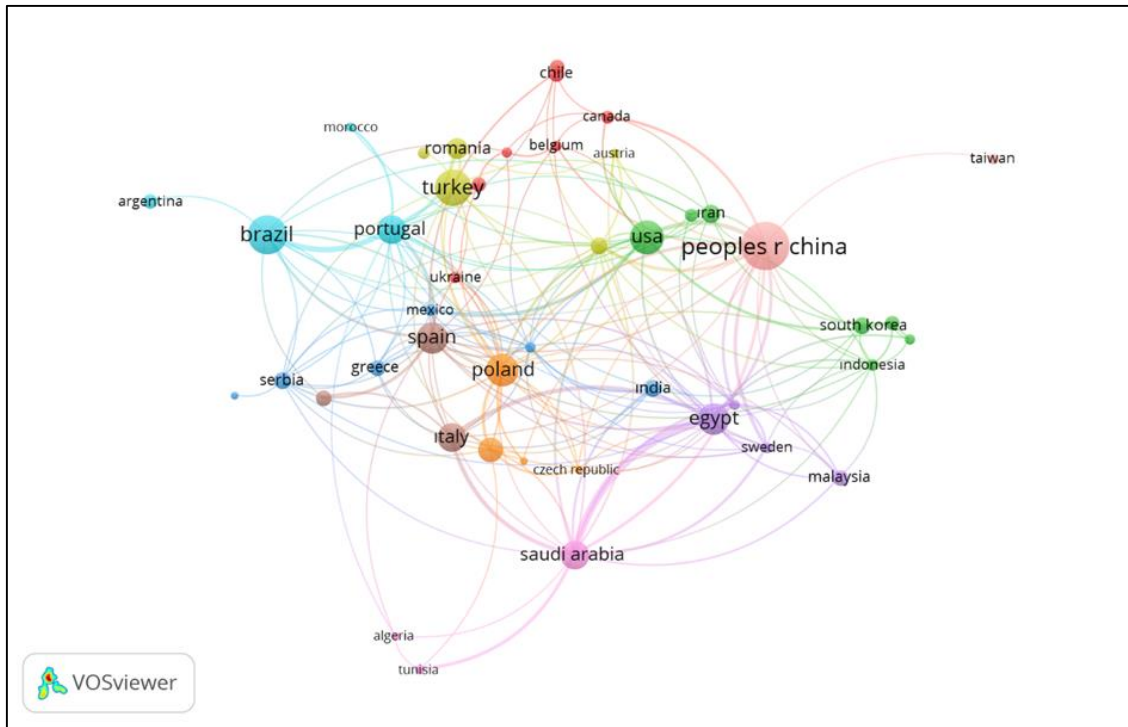


Figure 4. The co-authorship map of countries

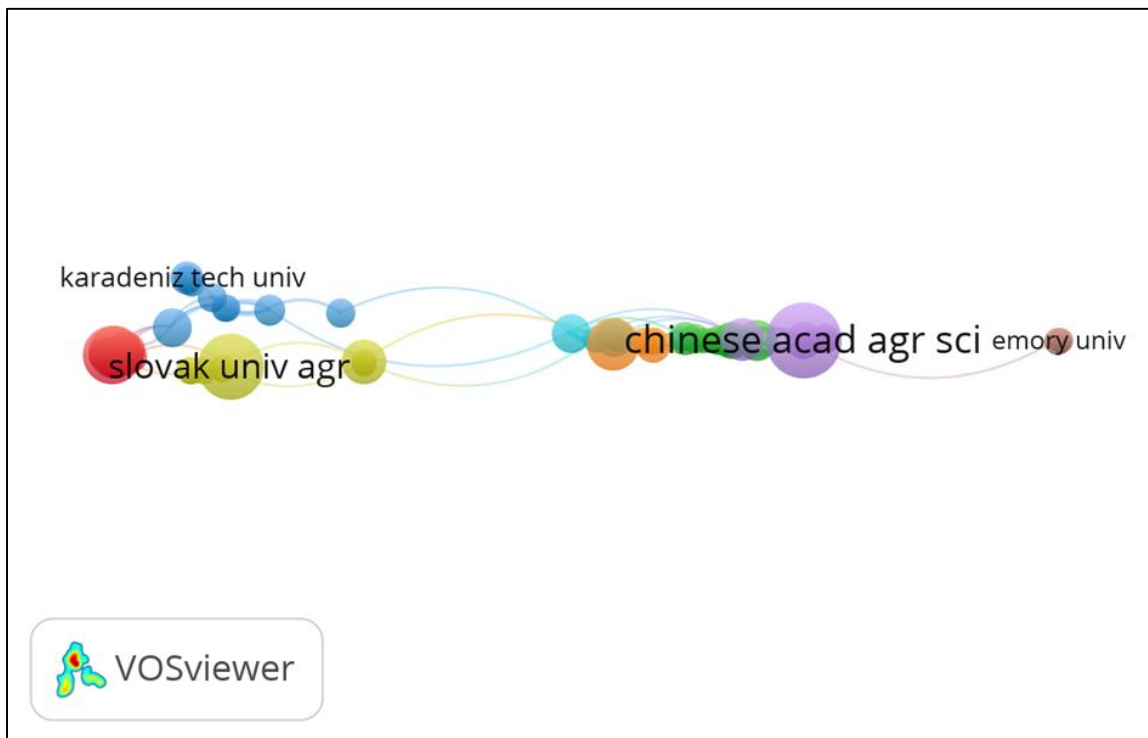


Figure 5. The co-authorship map of organizations

In the co-authorship map of organizations, it was worth noting that out of the 1083 countries represented, 79 countries met the threshold of having at least five documents. Figure 5 displays the organizations with the highest total link strength at the center of the map. The diameter of a node in the figure is directly proportional to the number of co-authorship links it has with other nodes. This visual representation allowed for an intuitive analysis of the contribution and proximity of major research institutions.

Based on the available data, the Chinese Acad Agr Sci (Chinese Academy of Agricultural Sciences) exhibited the strongest total link strength with a value of 43, indicating extensive collaboration with other organizations. Jiangsu University ranked second with a total link strength of 37, showcasing significant collaborative connections. Uppsala University followed closely in third place

with a total link strength of 34. These findings highlighted the prominent research contributions and close associations of these respective institutions within the co-authorship network.

According to the co-authorship map presented in Figure 6, there were a total of 3.573 authors involved. Among them, 78 authors surpassed the threshold of having at least five papers published. Evaluating the total link strength, it was found that Peter Hascik had the highest influence with 17 documents, 107 citations, and a total link strength of 56. Following closely, Jose Bernal had the second highest influence with 20 documents, 233 citations, and a total link strength of 53. Miroslava Kacaniova secured the third position in terms of influence, contributing with 21 documents, 282 citations, and a total link strength of 51.

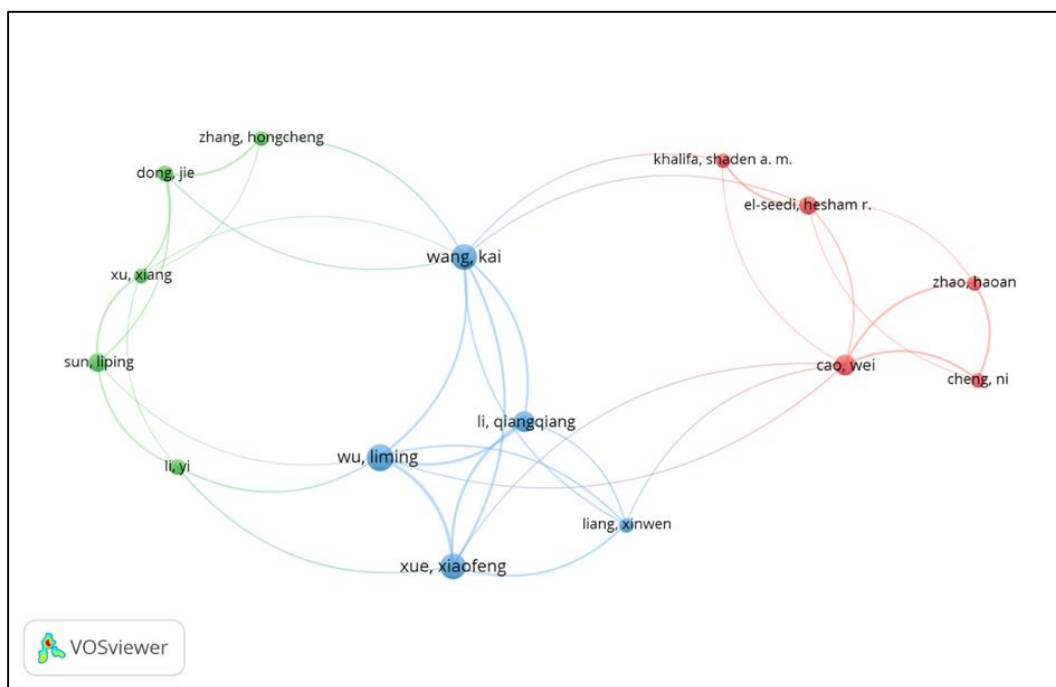


Figure 6: The co-authorship map

Bibliometric analysis is a potent tool that incorporates the quantitative study of scholarly publications and citations to learn more about the state of a certain field's research (De Bellis, 2009). Researchers can find patterns, trends, and linkages within a given field of study by examining

various bibliographic data, including publication counts, citation counts, author affiliations, journal impact factors, and co-citation networks. To search the WoS database, Şenel and Demir (2018), used the keywords honey, bee venom, royal jelly, propolis, and apitherapy. A total of 6917 articles

from the beginning of 1980 to the end of 2016 were found in their WoS database search. We used only the keyword bee pollen with this study. Therefore, we evaluated 921 publications between the beginning of 2011 and the beginning of 2023.

Stefanis et al. (2023) aimed to offer a bibliometric analysis of the honey's antibacterial and antioxidant effects in 2001 to 2022. Articles (273) and reviews (81) made up the majority of the 383 results, and the yearly growth rate of published submissions reached 17.5%. In this study, all data on bee pollen between 2011 and 2022 were analyzed.

The fact that our study was the first in the bibliometric analysis of bee pollen studies and that there was no other study to compare, despite the recent increase in interest in studies, was a sign of the insufficiency of the statistical literature in this field.

CONCLUSIONS

Because of its distinctive composition, bee pollen is used as a nutritional supplement, and researchers have shown that it has powerful health benefits, including being an antioxidant, antiallergen, anti-inflammatory, antiulcer, immune-stimulating, antibacterial, and anticarcinogenic. The bibliometric analysis of bee pollen studies provides valuable insights into the research environment surrounding this natural product. By applying bibliometric techniques to the existing literature on bee pollen, this study was able to identify key trends and gaps in the field.

The analysis revealed that interest in bee pollen research has steadily increased over the years, pointing to the growing importance and potential applications of this product. Researchers have investigated various aspects of bee pollen, such as its chemical composition, nutritional properties, therapeutic potential, and environmental impacts.

Furthermore, the bibliometric analysis sheds light on the most prolific and influential authors, institutions, and countries in the field, highlighting collaboration networks and

knowledge sharing patterns. This information can help researchers identify potential collaborators and facilitate resource exchange.

The analysis also identified emerging research topics and areas of limited scope, providing opportunities for future research. Overall, bibliometric analysis of bee pollen studies serves as a valuable tool for researchers and industry stakeholders. It has not only provided a comprehensive overview of the existing knowledge base but also guided future research efforts.

AUTHOR CONTRIBUTION

DNÇ, İKT: Writing original draft, review & editing, Investigation, Supervision, conceptualization, bibliometric analysis.

CONFLICT OF INTEREST

The authors of this article declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to affect this work.

REFERENCES

- Arung, E. T., Ramadhan, R., Khairunnisa, B., Amen, Y., Matsumoto, M., Nagata, M., Kusuma, I. W., Paramita, S., Sukemi, Yadi, Tandirogang, N., Takemoto, N., Syafrizal, Kim, Y.-u., Shimizu, K. (2021). Cytotoxicity effect of honey, bee pollen, and propolis from seven stingless bees in some cancer cell lines. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(12): 7182-7189, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.017>
- Bayram, N. E. (2021). Vitamin, mineral, polyphenol, amino acid profile of bee pollen from *Rhododendron ponticum* (source of “mad honey”): nutritional and palynological approach. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15(3): 2659-2666, 10.1007/s11694-021-00854-5
- Bridi, R., Atala, E., Pizarro, P. N., Montenegro, G. (2019). Honeybee Pollen Load: Phenolic Composition and Antimicrobial Activity and Antioxidant Capacity. *Journal of Natural Products* 82(3): 559-565, 10.1021/acs.jnatprod.8b00945
- Büyükkıdık, S. (2022). A Bibliometric Analysis: A tutorial for the bibliometrix package in R using

- IRT literature. *Journal of Measurement and Evaluation in Education and Psychology* 13(3): 164-193, <https://doi.org/10.21031/epod.1069307>
- De Bellis, N. (2009). *Bibliometrics and citation analysis: from the science citation index to cybermetrics*. Scarecrow press, United Kingdom, 417 p.
- Decourtye, A., Alaux, C., Le Conte, Y., Henry, M. (2019). Toward the protection of bees and pollination under global change: present and future perspectives in a challenging applied science. *Current Opinion in Insect Science* 35: 123-131, <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.07.008>
- Di Cagno, R., Filannino, P., Cantatore, V., Gobetti, M. (2019). Novel solid-state fermentation of bee-collected pollen emulating the natural fermentation process of bee bread. *Food microbiology*, 82, 218-230, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.007>
- Donthu, N., Kumar, S., Pattnaik, D. (2020). Forty-five years of Journal of Business Research: A bibliometric analysis. *Journal of Business Research* 109: 1-14, <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.10.039>
- Durazzo, A., Lucarini, M., Plutino, M., Lucini, L., Aromolo, R., Martinelli, E., Souto, E. B., Santini, A., Pignatti, G. (2021). Bee Products: A Representation of Biodiversity, Sustainability, and Health. *Life* 11(9): 970, <https://www.mdpi.com/2075-1729/11/9/970>
- El Ghouizi, A., Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaaïd, D., El Menyiy, N., Hano, C., Lyoussi, B. (2023). Bee Pollen as Functional Food: Insights into Its Composition and Therapeutic Properties. *Antioxidants* 12(3): 557, <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/3/557>
- Faqîhi, R. A., Taha, E. A.-H. (2022). Apitherapy as an Alternative medicine: Article review. *African Journal of Biological Sciences* 18(2): 43-57, [10.21608/ajbs.2022.251260](https://doi.org/10.21608/ajbs.2022.251260)
- Gu, C., Wang, Z., Pan, Y., Zhu, S., Gu, Z. (2023). Tungsten-based Nanomaterials in the Biomedical Field: A Bibliometric Analysis of Research Progress and Prospects. *Advanced Materials* 35(1): 2204397, <https://doi.org/10.1002/adma.202204397>
- Guo, Y., Hao, Z., Zhao, S., Gong, J., Yang, F. (2020). Artificial Intelligence in Health Care: Bibliometric Analysis. *Journal of Medical Internet Research* 22(7): e18228, [10.2196/18228](https://doi.org/10.2196/18228)
- Javaid, M., Haleem, A. (2019). Current status and challenges of Additive manufacturing in orthopaedics: An overview. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma* 10(2): 380-386, <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2018.05.008>
- Kahn, M. (2011). A bibliometric analysis of South Africa's scientific outputs - some trends and implications : research article. *South African Journal of Science* 107(1): 1-6, [doi:10.10520/EJC97113](https://doi.org/10.10520/EJC97113).
- Karbasi, Z., Gohari, S. H., Sabahi, A. (2023). Bibliometric analysis of the use of artificial intelligence in COVID-19 based on scientific studies. *Health Science Reports* 6(5): e1244, <https://doi.org/10.1002/hsr2.1244>
- Karkar, B., Şahin, S., Güneş, M. E. (2021). Evaluation of antioxidant properties and determination of phenolic and carotenoid profiles of chestnut bee pollen collected from Turkey. *Journal of Apicultural Research* 60(5): 765-774, [10.1080/00218839.2020.1844462](https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1844462)
- Khalifa, S. A. M., Elashal, M. H., Yosri, N., Du, M., Musharraf, S. G., Nahar, L., Sarker, S. D., Guo, Z., Cao, W., Zou, X., Abd El-Wahed, A. A., Xiao, J., Omar, H. A., Hegazy, M.-E. F., El-Seedi, H. R. (2021). Bee Pollen: Current Status and Therapeutic Potential. *Nutrients* 13(6): 1876, <https://doi.org/10.3390/nu13061876>
- Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., Musik, I. (2018). Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. *Oxidative medicine and cellular longevity*, <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>.
- Li, Q.-Q., Wang, K., Marcucci, M. C., Sawaya, A. C. H. F., Hu, L., Xue, X.-F., Wu, L.-M., Hu, F.-L. (2018). Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. *Journal of Functional Foods* 49: 472-484, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.008>
- Mayda, N., Özkök, A., Ecem Bayram, N., Gerçek, Y. C., Sorkun, K. (2020). Bee bread and bee pollen

- of different plant sources: determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles. *Journal of Food Measurement and Characterization* 14(4): 1795-1809, [10.1007/s11694-020-00427-y](https://doi.org/10.1007/s11694-020-00427-y)
- Moreno Andrade, V. D., Saldaña Gutiérrez, C., Calvillo Medina, R. P., Cruz Hernández, A., Vázquez Cruz, M. A., Torres Ruíz, A., Romero Gómez, S., Ramos López, M. A., Álvarez-Hidalgo, E., López-Gaytan, S. B., Ramírez, N. S., Jones, G. H., Hernandez-Flores, J. L., Campos-Guillén, J. (2018). Microbial Diversity in Commercial Bee Pollen from Europe, Chile, and Mexico, Based on 16S rRNA Gene Amplicon Metagenome Sequencing. *Genome Announc* 6(20), [10.1128/genomeA.00247-18](https://doi.org/10.1128/genomeA.00247-18)
- Murnaka, N. P. (2021). Educational Technology Research Trends: A Bibliometrics Analysis And Visualization. *Turkish Journal of Computer and Mathematics Education (TURCOMAT)* 12(6): 2695-2701, <https://doi.org/10.17762/turcomat.v12i6.5770>
- Pang, X., Li, C., Zang, C., Guan, L., Zhang, P., Di, C., Zou N., Li B., Lin, J. (2022). Simultaneous detection of ten kinds of insecticide residues in honey and pollen using UPLC-MS/MS with graphene and carbon nanotubes as adsorption and purification materials. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 21826-21838, <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17196-w>
- Phan, T. T., Trinh, T., Hai, T., Tran, T., Tong, H., Phuong, T., Chau, B., Nguyen, T.-T. (2022). A Bibliometric Review on Realistic Mathematics Education in Scopus Database Between 1972-2019. *European Journal of Educational Research* 11(2): 1133-1149, [10.12973/eu-jer.11.2.1133](https://doi.org/10.12973/eu-jer.11.2.1133)
- Rejeb, A., Abdollahi, A., Rejeb, K., Treiblmaier, H. (2022). Drones in agriculture: A review and bibliometric analysis. *Computers and Electronics in Agriculture* 198: 107017, <https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.107017>
- Roesch, L. F. W., Vieira, F. C. B., Pereira, V. A., Schünemann, A. L., Teixeira, I. F., Senna, A. J. T., & Stefenon, V. M. (2009). The Brazilian Pampa: a fragile biome. *Diversity*, 1(2), 182-198, <https://doi.org/10.3390/d1020182>
- Salazar-González, C. Y., Rodríguez-Pulido, F. J., Stinco, C. M., Terrab, A., Díaz-Moreno, C., Fuenmayor, C., Heredia, F. J. (2020). Carotenoid profile determination of bee pollen by advanced digital image analysis. *Computers and Electronics in Agriculture* 175: 105601, <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105601>
- Sarioğlu-Bozkurt, A., Topal, E., Güneş, N., Üçeş, E., Cornea-Cipcigan, M., Coşkun, İ., Cuiibus, L., Mărgăoan, R. (2022). Changes in Vitellogenin (Vg) and Stress Protein (HSP 70) in Honey Bee (*Apis mellifera anatoliaca*) Groups under Different Diets Linked with Physico-Chemical, Antioxidant and Fatty and Amino Acid Profiles. *Insects* 13(11): 985, <https://www.mdpi.com/2075-4450/13/11/985>
- Sawicki, T., Starowicz, M., Kłębukowska, L., Hanus, P. (2022). The Profile of Polyphenolic Compounds, Contents of Total Phenolics and Flavonoids, and Antioxidant and Antimicrobial Properties of Bee Products. *Molecules* 27(4): 1301, <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/4/1301>
- Şenel, E., Demir, E. (2018). Bibliometric analysis of apitherapy in complementary medicine literature between 1980 and 2016. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 31: 47-52, <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2018.02.003>
- Soares de Arruda, V. A., Viera dos Santos, A., Figueiredo Sampaio, D., da Silva Araújo, E., de Castro Peixoto, A. L., Estevinho, L. M., de Almeida-Muradian, L. B. (2021). Brazilian bee pollen: phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Journal of Apicultural Research* 60(5): 775-783, [10.1080/00218839.2020.1840854](https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1840854)
- Song, G., Wu, J., Wang, S. (2021). Text Mining in Management Research: A Bibliometric Analysis. *Security and Communication Networks* 2021: 2270276, [10.1155/2021/2270276](https://doi.org/10.1155/2021/2270276)
- Stefanis, C., Stavropoulou, E., Giorgi, E., Voidarou, C., Constantinidis, T. C., Vriioni, G., Tsakris, A. (2023). Honey's Antioxidant and Antimicrobial Properties: A Bibliometric Study. *Antioxidants* 12(2): 414, <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/2/414>

- Temizer, İ. K., Güder, A., Temel, F. A., Avcı, E. (2018). A comparison of the antioxidant activities and biomonitoring of heavy metals by pollen in the urban environments. *Environmental Monitoring and Assessment* 190(8): 462, <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6829-6>
- Tlili, A., Huang, R., Shehata, B., Liu, D., Zhao, J., Metwally, A. H. S., Wang, H., Denden, M., Bozkurt, A., Lee, L.-H., Beyoglu, D., Altinay, F., Sharma, R. C., Altinay, Z., Li, Z., Liu, J., Ahmad, F., Hu, Y., Salha, S., Burgos, D. (2022). Is Metaverse in education a blessing or a curse: a combined content and bibliometric analysis. *Smart Learning Environments* 9(1): 24, [10.1186/s40561-022-00205-x](https://doi.org/10.1186/s40561-022-00205-x)
- Tomaszewska, E., Knaga, S., Dobrowolski, P., Lamorski, K., Jabłoński, M., Tomczyk-Warunek, A., Jard Kadhim, M., Hulas-Stasiak, M., Borsuk, G., Muszyński, S. (2020). The effect of bee pollen on bone biomechanical strength and trabecular bone histomorphometry in tibia of young Japanese quail (*Coturnix japonica*). *PLoS One* 15(3): e0230240, [10.1371/journal.pone.0230240](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230240)
- Van Eck, N., Waltman, L. (2010). Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics* 84(2): 523-538, <https://doi.org/10.1007/s11192-009-0146-3>
- Wang, D.-Y., Ma, S. (2015). Literature Review on Bibliometrics and Its Future Development—Based on Bibliometric Measures. 2nd Annual International Conference on Social Science and Contemporary Humanity Development.
- Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J., Sun, P. (2013). Characterization of Chemical Composition of Bee Pollen in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(3): 708-718, [10.1021/jf304056b](https://doi.org/10.1021/jf304056b)
- Yu, Y., Li, Y., Zhang, Z., Gu, Z., Zhong, H., Zha, Q., Yang, L., Zhu, C., Chen, E. (2020). A bibliometric analysis using VOSviewer of publications on COVID-19. *Annals of Translational Medicine* 8(13): 816, [10.21037/atm-20-4235](https://doi.org/10.21037/atm-20-4235)
- Zahedi, Z., Costas, R., Wouters, P. (2014). How well developed are altmetrics? A cross-disciplinary analysis of the presence of 'alternative metrics' in scientific publications. *Scientometrics* 101(2): 1491-1513, [10.1007/s11192-014-1264-0](https://doi.org/10.1007/s11192-014-1264-0)
- Zaib, G., Cui, H., Hu, X. (2022). Global network mapping research landscape and trends of the endogenous retroviruses: a look through bibliometric analysis. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali* 33(3): 663-672, [10.1007/s12210-022-01088-3](https://doi.org/10.1007/s12210-022-01088-3)
- Zakaria, R., Ahmi, A., Ahmad, A. H., Othman, Z., Azman, K. F., Ab Aziz, C. B., Ismail, C. A. N., Shafin, N. (2021). Visualising and mapping a decade of literature on honey research: a bibliometric analysis from 2011 to 2020. *Journal of Apicultural Research* 60(3): 359-368, [10.1080/00218839.2021.1898789](https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1898789)
- Ziegler, C., Sinigaglia, T., Martins, M. E. S., Souza, A. M. (2021). Technological Advances to Reduce *Apis mellifera* Mortality: A Bibliometric Analysis. *Sustainability* 13(15): 8305, <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/15/8305>

**EFFECT OF ETHANOL IMMERSION AND ULTRASOUND
PRETREATMENTS ON THE KINETICS OF CONVECTIVE DRYING OF
QUINCE**

Nasim Kian-Pour*

Istanbul Aydın University, Faculty of Fine Arts, Gastronomy and Culinary Arts Department, Istanbul, Turkey

Received /Geliş: 16.07.2023; Accepted /Kabul: 03.10.2023; Published online /Online baskı: 06.10.2023

Kian-Pour, N. (2023). Effect of ethanol immersion and ultrasound pretreatments on the kinetics of convective drying of quince. GIDA (2023) 48 (5) 1099-1108 doi: 10.15237/ gida.GD23082

Kian-Pour, N. (2023). Etanole daldırma ve ultrason ön işlemlerinin ayvanın konvektif kurutma kinetiğine etkisi. GIDA (2023) 48 (5) 1099-1108 doi: 10.15237/ gida.GD23082

ABSTRACT

This work studied the impact of ethanol immersion (E), ultrasound (U), and ultrasound-ethanol immersion (UE) for 10, and 20 min on the drying characteristics of quince. After pretreatments, the samples were dried at a hot dryer at 90°C and air velocity of 2 m/s. Drying time was reduced by 50% for samples pretreated in Ultrasonic-Ethanol (UE20) for 20 min. Moisture diffusion coefficient varied from 1.880 to 2.933×10⁻⁹ m²/s. The friction drag force, convective heat transfer coefficient, and convective mass transfer coefficient were 6.110×10⁻⁶ N, 24.077 W/m²K, and 0.020 m/s, respectively. The thermal conductivity, the specific heat, and the density of quince samples ranged from 0.5278 to 0.5876 W/m. K, 3554.00 to 3908.00 J/kg. K, and 814.95 to 904.60 kg/m³, respectively. Among all pretreatments, UE20 could prefer for significant decreases in the drying time and improve drying characteristics of quince at the industrial extent.

Keywords: Ethanol-immersion, ultrasound, pretreatment, drying kinetics, diffusion coefficient, quince

**ETANOLE DALDIRMA VE ULTRASON ÖN İŞLEMLERİNİN AYVANIN
KONVEKTİF KURUTMA KİNETİĞİNE ETKİSİ**

ÖZ

Bu çalışmada 10 ve 20 dak etanole daldırma (E), ultrason (U) ve ultrason-etanole daldırma (UE) ön işlemlerinin ayvanın kuruma özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ön işlemler sonrası, numuneler sıcak hava kurutucusunda 2 m/s hızda 90 °C'de kurutulmuştur. Ultrason-etanole daldırma ile 20 dak ön işlem görmüş numunelerde (UE20) kuruma süresinin %50 oranında azaldığı görülmüştür Numunelerin nem difüzyon katsayıları 1.880 ile 2.933×10⁻⁹ m²/s arasında değişmiştir. Sürtünme kuvveti, konvektif ısı transfer katsayısı ve konvektif kütle transfer katsayısı sırasıyla 6.110×10⁻⁶ N; 24.077 W/m²K ve 0.020 m/s olarak elde edilmiştir. Ayvaların ısı iletkenliğinin 0.5278-0.5876 W/m K, özgül ısısının 3554-3908 J/kg. K ve yoğunluğunun 814.95-904.60 kg/m³ aralıklarında değiştiği belirlenmiştir. Tüm ön işlemler karşılaştırıldığında ayva üzerinde UE20 işleminin kurutma süresini önemli ölçüde azalttığı belirlenmiş ve endüstriyel boyutta bu işlemin kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Etanole daldırma, ultrason, ön işlem, kurutma kinetiği, difüzyon katsayısı, ayva

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉:nasimkianpour@aydin.edu.tr

☎: (+90)531 421 46 33

Nasim Kian-Pour; ORCID no : 0000-0001-9558-4077

INTRODUCTION

Quince (*Cydonia oblonga* Miller) is a valuable fruit, which belongs to the Rosaceae family. Quince shows health-promoting potential due to its valuable bioactive compounds, vitamins, and fibers (Najman et al., 2023; Salehi et al., 2023). Quince can be consumed as both fresh and processed. However, due to its unique characteristic of astringent flavor, distinct aroma, and hardness quince has been processed into different products (Berktaş et al., 2023). It is consumed as jam, juice, jellies, syrups, alcoholic beverages, cakes, desserts, confectionery, tea, etc. (Najman et al., 2023). According to the high moisture content of quince, it exposed microbial and chemical deterioration. Drying can be used to decrease its moisture content, extend the shelf life and decrease the transportation and storage costs (Salehi et al., 2023). Hot air drying is one of the oldest methods universally used to dry foodstuff at the industrial extent (Kian-Pour N. , 2023a). However, the most disadvantages of long drying time are losses of nutrition and undesirable changes in the quality attributes of dried food. Long drying time with the use of more energy has a negative effect in terms of economic, global warming, and environmental pollution (Kian-Pour et al., 2022). Recently, there is a significant effort to improve drying operation and decrease the drying time, energy consumption, and process cost (Miano et al., 2021).

Using different pretreatment techniques before drying can improve the drying behavior of food products via different mechanisms such as increases in the rate of mass transfer and water migration (da Cunha et al., 2020). The ultrasound and ethanol immersion pretreatment can be used as a promising alternative to non-thermal pretreatments for improving the drying kinetics of food (de Freitas et al., 2021; Santos et al., 2021; Bassey et al., 2021). Recently, the usage of ethanol immersion pretreatment rises due to its effect in drying without any residues in the dried products (Santos et al., 2021). The Marangoni effect of ethanol produces a surface tension gradient in the surface of the sample, also acts as a solvent to dissolve some cell wall components, and increases the permeability of the cell wall. All of these

effects lead to an increase in the moisture transfer in products, which boosts drying process (Rojas and Augusto, 2018). Different authors studied the effect of ethanol pretreatments on the drying characteristics of food products such as celery (Miano et al., 2021), melon (da Cunha et al., 2020), pineapple (de Freitas et al., 2021), and apple (Rojas et al., 2020).

Ultrasonic waves is an acoustic wave that when passed through a food matrix caused compression and expansions in tissue known as the sponge effect, which improves the transfer of water within the food (de Freitas et al., 2021). These mechanical tension produce facilitate to drawn out of the water from food. Also, due to the sponge effect some microchannels formed in the food matrix resulting to improve the transfer of intracellular water from the interior of the food to its surface (Pandiselvam et al., 2023). Also, the cavitation phenomenon takes place during ultrasonic pretreatment due to the formation and collapse of air bubbles. The explosion of microbubbles produces strong shock wave energy, high pressure, shear force, and liquid jets that can help separation of water, which is strongly bound to the cell and can destroy the cell membrane (Pandiselvam et al., 2023; Zang et al., 2023). All of these phenomena lead to improvement in the mass transfer and movement of water from the interior to the surface of food and consequently improve the drying characteristics. Water is the main medium to transmit sound waves to the food. The use of ethanol as the liquid medium can improve the drying kinetics, energy consumption, rehydration, and retention of bioactive compounds in different foods such as carrot (Santos et al., 2021), pineapple (de Freitas et al., 2021), and celery slice (Miano et al., 2021). However, the impact of emerging ultrasound/ethanol immersion technology for various fruits and vegetables still needs to study to serve as a foundation for industrial application.

To the best of our knowledge, there is no study in the literature about the impact of non-thermal ultrasound/ethanol immersion on the drying characteristics of quince. Consequently, the

current study investigated the effect of ethanol immersion, ultrasound, and ultrasound/ethanol immersion on the kinetics of drying, heat and mass transfer, mathematical modeling, and thermophysical properties of quince.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Fresh quince (*Cydonia oblonga* Miller) was obtained from a local market in Istanbul/Turkey. The quince was washed, peeled, and diced into cubes with a dimension of $5 \times 5 \times 2$ mm. Ethanol 99.90% (V/V) (ISOLAB GmbH) was used in this study. The initial moisture content was calculated according to the standard method of AOAC no.934.06 (AOAC, 1990) via a vacuum dryer (EV018, Nuve, Turkey) which was found to be 5.124 kg water/kg dry solid.

Ultrasound pretreatment (U)

Fresh quince samples were exposed to the ultrasound pretreatments by immersion of samples in distilled water (with the quince/water ratio of 0.08:1 (w/v)) in a beaker at an ultrasonic bath (Protech Ultrasonic Bath PMYU4-Istanbul, Turkey; frequency of 40 kHz, ultrasonic power of 125 W) at 25°C for 10, and 20 min (Santos et al., 2021).

Ethanol immersion pretreatment (E)

Ethanol immersion pretreatment was carried out by immersion of quince in ethanol 99.90% (V/V) for 10, and 20 min at the quince/ethanol ratio of 0.08:1 (w/v) (Rojas and Augusto, 2018).

Combined ultrasound and ethanol immersion pretreatment (UE)

For the pretreatment, first, the quince samples were immersed in ethanol 99.90% (V/V) with the quince/ethanol ratio of 0.08:1 (w/v) in a baker. Then they were exposed to the ultrasound waves bath at 25°C for 10, and 20 min according to the pre-tests. The unpretreated samples were considered as a control sample (CO).

Convective drying

A laboratory-scale convective dryer was used in this study. Samples were dried air at a temperature of 90°C and 2 m/s. The weight reduction of quince during hot air drying was monitored every 1 min via a precious balance (Fz-500i/AND, JAPAN, ± 0.001 g) and software Rs weight-Ver. 5.10. (Kian-Pour and Karatas, 2019). All experiments were performed in duplicate. The schematic of process was shown in Figure 1.

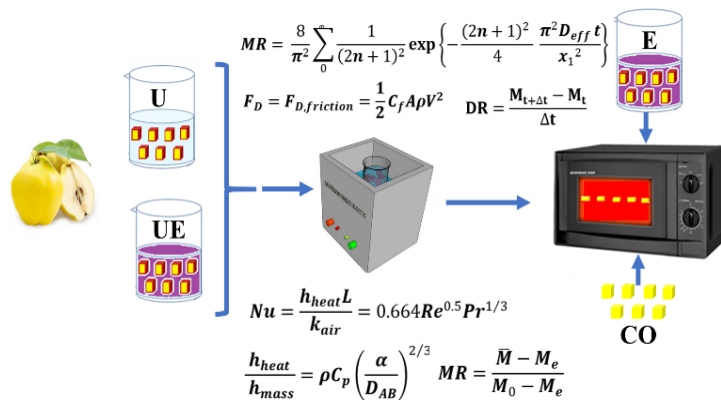


Figure 1: Schematic view of pretreatment and drying process of quince.

Kinetics of drying

The drying rate of quince samples were computed by Eq. (1):

$$DR = \frac{M_{t_2} - M_{t_1}}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

where DR shows the drying rate (kg water/kg dry solid min); M_{t_2} and M_{t_1} represent the moisture contents (kg water/kg dry solid) of quince at the drying time of t_2 and t_1 (min), respectively.

The moisture ratio (MR) of the sample was determined according to Eq. (2):

$$MR = \frac{\bar{M} - M_e}{M_0 - M_e} \quad (2)$$

where, \bar{M} , M_e , and M_0 are average, equilibrium, and initial moisture contents of quince (kg water/kg dry solid), respectively.

Mathematical modeling

The experimental data was used for mathematical modeling using a nonlinear regression analysis with the Levenberg-Marquardt algorithm (SPSS statistics 23, IBM. 2015). The MR curve was modeled according to the Midilli & Kucuk (semi-theoretical model) (Eq. 3) and Wang & Singh (empirical model) (Eq. 4) equations.

$$MR = a \exp(-kt^n) + bt \quad (3)$$

$$MR = 1 + at + bt^2 \quad (4)$$

The goodness of fit was evaluated according to the statistical criteria of the R^2 (coefficient of determination) (Eq 5), $RMSE$ (root mean square error) (Eq. 6), and χ^2 (reduced chi-square) (Eq. 7).

$$R^2 = 1 - \left[\frac{(\sum_{i=1}^N MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2}{(\sum_{i=1}^N \bar{MR}_{pre,i} - MR_{exp,i})^2} \right] \quad (5)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2}{N}} \quad (6)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{N-n} \quad (7)$$

where $MR_{exp,i}$ and $MR_{pre,i}$ represent the experimental and predicted moisture ratios, respectively. Besides, N is the number of observations at each drying test and n is the number of mathematical model constants (Kian-Pour N. 2023a).

Moisture diffusion coefficient (D_{eff})

The D_{eff} of cube quince samples with plate geometry was determined according to the analytical solution of Fick's second law using linear regression analyses (SPSS statistics 23, IBM. 2015) (Eq. 8).

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \sum_0^\infty \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left\{ -\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D_{eff} t}{4 x_1^2} \right\} \quad (8)$$

where D_{eff} , n , t , and x_1 represent the diffusion coefficient (m/s²), a positive integer, time (s), and the half-thickness of the quince samples (m), respectively.

Transport phenomena

Momentum transfer

As dry air flows on the surface of the quince sample, it produces a friction drag force (N) which is calculated according to Eq. 9 (Çengel and Cimbala, 2006).

$$F_D = F_{D,friction} = \frac{1}{2} C_f A \rho V^2 \quad (9)$$

where C_f , A , ρ , and V represent the friction drag coefficient, the total surface area of quince cubes (m), density of drying air (kg/m³), and air velocity (m/s), respectively. For the Reynolds number Re_L (Eq. 10) less than 5×10^5 , C_f in the laminar boundary layer determined by Eq. (11)

$$Re_L = \frac{L V \rho}{\mu} \quad (10)$$

$$C_f = \frac{1.33}{Re_L^{1/2}}, \quad Re_L < 5 \times 10^5 \quad (11)$$

where L and μ are the characteristic length of the quince samples in the flow direction (m), and viscosity of drying air (kg/m.s), respectively (Kian-Pour N. , 2023b).

Heat transfer coefficient (h_{heat})

Eq. 12 was used for the determination of the average heat transfer coefficient (W/m² K) at the laminar boundary layer.

$$Nu = \frac{h_{heat} L}{k_{air}} = 0.664 Re^{0.5} Pr^{1/3}, \quad Re_L < 5 \times 10^5 \quad (12)$$

where Nu , L , k_{air} , and Pr represent the Nusselt number, characteristic lengths of quince samples (m), the thermal conductivity of hot air (W/m K), and Prandtl number, respectively (Kian-Pour and Karatas, 2019).

Mass transfer coefficient (h_{mass})

The convective average mass transfer coefficient h_{mass} (m/s) was determined according to (Eq. 13) (Geankoplis, 1993).

$$Sh = \frac{h_{mass}L}{D_{AB}} = 0.664Re^{0.5}Sc^{1/3}, \quad Re_L < 5 \times 10^5 \quad (13)$$

where Sh , D_{AB} , and Sc represent the Sherwood number, the mass diffusivity of air-water vapor mixture (2.2×10^{-5} m²/s), and Schmidt number, respectively. Besides, a Chilton-Colburn analogy was used for the calculation of h_{mass} (Eq. 14) (Çengel, 2007).

$$\frac{h_{heat}}{h_{mass}} = \rho C_p \left(\frac{\alpha}{D_{AB}}\right)^{2/3} = \rho C_p Le^{2/3} \quad 0.6 < Pr < 60, \quad 0.6 < Sc < 3000 \quad (14)$$

where C_p shows specific heat (J/kg K), α represents the thermal diffusivity of drying air (m²/s), and Le denotes Lewis number.

Thermophysical properties of quince

The thermal conductivity, specific heat, and density (kg/m³) of quince samples were determined according to their moisture content using the Eq. 15, Eq. 16, and Eq. 17, respectively (Pasban et al., 2017).

$$k = 0.148 + 0.493M_{wb} \quad (15)$$

$$C_p = (1.26 + 2.97M_{wb}) \times 1000 \quad (16)$$

$$\rho = 770 + 16.18 M_{db} - 295.1 \times \exp(-M_{db}) \quad (17)$$

where k , C_p , M_{wb} , M_{db} and ρ represent the thermal conductivity (W/m K), specific heat (J/kg K), wet basis moisture content (%), dry basis moisture content (kg water/kg dry solid), and the density (kg/m³) of quince.

Statistical analysis

The obtained data from experimental test were submitted to the analysis of variance (ANOVA) with Tukey's tests at the 95% confidence level ($p < 0.05$) using the SPSS statistics 23, IBM. 2015 software.

RESULTS AND DISCUSSION**Kinetics of drying**

The moisture content (MR) and drying rate (DR) of quince are shown in Figure 2. As drying progressed, the moisture ratio of all quince samples exponentially decreased. All pretreatments reduced the drying time of quince at different levels (from 8.33% to 50.00%). Also, as the immersion time of quince in ethanol increased from 10.00 to 20.00 min, the drying time decreased (Figure 2a) (Table 1). The drying kinetics of quince samples immersed in ethanol changed due to the Marangoni effect. This is a mass transfer in the interface of water and ethanol with different surface tension (Santos et al., 2021). During the drying of the quince, ethanol vaporized faster than water thus more water remain on the quince surface than ethanol. Therefore, a region with higher surface tension forms on the surface, and this surface tension gradient act as a driving force to pull up the moisture from inside of the quince to its surface. The water flow is maintained as a result of this effect until the surface tension equilibrium is reached (de Freitas et al., 2021). Also, as an organic solvent, ethanol initially dissolves some components of the cell wall, which create new pathways for moisture movement. It leads an increase in the permeability of the cell wall, which boosts the removal of water from quince tissue resulting in decreases in the drying time (Miano et al., 2021). Consequently, the quince samples immersed in the ethanol dried faster than CO samples. Our results are in good agreement with another study (da Cunha et al., 2020) in which was pretreated melon in ethanol and the author observed that drying time of melon pretreated in ethanol 56.90% reduced in comparison with control samples. Guedes et al. (2021) reported that ethanol pretreatment reduced the drying time of potato by 56%. Rojas et al. (2020) demonstrated a 53% reduction in the drying time of apple slices pretreated with ethanol immersion for 30 min.

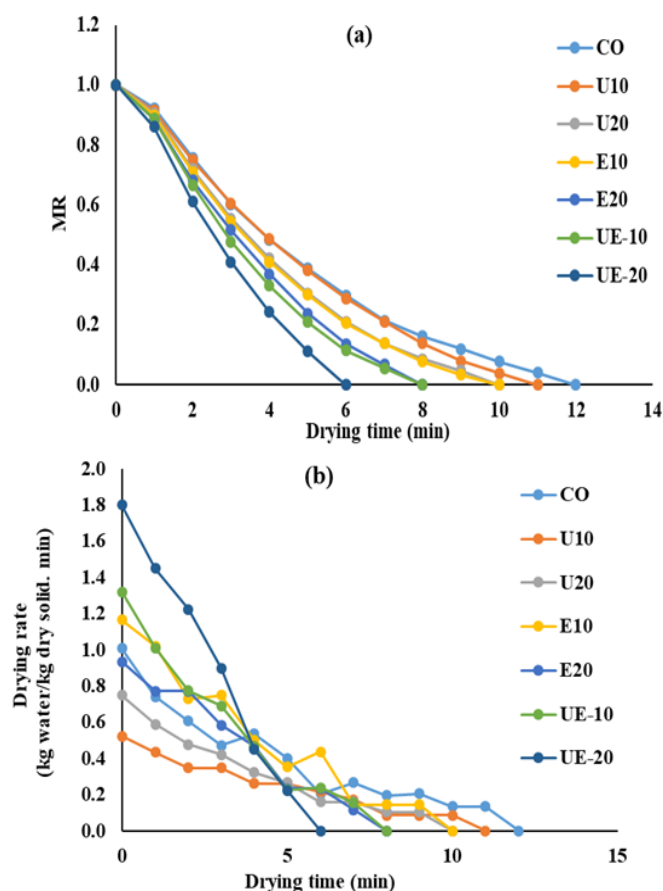


Figure 2. (a) moisture ratio, (b) drying rate of quince samples.

Table 1. Kinetics drying of quince samples.

Samples	Pretreatment time (min)	Code	Difussion coefficient $D_{eff} * 10^{-9} m^2/s$	Change in D_{eff} (%)	Change in the drying time (%)
Control	0	CO	1.880 ± 0.007^a	0	0
Ultrasonic	10	U10	2.069 ± 0.014^b	+10.05	-8.33
	20	U20	2.271 ± 0.006^c	+20.80	-16.66
Ethanol	10	E10	2.425 ± 0.028^d	+28.99	-16.66
	20	E20	2.547 ± 0.046^e	+35.48	-33.33
Ultrasonic-Ethanol	10	UE10	2.752 ± 0.003^f	+46.38	-33.33
	20	UE20	2.933 ± 0.012^g	+56.01	-50.00

*Mean \pm standard deviation is computed from duplicate samples. Different letters in the same column indicate differences significant at $p < 0.05$. (-): decreases, (+): increases.

Also, ultrasound pretreatment decreased the drying time of quince samples compared with CO. A sponge effect is created when an ultrasonic wave passes through a product because of acoustic cavitation, which can result in the formation of microchannel inside the food

sample. These microchannels make it easier for water to move and enhance mass transfer. As a result, the improvement in the water migration is responsible for the quicker decrease in moisture ratio that was seen in the U10, and U20 samples compared with CO (Santos et al., 2021). At UE

samples, decreases in the drying time were higher than CO samples, and a maximum reduction in drying time (50.00%) was observed in UE20 sample (Figure 2a). It can be related to the synergetic effect of ultrasound and ethanol immersion on the quince tissue. As was shown in Figure 2b, the drying rate of quince samples started from the falling rate period, and a constant rate period was not observed which demonstrated that diffusion was the main mechanism that controlled the drying rate of the sample. The highest starting rate was observed in the U20 samples, which can be related to the increases in the formation of microchannels during 20 min, which helped the transfer of water in products. The faster drying was observed at UE samples compared with E and U samples (Figure 2b). It can be related to the synergic effects of E and U pretreatments which caused both ruptures of quince cell walls (due to the Marangoni effect) and the formation of porous structure and microchannel (due to the sponge effect) which improved water flow during drying (de Freitas et al., 2021). Our results are in good agreement with other studies. Fotiou et al., (2023) reported the 37.50% reduction in the drying time of peach peel pretreated with UE method. It was stated that drying time of pineapple pretreated with UE technique 70.00% decreased compared with CO sample (de Freitas et al., 2021). It was stated that ultrasound-ethanol pretreatment decreased the drying time of apple by 70% (Rojas, Augusto, & Cárcel, 2020).

The D_{eff} varied from 1.880 to 2.933×10^{-9} m²/s (Table 1) which was within the expected range for most foodstuffs (10^{-12} to 10^{-8} m²/s) (Fotiou et al., 2023). All pretreatment significantly ($p < 0.05$) increased the D_{eff} of quince samples. The lowest and highest D_{eff} values belonged to the CO and UE20 samples, respectively. It can be related to the destruction of the cell wall of quince by ethanol and the formation of new pathways for water transfer due to the ultrasound pretreatment (Miano et al., 2021). Also, as pretreatment time increased, the D_{eff} values increased. Zang et al., (2023) reported that increases in the ultrasonic pretreatment time of *Angelica sinensis* herbs caused an increase in the D_{eff} values. During the UE

pretreatment, cavitation was produced by ultrasonic waves, and the quince tissue was exposed to compression and expansion. Also, ethanol with the dissolve of some cell wall components caused a reduction in the internal resistance against water transfer due to the damage to the internal diffusion boundary. Thus, it reduced mass transfer resistance, speed up moisture diffusion and evaporation, produce microspores in quince, forming the turbulence water flow, improving the moisture movement all of them improved the moisture diffusivity. Similar results were reported by different authors (Zang et al., 2023; Fotiou et al., 2023).

Mathematical modeling

Mathematical models are useful tools for simulating the drying process and predicting the behavior of food during drying. The Lamped parameter models are used for modeling the material with uniform thickness such as thin layers and they can be divided into theoretical, semi-theoretical, and empirical models. In this study, the results of mathematical modeling are detailed in Table 2. The R^2 values ranged from 0.95243 to 0.99907, the RMSE values changed from 0.010541 to 0.075277 and the χ^2 values varied from 0.000200 to 0.007286. The Midilli & Kucuk model showed the highest R^2 and lowest values of RMSE and χ^2 which represent the suitability of this model for predicting the drying characteristics of quince samples. Various authors demonstrated that Midilli & Kucuk model is a suitable model for predicting the drying behavior of many food products such as apples (Kian-Pour and Karatas, 2019), bananas (Macedo et al., 2020), and papaya (Islam et al., 2019).

Transport and thermophysical properties

Simulation and modeling are useful methods for explaining operational processes and transfer phenomena. Hot air drying consider a complex unit operation due to simultaneous heat and mass transfer (Kian-Pour and Karatas, 2019). The drying operation is affected from both external and internal conditions. Convection heat and mass transfer coefficients as well as friction drag force are the important external parameters. However, as external drying conditions were

equal for all quince samples (such as drying air, characteristics length of samples, etc.) the transport parameters were valid for all samples. The friction drag force, convective heat, and mass transfer coefficients were evaluated according to Newton’s law of viscosity, Fourier’s law, and Fick’s law, respectively, which were 6.110×10^{-6} N, 24.077 W/m² K, and 0.020 m/s, respectively (Table 3). Our results are in good agreement with the results reported about the drying of green almonds (Kian-Pour N. , 2023b) and celery root (Kian-Pour et al., 2022). The thermal conductivity, the specific heat, and the density of quince samples varied from 0.5278 to 0.5876 W/m K, 3554.00 to 3908.00 (J/kg K), and 814.95 to 904.60 (kg/m³), respectively with the maximum values in UE20 samples. The effect of ethanol pretreatment for 10 min in the increasing of these parameters was more pronounced than

ultrasound. The results revealed that the pretreatment of quince with a combination of ultrasound and ethanol immersion caused an increase in the moisture content of the sample after pretreatments which caused an increase in the thermophysical properties of quince. The faster drying also was observed in UE20 samples which were related to the availability of moisture movement and change in its microstructure. During hot air drying, both external and internal conditions affect the drying kinetics of the sample. The results were consistent with other studies about celery root (Kian-Pour, et al., 2022), green almond (Kian-Pour N. , 2023b), and Santa Maria pear (Kian-Pour N. 2023a). The experimental data about external and internal parameters that affect the drying can be useful for simulating the drying of quince and useful in understanding the drying mechanisms.

Table 2. Model parameters obtained by nonlinear regression analysis and statistical criteria for selecting ideal model

Models	Code					R ²	RMSE	X ²
Wang & Singh	CO	a= -0.112	b= 0.003			0.96816	0.058177	0.004000
	U10	a= -0.107	b= 0.002			0.97090	0.056273	0.003800
	U20	a= -0.121	b= 0.002			0.96042	0.066742	0.005444
	E10	a= -0.124	b= 0.003			0.96132	0.066058	0.005333
	E20	a= -0.115	b= 0.000			0.96176	0.066667	0.005714
	UE10	a= -0.126	b= 0.001			0.95243	0.075277	0.007286
Midilli & Kucuk	UE20	a= -0.106	b= -0.006			0.95921	0.070711	0.007000
	CO	a= 0.000	b= -0.050	k=-9.127	n=-0.027	0.98046	0.045573	0.003000
	U10	a= 0.001	b= -0.062	k=-7.692	n=-0.026	0.98698	0.037639	0.002125
	U20	a= 0.000	b= -0.064	k=-8.751	n=-0.027	0.98061	0.046710	0.003429
	E10	a= 0.000	b= -0.062	k=-8.672	n=-0.029	0.98066	0.046710	0.003429
	E20	a= 1.082	b= -0.007	k=0.063	n=1.706	0.99904	0.010541	0.000200
	UE10	a= 1.082	b= -0.004	k=0.064	n=1.790	0.99907	0.010541	0.000200

Table 3. Thermophysical properties of quince

Sample	Thermal conductivity k (W/m K)	Specific heat C_p (J/kg K)	Density ρ (kg/m ³)
CO	0.5671±0.014 ^a	3785±85.56 ^a	862.45±22.42 ^a
U10	0.5287±0.005 ^a	3554±32.53 ^a	814.95± 5.44 ^a
U20	0.5406±0.028 ^a	3625±168.29 ^a	828.90±31.11 ^a
E10	0.5761±0.011 ^a	3839±68.59 ^a	878.00±22.49 ^a
E20	0.5592±0.024 ^a	3737±142.84 ^a	852.60±32.95 ^a
UE10	0.5725±0.012 ^a	3817±69.30 ^a	871.15±20.58 ^a
UE20	0.5876±0.007 ^a	3908±45.26 ^a	904.60±21.21 ^a

*Mean ± standard deviation is computed from duplicate samples. Different letters in the same column indicate differences significant at $p < 0.05$.

CONCLUSION

The use of different non-thermal pretreatments of ethanol immersion (E), ultrasound (U), and ultrasound-ethanol immersion (UE) before hot air drying of quince was investigated. Overall the pretreatments improved the drying kinetics of quince samples. The maximum decrease in drying time was observed at the sample pretreated by UE for 20 min. The synergetic effect of the ethanol immersion and ultrasound in terms of Marangoni, sponge effect, and cavitation phenomenon improved the mass transfer in the sample and decreased the drying time. Also, as pretreatment time increased, the moisture diffusion coefficient increased. Mathematical modeling showed the suitability of the Midilli & Kucuk model for predicting the drying behavior of quince. The UE pretreatment can decrease the drying time by 50%, which is very valuable in terms of the reduction of energy consumption of dryers at both large and small-scale food factories.

REFERENCES

- AOAC. (1990). *Official method of analysis*. 19 edition, AOAC International.
- Bassey, E. J., Cheng, J.-H., Sun, D.-W. (2021). Novel nonthermal and thermal pretreatments for enhancing drying performance and improving quality of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 112: 137–148, doi:10.1016/j.tifs.2021.03.045.
- Berktaş, S., Cam, M., Salum, P., Erbay, Z. (2023). Microwave drying of quince coated with seed gum and pectin: A Taguchi optimization, techno-functional properties, and aromatic compounds. *Journal of Food Science*, 1-14, doi:10.1111/1750-3841.16660.
- da Cunha, R. M., Brandão, S. C., Medeiros, R. A., Júnior, E. V., Silva, J. H., Azoubel, P. M. (2020). Effect of ethanol pretreatment on melon convective drying. *Food Chemistry*, 333: 127502, doi:10.1016/j.foodchem.2020.127502.
- Çengel, Y. A. (2007). *Heat & Mass Transfer: A Practical Approach*. 2nd edition, McGraw-Hill Education Pvt Limited, India.
- Çengel, Y. A., Cimbala, J. M. (2006). *Fluid mechanics: Fundamentals and applications*. 1st edition, McGraw-Hill, New York.
- Fotiou, D., Argyropoulos, K., Kolompourda, P., Goula, A. M. (2023). Valorization of peach peels: preservation with an optimized drying process based on ultrasounds pretreatment with ethanol. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-13, doi:10.1007/s13399-023-03753-5.
- de Freitas, L., Brandão, S. C., Silva, J. H., Rocha, O. R., Azoubel, P. M. (2021). Effect of Ethanol and Ultrasound Pretreatments on Pineapple Convective Drying. *Food Technology & Biotechnology*, 59: 209–215, doi:10.17113/ftb.59.02.21.7045.
- Geankoplis, C. J. (1993). *Transport processes and unit operations*, 3rd edition. Prentice-Hall. Inc. New Jersey.
- Guedes, J. S., Santos, K. C., Castanha, N., Rojas, M. L., Junior, M. D., Lima, D. C., Augusto, P. E. (2021). Structural modification on potato tissue and starch using ethanol pre-treatment and drying process. *Food Structure*, 29: 100202. doi:10.1016/j.foostr.2021.100202.
- Islam, M. Z., Saha, T., Monalisa, K., Hoque, M. M. (2019). Effect of starch edible coating on drying characteristics and antioxidant properties of papaya. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13: 2951–2960, doi:10.1007/s11694-019-00215-3.
- Kian-Pour, N. (2023a). Effect of Biopolymer Dip-Coating Pretreatments as a Non-Thermal Green Technology on Physicochemical Characteristics, Drying, and Rehydration Kinetics of Santa Maria Pears. *Foods*, 12:2466, doi:10.3390/foods12132466.
- Kian-Pour, N. (2023b). Impact of Microwave-Starch-Blanching on the Drying Kinetics, Transport and Thermophysical Properties of Green Almond. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(1): 305-316, doi:10.21597/jist.1166340.
- Kian-Pour, N., Karatas, S. (2019). Impact of different geometric shapes on drying kinetics and textural characteristics of apples at temperatures

- above 100 °C. *Heat and Mass Transfer*, 55: 3721–3732, doi:10.1007/s00231-019-02691-1.
- Kian-Pour, N., Akdeniz, E., Toker, O. (2022). Influence of coating-blanching in starch solutions, on the drying kinetics, transport properties, quality parameters, and microstructure of celery root chips. *LWT - Food Science and Technology*, 160: 113262, doi:10.1016/j.lwt.2022.113262.
- Macedo, L. L., Vimercati, W. C., Araújo, C., Saraiva, S. H., Teixeira, L. J. (2020). Effect of drying air temperature on drying kinetics and physicochemical characteristics of dried banana. *Journal of Food Process Engineering*, 43: e13451, doi:10.1111/jfpe.13451.
- Miano, A. C., Rojas, M. L., Augusto, P. E. (2021). Combining ultrasound, vacuum and/or ethanol as pretreatments to the convective drying of celery slices. *Ultrasonics Sonochemistry*, 79:105779, doi:10.1016/j.ultsonch.2021.105779.
- Najman, K., Adrian, S., Hallmann, E., Sadowska, A., Buczak, K., Bożena Waszkiewicz-Robak, Szterk, A. (2023). Effect of Various Drying Methods on Physicochemical and Bioactive Properties of Quince Fruit (*Cydonia oblonga* Mill.). *Agriculture*, 13: 446, doi:10.3390/agriculture13020446.
- Pandiselvam, R., Aydar, A. Y., Kutlu, N., Aslam, R., Sahni, P., Mitharwal, S., . . . Kothakota, A. (2023). Individual and interactive effect of ultrasound pre-treatment on drying kinetics and biochemical qualities of food: A critical review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 92: 106261, doi:10.1016/j.ultsonch.2022.106261.
- Pasban, A., Sadrnia, H., Mohebbi, M., Shahidi, S. A. (2017). Spectral method for simulating 3D heat and mass transfer during drying of apple slices. *Journal of Food Engineering*, 212: 201-212, doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.05.013.
- Rojas, M. L., Augusto, P. E. (2018). Ethanol pre-treatment improves vegetable drying and rehydration: Kinetics, mechanisms and impact on viscoelastic properties. *Journal of Food Engineering*, 233: 17-27, doi:10.1016/j.jfoodeng.2018.03.028.
- Rojas, M., Augusto, P., Cárcel, J. (2020). Ethanol pre-treatment to ultrasound-assisted convective drying of apple. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 61: 102328, doi:10.1016/j.ifset.2020.102328.
- Salehi, F., Goharpour, K., Kamran, H. R. (2023). Optimization of sonication time, edible coating concentration, and osmotic solution °Brix for the dehydration process of quince slices using response surface methodology. *Food Science & Nutrition*, 00: 1-17, doi:10.1002/fsn3.3382.
- Santos, K. C., Guedes, Souza, J., Rojas, M. L., Carvalho, G. R., Augusto, P. E. (2021). Enhancing carrot convective drying by combining ethanol and ultrasound as pre-treatments: Effect on product structure, quality, energy consumption, drying and rehydration kinetics. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 74: 105304, doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105304.
- Zang, Z., Huang, X., Zhang, Q., Jiang, C., Wang, T., Shang, J., Wan, F. (2023). Evaluation of the effect of ultrasonic pretreatment on vacuum far-infrared drying characteristics and quality of *Angelica sinensis* based on entropy weight-coefficient of variation method. *Journal of Food Science*, 88: 1905–1923, doi:10.1111/1750-3841.16566.



QUALITY ASSESSMENT OF CHOKEBERRY FRUIT POWDERS OBTAINED BY CONVECTIVE HOT AIR AND FREEZE DRYING METHODS

Recep Gunes*

Kirklareli University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Kirklareli, Türkiye

Received /Geliş: 04.07.2023; Accepted /Kabul: 05.10.2023; Published online /Online baskı: 07.10.2023

Gunes, R. (2023). *Quality assessment of chokeberry fruit powders obtained by convective hot air and freeze drying methods*. GIDA (2023) 48 (5) 1109-1122 doi: 10.15237/gida.GD23075

Gunes, R. (2023). Konvektif sıcak hava ve dondurarak kurutma yöntemleriyle elde edilen aronya meyve tozlarının kalite yönünden değerlendirilmesi. GIDA (2023) 48 (5) 1109-1122 doi: 10.15237/gida.GD23075

ABSTRACT

In this study, the changes in some quality characteristics of chokeberry (*Aronia melanocarpa* [Michx.] Elliot) fruit powders obtained by freeze drying and convective hot air drying techniques were compared. The moisture (%) and water activity values of powders obtained by hot air and freeze drying were measured as 9.29% and 10.86%, 0.2373 and 0.2963, respectively. Both drying treatments caused significant changes in color properties of the powders, and the highest +a* value (23.30) was detected in the sample obtained by freeze drying ($P < 0.05$). The total phenolic and flavonoid contents of the methanol and water extracts of the powder obtained by freeze drying were higher than the other treatment and were determined as 7231.80 and 4497.34 mg gallic acid equivalent/100 g dry matter, and 5198.98 and 3148.14 mg quercetin/100 g dry matter, respectively. A similar trend was observed in the ABTS and DPPH antioxidant activity analysis results of the samples.

Keywords: Chokeberry, drying, fruit powder, quality

KONVEKTİF SICAK HAVA ve DONDURARAK KURUTMA YÖNTEMLERİYLE ELDE EDİLEN ARONYA MEYVE TOZLARININ KALİTE YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZ

Bu çalışmada, dondurarak kurutma ve konvektif sıcak hava teknikleri ile elde edilen aronya (*Aronia melanocarpa* [Michx.] Elliot) meyve tozlarının bazı kalite özelliklerindeki değişim karşılaştırılmıştır. Sıcak hava ve dondurarak kurutma tekniği ile elde edilen tozların nem (%) ve su aktivitesi değerleri sırasıyla %9.29 ve %10.86, 0.2373 ve 0.2963 olarak ölçülmüştür. Tozların renk özelliklerinde her iki kurutma işlemi de önemli değişiklikler meydana getirmiş, en yüksek +a* değeri (23.30) dondurarak kurutma işlemi ile elde edilen örnekte tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Dondurarak kurutma işlemi ile elde edilen tozun metanol ve su ekstraktlarına ait toplam fenolik ve flavonoid içeriği sıcak hava kurutma ile elde edilen örneğe göre daha yüksek ve sırasıyla 7231.80 ve 4497.34 mg gallik asit eşdeğeri/100 g kuru madde, 5198.98 ve 3148.14 mg kuersetin/100 g kuru madde olarak tespit edilmiştir. Örneklerin ABTS ve DPPH antioksidan aktivite analiz sonuçlarında da benzer bir trend olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Aronya, kurutma, meyve tozu, kalite

* Corresponding Author/ /Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: recepunes@klu.edu.tr

☎: (+90) 288 214 05 10/14/15

☎: (+90) 288 214 05 16

Recep Gunes; ORCID no: 0000-0002-8007-8697

INTRODUCTION

Today, as millions of people suffer from hunger and poverty, decreasing food loss and waste through the food production and consumption chains is very important. In this regard, technological strategies such as different food preservation techniques and/or sustainable food processing/packaging are used to prevent food loss and waste of various fresh products. In the meantime, it is essential to meet the needs of the food industry by protecting perishable products such as fruits and vegetables in a controlled manner with different food processing technologies and increasing their shelf life and market potential (Ravichandran and Krishnaswamy, 2021; Sánchez-Teba et al., 2021).

As is known, fresh fruits and vegetables have high water activity, and therefore they are highly susceptible to mechanical damage, enzymatic reactions, microbial spoilage and environmental conditions. Removing the water in these products by various processes prevents undesirable microbial and physico-chemical reactions, and thus provides a longer storage period. In this sense, drying applications are one of the oldest methods used to remove water for the preservation of these products (Zhang et al., 2017; Pateiro et al., 2022). Drying can greatly reduce or completely neutralize physiological, microbial, and enzymatic degradation, thereby significantly extending the shelf life (Wojdyło et al., 2014). It also reduces packaging, storage and transportation costs by reducing the product mass and volume (Qi et al., 2021).

In this perspective, convective drying using hot air is widely preferred for drying different agricultural products. This process uses air that can be adjusted to a certain temperature and flowing rate, thereby transferring the heat energy to the surface of the moist product and then inside, allowing to obtain a safe dried product (Chandramoha, 2020). Among the advantages of convective hot air drying (HAD) are its easy operation, accurate control of temperature and air flowing rate, low cost, and simple design (Pateiro et al., 2022). However, this method also has some disadvantages related to long drying times

depending on the product, degradation of heat-sensitive compounds, enzymatic and non-enzymatic browning reactions, off-flavor generation, and visible shrinkage (Zielinska et al., 2018; Pateiro et al., 2022). Freeze drying (FD), also known as lyophilization, is a gentle drying method that follows the sublimation phenomenon (Ravichandran and Krishnaswamy, 2021). It includes several major steps, such as freezing of the sample, sublimating the frozen water under vacuum during the primary drying process, and then desorption of remaining water during the secondary drying process (Bhatta et al., 2020; Nowak and Jakubczyk, 2020). This drying method preserves the color, flavor and nutrients such as antioxidants, vitamins of the food, causes negligible shrinkage and structure collapse, and thus ensures a product characterized by high porosity and low density (Pateiro et al., 2022). On the contrary, FD necessitates a significant level of energy consumption and installation requirements, as well as a pre-treatment step (initial freezing) and vacuum source (Bustos et al., 2018). It is also a very slow process due to the low drying rates required resulting in relatively low yields (Nireesha et al., 2013). In response to these pros and cons of each method, much focus has been given recently to determining the most effective processing conditions (for instance time, temperature, low energy requirement as possible, etc.) in drying treatments to produce high quality fruits and vegetable powder.

Berry fruits have been the focus of extensive research on their ability to maintain health due to their low calories, high fiber, high antioxidant levels, vitamin and mineral content (Fariás-Cervantes et al., 2020). Among the berry groups, black chokeberry (*Aronia melanocarpa* [Michx.] Elliot), also called Aronia, is characterized as having the highest content of total polyphenols, being highly nutritious, and having a pleasant flavor (Bednarska and Janiszewska-Turak, 2020; Ravichandran and Krishnaswamy, 2021). However, these fruits are very sensitive to mechanical damage and deteriorate quickly. Therefore, different food processing applications are widely used to preserve them as unspoilied/raw fruit or value-added products due

to their shorter shelf life and limited seasonal availability (Correia et al., 2017). In this regard, the aim of this study is to obtain high-quality black chokeberry fruit powder that can enrich different formulations in the food industry by using FD and convective HAD techniques. Within this framework, physico-chemical and bioactive component analyzes were made on the fruit powders obtained by both drying treatments.

MATERIALS AND METHODS

In the study, ripe black chokeberry (*Aronia melanocarpa* [Michx.] Elliot) fruits were used in drying treatments. The fruits were collected from Akıncılar village (41.45948 °N, 27.64456 °E) in Vize district of Kırklareli province, which is located in the Northwestern part of Türkiye, and were kept in cooled bags (4 ± 0.5 °C) for transport

to the laboratory. Then, the fruits were cleaned by removing the damaged fruits, all foreign materials and separating of stems by hand. The cleaned fruits were stored in the refrigerator at 4 °C for no more than 3 days. All chemicals used in the analyzes were of analytical grade and purchased from Sigma-Aldrich, USA.

Preparation of samples

Before drying treatments, fresh and clean chokeberry fruits (400 g) were homogenized for 2 min at a single speed by using a laboratory blender (Waring laboratory blender, Conair Corporation, 7011G, Stamford, CT, USA). Following that, the homogenized fruit mixture was immediately taken to the drying step. All processes performed within the scope of the study were schematized in Figure 1.

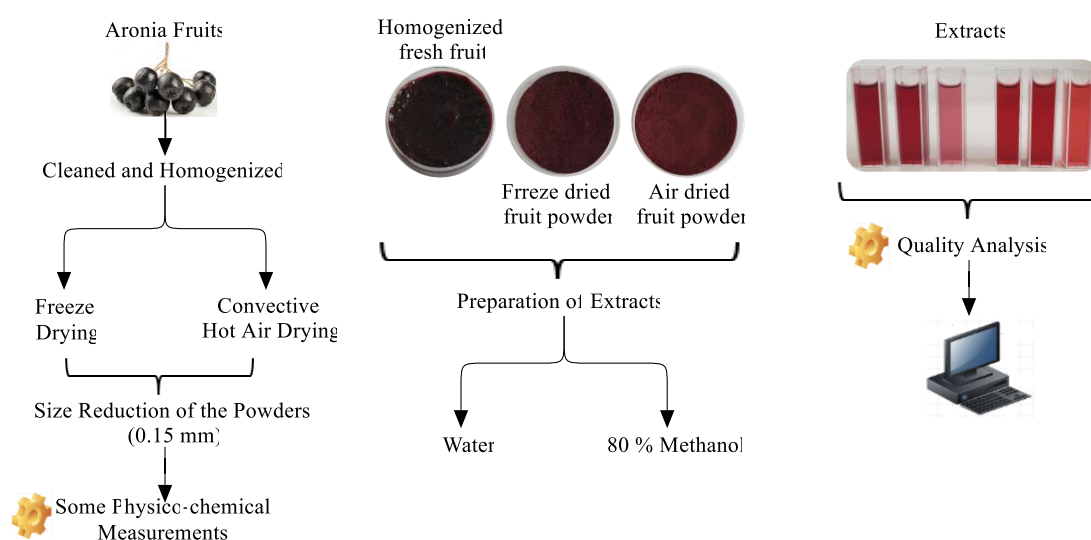


Figure 1. All processes performed within the scope of the study

Convective hot air drying experiment

Before the treatment, 100 g of the homogenized fresh fruit puree (FFP) was uniformly spread on non-stick baking paper with a stainless steel flat rubber spatula and placed in a single layer on the dryer trays. The heat treatment conditions (time and temperature) that could provide the best results in terms of energy consumption and product quality were selected as a result of comprehensive literature review. In this regard, Pachura et al. (2022) and Krzykowski et al. (2023) stated that convective HAD at 40 °C gave the best

results for preserving the volatile bioactive components of different plant-based materials, taking into account the energy requirements of treatment. Therefore, a very mild convective HAD treatment was carried out at 40 °C with 2.0 ± 0.2 m/s airflow (just in front of the meshed sample tray of the fan) for 24 h (Atacama Pro, F77000, Tre Spade, Torino, Italy). At the end of the treatment, dried samples separated from the non-stick baking paper were ground using a coffee grinder (Siemens MC 23200), immediately sieved with a 100 mesh (0.15 mm) stainless steel

flour sifter, and then vacuum packed (100 g each) and stored at 4 °C until further analysis.

Freeze drying experiment

First, the homogenized fruit mixture (30 g) was placed in silicone freeze dryer trays and each tray was shock frozen in a freezer at -40 °C for 5 h. After this process, the trays were immediately transferred into the drying chamber of a freeze dryer device (TRS4-4DS, Teknosem Corp., Istanbul, Türkiye). The FD process was carried out for 24 h (as in convective HAD) with condenser temperature and vacuum chamber pressure equal to -85 °C and 0.01 to 0.004 mbar, respectively (Thuy et al., 2020). At the end of the treatment, freeze dried samples were ground using a closed domestic coffee grinder (Siemens MC 23200), immediately sieved with a 100 mesh (0.15 mm) stainless steel flour sifter, and then vacuum packed (100 g each) and stored at 4 °C until further analysis.

Physico-chemical measurements of the samples

The water activity values of FFP and powder samples were determined using a_w meter (Decagon AquaLab, 4 TE). The moisture content (%) was determined by drying the samples at 70 °C for 24 h without air circulation until a constant mass was achieved. The pH values of all samples were determined using a digital pH meter (Hanna, HI-2211, Romania) at room temperature. The pH value of FFP was measured directly from the homogenized mixture, while the pH values of powder samples were measured by making a 25% (w/v) suspension of the sample in distilled water (Petković et al., 2019). The total ash content was measured by incinerating the samples in a muffle furnace at 550 °C until gray-white ash was obtained using AOAC (2010) method and expressed as g/100 g dry matter (DM). All analyzes were performed in triplicate.

Color analysis of the samples

The color parameters of all samples were determined by using Chromameter CR-400 Konica Minolta (Tokyo, Japan). As a result of the analysis, L^* (brightness), a^* (redness-greenness), b^* (yellowness-blueness), and total color change

ΔE_{ab} (between FFP and powder samples) (Eq. 1) values of the samples were recorded. The increase of ΔE_{ab} indicates the greater difference in color between FFP and powder samples (Pathare, Opara & Al-Said, 2013; Altınok et al., 2022). All measurements were done in three replications.

$$\Delta E = \left[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 \right]^{1/2} \quad (1)$$

Preparation of extracts from the samples

The extraction procedure was performed according to the method described by Gunes et al. (2019) with some alterations. First, 1 g of samples were mixed with 25 mL of methanol (80%) in falcon tubes and the tubes were held in an ultrasonic bath (ISOLAB Laborgeräte GmbH, 621.05.010, Germany) for 30 min at 40 kHz and 25 ± 2 °C. The same application was done with distilled water instead of methanol (80%). Then, the tubes were centrifuged (Beckman Allegra, X-22R Benchtop Centrifuge, United States) at 9500 rpm for 10 min and the supernatants were filtered using a 0.45 μm filter. The application was performed in duplicate and each extract was transferred into dark glass bottles and kept at -18 °C (Arçelik, 2071 MB 7, Türkiye) for further analysis.

Determination of total phenolic content of the extracts

The total phenolic content was measured by the Folin-Ciocalteu method of Singleton et al. (1999) with some modifications. First, 7.5 mL distilled water was pipetted into the test tubes and then, 100 μL of the extracts and 500 μL Folin-Ciocalteu reagent were put into these tubes. The tubes were vortexed (Vortex RS-VA 10, Phoenix Instrument, Garbsen, Germany) thoroughly and left to stand for 3 min and 1 mL saturated Na_2CO_3 solution and 900 μL distilled water were added in order to reach a final volume of 10 mL. Finally, the tubes were left to stand for 1 h at room temperature in the dark and the absorbance was read at 720 nm by using a UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan). The results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE)/100 g DM using the calibration curve of gallic acid ($R^2 = 0.9993$) and the dilution rates

applied. Each measurement was performed in triplicates and the results were shown as mean values \pm standard deviation.

Determination of total flavonoid content of the extracts

Total flavonoid was analyzed using the aluminum chloride colorimetric method with slight modification according to Shraim et al. (2021). In the analysis, the following steps in order were followed; 4.0 mL distilled water followed by a known volume of the flavonoid standard (or 1 mL sample's clear extract), 0.3 mL NaNO_2 (1.0 mol/L), vortex mixing (Vortex RS-VA 10, Phoenix Instrument, Garbsen, Germany), and 3.0 min equilibration time, 0.3 mL AlCl_3 (10%, w/v), vortex mixing (Vortex RS-VA 10, Phoenix Instrument, Garbsen, Germany) and 3.0 min equilibration time, 2.0 mL NaOH (1.0 mol/L), and the final volume was made to 10.0 mL using distilled water. All solutions were vortex mixed (Vortex RS-VA 10, Phoenix Instrument, Garbsen, Germany) after the last step and the tubes were stored in the dark for 40 min and were read at 420 nm by using a UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan). Quercetin (0, 50, 100, 200, 400, 500, 600, 800, 1000 mg/L in pure methanol) was used to make the calibration curve ($R^2 = 0.9981$). The results were expressed as mg quercetin equivalents (QE)/100 g DM using this curve and each measurement was performed in triplicates and the results were shown as mean values \pm standard deviation.

Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of the extracts

Total monomeric anthocyanins (TMA) were quantified using the pH differential method (Giusti and Wrolstad, 2001). Briefly, extracts were diluted with 0.025 M potassium chloride buffer at pH 1 or 0.4 M sodium acetate buffer at pH 4.5. The difference of absorbance at their respective $\lambda_{\text{vis-max}}$ (530 nm) and 700 nm was measured after 15 min using a UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan) versus a blank cell filled with distilled water. The absorbance of the dilute solution was calculated using Eq. 2 and the total amount of monomeric anthocyanin pigment in

the original sample was determined using Eq. 3. Cyanidin-3-glucoside (cyd-3-glu) was selected because it is the most common anthocyanin in nature.

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (2)$$

$$\text{TMA (mg/100 g DM)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l) \quad (3)$$

where MW (molecular weight) = 449.2 g/mol for cyd-3-glu, DF = dilution factor (previously recorded), l = pathlength in cm; ϵ = 26900 molar extinction coefficient for cyd-3-glu ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), and 10^3 = factor for conversion from g to mg. The results as monomeric anthocyanins were expressed as mg cyd-3-glu equivalents (CGE)/100 g DM. Each measurement was performed in triplicates and results were shown as mean values \pm standard deviation.

Determination of antioxidant activity of extracts using DPPH and ABTS methods

The DPPH method was conducted according to the method of Thaipong et al. (2006) with some modifications. Sample extracts (150 μL) were mixed with 2.850 mL 0.1 mM DPPH (prepared with methanol) solution, and then the cuvettes were left in the dark for 30 min at room temperature, and then the cuvettes were measured against the blank (methanol) using the UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan) at 517 nm. A calibration curve ($R^2 = 0.9995$) was obtained by using Trolox standard solution at concentrations ranging between 50 and 1000 μM . The results were expressed as μmol Trolox/g DM and each measurement was performed in triplicates.

The ABTS method was used according to Xu et al. (2016) with some modifications to determine the ABTS radical scavenging activity of phenolic extracts. Firstly, 1 mL of ABTS stock solution was diluted with methanol to an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. Then, 20 μL sample extract was mixed with 3.0 mL ABTS solution into spectrophotometer cuvettes. The cuvettes were left in the dark for 6 min at room temperature, and then the cuvettes were measured against the

blank (methanol) with the UV–Vis spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan) at 734 nm. A calibration curve ($R^2 = 0.9971$) was obtained by using Trolox standard solution at concentrations from 50 to 4000 μM . The results were expressed as $\mu\text{mol Trolox/g DM}$ and each measurement was performed in triplicates.

Statistical analysis

The data obtained as a result of the analysis studies were determined by using the Windows-based SPSS 17.0.1 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) statistical package program, and one-way ANOVA & Tukey's test was used to determine whether there was a statistical difference between the groups ($P < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Physico-chemical measurement results of the samples

The physico-chemical properties of the FFP and the powder samples were given in Table 1. As is known, water is the primary component of fresh fruits and vegetables, accounting for approximately 75–95% of the food weight. High water activity may result in shorter product shelf life due to the potential for undesirable biochemical alterations and microbial proliferation. To eliminate these factors, it was stated that the water activity in dried products should be below 0.600 (Samoticha et al., 2016). In the present study, the moisture and water activity values of FFP were found as 70.78% and 0.9127, respectively. However, these values of the hot air

dried fruit powder (HADFP) and freeze dried fruit powder (FDFP) samples obtained at the end of the drying process (24 h) were measured as 9.29% and 10.86%, 0.2373 and 0.2963, respectively ($P < 0.05$). According to the results, it can be stated that the dehydrated product obtained after the FD treatment of FFP might absorb moisture during grinding and sieving due to its highly hygroscopic structure, and this might affect the water activity and moisture values of the FDFP sample. In this context, there are studies in the literature that have similar or different results to current values, depending on different drying techniques, temperature and time parameters. For instance, Sadowska et al. (2019) used the convection drying treatment (70 °C, 48 h) to prepare chokeberry fruit powder, and found that the moisture (%) and water activity contents of the powder sample were 2.82% and 0.1625, respectively. Cujic et al. (2016) dried chokeberry fruits at 40 °C using a tunnel dryer before the extraction procedures and found the moisture content as 10.65%. Gorguc et al. (2023) dried chokeberry fruits with HAD treatment (65 °C, 10.7 h, and 1.5 m/s air flow rate) and recorded the moisture (%) and water activity values of the dried fruits were 15.9% and 0.608, respectively. Calín-Sánchez et al. (2015) found the moisture value of the freeze dried (-60 °C, 0.65 mbar, 48 h) chokeberry fruits as 3.31%. In another study, Sadowska et al. (2017) found that the chokeberry fruit powder obtained by FD had a water activity of 0.202.

Table 1. Some physico-chemical properties of the samples.

Sample	Moisture (%)	Water activity	pH	Total Ash*
HADFP	9.29 ± 0.09 ^C	0.2373 ± 0.0035 ^C	3.58 ± 0.03 ^A	3.11 ± 0.08 ^A
FDFP	10.86 ± 0.07 ^B	0.2963 ± 0.0021 ^B	3.55 ± 0.04 ^A	3.09 ± 0.07 ^A
FFP	70.78 ± 0.31 ^A	0.9127 ± 0.0314 ^A	3.42 ± 0.03 ^B	3.06 ± 0.08 ^A

Data represent average values ± standard deviation. There is no statistical difference between the results shown with the same exponential capital letter in the same column ($P > 0.05$). HADFP: Hot air-dried fruit powder. FDFP: Freeze-dried fruit powder. FFP: Fresh Fruit Puree. *: Total ash was expressed as g/100 g DM.

The pH value obtained for the FFP sample was 3.42, while the pH values of the powder samples increased slightly compared to the FFP and were found as 3.58 and 3.55 for HADFP and FDFP

samples, respectively. This difference between FFP and powder samples might be due to the increased solids concentration as the free water was rapidly removed by the drying process.

Similar to current results, Taskin (2020) detected that the lowest pH value belonged to the fresh black chokeberry samples and found that there was no significant difference between the pH values of the freeze dried samples in whole, half cut and puree forms of fresh fruits. Petković et al. (2019) determined that the pH values of fresh chokeberry fruits and powders obtained by convective HAD of fresh samples were not affected by the temperature (50, 60, and 70 °C) of the process. They found the pH values of all samples was 3.41, which was very close to the present results. The total ash (%) values of FFP, HADFP, and FDFP samples were found as 3.06, 3.11, and 3.09, respectively. Considering these results, both drying treatments did not significantly affect the ash content of all samples ($P > 0.05$). Similarly, Sójka et al. (2013) determined that the total ash content in the black chokeberry pomace was between 1.4-3.9% and stated that the seed fractions had a higher content of ash.

Color analysis results

The color characteristics of FFP and the powder samples were given in Table 2, and the surface views of all samples prepared within the scope of the study were depicted in Figure 2. According to

the results, both drying treatments caused a significant increase in L^* and $+a^*$ values, and a decrease in $-b^*$ values of FFP ($P < 0.05$) (Table 2). Among both fruit powders, the $+a^*$ value of the powder obtained by the HAD treatment was significantly higher, while the $-b^*$ value of the powder obtained by the FD treatment was found to be higher than the other sample ($P < 0.05$). Considering the literature, there are studies that show relatively similar or completely different outputs than the present results (Samoticha et al., 2016; Różyło et al., 2019; Sadowska et al., 2019). However, it is not surprising that there are differences in these parameters, as the growing conditions, genetic varieties of black chokeberry, type and amount of color compounds in the fruit, as well as technical preferences and applied parameters in drying affect the color characteristics of the final product. In this framework, higher values of L^* and a^* color parameters of HADFP indicated that this powder was lighter and had a more intense "red" color than the FDFP, which had a maroon appearance. Therefore, powders produced by both drying techniques can be used as alternatives to each other in order to give a different intensity of red color.

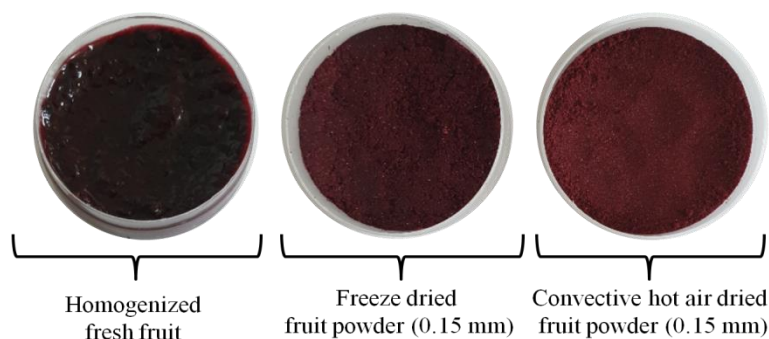


Figure 2. The surface views of all samples prepared within the scope of the study

Table 2. The color characteristics of the samples.

Sample	L^*	a^*	b^*	ΔE
HADFP	24.52 ± 0.12^A	23.91 ± 0.30^A	-4.57 ± 0.18^C	15.39 ± 0.40
FDFP	20.89 ± 0.24^B	23.30 ± 0.26^B	-7.95 ± 0.26^B	10.82 ± 0.28
FFP	10.64 ± 0.42^C	21.04 ± 0.38^C	-10.55 ± 0.44^A	-

Data represent average values \pm standard deviation. There is no statistical difference between the results shown with the same exponential capital letter in the same column ($P > 0.05$). HADFP: Hot air-dried fruit powder. FDFP: Freeze-dried fruit powder. FFP: Fresh Fruit Puree.

Recently, the demand for powders of fruit and vegetable juice, puree and various extracts has increased significantly due to the many benefits of applying these products in various food formulations (Shishir and Chen, 2017). In this regard, it is very important that these products obtained by various processes have the natural color of the source from which they are obtained, because color is one of the most important properties that determine the quality and desirability of food products and/or ingredients. However, the color may change due to chemical and biochemical reactions during drying processes (Jia et al., 2020). It is a known fact that the control of these reactions depends greatly on the drying conception, therefore, detecting the changes in the color of the end-product as a result of the applied processes is very important in terms of giving an idea about the most ideal option that can be applied in every respect such as quality, meeting consumer demand, and marketing strategy. In this regard, the ΔE value is quite useful, and the values of powders produced by HAD and FD treatments were found as 15.39 and 10.82, respectively. As is known, the ΔE value is a measurement of the difference between two colors, and the higher ΔE value means the greater difference between the colors being compared. In the literature, differences in perceivable color were analytically classified as very significant $\Delta E > 3$, significant $1.5 < \Delta E < 3$ and very small difference $\Delta E < 1.5$ (Adekunte et al., 2010). It was stated that the average human eye perceives color differences with a ΔE value of 3 or higher (Chang et al., 2015). In this sense, in the present study, it was observed that both drying treatments caused noticeable color changes, but this occurred relatively less in the FD application in accordance with the literature (Figure 2).

The total phenolic, flavonoid, and monomeric anthocyanin pigment contents of the samples

The analytical data for the total phenolic (TPC), flavonoid (TFC), and monomeric anthocyanin (TMA) pigment contents of the water and methanol (80%) extracts of all samples were given in Table 3. The data clearly showed that for all analysis results, methanol extracts of FFP and powders contained higher amounts of bioactive

compounds than the water extracts. Considering the TPC results, there was no significant difference between the methanol extracts of the FFP and FDFP samples ($P > 0.05$), but the results were higher than the HADFP sample ($P < 0.05$). In water extracts, it was determined that the highest TPC was in the FFP sample, followed by FDFP and HADFP, respectively ($P < 0.05$). The same trend was observed in the TFC analysis results. On the other hand, there was no difference between the TMA contents of the methanol extracts ($P > 0.05$), while the results of the water extracts of powder samples were similar to each other but lower than the FFP sample ($P < 0.05$). In the literature, there are similar or different results than those obtained in the current study. For instance, in a study, TPC, TFC, and TMA values of ethanol (96%) extracts of fresh chokeberry were found as 5222.54 mg GAE/100 g DM, 2346.31 mg catechin equivalents (CE)/100 g DM, and 1764.97 mg CGE/100 g DM, respectively. In the same study, TPC, TFC, and TMA values of ethanol (96%) extracts of chokeberry powder obtained by convective drying at 50 °C until constant weight (37 h) were found as 1918.79 mg GAE/100 g DM, 1037.19 mg CE/100 g DM, and 376.89 mg CGE/100 g DM. It was stated that higher temperatures of the dehydration process (60 °C, 70 °C) reduced the bioactive components in the chokeberry extracts (Petković et al., 2019). In another study, TPC, TFC, and TMA values of ethanol (80%) extracts of black chokeberry powder obtained by oven drying (60 °C, 12 h) were found as 79230 mg GAE/100 g DM, 5850 mg CE/100 g DM, and 223100 mg CGE/100 g DM (Thi and Hwang, 2016). According to the study of Różyło et al. (2019), the TFC of powder of freeze dried chokeberry fruit was recorded as 51 mg QE/100 g raw material. In a different study, TPC and TMA values of water extracts of chokeberry powders obtained by FD and convective drying (70 °C, 48 h) methods were detected as 2255.86 and 2147.17 mg GAE/100 g DM, 766.59 and 397.71 mg cyanidin-3,5-digalactoside/100 g DM, respectively (Sadowska et al., 2019). Considering all these results, it was inevitable that changes in the chemical composition of black chokeberry fruit, depending

on factors such as growing conditions and genetic diversity, caused changes in TPC, TFC, and TMA values. On the other hand, it is sometimes difficult to compare the results with literature data due to the application of different extraction

solvents and conditions or standards to express these values for dried chokeberry fruits or powder samples obtained by different dehydration methods.

Table 3. The total phenolic, flavonoid, and monomeric anthocyanin pigment contents of the samples.

Sample	Extract Type	TPC	TFC	TMA
HADFP		6545.58 ± 188.48 ^{Bb}	4764.50 ± 115.79 ^{Bb}	1293.87 ± 61.24 ^{Aa}
FDFP	Methanol	7231.80 ± 279.50 ^{Aa}	5198.98 ± 64.36 ^{Aa}	1313.67 ± 59.76 ^{Aa}
FFP		7474.09 ± 225.26 ^{Aa}	5088.91 ± 88.69 ^{Aa}	1316.21 ± 56.36 ^{Aa}
HADFP		3700.96 ± 149.06 ^{Cc}	2499.60 ± 48.04 ^{Cd}	581.61 ± 17.16 ^{Bc}
FDFP	Water	4497.34 ± 174.26 ^{Bd}	3148.14 ± 31.99 ^{Bc}	621.71 ± 11.23 ^{Bc}
FFP		5487.92 ± 158.42 ^{Ac}	4653.23 ± 65.70 ^{Ab}	767.94 ± 92.87 ^{Ab}

Data represent average values ± standard deviation. There is no statistical difference between the results shown with the same exponential capital letter in the same column for the same extract group ($P > 0.05$). There is no statistical difference between the results shown with the same exponential lowercase letter in the same column for all samples ($P > 0.05$). HADFP: Hot air-dried fruit powder. FDFP: Freeze-dried fruit powder. FFP: Fresh Fruit Puree. TPC: Total phenolic content (mg gallic acid equivalents (GAE)/100 g DM). TFC: Total flavonoid content (mg quercetin equivalents (QE)/100 g DM). TMA: Total monomeric anthocyanin pigment content (mg cyd-3-glu equivalents (CGE)/100 g DM).

Technological developments in recent years have enabled the development of new drying methods such as vacuum oven drying, microwave drying, freeze drying, and different combined drying treatments (Karabacak et al., 2015; Kursun and Karaca, 2018; Calín-Sánchez et al., 2020; Jia et al., 2020). However, each method has a different effect on the nutritional properties of the final product. In this context, based on the results obtained in the present research, it can be stated that both drying treatments degraded especially water-soluble phenolic compounds in chokeberry fruit. Similarly, Al-Rawahi et al. (2013) found that phenolic compounds of pomegranate peels soluble in water and ethanol were more sensitive compared to the methanol for all drying methods they applied, except FD. Another study determined that the total soluble flavonoid content of hot water extract of immature calamondin peel was severely reduced compared to the hexane and ethyl acetate extracts resulting from heating the peel at 150 °C for 1.5 h (Lou et al., 2014). In parallel with the literature, it was

found that FD had a minimal effect on the structure of FFP. In the meantime, FD can cause ice crystals to develop in the plant matrix, resulting in further rupturing of the plant cell structure, allowing better solvent access and resulting in higher extraction yields (Nakbanpote et al., 2019). However, it should be noted that HAD is a simple and low-cost technique, so it can be preferred in terms of end-product quality and application performance for the dehydration of chokeberry fruit. To sum up, it would be beneficial to enrich the literature through further studies on drying chokeberry fruit with various treatments and applying different extraction techniques.

The antioxidant activity results of the samples

The ABTS and DPPH radical scavenging activities of water and methanol (80%) extracts of all samples were presented in Table 4. As seen, there was no difference between the ABTS radical scavenging activity values of FFP and methanol

extracts of the powder samples ($P > 0.05$). On the contrary, DPPH radical scavenging activity values of methanol extracts were determined as FFP > FDFP > HADFP, respectively ($P < 0.05$). Considering the water extracts, the values obtained for both antioxidant activity analysis

results were FFP > FDFP > HADFP ($P < 0.05$). In the meantime, ABTS and DPPH results of methanol extracts were higher than those of water extracts ($P < 0.05$), as were the results of TPC, TFC, and TMA.

Table 4. The antioxidant activity results of the samples depending on DPPH and ABTS methods.

Sample	Extract Type	ABTS	DPPH
		($\mu\text{mol Trolox/g}$)	($\mu\text{mol Trolox/g}$)
HADFP		415.28 \pm 25.87 ^{Aa}	217.97 \pm 1.64 ^{Cd}
FDFP	Methanol	452.43 \pm 11.23 ^{Aa}	232.33 \pm 2.15 ^{Bc}
FFP		427.21 \pm 65.64 ^{Aa}	371.48 \pm 9.47 ^{Aa}
HADFP		212.29 \pm 10.38 ^{Cb}	105.99 \pm 1.96 ^{Cf}
FDFP	Water	257.56 \pm 4.34 ^{Bb}	119.63 \pm 0.71 ^{Be}
FFP		288.01 \pm 13.12 ^{Ab}	257.21 \pm 4.78 ^{Ab}

Data represent average values \pm standard deviation. There is no statistical difference between the results shown with the same exponential capital letter in the same column for the same extract group ($P > 0.05$). There is no statistical difference between the results shown with the same exponential lowercase letter in the same column for all samples ($P > 0.05$). HADFP: Hot air-dried fruit powder. FDFP: Freeze-dried fruit powder. FFP: Fresh Fruit Puree.

In this regard, in a study comparing the quality and microstructure of chokeberry powders prepared with different drying methods, Sadowska et al. (2019) determined the antioxidant activity values (ABTS) of water extracts of the powders using FD and convective drying (70 °C, 48 h) applications as 583.6 $\mu\text{mol Trolox/g DM}$ and 489.5 $\mu\text{mol Trolox/g DM}$, respectively. Oszmianski and Lachowicz (2016) determined the ABTS values of methanol extracts (acidified with 2.0% formic acid) of lyophilized and ground powders made of whole dried fruits (i) and from pomace obtained from whole (ii) and crushed fruits (iii) as 816.6, 816.3, and 599.4 $\mu\text{mol Trolox/g DM}$, respectively. Samoticha et al. (2016) found that methanol (80%) extracts of fresh chokeberry (i) and its powders obtained by convective drying (50 °C) (ii) and FD (iii) as 2349, 419, and 1147 $\mu\text{mol Trolox/g DM}$ according to the ABTS method, respectively. Considering the DPPH method, Biel et al. (2023) determined of methanol (70%) extract of black chokeberry powder by means of drying at room temperature

(18–22 °C, 3–4 days) as 13.36 $\mu\text{M Trolox/g DM}$. Sady et al. (2019) found that the DPPH value of 75% ethanol extract of FD (-45 °C, 16 h) chokeberry pomace was 429 $\mu\text{M Trolox/g DM}$. As seen, the results obtained in various studies may differ from each other, and the reason for differences between these studies may be due to the growth conditions and genetic varieties of black chokeberry, as well as the changes applied in the methods. In general, the drying process results in a reduction in naturally occurring antioxidants typically found in raw plant materials (Hsu et al., 2003; Lim and Murtijaya, 2007; Thi and Hwang, 2016), which is valid for all results except ABTS values of methanol extracts in the current study. However, in accordance with the literature, it can be stated that FD treatment preserved the highest levels of bioactive and antioxidant compounds in black chokeberry fruits (Thi and Hwang, 2016; Sadowska et al., 2019). In conclusion, it was clear that chokeberry fruits and powders obtained from these fruits exhibit higher antioxidant activity than many plant based

materials, as summarized by Sidor and Gramza-Michałowska (2019).

CONCLUSION

In this study, fresh black chokeberry (*Aronia melanocarpa* [Michx.] Elliot) fruit puree (FFP) was dried with two different techniques for 24 h and various quality criteria of the obtained fruit powders were examined. According to the results, both convective hot air drying (HAD) and freeze drying (FD) treatments provided suitable results in terms of water activity and moisture value of the powders after 24 h of application. Fruit powders with different color characteristics were obtained with both drying treatments. Considering the effects of drying treatments on the bioactive components of the fresh fruit, it was determined that water and methanol (80%) extracts gave different results. In this regard, FD treatment preserved the highest levels of bioactive and antioxidant compounds in black chokeberry fruits. However, in HAD application, which is a simple and low-cost treatment, it can be stated that it is possible to obtain a powder product rich in phenolic compounds and with high antioxidant activity depending on the drying parameters. Therefore, in order to preserve the beneficial properties of perishable fruits and vegetables, it is recommended to choose the most appropriate dehydration process in terms of cost and performance in line with the intended use.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

CONFLICT OF INTEREST

The author reports no conflict of interest.

REFERENCES

Adekunte, A.O., Tiwari, B.K., Cullen, P.J., Scannell, A.G.M., O'Donnell, C. P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122 (3): 500–507.

Al-Rawahi, A.S., Rahman, M.S., Guizani, N., Essa, M.M. (2013). Chemical composition, water sorption isotherm, and phenolic contents in fresh

and dried pomegranate peels. *Drying Technology*, 31: 257–263.

Altınok, E., Kurultay, S., Konar, N., Toker, O.S., Kopuk, B., Gunes, R., Palabiyik, I. (2022). Utilising grape juice processing by-products as bulking and colouring agent in white chocolate. *International Journal of Food Science & Technology*, 57: 4119–4128.

AOAC (2010). Official methods of analysis of AOAC International, 18th Edition, Washington, DC.

Bednarska, M.A., Janiszewska-Turak, E. (2020). The influence of spray drying parameters and carrier material on the physico-chemical properties and quality of chokeberry juice powder. *Journal of Food Science and Technology*, 57 (2): 564–577.

Bhatta, S., Stevanovic, T., Ratti, C. (2020). Freeze-drying of plant-based foods. *Foods*, 9 (1): 87.

Biel, W., Pomietło, U., Witkiewicz, R., Piątkowska, E., Kopec, A. (2023). Proximate composition and antioxidant activity of selected morphological parts of herbs. *Applied Sciences*, 13 (3): 1413.

Bustos, M.C., Rocha-Parra, D., Sampedro, I., de Pascual-Teresa, S., León, A.E. (2018). The influence of different air-drying conditions on bioactive compounds and antioxidant activity of berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (11): 2714–2723.

Calín-Sánchez, Á., Kharaghani, A., Lech, K., Figiel, A., Carbonell-Barrachina, Á.A., Tsotsas, E. (2015). Drying kinetics and microstructural and sensory properties of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) as affected by drying method. *Food & Bioprocess Technology*, 8 (1): 63–74.

Calín-Sánchez, Á., Lipan, L., Cano-Lamadrid, M., Kharaghani, A., Masztalerz, K., Carbonell-Barrachina, Á.A., Figiel, A. (2020). Comparison of traditional and novel drying techniques and its effect on quality of fruits, vegetables and aromatic herbs. *Foods*, 9 (9): 1261.

Chandramohan, V.P. (2020). Convective drying of food materials: An overview with fundamental

- aspect, recent developments, and summary. *Heat Transfer – Asian Research*, 49 (3): 1281–1313.
- Chang, J.Y., Chen, W.C., Huang, T.K., Wang, J.C., Fu, P.S., Chen, J.H., Hung, C.C. (2015). Evaluation of the accuracy and limitations of three tooth-color measuring machines. *Journal of Dental Sciences*, 10 (1): 16–20.
- Correia, R., Grace, M.H., Esposito, D., Lila, M.A. (2017). Wild blueberry polyphenol-protein food ingredients produced by three drying methods: Comparative physico-chemical properties, phytochemical content, and stability during storage. *Food Chemistry*, 235: 76–85.
- Cujic, N., Šavikin, K., Jankovic, T., Pljevljakušić, D., Zdunic, G., Ibric, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, 194: 135–142.
- Fariás-Cervantes, V.S., Salinas-Moreno, Y., Chávez-Rodríguez, A., Luna-Solano, G., Medrano-Roldan, H., Andrade-González, I. (2020). Stickiness and agglomeration of blackberry and raspberry spray dried juices using agave fructans and maltodextrin as carrier agents. *Czech Journal of Food Sciences*, 38 (4): 229–236.
- Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00 (1): 1–13.
- Gorguc, A., Gencdag, E., Demirci, K., Vayic A., Yilmaz, F.M. (2023). The effect of high-power ultrasound pretreatment on drying efficiency and bioactive compounds of chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.). *Food Science and Technology International*, 29 (5): 480–490.
- Gunes, R., Palabiyik, I., Toker, O.S., Konar, N., Kurultay, S. (2019). Incorporation of defatted apple seeds in chewing gum system and phloridzin dissolution kinetics. *Journal of Food Engineering*, 255: 9–14.
- Hsu, C.L., Chen, W., Weng, Y.M., Tseng, C.Y. (2003). Chemical composition, physical properties and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 83: 85–92.
- Jia, X., Katsuno, N., Nishizu, T. (2020). Changes in the physico-chemical properties of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) during drying and quality deterioration during storage. *Reviews in Agricultural Science*, 8: 1–14.
- Karabacak, A.Ö., Sinir, G.Ö., Suna, S. (2015). Microwave and microwave-assisted drying effect on quality parameters of various fruits and vegetables. *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 29 (2): 125–135.
- Krzykowski, A., Dziki, D., Rudy, S., Polak, R., Biernacka, B., Gawlik-Dziki, U., Janiszewska-Turak, E. (2023). Effect of air-drying and freeze-drying temperature on the process kinetics and physicochemical characteristics of white mulberry fruits (*Morus alba* L.). *Processes*, 11 (3): 750.
- Kursun, E., Karaca, H. (2018). Dried persimmons: Bioactive components, health aspects and current drying techniques. *International Society for Horticultural Science*, 1: 169–176.
- Lim, Y.Y., Murtijaya, J. (2007). Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT – Food Science and Technology*, 40: 1664–1669.
- Lou, S.N., Lin, Y.S., Hsu, Y.S., Chiu, E.M., Ho, C.T. (2014). Soluble and insoluble phenolic compounds and antioxidant activity of immature calamondin affected by solvents and heat treatment. *Food Chemistry*, 15 (161): 246–253.
- Nakbanpote, W., Ruttanakorn, M., Sukadeetad, K., Sakkayawong, N., Damrianant, S. (2019). Effects of drying and extraction methods on phenolic compounds and in vitro assays of *Eclipta prostrata* Linn leaf extracts. *ScienceAsia*, 45: 127–137.
- Nireesha, G.R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjan Babu, M., Lavakumar, V. (2013). Lyophilization/freeze drying—A review. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3: 87–98.
- Nowak, D., Jakubczyk, E. (2020). The freeze-drying of foods—The characteristic of the process course and the effect of its parameters on the physical properties of food materials. *Foods*, 9 (10): 1488.

- Oszmianski, J., Lachowicz, S. (2016). Effect of the production of dried fruits and juice from chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on the content and antioxidative activity of bioactive compounds. *Molecules*, 21 (8): 1098.
- Pachura, N., Zimmer, A., Grzywna, K., Figiel, A., Szumny, A., Łyczko, J. (2022). Chemical investigation on *Salvia officinalis* L. Affected by multiple drying techniques—The comprehensive analytical approach (HS-SPME, GC-MS, LC-MS/MS, GC-O and NMR). *Food Chemistry*, 397: 133802.
- Pateiro, M., Vargas-Ramella, M., Franco, D., da Cruz, A.G., Zengin, G., Kumar, M., Dhama, K., Lorenzo, J.M. (2022). The role of emerging technologies in the dehydration of berries: Quality, bioactive compounds, and shelf life. *Food Chemistry: X*, 16: 100465.
- Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 6 (1): 36–60.
- Petković, M., Đurović, I., Miletić, N., Radovanović, J. (2019). Effect of convective drying method of chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on drying kinetics, bioactive components and sensory characteristics of bread with chokeberry powder. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 63 (4): 600–608.
- Qi, Y., Yu, F., Wang, X., Wan, N., Yang, M., Wu, Z., Li, Y. (2021). Drying of wolfberry fruit juice using low-intensity pulsed ultrasound. *LWT – Food Science and Technology*, 141: 110953.
- Ravichandran, K.S., Krishnaswamy, K. (2021). Sustainable food processing of selected North American native berries to support agroforestry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63: 4235–4260.
- Różyło, R., Wójcik, M., Dziki, D., Biernacka, B., Cacak-Pietrzak, G., Gawłowski, S., Zdybel, A. (2019). Freeze-dried elderberry and chokeberry as natural colorants for gluten-free wafer sheets. *International Agrophysics*, 33 (2): 217–225.
- Sadowska, A., Świdorski, F., Rakowska, R., Hallmann, E. (2017). The functional properties of chokeberry and kale powders obtained by an innovative method of fluidised-bed jet milling with drying compared to freeze drying. *International Journal of Food Engineering*, 13 (6): 20160310.
- Sadowska, A., Świdorski, F., Rakowska, R., Hallmann, E. (2019). Comparison of quality and microstructure of chokeberry powders prepared by different drying methods, including innovative fluidised bed jet milling and drying. *Food Science and Biotechnology*, 28 (4): 1073–1081.
- Sady, S., Matuszak, M., Błaszczuk, A. (2019). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from chokeberry pomace using response surface methodology. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 18 (3): 249–256.
- Samoticha, J., Wojdyło, A., Lech, K. (2016). The influence of different the drying methods on chemical composition and antioxidant activity in chokeberries. *LWT – Food Science and Technology*, 66: 484–489.
- Sánchez-Teba, E.M., Gemar, G., Soler, I.P. (2021). From quantifying to managing food loss in the agri-food industry supply chain. *Foods*, 10 (9): 2163.
- Shishir, M.R.I., Chen, W. (2017). Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science & Technology*, 65: 49–67.
- Shraim, A.M., Ahmed, T.A., Rahman, M.M., Hijji, Y.M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT – Food Science and Technology*, 150: 111932.
- Sidor, A., Gramza-Michalowska, A. (2019). Black chokeberry *Aronia Melanocarpa* L.—A qualitative composition, phenolic profile and antioxidant potential. *Molecules*, 24: 3710.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152–178.

- Sójka, M., Kolodziejczyk, K., Milala, J. (2013). Polyphenolic and basic chemical composition of black chokeberry industrial by-products. *Industrial Crops and Products*, 51: 77–86.
- Taskin, O. (2020). Evaluation of freeze drying for whole, half cut and puree black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.). *Heat and Mass Transfer*, 56: 2503–2513.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (6–7): 669–675.
- Thi, N.D., Hwang, E.S. (2016). Effects of drying methods on contents of bioactive compounds and antioxidant activities of black chokeberries (*Aronia melanocarpa*). *Food Science and Biotechnology*, 25 (1): 55–61.
- Thuy, N.M., Tuyen, N.T.M., Thanh, N.V., Tai, N.V. (2020). Evaluation of freeze-drying conditions on the process kinetics and physicochemical properties of purple shallot. *Food Research*, 4 (5): 1630–1636.
- Wojdyło, A., Figiel, A., Lech, K., Nowicka, P., Oszmiański, J. (2014). Effect of convective and vacuum–microwave drying on the bioactive compounds, color, and antioxidant capacity of sour cherries. *Food and Bioprocess Technology*, 7: 829–841.
- Xu, Y., Fan, M., Ran, J., Zhang, T., Sun, H., Dong, M., Zhang, Z., Zheng, H. (2016). Variation in phenolic compounds and antioxidant activity in apple seeds of seven cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23 (3): 379–388.
- Zhang, M., Chen, H., Mujumdar, A.S., Tang, J., Miao, S., Wang, Y. (2017). Recent developments in high-quality drying of vegetables, fruits, and aquatic products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (6): 1239–1255.
- Zielinska, M., Zielinska, D., Markowski, M. (2018). The effect of microwave-vacuum pretreatment on the drying kinetics, color and the content of bioactive compounds in osmo-microwave-vacuum dried cranberries (*Vaccinium macrocarpon*). *Food and Bioprocess Technology*, 11 (3): 585–602.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Öğütçü M., Albayrak, E., Karabayır, E. S. *Optimization of wax addition level in sunflower oil oleogels via response surface methodology / Ayçiçeği yağı oleojellerindeki mum ilave seviyesinin yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu*.....901-912
- Kurt, N., Aydın, E., Özkan, G. *Hass avocado leaves: Optimization of microwave-assisted extraction parameters, phenolic compounds, antioxidant, and antidiabetic activities / Hass avokado yaprağı: Mikrodalga destekli ekstraksiyon parametreleri, fenolik bileşikler, antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerin optimizasyonu*913-923
- Akdag, Z. T., Catalyildiz, Z. E., Çetin Babaoglu, H., Arslan Tontul, S. *The use of refractance window-dried egg powder in cake production / Kırınım pencereci kurutucu ile üretilmiş toz yumurtanın kek üretiminde kullanımı*.....963-971
- Pürdik Tatık, G., Güngör, A. E. *Adherence to the Mediterranean diet in patients with metabolic syndrome / Metabolik sendromlu hastalarda Akdeniz diyetine uyum*981-992
- Balkan, T., Yılmaz, Ö. *Determination of pesticide residues in pomegranates grown in Antalya and health risk assessment / Antalya'da yetiştirilen narlarda pestisit kalıntılarının belirlenmesi ve sağlık risk değerlendirilmesi*993-1003
- Ayda, M., Dede, S., Didin, M. *Determination and comparison of quality changes during storage of Turkish pepper paste produced by different methods. / Farklı yöntemlerle üretilen Türk biber salçalarının depolama sırasındaki kalite değişimlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması*1071-1083
- Kızılpınar Temizer, İ., Çobanoğlu, D. N. *Bibliometric Analysis of Research on Bee Pollen: Global Trends and Collaboration Patterns / Arı Polenleri Araştırmalarının Bibliyometrik Analizi: Küresel Eğilimler ve İşbirliği Örüntüleri*1084-1098
- Kian-Pour, N. *Effect of ethanol immersion and ultrasound pretreatments on the kinetics of convective drying of quince / Etanole daldırma ve ultrason ön işlemlerinin ayvanın konvektif kurutma kinetiğine etkisi*1099-1108
- Gunes, R. *Quality assessment of chokeberry fruit powders obtained by convective hot air and freeze drying methods / Konvektif sıcak hava ve dondurarak kurutma yöntemleriyle elde edilen aronya meyve tozlarının kalite yönünden değerlendirilmesi*.....1109-1122

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Tiribolulu, T., Ayhan, Z. *Etilen tutucu içeren aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının kiraz domatesin hasat sonrası kalitesi üzerine etkileri / The influence of ethylene scavenging-active packaging and storage temperature on post harvest quality of cherry tomatoes* 934-951
- Sipahi, N., Doğan Çelik, C. *Sağlıklı hayvanlardan alınan süt örneklerinde potansiyel patojenler ve çoklu antibiyotik dirençliliği: Streptococcus spp. suşlarının değerlendirilmesi / Presence of the potential pathogens and multiple antibiotic resistance in milk from healthy animals: Evaluation of Streptococcus spp. Strains*952-962
- Şen Arslan, H. *Ultrason destekli elma atık özütlerinin bazı biyoaktif özellikleri / Some bioactive properties of ultrasound supported apple waste extracts* 972-980
- Çetin, B., Bazu Çırpıcı, B. *Mayalarda safra tuzu toleransının belirlenmesinde farklı sıcaklık ve besiyeri kullanımının etkisi / The effect of different temperature and media usage on determining bile salt tolerance in yeasts*1004-1020
- Yıldız, E., Özcan Sınır, G., Aykas, D. P., Gurbuz, O. *Kombu çayı üretiminde muşmula (Mespilus germanica L.) kullanımının antioksidan kapasite ve biyoerişilebilirlik üzerine etkisinin araştırılması / Investigation of the effect of medlar (Mespilus germanica L.) usage on antioxidant capacity and bioaccessibility in Kombucha production* 1021-1035
- Yılmaz Oral, Z. F. *Islık işlem görmüş sucuk üretiminde kürleme ajanı olarak pazı tozu kullanımının nitrozamin oluşumuna ve kalite parametrelerine etkisi / The effect of using swiss chard powder as a curing agent in the production of heat-treated sucuk on nitrosamine formation and quality parameters*1036-1046
- Güldane, M., Yağmur, T., Çetin, H. *Doğal biyoaktif sebze özütlerinin beze özelliklerine etkisi / Effect of natural bioactive extracts on meringue properties* .. 1047-1059

Derlemeler / Reviews

- Akgül, F. N., Arslan Tontul, S. *Tip 5 dirençli nişasta: Nişasta katılım kompleksleri / Type 5 resistant starch: Starch inclusion complexes*924-933
- Bal, A., Küçüköner, E. *Sıcak hava fritöz ve derin yağda kızartma tekniği ile kızartılmış gıdaların karşılaştırılması / Comparison of foods fried by air frying and deep fat frying* 1060-1070