

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 49

SAYI / NUMBER : 6

YIL / YEAR : 2024

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

ÇAKIR, İbrahim; *Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey*

Editörler / Editors

AVCI, Ayşe; *Sakarya University, Turkey*
AYDIN, Furkan; *Aksaray 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*
ERİNÇ, Hakan; *Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey*
EYİLER, Esen; *Akdeniz University, Turkey*
KULEAŞAN, Şükran; *Mehmet Akif University, Turkey*
TORUN, Mehmet; *Akdeniz University, Turkey*
YILMAZ, Merve Silanur; *Bilis 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 12 2024

Danışma Kurulu / Advisory Board

Akköse, Ahmet; *Atatürk University, Turkey*
Arık, 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; *Neşehir 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; *Cumhuriyet 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 (2024)49(6)

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Çaltinoğlu Toraman Ç., Güven, Ö., Şensoy, İ. (2024) Valorization of artichoke leaf powder in extruded snacks: Product quality and in vitro starch digestibility / Enginar yaprağı tozunun ekstrüde atıştırmalıklarda kullanılması: Ürün kalitesi ve in vitro nişasta sindirilebilirliği 997-1009

Ceylan, Ö., Uğur, A., Saraç, N., Eroğlu Arslan, B (2024) Antimicrobial, antibiofilm, anti-quorum sensing and antioxidant activities of some edible Asteraceae members / Bazı yenilebilir Asteraceae üyelerinin antimikrobiyal, antibiofilm, anti-quorum sensing ve antioksidan aktiviteleri 1028-1037

Şirin, Y., Erdem, B., Cengiz, S., Gürkan, S., Gürkan, P. (2024) Biochemical composition and determination of adulteration of black mulberry extracts / Karadut özlerinin biyokimyasal bileşimi ve tağşişin belirlenmesi 1038-1061

Tiribolulu, T., Haskaraca, G., Ayban, Z. (2024). The effects of ethylene scavenging-active packaging and storage temperature on quality and shelf life of cucumber (*Cucumis sativus* L.) / Etilen tutucu içeren aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının badem hyarın (*Cucumis sativus* L.) kalite ve raf ömrüne etkisi 1074-1094

Aslan, Ö., Arık Kibar, E. A. (2024) Quality evaluation of pine and blossom honey samples produced in Turkey: Correlation between physicochemical characteristics / Türkiye'ye özgü çam ve çiçek ballarının kalite özelliklerinin değerlendirilmesi: Fizikokimyasal özellikler arasındaki ilişki 1095-1108

Yıldız, E., Kus, N., San Guner, S., Sumnu, G. (2024). Development of biodegradable active food packaging from agricultural wastes: Production, characterization, and application of films with banana peel and olive leaf extract / Tarım atıklarından biyobozunur aktif gıda ambalajı geliştirilmesi: Muz kabuğu ve zeytin yaprağı ekstresi ile filmlerin üretimi, karakterizasyonu ve uygulaması 1109-1125

Arserim Uçar, D. K. (2024) Engineered chitosan nanoparticles for encapsulation of thymol / Timol enkapsülasyonu için tasarlanmış kitosan partikülleri 1148-1161

Çınar, A. T., Turabi Yolaçaner, E. (2024). Modeling of dynamic oscillation and creep-recovery data of gluten-free biscuit dough containing tiger-nut flour / Yer bademi unu içeren glutensiz bisküvi hamurunun dinamik salınım ve sünme-iyileşme verilerinin modellenmesi 1218-1227

Istanbullugil, F. R., Salioca, Z., Salioca, K., Borkoev, B. (2024) Flavonoid and total phenolic contents of green walnut fruits and leaves, and the effects of their extracts on the microbiological properties of kurut / Yeşil ceviz meyveleri ve yapraklarının flavonoid ve toplam fenolik içerikleri ile ekstraktlarının kurutun mikrobiyolojik özelliklerine etkisi 1228-1236

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Alifaki, Y. Ö., Yılmaz, M. S., Şakıyan, Ö., Işçi, A. (2024). Zeytin karasuyu fenolik birleşiklerinin ohmik, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonu ve kinetik modellemesi / Kinetic modelling of ohmic, microwave and ultrasound assisted extractions of phenolic compounds from olive mill waste water 1010-1027

Coşkun, H., Albayrak, B., Helal, M., Dheyaa, S., Öztürk, B. B., Ertem, M. (2024). Zerdeçal ekstraktı kullanımının kefirin bazı fizikokimyasal özelliklerine etkisi / The effect of turmeric extract usage on some physicochemical properties of kefir 1062-1073

Kanca, N. (2024). Yoğurt suyu kullanımının yağsız ayranın bazı özellikleri üzerine etkisi / Effect of yoghurt whey use on some properties of nonfat ayran 1126-1137

Erinç, H., Erkayran, T. (2024). Farklı kurutma tekniklerinin fındık oleozomları üzerine etkilerinin belirlenmesi / Determination of the effects of different drying techniques on hazelnut oleosomes 1138-1147

Cerit, İ., Güneş, R., Çelik, G. (2024). Farklı çözücü ve ultrasonikasyon uygulamalarının maya hücreleri ile b-karoten enkapsülasyonunda etkisi / The effect of different solvents and ultrasonication applications on b-carotene encapsulation with yeast cells 1162-1174

Döver, H., Bekar, E., Kamiloğlu, S. (2024). Çörek otu posasının marmelat yapımında değerlendirilmesi: Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği ve antioksidan kapasite üzerine etkileri / Valorization of black cumin pomace in marmalade production: Effects on bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant capacity 1206-1217

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Şensu, E., Yücepete, A., Özçelik, B. (2024). Alternatif protein kaynağı olarak makroalgler ve makroalg proteinlerinin ekstraksiyonu: Bir derleme çalışması / Macroalgae as alternative protein sources and extraction of macroalgal protein: A review study 1175-1189

Horzum, B. S., Bayrak, E. (2024). Gölevez (*Colocasia esculenta* (L.) schott): Beslenme ve sağlık üzerine etkisi / Taro (*Colocasia esculenta* (L.) schott): Effects on nutrition and health 1190-1205



**VALORIZATION OF ARTICHOKE LEAF POWDER IN EXTRUDED SNACKS:
PRODUCT QUALITY AND IN VITRO STARCH DIGESTIBILITY**

Çağla ÇALTINOĞLU-TORAMAN, Özge GÜVEN, İlkay ŞENSOY*

Food Engineering Department, Faculty of Engineering, Middle East Technical University, Ankara, Türkiye

Received/Geliş: 19.04.2024; Accepted/Kabul: 04.10.2024; Published online/Online baskı: 12.10.2024

Çaltinoğlu Toraman Ç., Güven, Ö., Şensoy, İ. (2024) Valorization of artichoke leaf powder in extruded snacks: Product quality and in vitro starch digestibility. GIDA (2024) 49 (6) 997-1009 doi: 10.15237/gida.GD24046

Çaltinoğlu Toraman Ç., Güven, Ö., Şensoy, İ. (2024) Enginar yaprağı tozunun ekstrüde atıştırmalıklarda kullanılması: Ürün kalitesi ve in vitro nişasta sindirilebilirliği. GIDA (2024) 49 (6) 997-1009 doi: 10.15237/gida.GD24046

ABSTRACT

Artichoke waste is a rich source of fibers and bioactive phenolic substances. The study aimed to investigate the effect of artichoke leaf powder (ALP) addition on physical properties and in vitro starch digestibility of wheat flour (WF) - based extrudates. Feeds were prepared to have extrudates with ALP:WF ratios of 0:100, 3:97, 6:94, and 9:91. Increasing ALP ratio reduced sectional and volume expansion indexes but increased bulk density and hardness values. The water absorption index decreased for the highest ALP: WF ratio (9:91), while the water solubility index was not affected by ALP addition. Rapidly and slowly digestible glucose fractions were not significantly affected by ALP addition. The overall acceptability of products was only affected at the 9:91 ALP: WF ratio. The findings showed that ALP could be valorized as a food ingredient. The information gained could guide future studies that will focus on developing nutritious ready-to-expanded snacks enriched with high fiber ingredients.

Keywords: Artichoke, extrusion, dietary fiber, available glucose

**ENGİNAR YAPRAĞI TOZUNUN EKSTRÜDE ATIŞTIRMALIKLARDA
KULLANILMASI: ÜRÜN KALİTESİ VE IN VITRO NİŞASTA
SİNDİRİLEBİLİRLİĞİ**

ÖZ

Enginar üretimi esnasında ortaya çıkan atıklar zengin lif ve biyoaktif fenolik madde kaynağıdır. Bu çalışma, enginar yaprağı tozu (ALP) ilavesinin, buğday unu (WF) bazlı ekstrüdatların fiziksel özelliklerine ve *in vitro* nişasta sindirilebilirliğine etkisini araştırmayı amaçlamaktadır. Çalışmada, ALP:WF oranları sırasıyla 0:100, 3:97, 6:94 ve 9:91 olacak şekilde ekstrüdatlar üretilmiştir. ALP oranının artırılması, genleşme indekslerini azaltmış, ancak yığın yoğunluğu ve sertlik değerlerini artırmıştır. Su emme indeksi en yüksek ALP:WF oranında (9:91) azalırken, suda çözünürlük indeksi ALP ilavesinden etkilenmemiştir. Hızlı ve yavaş sindirilebilen glikoz fraksiyonları ALP ilavesinden önemli ölçüde etkilenmemiştir. Ürünlerin genel kabul edilebilirliği yalnızca 9:91 ALP:WF oranında etkilenmiş olup bulgular, ALP'nin ekstrüdatlarda bir gıda bileşeni olarak değerlendirilebileceğini

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: isensoy@metu.edu.tr

☎: +90 (312) 2105647

Çağla Çaltinoğlu; ORCID no: 0000-0003-1983-8973

Özge Güven; ORCID no: 0000-0003-4029-3592

İlkay Şensoy; ORCID no: 0000-0002-0413-2532

göstermiştir. Elde edilen bilgiler, yüksek lif içeriği ile zenginleştirilmiş, besleyici atıktırmalıkların geliştirilmesine yönelik gelecekteki çalışmalara rehberlik edebilir.

Anahtar kelimeler: Enginar, ekstrüzyon, diyet lifi, mevcut glikoz

INTRODUCTION

The extrusion is a high-temperature, short-time technology that combines several food processing operations such as mixing, shearing, heating, and forming in a single piece of equipment. The process combines mechanical, thermal, and chemical effects continuously. Its versatility makes it possible to produce different foods such as pasta, ready-to-eat cereals, and pet foods by simply changing the ingredient, extrusion conditions, and the die. The extrusion process is high throughput, energy-efficient, environmentally friendly, and low-cost technology. Therefore, it is convenient for developing value-added cereal-based products by incorporating by-products with nutritional benefits into the food stream for consumer appeal (Wani, Kumar, 2016). However, additional ingredients mainly composed of high dietary fiber and protein have adverse effects on extrudates' expansion and textural properties, which could reduce their acceptance rates by consumers (Açkar et al., 2018; Blandino et al., 2022).

Extruded products' structural and textural quality may alter nutrients' digestibility (Rathod, Annapure, 2017). It is possible to increase the availability of bioactive compounds, antioxidant activity, and total phenolic content in the extrudates during digestion by incorporating vegetable-based materials (Tonyali et al., 2015; Ortak et al., 2017; Guven et al., 2018; Tonyali et al., 2020). Besides, additional ingredients high in fiber and protein content may reduce the starch digestion rate (H. Lu et al., 2021). Therefore, it is essential to investigate the quality, nutritional and sensory attributes of cereal-based extrudates enriched with by-products to improve the nutritional quality and increase consumer interest. Globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) has many health benefits since it is rich in inulin, fiber, minerals, and bioactive phenolic compounds (Lattanzio et al., 2009). A great portion (60%) of harvested artichoke biomass, consisting of external flowers, bracts and stems, is discarded during manufacturing operations (Guyen et al.,

2018). Artichoke waste is surprisingly rich in fibers and bioactive phenolic compounds. Several studies showed that the extrusion process improved the *in vitro* bioaccessibility of functional compounds, including the bioactive compounds found in the artichoke leaf powder (ALP) (Tonyali et al., 2015; Ortak et al., 2017; Guven et al., 2018; Tonyali et al., 2020). Therefore, the present study investigated the effects of ALP addition on the physical and sensory properties and *in vitro* starch digestibility of wheat flour-based extrudates.

MATERIALS AND METHODS

Materials and feed preparation

Wheat flour (WF) (72.2 g carbohydrate, 2.4 g fiber, 13.1 g protein in 100 g) (Sokel Milling Industry and Trade Inc., Türkiye) and artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves from local groceries (Ankara, Türkiye) were used in feed preparations. Pepsin (EC 3.4.23.1, P7125, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, US), pancreatin (P7545, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, US), amyloglucosidase (EC 3.2.1.3, A7095, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, US), and invertase (EC 3.2.1.26, I4504, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, US) enzymes were used for enzymatic digestion of products.

Green fleshy outer leaves of artichokes leaves were washed and dried at room temperature for two weeks (Guyen et al., 2018). They were ground (pulverisette 16 mill, Fritsch, Idar-Oberstein, Germany) and sieved (1 mm, Fritsch, Idar-Oberstein, Germany). The artichoke leaf powder (ALP, moisture of 8.4 ± 1.4 %) was stored at room temperature in closed jars until the analysis. A halogen moisture analyzer at 160 °C (MIX-50, AND, Tokyo, Japan) was used to measure the moisture contents of both raw and processed samples.

Feeds were prepared to have extrudates with ALP: WF ratios of 0:100, 3:97, 6:94, and 9:91 (g ALP: g WF on dry basis). The final moisture contents of the feed mixtures were adjusted to 20 % by adding distilled water and mixed

(KitchenAid, Greenville, OH, US). Feed mixtures were stored at +4 °C overnight for equilibration and kept at room temperature for 2 hours before the extrusion process.

Extrusion

A laboratory-scale co-rotating twin-screw extruder (Feza Machine Co. Ltd., Istanbul, Turkey) with screw configurations given in Table 1 was used to obtain the extrudates (Güven et al., 2018; Tonyali et al., 2015, 2020). Die diameter was 3 mm, and barrel length to diameter ratio (L:D) was 25:1 (cm: cm). The feed flow rate was 55 ± 1 g/min, the screw speed was 250 rpm, and barrel temperature zones were set at 80 °C, 90 °C, 130 °C, and 150 °C (die: 128 °C). Samples were taken only when the actual barrel zone and die temperatures varied maximum ± 2 °C from the set temperatures. The moisture content of the samples was 11.5 ± 0.5 % after the extrusion process, and they were dried at 50 ° for 5 h (E28, Binder, Tuttlingen, Germany) to a moisture content less than 10 % and stored in plastic bags until the analyses.

Table 1. Screw configurations of the extruder.

8 D Twin lead feed screws
7x30° Forward kneading elements
4 D Twin lead feed screws
4x60° Forward kneading elements
4x30° Reverse kneading elements
2D Twin lead feed screws
6x60° Forward kneading elements
4x30° Reverse kneading elements
1 D Single lead feed screws
7x90° Kneading elements
2 D Single lead feed screws
Die
Screw diameter (D) = 25 mm
One kneading element = 0.25 D

Physical properties of extrudates

Color:

Extrudates were ground (KSW 445 CB, Bomann, Kempen, Germany) and sieved (212 μm) (Caltinoglu et al., 2013). The color of compressed powder was determined as color coordinates in CIELAB color space (L^* , a^* , b^*) (CR 10, Konica Minolta, Osaka, Japan), which was calibrated against a standard white ($L^*= 93.8$, $a^*= 0.0$, $b^*= 5.2$) (Caltinoglu et al., 2013). In order to determine the effect of ALP addition on the color, the color change upon ALP addition was determined. The ΔE value, which shows the color difference between the control and ALP added samples, was calculated according to Eq.1 where L^*_0 , a^*_0 , b^*_0 , and L^* , a^* , b^* are the color values of the control sample and samples with added ALP, respectively.

$$\Delta E = ((L^* - L^*_0)^2 + (a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2)^{1/2} \quad (\text{Eq.1})$$

Scanning electron microscopy (SEM):

Images of the extrudates were captured in the Middle East Technical University (METU) Central Laboratory with a scanning electron microscope (QUANTA 400F Field Emission, Thermo Fisher, Oregon, US). Before scanning, samples were coated with 6 nm Au-Pd by sputter coater (Polaron, Quorum Technologies Ltd, East Sussex, UK) (Caltinoglu et al., 2013).

Bulk density:

The liquid displacement method was used to determine the bulk density as described previously (Caltinoglu et al., 2013). Extrudates with known weight were submerged into molten paraffin and cooled to let paraffin cover the sample. The covered pieces were weighed and dipped into water with a glass ball with a known weight in a degree cylinder. The rise in the water level was measured. Bulk density was determined by using the below equations:

$$m_{\text{paraffin}} = m_{\text{total}} - m_{\text{extrudate}} \quad (\text{g}) \quad (\text{Eq.2})$$

$$V_{\text{paraffin}} = m_{\text{paraffin}} / \rho_{\text{paraffin}} \quad (\text{cm}^3) \quad (\text{Eq.3})$$

$$V_{\text{extrudate}} = \Delta V_{\text{liquid}} - V_{\text{glassball}} - V_{\text{paraffin}} \quad (\text{cm}^3) \quad (\text{Eq.4})$$

$$\rho_{\text{bulkdensity}} = m_{\text{extrudate}} / V_{\text{extrudate}} \quad (\text{g/cm}^3) \quad (\text{Eq.5})$$

where $m_{\text{extrudate}}$ (g), m_{paraffin} (g), m_{total} (g) are the weight of the extrudate without the paraffin, the weight of the paraffin covering the extrudate, the total weight of the extrudate with the paraffin,

respectively; $V_{extrudate}$ (cm³), $V_{paraffin}$ (cm³), $V_{glassball}$ (cm³), ΔV_{liquid} (cm³) were the volume of the extrudate, the volume of the paraffin covering the extrudate, the volume of the glass ball, the volume of water raised, respectively; $\rho_{bulkdensity}$ (g/cm³) and $\rho_{paraffin}$ (g/cm³) are the density of extrudates and the density of paraffin covering the extrudates, respectively.

True density:

The true volume and true density values of extrudates were determined by a helium pycnometer (Ultrapycnometer 1000, Quantachrome, Boynton Beach, FL, US) at the Middle East Technical University Central Laboratory (Caltinoğlu et al., 2013).

Sectional expansion index (SEI), volume expansion index (VEI) and porosity:

Diameters of randomly selected extrudate pieces were measured with a digital caliper (Caltinoğlu et al., 2013). The sectional expansion index (SEI) and volume expansion index (VEI) were calculated as described elsewhere (Pai, Blake, Hamaker, Campanella, 2009) by the following formulas:

$$SEI = (D_e / D_d)^2 \quad (\text{Eq.6})$$

$$VEI = \rho_{soliddensity} / \rho_{bulkdensity} \quad (\text{Eq.7})$$

$$Porosity = 1 - (\rho_{bulkdensity} / \rho_{soliddensity}) \quad (\text{Eq.8})$$

where D_e (mm) and D_d (mm) are the diameter of the extrudate and the diameter of die, respectively; $\rho_{soliddensity}$ (g/cm³) and $\rho_{bulkdensity}$ (g/cm³) are the true density and the bulk density values of extrudates, respectively.

Water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI):

Water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) were calculated by the method described elsewhere (Caltinoğlu et al., 2013). Extrudates were finely ground (KSW 445 CB, Bomann, Kempen, Germany) and sieved (212 µm). 1 g powdered sample was mixed with 6 mL of distilled water in a beaker, and the mixture was stirred at 30 °C, at 1000 rpm for 30 min (WiseStir MS-20D, witeg Labortechnik GmbH, Wertheim, Germany). The mixture was transferred into a tube and centrifuged at 4000xg, at 24 °C for 20 min (2-16PK, Sigma

Laborzentrifugen, Osterode am Harz, Germany). The supernatant was separated from sediment and transferred into a glass tube with known weight, and the remainder was weighed. The glass tube containing the supernatant was dried at 110 °C for 18 h and weighed. WAI and WSI were calculated by the following formulas:

$$WAI = m_{sediment} / m_{dryproduct} \quad (\text{Eq.9})$$

$$WSI = (m_{dissolved} / m_{dryproduct}) \times 100 \quad (\text{Eq.10})$$

where $m_{dryproduct}$ (g), $m_{sediment}$ (g) and $m_{dissolved}$ (g) are the dry weight of product initially weighed, the weight of sediment after the centrifugation process, the weight of dissolved solids in the supernatant, respectively.

Breaking stress:

A texture analyzer (TA.XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK) in compression mode was used to determine the breaking stress (BS) (Caltinoğlu et al., 2013). Height and force calibrations were conducted before the analysis. A 4-cm-long piece of the sample was placed on a three-point bend rig with two adjustable supports. The distance between supports was fixed at 2 cm. A sharp testing blade (0.12 cm thick, 8 cm wide) was used as the analysis probe. The trigger force, test distance, and test speed values were 5.0 g, 10 mm, and 10.0 mm/s, respectively. The maximum stress was calculated with the equation given below (Sahin, Sumnu, 2006):

$$\sigma = (F.L) / (\pi.r^3) \quad (\text{Eq.11})$$

where σ , F , L , and r are the maximum stress (Pa), snapping force (N), the distance between two supports (m), and the radius of extrudate (m).

Determination of nutritionally important glucose fractions by in vitro digestion

In vitro digestion

To determine glucose fractions, in vitro digestion protocols described elsewhere (Englyst et al., 1999; Parada et al., 2011) were used with some modifications (Tonyali et al., 2020). The enzyme mixture was prepared fresh on the day of analysis. In each of the six centrifuge tubes, 3 g of pancreatin was mixed with 20 mL water by vortex-mixing and stirred on a magnetic stirrer for 10 min. The mixture was centrifuged at 1500 x g for 10 min. From each tube, 15 mL of supernatant

was transferred into a beaker and mixed with 4 mL of amyloglucosidase and 6 mL of invertase to have a 100 mL enzyme mixture.

Ground (KSW 445 CB, Bomann, Kempen, Germany) and sieved (212 μm) samples (0.7 g) were mixed with 5 mL saturated (50 %) benzoic acid solution and 10 mL pepsin-guar gum solution (5 g pepsin/L and 5 g guar gum/L dissolved in 0.05 M HCl) in 50-ml-tubes. A blank tube (without sample) was used to correct the glucose coming from the enzyme solutions and additional chemicals. All tubes were vortex-mixed and placed in a water bath at 37 °C for 30 min. After the incubation at 37 °C, 5 mL of sodium acetate solution (0.5 M), 5 mL of the enzyme mixture, and five glass balls were added to each tube. The caps of tubes were closed and slightly shaken. The tubes were placed in a shaking water bath (160 rpm) at 37 °C ($t=0$ min). After 20 min ($t=20$), 0.2 mL sample from each tube was transferred into another tube labeled as G_{20} and mixed with 4 mL of ethanol. The original tubes were immediately returned to the water bath, and at the end of 120 min ($t=120$), the same sampling procedure was repeated for each tube to obtain the G_{120} samples. At the end of 120 min, the original tubes in the water bath were vortex mixed and placed in a boiling water bath for 30 min. Then they were cooled down in an ice-water bath for 15 min, and 10 mL of potassium hydroxide (0.7 M) was added into each tube. The tubes were returned to the ice-water bath and incubated for 30 min. Then, 0.2 mL of the sample taken from each tube was mixed with 1 mL acetic acid solution (1 M) and 320 μL amyloglucosidase solution (40 μL diluted with 280 μL water). This mixture was first incubated in a water bath at 70 °C for 30 min, and then it was placed in a water bath at boiling temperature for 10 min. The tubes were let to cool down to room temperature, and 12 mL of ethanol was added to obtain total glucose (TG) samples.

High-pressure liquid chromatography (HPLC):

The G_{20} , G_{120} , and TG sample solutions were centrifuged at 1500xg for 5 min. The supernatants were dried in a concentrator (Concentrator 5301, Eppendorf AG, Hamburg, Germany), dissolved

in 1 mL of distilled water, and filtered through a 0.45 μm PTFE syringe filter. G_{20} (glucose released during the first 20 min), G_{120} (glucose released during the first 120 min) and TG (total glucose in the sample) values were determined by HPLC analysis at METU Molecular Biology and Biotechnology R&D Center by adapting the official method of the European Community (NF EN 12630:1999) (Tonyali et al., 2020).

Calculation of glucose fractions: RAG (rapidly available glucose), SAG (slowly available glucose), and UG (unavailable glucose) were calculated according to the equations given below (Tonyali et al., 2020):

$$RAG \text{ (g/100g)} = (G_{20} / TG) \times 100 \quad (\text{Eq.12})$$

$$SAG \text{ (g/100g)} = ((G_{120} - G_{20}) / TG) \times 100 \quad (\text{Eq.13})$$

$$UG \text{ (g/100g)} = ((TG - G_{120}) / TG) \times 100 \quad (\text{Eq.14})$$

Sensory evaluation

Ten semi-trained panelists among the METU Food Engineering Department members evaluated the produced extrudates. Definitions of the quality attributes and the score sheet were explained to the panelists before the panel. The panelists rinsed their mouths with water just before tasting each sample. Panelists evaluated the samples in terms of appearance, color, taste, and texture on a 9-point hedonic scale (1: dislike extremely to 9: like extremely). They were asked to compare four products for each category separately for only one attribute. Panelists also scored the overall preference. Statistical analysis Analysis of variance (ANOVA) was used to determine whether there was a significant difference between the samples ($p \leq 0.05$). When there was a significant difference, Duncan's Multiple Range Test was applied to determine means which significantly differed from others ($p \leq 0.05$). Minitab 16 Statistical Software (Minitab Inc., Pennsylvania, USA) was used in statistical analysis. Each experiment was replicated at least three times except the *in vitro* digestion experiments, where the replication number was two.

RESULTS AND DISCUSSION

Physical properties

Color:

The L^* , a^* , b^* values, and ΔE values were depicted in Table 2. As ALP:WF ratio increased L^* value decreased. The products became darker in color because the greenish color of ALP is naturally darker than the white color of the wheat flour. The redness (a^*) and yellowness (b^*) of the products increased with increasing ALP:WF ratio.

Artichoke heads show a wide color range since they contain anthocyanin pigments, hydroxycinnamic acids, and flavones (Schütz et al., 2004; Zhu et al., 2004; Schütz et al., 2006a; Schütz et al., 2006b; Lattanzio et al., 2009). The product with 9:91 ALP:WF ratio had the highest color difference (ΔE) due to the increasing pigment concentration with increasing ALP content.

Table 2. Color parameters of artichoke leaf powder (ALP) added wheat flour (WF) based extrudates.

ALP: WF (g:g)	L^*	a^*	b^*	ΔE
0:100	73.3 ± 0.3^a	4.4 ± 0.4^d	19.1 ± 0.2^d	-
3:97	67.9 ± 0.5^b	4.8 ± 0.4^c	21.8 ± 0.2^c	20.9 ± 0.5^c
6:94	64.6 ± 0.8^c	5.1 ± 0.1^b	23.3 ± 0.1^b	24.6 ± 0.8^b
9:91	61.2 ± 0.6^d	5.4 ± 0.1^a	23.7 ± 0.1^a	27.9 ± 0.1^a

Results are mean \pm SD (n = 10). Significantly different values in the same column are followed by different letters (a, b, c, d) ($P \leq 0.05$). L^* : lightness; a^* : redness; b^* : yellowness; ΔE : color difference between the control and ALP added samples.

Scanning Electron Microscopy (SEM):

The internal microstructures of extrudates were examined by scanning electron microscopy (SEM). Microstructure (cell number, size, and wall thickness) is related to the extrudates' expansion and textural properties (Gui, Ryu, 2014). The decrease in the size and the increase in the number of air cells after ALP addition, especially for the extrudates with 9:91 ALP:WF ratio could be seen qualitatively in Figure 1. In a previous study, corn-based extrudates enriched with semi-defatted sesame cake, the number of air cells increased, and the air cells' size decreased (Nascimento et al., 2012). The researchers claimed that dietary fibers in the semi-defatted sesame cake behaved as nucleating agents and increased air cell number. The same hypothesis can be valid for the present study since ALP is a rich source of fibers that may act as nucleating agents. In apple-pomace added corn-based extrudates, the reduction in air cell size was attributed to the reduction in elastic recovery and extensibility due to the replacement of starch with apple pomace (Karkle et al., 2012). In the present study, the dilution of starch in ALP added extrudates could be responsible for reducing elasticity and extensibility, which in turn causes

reduced cell size and the less expanded samples. The cell wall thickening effect of ALP can also be observed (Figure 1). Thicker cell walls are responsible for increased rigidity, resistance to rupture, and hardness of extrudates (Bisharat et al., 2013; Rolandelli et al., 2020).

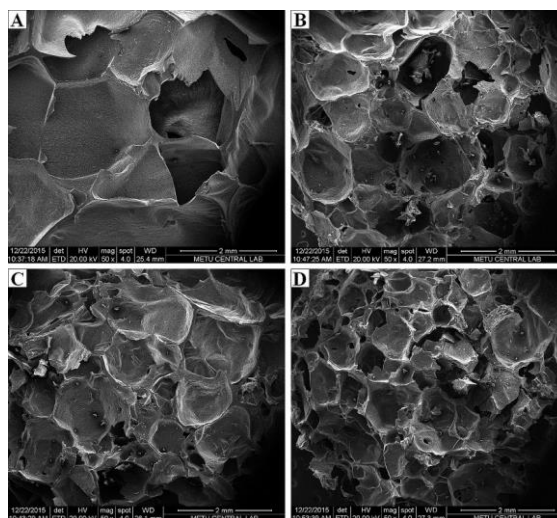


Figure 1: SEM micrographs of artichoke leaf powder (ALP) added wheat flour (WF) based extrudates. Extrudate with an ALP:WF (g:g) concentration of A) 0:100, B) 3:97, C) 6:94, D) 9:91.

Expansion properties:

The puffing degree of extrudates can be described by expansion ratio (expansion in the radial direction) and bulk density (expansion in all directions) (Falcone, Phillips, 1988). The porosity, another expansion property, is negatively correlated with bulk density (Yağcı, Göğüş, 2008). As ALP:WF ratio increased, bulk density

increased, and porosity, SEI and VEI decreased (Table 3). At all ALP addition levels, extrudates had significantly different SEI and VEI values (Table 3). Bulk density and porosity were not significantly affected by ALP addition at 3:97 ALP:WF ratio; however, when ALP concentration increased further, bulk density increased and porosity decreased significantly (Table 3).

Table 3. Physical properties of artichoke leaf powder (ALP) added wheat flour (WF) based extrudates.

		ALP: WF (g:g)			
		0:100	3:97	6:94	9:91
Bulk Density†	(g/cm ³)	0.18 ± 0.00 ^c	0.21 ± 0.03 ^{bc}	0.24 ± 0.05 ^b	0.37 ± 0.10 ^a
SEI‡		14.11 ± 0.97 ^a	7.52 ± 0.05 ^b	6.01 ± 0.31 ^c	4.08 ± 1.22 ^d
VEI†		8.29 ± 0.34 ^a	7.32 ± 1.48 ^b	6.40 ± 1.75 ^c	4.23 ± 0.61 ^d
Porosity†		0.88 ± 0.01 ^a	0.86 ± 0.03 ^{ab}	0.84 ± 0.04 ^b	0.76 ± 0.03 ^c
WAI§	(g/g)	3.96 ± 0.03 ^a	3.87 ± 0.18 ^{ab}	3.70 ± 0.05 ^{ab}	3.63 ± 0.01 ^b
WSI§	%	24.05 ± 0.93 ^a	23.85 ± 2.39 ^a	26.08 ± 2.56 ^a	24.01 ± 0.99 ^a
Breaking Stress ‡	(MPa)	0.39 ± 0.08 ^d	0.95 ± 0.18 ^c	1.25 ± 0.20 ^b	2.17 ± 0.38 ^a

Abbreviations: ALP, artichoke leaf powder; WF, wheat flour; SEI, sectional expansion index; VEI, volume expansion index; WAI, water absorption index; WSI, water solubility index.

†Results are mean ± SD (n = 10).

‡Results are mean ± SD (n = 50).

§Results are mean ± SD (n = 6).

Significantly different values in each row are followed by different letters (a, b, c, d) ($P \leq 0.05$).

The primary polymer which plays an essential role in the expansion is starch, and the other components such as proteins, sugars, fats, and fibers act as diluents (Moraru, Kokini, 2003). In this study, ALP has negatively affected the expansion properties acting as a diluent. Artichoke bracts are mainly composed of dietary fibers (Villanueva-Suárez et al., 2019). Fibers may cause an overall reduction in expansion properties through different mechanisms (Robin et al., 2012). They interfere with bubble expansion, reduce the air cell size by causing premature rupture of gas cells and eventually lead to a reduction in the overall expansion (Lue et al., 1991; Chang et al., 1998; Moraru, Kokini, 2003; Yanniotis et al., 2007). Therefore, ALP may have reduced expansion and increased bulk density by interfering with bubble expansion, disrupting the continuous structure and restricting the available water.

Water absorption index (WAI) & water solubility index (WSI):

The water absorption index (WAI) indicates the volume occupied by the granule or starch polymer or the ability of starch to absorb water upon swelling in excess water (Sriburi, Hill, 2000; Zhu et al., 2010). In this study, there was no significant difference between WAI values of extrudates at 0:100, 3:97 or 6:94 ALP:WF ratios (Table 3). However, when ALP:WF ratio was further increased to 9:91, WAI was lower than that of extrudates with no ALP. In literature, for rice, barley, corn, and semolina based extrudates reduction in WAI was reported due to enrichment with pea grits, beetroot powder, tomato pomace, partially defatted hazelnut flour, apple pomace, and mushroom powder (Singh et al., 2007; Altan et al., 2008a; Yağcı, Göğüş, 2008; Karkle et al., 2012; Singh et al., 2016; Lu et al., 2020). Increasing fiber content was found to decrease the WAI of cornmeal extrudates in previous studies (Artz et

al., 1990; Jin et al., 1995); on the other hand, if the fiber has a higher water holding capacity than starch, it may lead to an increase in WAI (Yadav et al., 2015). WAI can be used as an indirect measure of the gelatinized starch granules (Zhu et al., 2010). The lower WAI value in extrudates with the highest ALP level (9:91 ALP:WF ratio) could be due to the dilution of starch, implying that ALP might have a slightly lower water holding capacity than the WF (Singh et al., 2007; Altan et al., 2008a; Yağcı, Göğüş, 2008; Singh et al., 2016). WSI measures free polysaccharides released from the starch after extrusion. It is an indication of starch degradation with combined effects of gelatinization, dextrinization, and the consequent solubilization (Gutkoski, El-Dash, 1999; Sriburi, Hill, 2000; Ding et al., 2005). In our study, the WSI values of samples were not significantly affected by ALP addition (Table 3). Differential scanning calorimetry analysis (data were not shown) showed that gelatinization was complete for all extruded samples. Previously, similar results were observed for mushroom enriched semolina-based extrudates and onion skin powder enriched wheat flour-based extrudates (X. Lu et al., 2020; Tonyali et al., 2020). We can conclude that fragmentation or gelatinization was not affected by ALP addition for all ALP levels.

Breaking stress:

Breaking stress (BS) can be used to measure the hardness of extrudates (Altan et al., 2008b; Stojceska et al., 2008; Robin et al., 2011; Delgado-Nieblas et al., 2019). According to the BS values given in Table 3, products' hardness increased significantly as ALP:WF ratio increased. These data were also supported by increased bulk density and decreased porosity data (Table 3). Generally, addition of by-products to extrudates increases product density and hardness (Korkerd et al., 2016).

Glucose fractions determined by in-vitro starch digestion

Thermal, mechanical, and, chemical processes applied to starch and its interaction with other ingredients in the food matrix contribute to forming a typical microstructure that can affect starch digestion and absorption of carbohydrates

(Kaur, Singh, 2016; Lovegrove et al., 2017). According to the results given in Table 4, all the extruded samples had high rapidly available glucose (RAG) and low unavailable glucose (UG) values. In some studies, the addition of bran, inulin, guar, mushroom and additional fibers was found to reduce carbohydrate digestibility of extrudates (Brennan et al., 2008; Brennan et al., 2012; Schuchardt et al., 2016). However, in the present study, the used ALP:WF ratios did not cause any significant difference in the RAG and UG values (Table 4). The data in Table 4 were presented as RAG, SAG and UG "per 100 g total glucose" rather than "per 100 g of the samples". Therefore, the effect of dilution, due to replacement of WF by ALP, were excluded by normalizing the data with the total glucose found in the samples. In addition, according to the DSC results, all samples showed complete gelatinization (data not shown). Therefore, in this study, the used ALP:WF ratios were not high enough to limit the gelatinization and reduce the carbohydrate digestibility. Tonyali et al. (2020) also reported that onion skin powder addition did not affect the glucose release rate of wheat-based extrudates.

Sensory evaluation results

Extrudates were evaluated in terms of appearance, color, taste, texture and overall preference. Only the extrudates with the highest ALP:WF ratio (9:91) had significantly lower scores (Table 5). Among the other groups, there was not a significant difference in terms of evaluated attributes. Extrudates with lower breaking force and higher expansion degrees were reported to receive better sensory scores (Altan et al., 2008b; Ačkar et al., 2018). The poor expansion and hard structure of extrudates with 9:91 ALP:WF ratio may be responsible for the low sensory scores in the present study.

Table 4. Rapidly available glucose (RAG), slowly available glucose (SAG), and unavailable glucose (UG) fractions of artichoke leaf powder (ALP) added wheat flour (WF) based extrudates.

ALP:WF (g:g)	RAG	SAG (g glucose / 100 g TG)	UG
0:100	57.45 ± 11.1	6.45 ± 2.5	36.1 ± 20.3
3:97	74.74 ± 5.8	1.68 ± 6.8	23.58 ± 4.0
6:94	60.05 ± 10.08	1.41 ± 2.6	38.54 ± 19.2
9:91	58.86 ± 5.3	6.71 ± 2.9	34.43 ± 8.4

Results are mean ± SD (n = 2).

Table 5. Sensory evaluation results of artichoke leaf powder (ALP) added wheat flour (WF) based extrudates.

ALP:WF (g:g)	Appearance	Color	Taste	Texture	Overall Acceptance
0:100	7 ± 2 ^a	7 ± 2 ^a	7 ± 2 ^a	7 ± 2 ^a	7 ± 2 ^a
3:97	7 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a
6:94	6 ± 2 ^a	6 ± 2 ^a	6 ± 2 ^a	6 ± 2 ^a	6 ± 1 ^a
9:91	4 ± 2 ^b	4 ± 2 ^b	4 ± 2 ^b	4 ± 3 ^b	4 ± 2 ^b

Results are mean ± SD (n = 10). Significantly different values in the same column are followed by different letters (a, b) ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONS

The study results showed that ALP addition caused changes in microstructures and quality attributes of wheat flour-based extrudates. As ALP concentration increased, the expansion and porosity decreased, while hardness increased. Except for the highest ALP level (9:91 ALP:WF), there was not a significant difference between the ALP added extrudates and control in terms of overall consumer preference. The *in vitro* starch digestion rate was also not affected by ALP addition at the studied ALP:WF ratios. The study showed that ALP could be added at low concentrations to expanded snacks. Future studies may focus on improving the quality attributes of ready-to-expanded snacks enriched with by-products by changing the process conditions.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Cagla Caltinoglu-Toraman: Investigation, Methodology; Ozge Guven: Writing - original draft, Investigation; Ilkay Sensoy: Conceptualization, Funding acquisition, Supervision, Writing - review & editing.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST

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

ACKNOWLEDGEMENTS

Funding: This work was supported by The Scientific and Technological Council of Türkiye [Project number: TUBITAK COST-213O208] and the council did not have a role in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication.

INFORMED CONSENT

Participants of sensory panel were extensively briefed on the research, guaranteeing confidentiality. Participants had the freedom to withdraw from the study at any point without explanation, emphasizing their voluntary involvement and independence.

REFERENCES

Ačkar, Đ., Jozinović, A., Babić, J., Miličević, B., Panak Balentić, J., Šubarić, D. (2018). Resolving the problem of poor expansion in corn extrudates

- enriched with food industry by-products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47(November 2017), 517–524. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.004>
- Altan, A., McCarthy, K. L., Maskan, M. (2008a). Evaluation of snack foods from barley-tomato pomace blends by extrusion processing. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 231–242. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.05.014>
- Altan, A., McCarthy, K. L., Maskan, M. (2008b). Twin-screw extrusion of barley-grape pomace blends: Extrudate characteristics and determination of optimum processing conditions. *Journal of Food Engineering*, 89(1), 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.03.025>
- Artz, W. E., Warren, C., Villota, R. (1990). Twin-screw extrusion modification of a corn fiber and corn starch extruded blend. *Journal of Food Science*, 55(3), 746–754. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb05220.x>
- Bisharat, G. I., Oikonomopoulou, V. P., Panagiotou, N. M., Krokida, M. K., Maroulis, Z. B. (2013). Effect of extrusion conditions on the structural properties of corn extrudates enriched with dehydrated vegetables. *Food Research International*, 53(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.043>
- Blandino, M., Bresciani, A., Loscalzo, M., Vanara, F., Marti, A. (2022). Extruded snacks from pigmented rice: Phenolic profile and physical properties. *Journal of Cereal Science*, 103, 103347. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2021.103347>
- Brennan, M. A., Derbyshire, E., Tiwari, B. K., Brennan, C. S. (2012). Enrichment of extruded snack products with coproducts from chestnut mushroom (*Agrocybe aegerita*) production: Interactions between dietary fiber, physicochemical characteristics, and glycemic load. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(17), 4396–4401. <https://doi.org/10.1021/jf3008635>
- Brennan, M. A., Monro, J. A., Brennan, C. S. (2008). Effect of inclusion of soluble and insoluble fibres into extruded breakfast cereal products made with reverse screw configuration. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(12), 2278–2288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01867.x>
- Caltinoglu, C., Tonyali, B., Sensoy, I. (2013). Effects of tomato pulp addition on the extrudate quality parameters and effects of extrusion on the functional parameters of the extrudates. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(2), 587–594. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12341>
- Chang, Y. K., Silva, M. R., Gutkoski, L. C., Sebio, L., Silva, M. A. A. P. Da. (1998). Development of extruded snacks using jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart) flour and cassava starch blends. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 59–66.
- Delgado-Nieblas, C., Ruiz-Beltrán, K., Sánchez-Lizárraga, J., Zazueta-Morales, J. de J., Aguilar-Palazuelos, E., Carrillo-López, A., ... Quintero-Ramos, A. (2019). Effect of extrusion on physicochemical, nutritional and antioxidant properties of breakfast cereals produced from bran and dehydrated naranjita pomace. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 240–250. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1566276>
- Ding, Q. B., Ainsworth, P., Tucker, G., Marson, H. (2005). The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, 66(3), 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.019>
- Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., Cummings, J. H. (1999). Rapidly available glucose in foods: An in vitro measurement that reflects the glycemic response. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 448–454. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.3.448>
- Falcone, R. G., Phillips, R. D. (1988). Effects of feed composition, feed moisture, and barrel temperature on the physical and rheological properties of snack-like products prepared from cowpea and sorghum flours by extrusion. *Journal of Food Science*, 53(5), 1464–1469. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb09300.x>
- Gui, Y., Ryu, G. H. (2014). Effects of extrusion cooking on physicochemical properties of white and red ginseng (powder). *Journal of Ginseng*

- Research*, 38(2), 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2013.12.002>
- Gutkoski, L. C., El-Dash, A. A. (1999). Effect of extrusion process variables on physical and chemical properties of extruded oat products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 54, 315–325. <https://doi.org/10.1023/A:1008101209353>
- Güven, O., Sensoy, I., Senyuva, H., Karakaya, S. (2018). Food processing and digestion: The effect of extrusion process on bioactive compounds in extrudates with artichoke leaf powder and resulting in vitro cynarin and cynaroside bioaccessibility. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 232–237. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.042>
- Jin, Z., Hsieh, F., Huff, H. E. (1995). Effects of soy fiber, salt, sugar and screw speed on physical properties and microstructure of corn meal extrudate. *Journal of Cereal Science*, 22(2), 185–194. [https://doi.org/10.1016/0733-5210\(95\)90049-7](https://doi.org/10.1016/0733-5210(95)90049-7)
- Karkle, E. L., Alavi, S., Dogan, H. (2012). Cellular architecture and its relationship with mechanical properties in expanded extrudates containing apple pomace. *Food Research International*, 46(1), 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.003>
- Karkle, E. L., Keller, L., Dogan, H., Alavi, S. (2012). Matrix transformation in fiber-added extruded products: Impact of different hydration regimens on texture, microstructure and digestibility. *Journal of Food Engineering*, 108(1), 171–182. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.020>
- Kaur, L., Singh, J. (2016). Microstructure, starch digestion, and glycemic index of potatoes. (J. Singh, L. Kaur, Eds.), *Advances in potato chemistry and technology*. 2nd Edition, Elsevier Academic Press, USA. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800002-1.00013-3>
- Korkerd, S., Wanlapa, S., Puttanlek, C., Uttapap, D., Rungsardthong, V. (2016). Expansion and functional properties of extruded snacks enriched with nutrition sources from food processing by-products. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 561–570. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2039-1>
- Lattanzio, V., Kroon, P. A., Linsalata, V., Cardinali, A. (2009). Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 131–144. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.01.002>
- Lovegrove, A., Edwards, C. H., De Noni, I., Patel, H., El, S. N., Grassby, T., ... Shewry, P. R. (2017). Role of polysaccharides in food, digestion, and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 237–253. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.939263>
- Lu, H., Yang, Z., Yu, M., Ji, N., Dai, L., Dong, X., ... Sun, Q. (2021). Characterization of complexes formed between debranched starch and fatty acids having different carbon chain lengths. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 595–604. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.198>
- Lu, X., Brennan, M. A., Narciso, J., Guan, W., Zhang, J., Yuan, L., ... Brennan, C. S. (2020). Correlations between the phenolic and fibre composition of mushrooms and the glycaemic and textural characteristics of mushroom enriched extruded products. *LWT - Food Science and Technology*, 118, 108730. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108730>
- Lue, S., Hsieh, F., Huff, H. E. (1991). Extrusion cooking of corn meal and sugar beet fiber: Effects on expansion properties, starch gelatinization, and dietary fiber content. *Cereal Chemistry*, 68(3), 227–234.
- Moraru, C. I., Kokini, J. L. (2003). Nucleation and expansion during extrusion and microwave heating of cereal foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(4), 147–165. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00020.x>
- Nascimento, E. M. da G. C. do, Carvalho, C. W. P., Takeiti, C. Y., Freitas, D. D. G. C., Ascheri, J. L. R. (2012). Use of sesame oil cake (*Sesamum indicum* L.) on corn expanded extrudates. *Food Research International*, 45(1), 434–443. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.009>
- Ortak, M., Caltinoglu, C., Sensoy, I., Karakaya, S., Mert, B. (2017). Changes in functional properties and in vitro bioaccessibilities of β -carotene and

- lutein after extrusion processing. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3543–3551. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2812-4>
- Pai, D. A., Blake, O. A., Hamaker, B. R., Campanella, O. H. (2009). Importance of extensional rheological properties on fiber-enriched corn extrudates. *Journal of Cereal Science*, 50(2), 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.05.007>
- Parada, J., Aguilera, J. M., Brennan, C. (2011). Effect of guar gum content on some physical and nutritional properties of extruded products. *Journal of Food Engineering*, 103(3), 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.11.001>
- Rathod, R. P., Annapure, U. S. (2017). Physicochemical properties, protein and starch digestibility of lentil based noodle prepared by using extrusion processing. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.001>
- Robin, F., Dubois, C., Curti, D., Schuchmann, H. P., Palzer, S. (2011). Effect of wheat bran on the mechanical properties of extruded starchy foams. *Food Research International*, 44(9), 2880–2888. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.041>
- Robin, F., Schuchmann, H. P., Palzer, S. (2012). Dietary fiber in extruded cereals: Limitations and opportunities. *Trends in Food Science and Technology*, 28(1), 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.008>
- Rolandelli, G., García-Navarro, Y. T., García-Pinilla, S., Farroni, A. E., Gutiérrez-López, G. F., Buera, M. del P. (2020). Microstructural characteristics and physical properties of corn-based extrudates affected by the addition of millet, sorghum, quinoa and canary seed flour. *Food Structure*, 25, 100140. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2020.100140>
- Sahin, S., Sumnu, S. G. (2006). *Physical Properties of Foods*. 1st Edition, Springer, New York, USA.
- Schuchardt, J. P., Wonik, J., Bindrich, U., Heinemann, M., Kohrs, H., Schneider, I., ... Hahn, A. (2016). Glycemic index and microstructure analysis of a newly developed fiber enriched cookie. *Food & Function*, 7, 464–474. <https://doi.org/10.1039/c5fo01137j>
- Schütz, K., Kammerer, D., Carle, R., Schieber, A. (2004). Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(13), 4090–4096. <https://doi.org/10.1021/jf049625x>
- Schütz, K., Muks, E., Carle, R., Schieber, A. (2006a). Quantitative determination of phenolic compounds in artichoke-based dietary supplements and pharmaceuticals by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8812–8817. <https://doi.org/10.1021/jf062009b>
- Schütz, K., Persike, M., Carle, R., Schieber, A. (2006b). Characterization and quantification of anthocyanins in selected artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars by HPLC-DAD-ESI-MS n. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384(7–8), 1511–1517. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0316-6>
- Singh, B., Sekhon, K. S., Singh, N. (2007). Effects of moisture, temperature and level of pea grits on extrusion behaviour and product characteristics of rice. *Food Chemistry*, 100(1), 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.042>
- Singh, J. P., Kaur, A., Shevkani, K., Singh, N., Singh, B. (2016). Physicochemical characterisation of corn extrudates prepared with varying levels of beetroot (*Beta vulgaris*) at different extrusion temperatures. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(4), 911–919. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13051>
- Sriburi, P., Hill, S. E. (2000). Extrusion of cassava starch with either variations in ascorbic acid concentration or pH. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(2), 141–154. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00360.x>
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., İbanoğlu, E., İbanoğlu, Ş. (2008). Cauliflower by-products as a new source of dietary fibre, antioxidants and proteins in cereal based ready-to-eat expanded snacks. *Journal of Food Engineering*,

- 87(4), 554–563. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.01.009>
- Tonyali, B., Sensoy, I., Karakaya, S. (2015). The effect of extrusion on the functional components and in vitro lycopene bioaccessibility of tomato pulp added corn extrudates. *Food & Function*. <https://doi.org/10.1039/c5fo01185j>
- Tonyali, B., Sensoy, I., Karakaya, S. (2020). Effects of processing on onion skin powder added extrudates. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 3426–3435. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04376-8>
- Villanueva-Suárez, M. J., Mateos-Aparicio, I., Pérez-Cózar, M. L., Yokoyama, W., Redondo-Cuenca, A. (2019). Hypolipidemic effects of dietary fibre from an artichoke by-product in Syrian hamsters. *Journal of Functional Foods*, 56, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.013>
- Wani, S. A., Kumar, P. (2016). Effect of extrusion on the nutritional, antioxidant and microstructural characteristics of nutritionally enriched snacks. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(2), 166–173. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12593>
- Yadav, K. C., Mishra, P., Dhungana, P. K., Rajbanshi, R., Gartaula, G., Dhital, S. (2015). Effects of incorporation of cassava flour on characteristics of corn grit-rice grit-chickpea flour blend expanded extrudates. *African Journal of Food Science*, 9(8), 448–455. <https://doi.org/10.5897/AJFS2014.1243>
- Yağcı, S., Göğüş, F. (2008). Response surface methodology for evaluation of physical and functional properties of extruded snack foods developed from food-by-products. *Journal of Food Engineering*, 86(1), 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.09.018>
- Yanniotis, S., Petraki, A., Soumpasi, E. (2007). Effect of pectin and wheat fibers on quality attributes of extruded cornstarch. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 594–599. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.06.018>
- Zhu, L. J., Shukri, R., De Mesa-Stonestreet, N. J., Alavi, S., Dogan, H., Shi, Y. C. (2010). Mechanical and microstructural properties of soy protein - High amylose corn starch extrudates in relation to physiochemical changes of starch during extrusion. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 232–238. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.004>
- Zhu, X., Zhang, H., Lo, R. (2004). Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(24), 7272–7278. <https://doi.org/10.1021/jf0490192>



ZEYTİN KARASUYU FENOLİK BİRLEŞİKLERİNİN OHMİK, MİKRODALGA VE ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYONU ve KİNETİK MODELLEMESİ

Yaşar Özlem ALİFAKİ¹, Merve Sılanur YILMAZ², Özge ŞAKIYAN^{3*}, Aslı İŞÇİ³

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Ulusal Gıda Referans Laboratuvar Müdürlüğü, Ankara, Türkiye

²Bitlis Eren Üniversitesi, Kanık Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Bitlis, Türkiye

³Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş/Received: 27.07.2024; Kabul /Accepted: 04.10.2024; Online baskı /Published online: 12.10.2024

Alifaki, Y. Ö., Yılmaz, M. S., Şakıyan, Ö., İşçi, A. (2024). Zeytin karasuyu fenolik birleşiklerinin ohmik, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonu ve kinetik modellemesi. GIDA (2024) 49 (6) 1010-1027 doi: 10.15237/ gida.GD24075

Alifaki, Y. Ö., Yılmaz, M. S., Şakıyan, Ö., İşçi, A. (2024). Kinetic modelling of ohmic, microwave and ultrasound assisted extractions of phenolic compounds from olive mill waste water. GIDA (2024) 49 (6) 1010-1027 doi: 10.15237/ gida.GD24075

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, zeytinyağı proses atığı olan karasuyundaki fenolik maddelerin bertaraf edilmesi için ekstraksiyon sistemlerinin kıyaslanmasıdır. Ayrıca çalışmanın bir diğer amacı derin ötektik çözgen (DÖÇ: kolin klorür:formik asit (1:2, n:n)) kullanılarak ohmik, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyon sistemi ile fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonu ve kinetik modellenmesidir. Çalışmada, dört farklı ekstraksiyon tekniği (ohmik, mikrodalga, ultrason ve maserasyon) ve ekstraksiyon çeşidine göre değişen farklı işlem süreleri kullanılarak kolin klorür:formik asit (1:2, n:n) ve su karışımı (1:1, v:v) ile 1:5 (m:v) karasü:solvent oranında ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bağımlı değişken olarak toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarına (24.25±1.19 mg GAE/g karasu) mikrodalga (270 W güçte) destekli ekstraksiyon işleminde ve 80 dakikada ulaşılmıştır. Ek olarak modelleme sonucunda fenolik madde değişiminin Peleg modeline uyum gösterdiği görülmüştür. En yüksek B₀ ve C_{max} değerleri sırasıyla ohmik destekli ekstraksiyon işlemi ve mikrodalga destekli ekstraksiyon işleminde tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ohmik, mikrodalga, ultrason, DÖÇ, karasu, fenolik bileşik, kinetik modelleme

KINETIC MODELLING OF OHMIC, MICROWAVE AND ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTIONS OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM OLIVE MILL WASTE WATER

ABSTRACT

The aim of the study is to compare different extraction systems for the removal of phenolic compounds from olivemill wastewater. Besides, the another aim of the study is kinetic modelling and extraction of phenolics using DES (DES: choline chloride:formic acid (1:2, n:n). In the study, different extraction methods (ohmic, microwave, ultrasound and maceration) and extraction times were used.

* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: osakiyan@ankara.edu.tr

☎: (+90) 233 3300/3618

☎: (+90) 312 317 8711

Yaşar Özlem Alifaki; ORCID no: 0000-0002-8098-5617

Merve Sılanur Yılmaz; ORCID no: 0000-0002-3184-1780

Özge Şakıyan; ORCID no: 0000-0002-0778-8211

Aslı İşçi; ORCID no: 0000-0002-8319-0414

Moreover, choline chloride:formic acid (1:2, n:n) and water mixture (1:1, v:v) was used as the solvent and the solute to solvent ratio was adjusted to 1:5 (m:v) wastewater: solvent ratio. Total phenolic content was selected as dependent variable. Maximum total phenolic content (24.25 ± 1.19 mg GAE/g OMW) was reached at microwave (270 W power) and 80 minutes process time. In addition, it was found that the variation of TPC with respect to time fit Peleg model. The highest B_0 and C_{max} values were detected at ohmic and microwave, assisted extraction respectively.

Key words: Ohmic, microwave, ultrasound, DES, olive mill wastewater, phenolic compounds, modelling

GİRİŞ

En eski gıdalardan biri olan zeytinyağı özellikle Akdeniz Bölgesi'nde yer alan ülkelerin ekonomisinde önemli bir rol almaktadır (Foti vd., 2021; Shabir vd., 2023). Tüketicilerin besin değeri yüksek ve doğal olan ürünlere ilgisinin artması, zeytinyağı üretiminin de artmasına neden olmuştur (Zahi vd., 2022). Zeytinlerin antioksidan kapasitesinin yüksek olmasına karşın, zeytinyağı üretimi sırasında yapılan ekstraksiyon ile fenolik maddelerin sadece %2 kadarı zeytinyağına geçmektedir ve kalan kısmı ise atık olarak kalmaktadır (Solomakou ve Goula, 2021). Zeytinyağı üretimi sırasında oluşan yan ürünlerden bir tanesi zeytin karasuyu olarak bilinmektedir (Khadir vd., 2019). Zeytin karasuyu içerdiği ağır metaller, asitliğinin yüksek olması ve içerdiği fenolik maddelerin çevrede toksisiteye neden olmasından dolayı çevre kirliliği kaynağı olarak kabul edilmektedir (Zahi vd., 2022). Bu sebeple zeytin karasuyunda bulunan fenolik bileşiklerin bertarafı araştırmacıların ilgisini çeken bir konudur.

Bitkilerin ikincil metabolizma ürünü olan fenolik bileşikler, düşük molekül ağırlıklı fenolik asitlerden yüksek polimerize bileşiklere kadar birçok farklı yapı içermektedir (Guebougji vd., 2023). Fenolik asitlerin antioksidan, antimikrobiyel, anti-kanser aktivite gibi özelliklere sahip olması nedeniyle sağlık üzerine yararları dikkat çekmektedir (Rashmi ve Negi, 2020). Bunun yanı sıra değişik biyolojik özelliklere sahip olan fenolik asitler, kozmetik ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Kumar ve Goal, 2019).

Ekstraksiyon işlemi, istenilen bileşiklerin numuneden ekstrakta geçmesi için yapılan bir ayırma işlemi olarak tanımlanabilir (Gil-Martín vd., 2022). Ekstraktların fenolik bileşik içeriği,

ekstraksiyon işleminde kullanılan metoda bağlı olarak değişmektedir (Bondam vd., 2022). Ekstraksiyon işlemi geleneksel veya geleneksel olmayan yöntemlerle yapılmaktadır. Sokslet ya da maserasyon gibi geleneksel yöntemler, çok fazla solvent kullanımına, uzun işlem sürelerine ve olumsuz çevresel etkilere neden olmaktadır. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon gibi yeni yöntemler geliştirilmiştir (Alara vd., 2021). Bunlara ek olarak ohmik ısıtma da ekstraksiyon işleminde kullanılmaktadır (Çilingir vd., 2021).

Mikrodalgalar, 300 MHz ile 300 GHz frekans aralığında bulunan ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak sınıflandırılmaktadır (Alvi vd., 2022). Mikrodalga enerjisi, iyonik iletim ya da dipol rotasyon ile moleküllerin hareketini sağlamaktadır. Bu iki mekanizma bitki hücrelerindeki sıcaklığın hızlı bir şekilde artmasına yol açarak, hücre duvarlarının parçalanmasına neden olabilmektedir. Bu da mikrodalga destekli ekstraksiyon sırasında hedef bileşiklerin ekstrakta geçmesini sağlamaktadır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre daha kısa sürede ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesini sağlamakla birlikte solvent maliyetini de azaltmaktadır (Bagade ve Patil, 2019; Lin vd., 2020; López-Salazar vd., 2023). Ultrason destekli ekstraksiyon ise çeşitli bitkilerden hedef bileşenlerin elde edilmesi için ultrases enerjisi ile birlikte solventlerin kullanıldığı bir ekstraksiyon işlemidir. Ultrases enerjisinin bitki hücreleri üzerine mekanik ve termal etkileri sonucu kavitasyon kabarcıkları oluşmaktadır. Bu kabarcıklar bir araya gelerek büyürler ve daha sonra çökerek yerel sıcak noktalar oluştururlar. Bunun sonucunda, hücre duvarında parçalanmalar meydana gelmekte ve biyoaktif bileşikler çözücü ortama geçmektedir. Bu işlemde

kullanılan ultrasonik dalgaların frekansları 20 Hz ile 20 kHz arasında değişmektedir. Termal olmayan bir ekstraksiyon tekniği olarak kullanılan ultrason destekli ekstraksiyon, biyoaktif bileşenleri hem daha kısa sürede hem de düşük sıcaklıkta ekstrakte edebilmesinin yanında işlemin enerji ve solvent gereksinimini de azaltmaktadır (Kumar vd., 2021; Yusoff vd., 2022). Çalışmada kullanılan bir diğer uygulama olan ohmik ısıtma, gıda endüstrisinde alternatif ısıtma tekniklerinden biri olarak kullanılmaktadır. Ohmik ısıtma en temel anlamıyla elektrik enerjisinin, ısı enerjisine dönüştürülme işlemi olarak ifade edilmektedir. Yöntem, katı ya da sıvı gıdanın iki elektrot arasına yerleştirilerek, alternatif akımın geçirilmesine dayanmaktadır. Elektrik akımı, gıda içerisinden geçerken gıdanın elektrik direncine bağlı olarak ürün içinde sıcaklık artışına neden olmaktadır. Ohmik ısıtma, homojen ve hızlı bir ısıtma sağlamakta aynı zamanda yüksek verimle gerçekleşmektedir. Ohmik ısıtmanın etkinliğini işlenen ürünün boyutları, elektrik alan kuvveti, sistem tasarımı gibi faktörler etkilemektedir (Çilingir vd., 2021; Cabas ve İçier, 2021; Safarzadeh Markhali vd., 2022; Kaur vd., 2024).

Geleneksel metotlarda yüksek miktarda harcanan ve çevre kirliliğine neden olan solventler yerine günümüzde derin ötektik çözücüler kullanılmaya başlanmıştır. Derin ötektik çözücüler (DÖÇ), oda sıcaklığında katı halde bulunan, belirli molar oranlarında karıştırıldıklarında sıvı bir çözelti oluşturan, iki veya daha fazla bileşimin karıştırılması sonucu oluşmaktadır (Lomba vd., 2021). Bir hidrojen bağ alıcısı (HBA) ve bir de hidrojen bağ vericisinin (HBD) kombinasyonu ile hazırlanmaktadır (Abbott vd., 2003). DÖÇ'lerin özellikleri, oda sıcaklığında uçuculuklarının ihmal edilebilmeleri, suyla karışabilmeleri ve yüksek viskoziteye sahip olmaları olarak sıralanabilir (García vd., 2016). Su ile karıştırılabilir özellikleri ekstraksiyon için uygun viskozite değerlerinin elde edilmesini mümkün kılmaktadır. Çevre dostu olan bu solventler organik solventlere alternatif olarak kullanılmaktadır (Suthar vd., 2023).

Matematiksel modelleme yöntemleri, prosesleri optimize etmek için yani enerji, süre ve solvent kullanımını azaltmak için kullanılmaktadır

(Milićević vd. 2021). Yani modelleme işlemi, sürecin daha basit bir şekilde ele alınmasını sağlayarak, büyük ölçekli ekstraksiyon koşulları için optimum koşulların elde edilmesine neden olmaktadır (Wang, 2023). Ekstraksiyon işleminde zamana bağlı olarak elde edilen toplam fenolik madde miktarının değişimi ve sorbsiyon grafikleri birbirine benzemektedir. Bu nedenle, kinetik modeller tanımlanırken benzer matematiksel ifadeler kullanılabilir (Milićević vd., 2021; Shewale vd, 2022). Ekstraksiyon kinetiğinin modellenmesi ise bitkilerden istenilen bileşiklerin maksimum şekilde elde edilmesi için gerekli olan optimum ekstraksiyon parametrelerinin tahmin edilmesini sağlamaktadır (Kumari vd., 2017). Ekstraksiyon kinetiğini tanımlamak için farklı kinetik modeller kullanılmaktadır, bunlardan en yaygın olan Peleg modeli de ekstraksiyon kinetiğini tanımlamak için kullanılan yarı ampirik bir modeldir (Shewale vd., 2022).

Bu çalışmanın ana amacı, zeytinyağı proses atığı olan karasuyun içerisinde bulunan fenolik maddelerin bertaraf edilmesi için ekstraksiyon sistemlerinin kıyaslanmasıdır. Bu çalışmada hem yenilikçi ekstraksiyon tekniklerini hem de derin ötektik çözücülerini birlikte kullanarak zeytin karasuyunda bulunan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için konvansiyonel metotlara alternatif bir metot geliştirilmesi hedeflenmiştir. Ekstraksiyon işlemi için derin ötektik çözücüler ile farklı ekstraksiyon teknikleri kullanılarak en iyi koşulların belirlenmesi ve konvansiyonel metotla kıyaslanması amaçlanmıştır. Ayrıca ekstraksiyon işlemlerinin kinetik modellenmesi de gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda ohmik destekli ekstraksiyon işlemi karasu fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonunda ilk kez DÖÇ ile birlikte kullanılmıştır, ayrıca kullanılan yenilikçi teknolojilerin (mikrodalga, ultrason ve ohmik) karasu hammaddesinden DÖÇ ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda modellendiği bir çalışma da literatürde bulunmamaktadır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Denemelerde materyal olarak zeytinyağı proses atığı olan karasu Mersin-Türkiye'den temin edilmiştir (Karasu 2021 yılı hasadı zeytinlerin

işlenmesinden elde edilmiştir). Ekstraksiyon işlemi öncesi fabrikadan gelen karasular iyice karıştırılmış ve plastik şişelere doldurularak dondurulmuş şekilde analizlere kadar $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır.

Ekstraksiyon analizleri için kolin klorür, formik asit, Folin-Ciocalteu reaktifi, Na_2CO_3 , gallik asit (Merck, Almanya) kimyasalları kullanılmıştır.

Yöntem

Çalışmada solvent olarak kolin klorür:formik asit (1:2 (n:n)) DES çözeltisi 1:1 (v:v) saf su ile seyreltilerek kullanılmıştır. Karasu:solvent oranı 1:5 (m:v) olacak şekilde sabit tutulmuştur.

Ohmik destekli ekstraksiyon (ODE)

Çalışmada ohmik ekstraksiyon için Kutlu vd. (2021) tarafından tasarlanan ohmik ısıtma sistemi (CLOH-1000, CLS, Türkiye) kullanılmıştır. Ohmik ısıtma sisteminin frekansı 50 Hz, ohmik ısıtma haznesinin çapı 5 cm ve iki elektrot arası mesafe ise 15 cm'dir. Ohmik ısıtma süresince sıcaklık kontrolü $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ olacak şekilde bilgisayara bağlı bir sıcaklık kontrol sistemi ile sağlanmıştır. Ohmik ısıtma sırasında örneğin sıcaklığı iki adet termokapl ile ölçülmektedir. Termokaplar ohmik ısıtma hücresinin içerisine yerleştirilerek proses süresince kaydedilmektedir. Kayıtlardan ısıtmanın homojen olduğu tespit edilebilmektedir. Isıtma süresi yaklaşık olarak 1 dakika sürmektedir ve ekstraksiyon süresine dahil edilmemektedir. Ohmik ısıtma 20 V/cm elektrik alan şiddetinde gerçekleştirilmiştir. Isıtma hücresinin sıcaklığı $45\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Ekstraksiyon süreleri 1-30 dakika arasındadır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında ekstraktlar bir kaba filtre kâğıdı kullanılarak süzümüştür. Ekstraktlar analizlere kadar karanlıkta ve derin dondurucuda ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) saklanmıştır.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE)

Laboratuvar tipi mikrodalga fırına (General Electric, GMOM 25, Amerika), soksalet aparatı bağlanmış bir mikrodalga ekstraksiyon ünitesi kullanılmıştır. Örnekler derin ötektik çözümler ile (öncesinde 1:1 distile su ile seyreltilerek) 1:5 çözümler:çözümler oranında karıştırılarak 500 mL'lik balonlarda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Güç ve süre mikrodalga fırın üzerindeki kontrol panelinden ayarlanmıştır. 180 W ve 270 W mikrodalga güçleri ve farklı ekstraksiyon süreleri kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında ekstraktlar bir filtre kâğıdı kullanılarak süzümüştür. Ekstraktlar analizlere kadar karanlıkta ve derin dondurucuda ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) saklanmıştır.

Ultrason destekli ekstraksiyon (UDE)

Ultrason işlemi bir ultrason banyo (RK 100 H, Bandelin Sonorex, Almanya) ve bir ultrason prob (Sonoplus Ultrasonic Homogenizer, HD 2070, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Banyo 35 kHz frekans ve 320 W güçte çalışmaktadır. Sıcaklık $45\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Ultrason prob ise $25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de oda sıcaklığında 54 W güçlerde prob ucu ekstraksiyon haznesine 4 cm daldırılarak buz dolu bir hazne içerisinde gerçekleştirilmiştir. Örnekler derin ötektik çözümler ile (öncesinde 1:1 distile su ile seyreltilerek) 1:5 çözümler:çözümler oranında karıştırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonrasında ekstraktlar bir filtre kâğıdı kullanılarak süzümüştür. Ekstraktlar analizlere kadar karanlıkta ve derin dondurucuda ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) saklanmıştır.

Maserasyon ekstraksiyon (ME)

Kontrol olarak da kullanılan maserasyon işlemi su banyosu (Şimşek, SBD-313, Türkiye) kullanılarak $45\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Örnekler derin ötektik çözümler ile (öncesinde 1:1 distile su ile seyreltilerek) 1:5 çözümler:çözümler oranında karıştırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonrasında ekstraktlar bir filtre kâğıdı kullanılarak süzümüştür. Ekstraktlar analizlere kadar karanlıkta ve derin dondurucuda ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) saklanmıştır.

Analizler

Toplam fenolik madde (TFM) miktarı

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). 100 μL ekstrakt üzerine 900 μL saf su ilave edildikten sonra 5 mL

Folin çözeltisi (0.2 N) ve 4 mL Na₂CO₃ (%7.5 (w/v)) çözeltisi ilave edilerek vorteks ile karıştırılmıştır. 2 saat karanlıkta bekletilen örneklerin UV-VIS spektrofotometrede (Lambda35, Perkin Elmer, ABD) 765 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi için farklı gallik asit konsantrasyonlarından (0, 50, 100, 150, 200, 250 ve 500 mg/L) yararlanılmıştır (R²=0.9961). Sonuçlar mg GAE/g karasu olarak verilmiştir.

Ohmik destekli ekstraksiyonda elektriksel iletkenliğin hesaplanması

Örneklerin elektriksel konduktivite değerleri voltaj ve akım verileri kullanılarak eşitlik 1 yardımıyla hesaplanmıştır (Cabas ve İçier, 2021). Sıcaklık ve elektriksel konduktivitenin değişimi grafik haline getirilmiştir

$$\Sigma = \frac{IL}{AV} \quad (1)$$

Eşitlikte σ elektriksel konduktivite (s/ m), A elektrotlar arası haznenin kesit alanı (m²), I akım (A), L elektrotlar arası mesafe (m) ve V voltaj (V)'dir.

Modelleme

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon kinetiğini hesaplamak için Peleg kinetik modelinden yararlanılmıştır (Peleg, 1988). Doğrusal olmayan regresyon SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., ABD) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

$$C(t) = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 t} \quad (2)$$

C_t, t anındaki fenolik bileşik konsantrasyonunu (mg GAE/g karasu), t ekstraksiyon süresini (dak.), C₀ başlangıçtaki fenolik bileşik konsantrasyonunu t=0 (mg GAE/g karasu), K₁ Peleg hız sabitini (dak. g karasu /mg GAE) ve K₂ Peleg kapasite sabitini (g karasu/mg GAE) ifade etmektedir (Kumari vd., 2022; Xu vd., 2022). Peleg hız sabiti K₁, ekstraksiyon hızını (B₀, mg GAE/g karasu dak.) hesaplamak için kullanılmaktadır, t=0,

$$B_0 = \frac{1}{K_1} \quad (3)$$

Peleg kapasite sabiti de maksimum ekstraksiyon verimini (C_{max}, mg GAE/g karasu) hesaplamak için kullanılmaktadır.

$$C_{max} = \frac{1}{K_2} \quad (4)$$

İstatistik Analiz

İstatistik analizler için Minitab 16.0 paket programı kullanılmıştır (Minitab, State College, PA, ABD). Bağımsız değişkenlerin etkilerinin incelenmesi için varyans analizi yapılmış ve değişken ortalamaları Tukey çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Yapılan deneyler her koşul için 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bulgular

Çalışmamızda toplam fenolik madde miktarına ilişkin bulunan sonuçlar Çizelge 1'de sunulmuştur. Çizelge 1'e baktığımızda toplam fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon çeşidine göre değiştiği görülmektedir. Toplam fenolik madde miktarları maserasyon ekstraksiyon işleminde 11.94±0.37-15.04±0.32 mg GAE/g karasu (Çizelge 1a), ohmik destekli ekstraksiyon işleminde 11.94±0.37-15.19±0.35 mg GAE/g karasu (Çizelge 1b), ultrason destekli ekstraksiyon işleminde 9.83±0.05-16.78±0.39 mg GAE/g karasu (Çizelge 1c), ve mikrodalga destekli ekstraksiyon işleminde 13.66±1.32-24.25±1.19 mg GAE/g karasu (Çizelge 1d) değerleri arasında değişmektedir. Buna göre en yüksek toplam fenolik madde miktarı değerlerine mikrodalga destekli ekstraksiyon işleminde ulaşılmıştır. Literatüre baktığımızda organik çözücüler kullanılarak geleneksel olarak elde edilen zeytin değirmeni atık suyu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı değerleri 19.58 GAE/L olarak rapor edilmiştir (Romeo vd., 2019). Başka çalışmalara baktığımızda ise toplam fenolik madde miktarını De Marco (2007) 3481 mg/ L ekstrakt olarak bildirirken, diğer yazarlar yarı modern ve modern üç fazlı proseslerden toplanan zeytin değirmeni atık suyu için 6110 ile 9820 mg/L arasında bir değer aralığı tespit etmiştir (El-Abbassi vd., 2011).

Ohmik Destekli Ekstraksiyonda Toplam Fenolik Madde Miktarı

Ohmik ısıtma işlemi iki elektrot arasında direkt olarak çözücü ve çözgen içerisinde elektrik akımının geçmesi ve oluşan dirence bağlı olarak ısıtmanın sağlanması olarak açıklanmaktadır.

Zeytin karasuyu fenolik birleşiklerinin ekstraksiyonu ve modellenmesi

Çalışmamızda düşük sıcaklık (45 °C) ve düşük elektriksel alan şiddeti (20 V/cm) uygulanarak ılımlı bir elektriksel ısıtma uygulanması tercih edilmiştir. Bunun nedeni yüksek sıcaklıklarda fenolik bileşiklerin degradasyonlarının artmasıdır. Literatürde de benzer ılımlı koşullarda yüksek ekstraksiyon verimlerine ulaşılmıştır. Örneğin Pereira vd. (2020) üzüm kabuklarında başlangıç termal ekstraksiyon koşullarını 20 dakikalık bir işlem süresi için 35–40 °C arasındaki sıcaklık ve

düşük yoğunluklu (<100 V/cm) bir işlem uygulaması olarak belirlemişlerdir. Bu şekilde seçim yapılmasının sebebi termal geçirgenliği azaltmak ve elektriksel etkilerin oluşumunu değerlendirmek olarak açıklanmıştır, aksi takdirde yüksek ekstraksiyon sıcaklıkları (termal geçirgenleştirme) ve fenolik bileşiklere zarar verme gibi sonuçlara neden olabileceği değerlendirilmiştir.

Çizelge 1. Toplam fenolik madde miktarı sonuçları

Table 1. Total phenolic content results

1.a Maserasyon ekstraksiyon

1.a Maceration extraction

Ekstraksiyon süresi dakika	Maserasyon	RSD %
60	11.94±0.37	3.01
120	13.44±0.17	1.29
180	14.14±0.12	0.88
240	14.34±0.25	1.72
420	14.54±0.15	1.06
540	14.74±0.25	1.68
600	15.04±0.32	2.26

1.b Ohmik destekli ekstraksiyon

1.b Ohmic assisted extraction

Ekstraksiyon süresi dakika	Ohmik ODE	RSD %
1	13.59±0.25	1.84
7	14.54±0.55	3.64
15	14.74±0.40	2.71
20	14.84±0.35	2.41
30	15.19±0.35	2.30

1.c Ultrason destekli ekstraksiyon

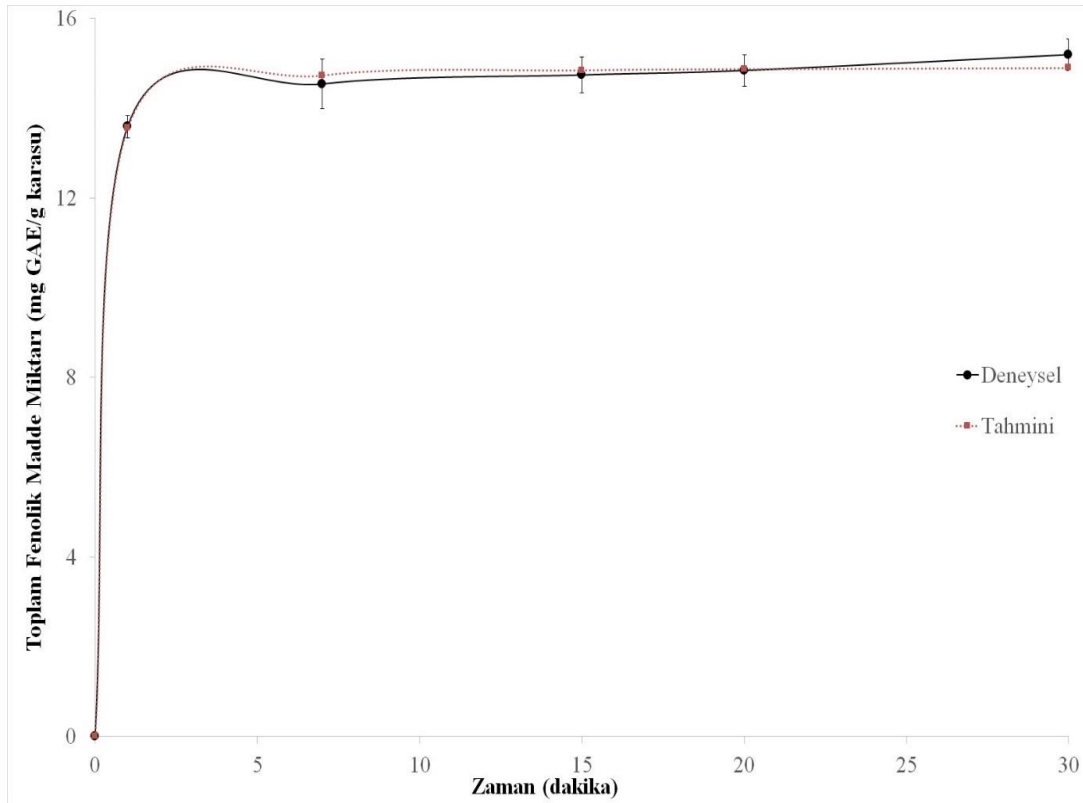
1.c Ultrasound assisted extraction

Ekstraksiyon süresi dakika	UDE Banyo 45 °C	RSD %	UDE prob 54 W	RSD %
10	15.52±1.16	6.96	9.83±0.05	0.50
30	16.13±0.38	2.42	11.05±0.39	3.56
60	16.78±0.39	2.25	14.26±2.27	18.96

1.d Mikrodalga destekli ekstraksiyon

1.d Microwave assisted extraction

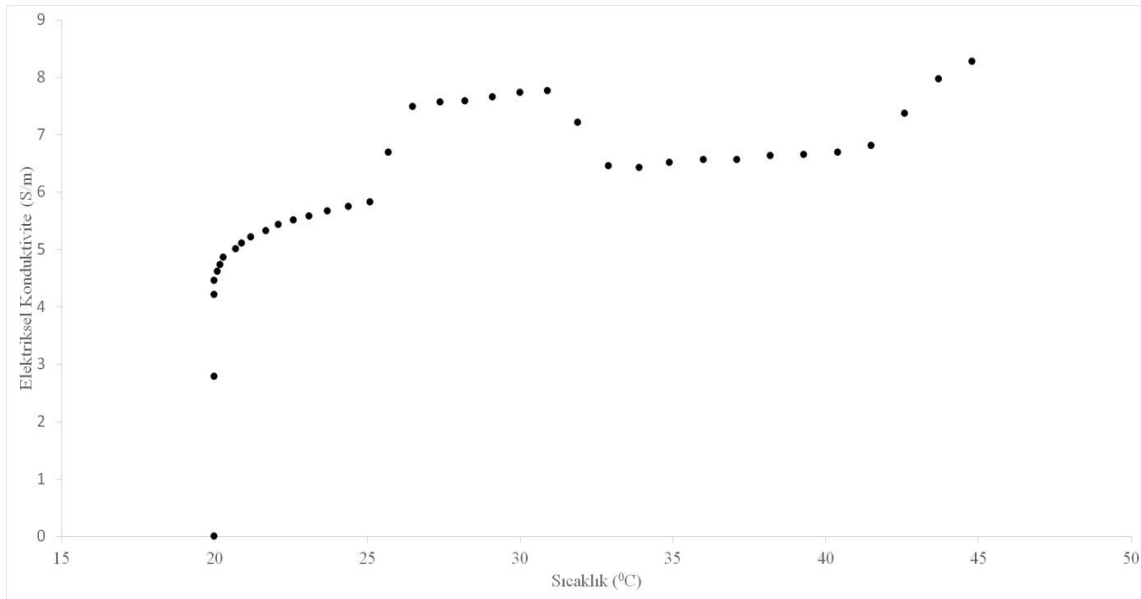
Ekstraksiyon süresi dakika	MDE 180 W	RSD %	MDE 270 W	RSD %
3	13.66±1.32	8.82	15.18±0.54	3.44
5	13.48±0.26	1.95	14.49±0.25	1.73
20	13.54±0.56	3.67	15.54±0.25	1.63
40	14.48±0.40	2.77	19.39±1.14	5.54
50	15.40±0.46	3.06	20.01±0.84	4.36
60	17.74±0.66	4.48	21.84±0.45	2.10
70	18.14±0.35	1.93	22.24±1.30	5.52
80	19.97±0.15	0.85	24.25±1.19	4.68



Şekil 1. Ohmik ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarının süreyle değişimi
 Figure 1. Variation of total phenolic content of ohmic extraction samples with time

Ohmik destekli ekstraksiyon işleminin toplam fenolik madde miktarına etkisini zamana göre incelediğimizde 15. dakikaya kadar toplam fenolik madde miktarında doğrusal bir artış ve daha sonra 30. dakikaya kadar sistemde dengeye ulaşma görülebilmektedir (Şekil 1). Bu durum solventin önce bitkisel dokuya nüfuz etmesi ve daha sonra dokudaki komponentlerin çözünmesi ve solventin içine geçen komponentlerin dengeye gelmesi ile ekstraksiyon işleminin tamamlanması şeklinde ifade edilebilmektedir. Ohmik ısıtma işlemi ile 30 dakika içerisinde hızlı bir şekilde 15.19 mg gallik asit/g karasu değerine ulaşmıştır ve maserasyon işlemine kıyasla ekstraksiyon işlemi %95 daha hızlı tamamlanmıştır (Şekil 1 ve 8). ODE ile daha kısa sürede daha yüksek TFM miktarına ulaşmıştır ve bu durumun nedeni literatürde, ohmik işlem sonucunda bitki dokusunun yumuşaması ve fenolik bileşikler arasındaki etkileşimlerin bozulmasının polifenol salınımını artırabileceği şeklinde açıklanmıştır (Shi vd. 2003). Benzer şekilde Pereira vd. (2016) ODE

işleminin renkli patatesten gıdada kullanılabilen fitokimyasalların ekstraksiyonu üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Bu çalışmada ohmik ısıtmanın diğer ekstraksiyon tekniklerine kıyasla daha hızlı ve homojen ısıtma sağladığı bildirilmiştir. Bu nedenle, ohmik ısıtmada sıcaklık işlem koşullarının uygun şekilde kontrol edilmesi durumunda, bitki dokusundan istenilen komponentin ekstraksiyonunda hedeflenen komponente özgü seçici bir işlem tasarlanabileceği rapor edilmiştir. Ohmik ısıtmanın bitki ve tarımsal atıklardan yüksek değerlerde komponentler kazanılması için kullanımına ilişkin çalışmalar literatürde mevcuttur (Hashemi Gahruie vd., 2020; Jesus vd., 2020; Ferreira-Santos vd., 2024). Bütün çalışmalar fenolik birleşiklerin ekstraksiyon verimlerini ohmik destekli işlemin arttırdığını rapor etmişlerdir.

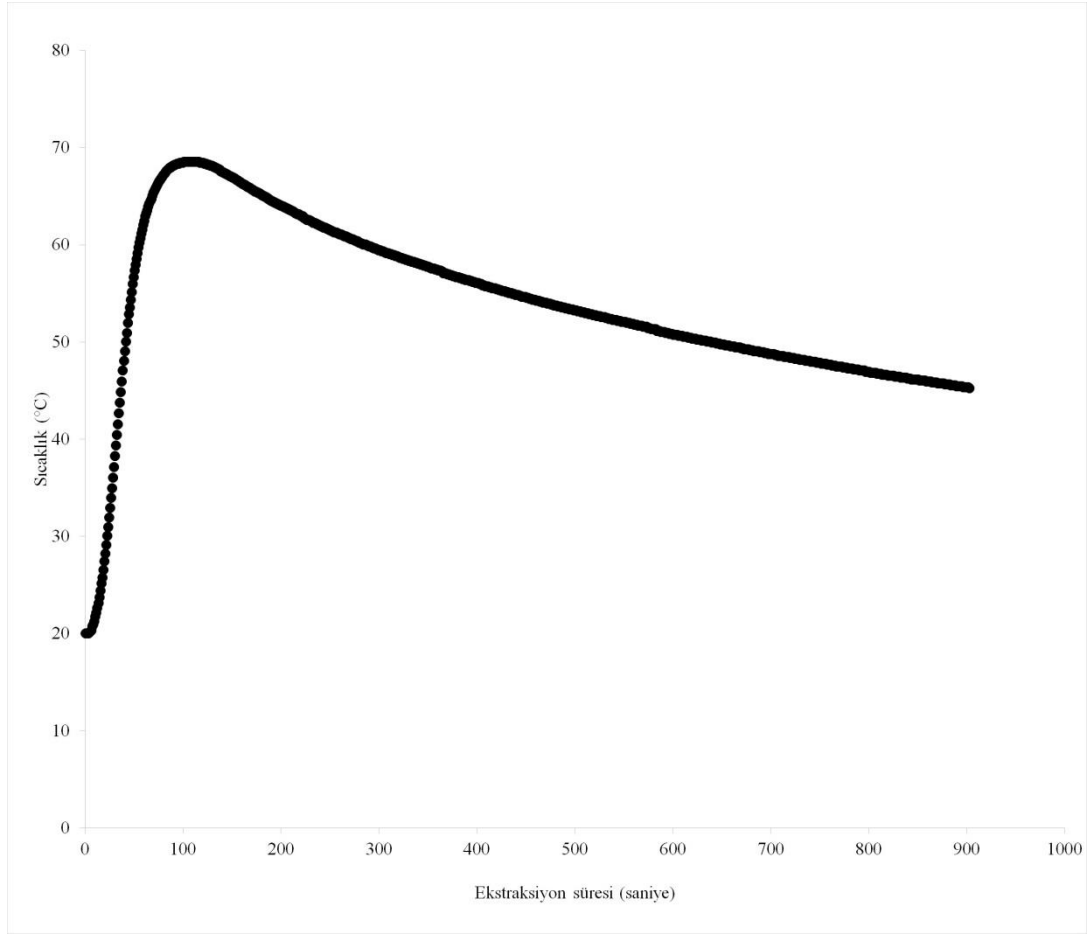


Şekil 2. Ohmik ekstraksiyonda elektriksel iletkenlik değerinin sıcaklık ile değişimi
 Figure 2. Variation of electrical conductivity of ohmic extraction samples with temperature

Çalışmamızda ohmik ısıtmanın bir göstergesi olan elektriksel kondüktivite değerlerinin kolin klorür:formik asit (1:2, n:n) solventinde sıcaklıkla değişimi incelenmiştir (Şekil 2). Ekstraksiyon işlemi sırasında sıcaklık arttığında kondüktivite değeri de belirgin şekilde artmıştır. Elektriksel iletkenlik değerlerinde sıcaklıkla birlikte artış, iyonların hareketi için sürtünmenin azalmasıyla açıklanmaktadır (Icier ve Ilıcalı, 2004). Benzer şekilde Al-Hilphy vd. (2015) buğday kepeğinden fenolik ekstraksiyonu yaptıkları ohmik destekli ekstraksiyon çalışmasında elektriksel kondüktivitenin önemli şekilde ($P < 0.05$) ekstraksiyon süresi ile artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. 14 V/cm elektriksel alan şiddeti uygulandığında ekstraksiyon zamanı 2, 10, 20 dakika olduğunda elektriksel kondüktivite değerleri sırasıyla 1.03, 2.27, 3.92 S/m olacak şekilde yükselmiştir. Bu durum sıcaklık artışının ve buğday kepeğinin içinden geçen akımın zamanla artması ile açıklanmıştır. Çalışmamızda elektriksel kondüktivite değerleri zamanla artmaktadır (Şekil 2). Sıcaklığın zamanla değişimi de Şekil 3'te gösterilmiştir. Sıcaklık önce 70 °C'ye kadar hızlıca artmış ve sonrasında sistemin elektrik akımının durdurulmasıyla sıcaklık zamanla 45 °C'de dengelenmiştir. Bu durum sebebiyle elektriksel kondüktivite değerinde de bir dalgalanma, ani bir

yükselme ve düşme görülmektedir. Kolin klorür temelli derin ötektik çözücülerin kondüktivite değerlerinin solvante su katılmasıyla değiştirildiği çalışmalara da literatürde rastlanmıştır (Shaukat ve Buchner, 2011; Grishina ve Kudryakova, 2017; Popovic vd., 2022). Su eklenmemiş kolin klorür ile yapılan solvent sistemlerinin viskozitesi genellikle yüksek bulunmuştur, ancak sisteme su eklenmesi viskoziteyi düşürmekte ve ekstraksiyon verimini arttırmaktadır. Bu nedenle ohmik ısıtma hızlı gerçekleşmiştir.

DÖÇ'ün özellikleri (örneğin, polarite, fizikokimyasal etkileşimler, çözünürlük, viskozite) fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimini önemli ölçüde etkileyebilir. Bu faktörler arasında viskozite çok önemli bir faktördür. Yüksek viskozite, çözücünün hedef bileşiklerle sınırlı teması nedeniyle biyomoleküllerin ekstraksiyonunu engeller. DÖÇ, genellikle yüksek bir viskozite (>100 cP) gösterir, ancak kolin klorür:formik asitin (1:2) molar oran viskozitesi literatürde 50 cP olarak genel DES çözeltilerine göre (500 cp) düşük raporlanmıştır (Kehili vd., 2022).



Şekil 3. Ohmik ekstraksiyonda sıcaklık değerinin zamanla değişimi
Figure 3. Variation of temperature of ohmic extraction samples with time

Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonda Toplam Fenolik Madde Miktarı

Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi 180 W ve 270 W güç değerlerinde gerçekleştirilmiştir. 360 W ve 450 W güç değerleri ön denemelerde çalışılmış ancak ekstraksiyon balonunda kaynama ve taşmalar gözlemlendiği için bu güç değerlerinde çalışmaya devam edilememiştir.

DÖÇ'ler farklı hidrojen bağı alıcıları ve vericileri kullanılarak sentezlenebilir. Bu çalışmada kolin klorür hidrojen bağı alıcısı olarak, bir karboksilik asit olan formik asit de hidrojen bağı vericisi olarak seçilmiştir. Çözücülerin dielektrik özellikleri de ekstraksiyon verimi üzerinde hayati bir rol oynayabilir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonlarda rol oynayan en önemli parametre dielektrik sabitidir. Dielektrik sabiti (ϵ'),

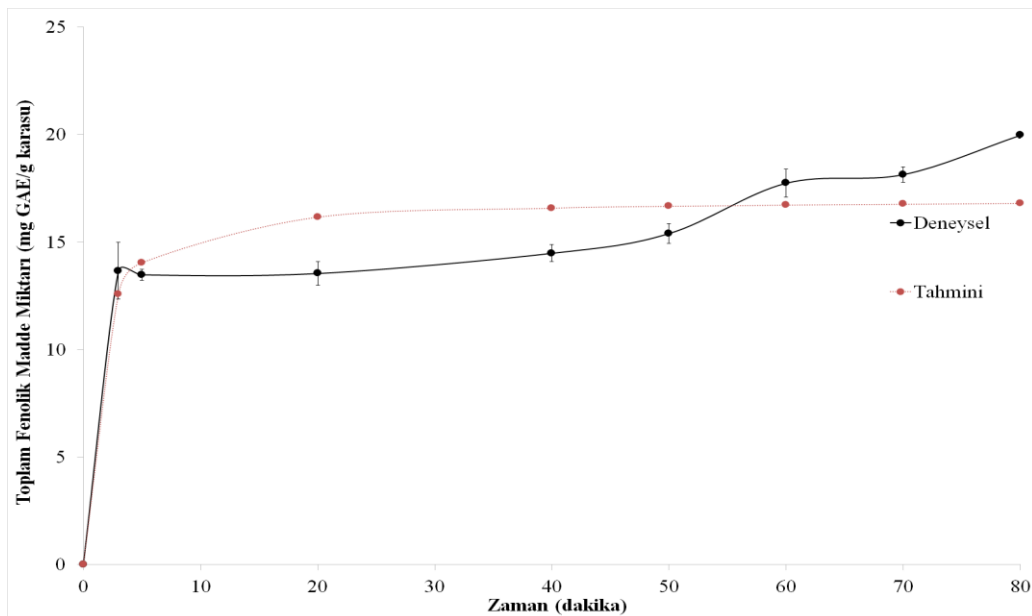
bir maddenin elektrik enerjisini absorbe etme yeteneğinin bir ölçüsüdür ve dolayısıyla malzemelerin göreceli bir ölçüsüdür. Mikrodalgaların daha iyi nüfuz edebilmesi için solventin dipol polarizasyonun gerektirdiğinden, solventin daha verimli ısınması için daha yüksek dielektrik sabiti değerleri istenir (Kehili vd., 2022). Muley vd. (2019) yaptıkları çalışmada farklı DÖÇ'lerin dielektrik özelliklerini ölçmüş (kolin klorür:formik asit, kolin klorür:oksalik asit, kolin klorür:laktik asit) ve kolin klorür:formik asidin dielektrik sabiti ve dielektrik kayıp faktörünün 2450 MHz'de diğer DÖÇ'lerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Bu nedenle çalışmamızda mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulanacağı için kolin klorür:formik asit çalışılması kararlaştırılmıştır.

Mikrodalga ısıtma mekanizma için, bir dipol, bir elektrik alanına maruz kaldığında, kendisini karşılık gelen alan polaritesiyle hizalamaya çalışacaktır. Uygulanan alan hızla değiştiğinde, dipolar moleküller yeni yöne (ayrıca hızla) yeniden hizalanmaya çalışır ve belirli frekanslarda, dipol dönmeye başlar. Bu hizalama çabasında, moleküller birbirleriyle sürtünmeye ve ardından ısınmaya neden olarak hızlanır. İyonik iletkenlikte, yüklü iyonlar aynı uygulanan elektrik alanının etkisi altında çözelti içinde salınır. Elektrik alanı yönü değiştikçe, iyonlar yavaşlar ve yön değiştirir. Bu süreçte, bu hareket çarpışmalara neden olur ve bu da kinetik enerjinin ısı enerjisine dönüşmesiyle sonuçlanır. Bu nedenle solvent polaritesi arttıkça dielektrik sabiti artacak ve mikrodalga ısıtma da hızlanacaktır. Buna bağlı olarak fenolik bileşikler daha iyi çözünecek ve ekstraksiyon işlemi de daha hızlı olacaktır (Muley ve Boldor, 2013).

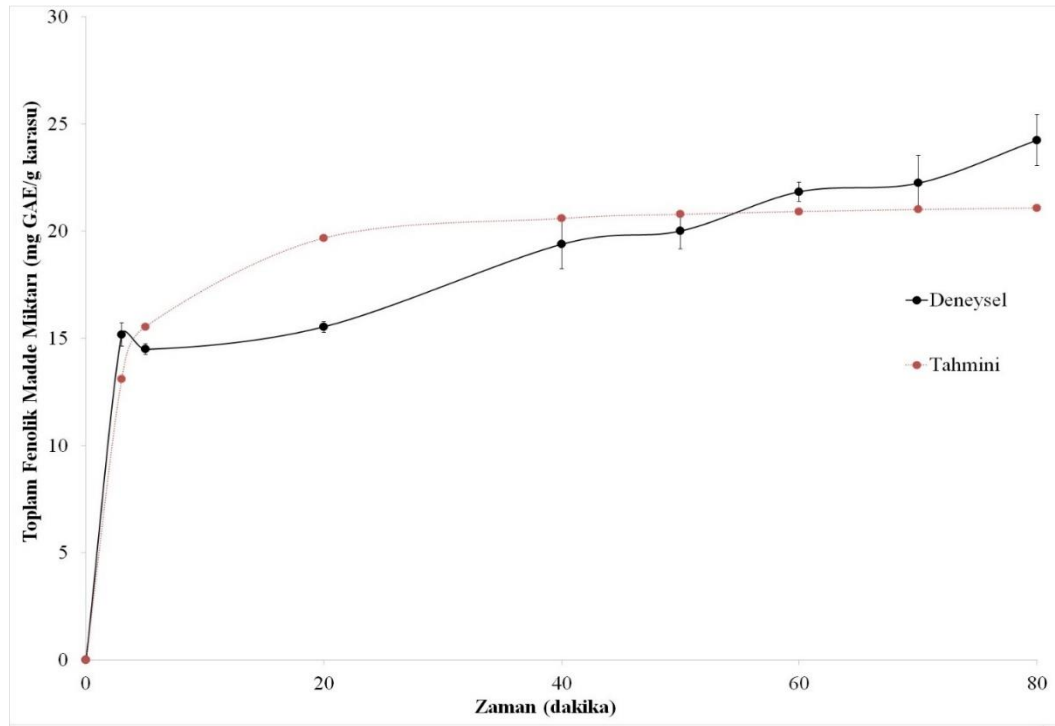
Sıcaklık, dielektrik solventlerde ısıya dönüştürülen enerji miktarını kontrol eden mikrodalga gücüyle ilişkili bir faktördür. Genellikle, daha yüksek sıcaklık ekstraksiyonu artırır ve reaksiyon süresini azaltır, ancak sıcaklık doğru şekilde seçilmezse fenolik bileşiklerde bozulmaya da yol açabilir ve böylece ekstraksiyon verimini engelleyebilir yapılan çalışmalarda daha yüksek sıcaklığın,

mikrodalga destekli ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarları üzerinde önemli ölçüde olumlu bir etki yarattığı sonucuna varılmıştır, bu da bu fenolik bileşiklerin daha yüksek sıcaklık koşulları altında nispeten kararlı olduğunu göstermektedir (Lovrić vd., 2017). Mikrodalga destekli ekstraksiyon işleminde sıcaklık 180 W ve 270 W güçlerde 1, 30, 60 ve 90. dakikalarda ölçülmüş ve sırasıyla 70.2-170.8 ve 89.3-176.8 °C arasında bulunmuştur.

Mikrodalga gücünün toplam fenolik madde miktarı üzerine pozitif etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 4, 5). Bu durumun nedeni mikrodalga radyasyonunun hacimsel bir ısınmaya neden olması, bitki matriksindeki hücre duvarlarının hasar görmesine neden olması ve hedef komponentin çözünme süresini kısaltmasıdır (Chemat ve Cravotto, 2012; Chanioti ve Tzia, 2018). Genel olarak daha yüksek mikrodalga güçleri numune sıcaklığında hızlı bir artışa neden olur ve nispeten kısa bir ekstraksiyon süresinde daha iyi ekstraksiyon verimliliği sağlayabilir. Ek olarak, daha yüksek sıcaklıklarda DÖÇ'ün viskozitesi azalır ve bu da DÖÇ'ün yüzey geriliminin azalması ile birlikte hedef bileşiklerin desorpsiyonunun ve çözünmesinin artmasına neden olur (Bubalo vd., 2016).



Şekil 4. Mikrodalga ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarının süreyle değişimi (180 W)
Figure 4. Variation of total phenolic content of microwave extraction samples with time (180W)



Şekil 5. Mikrodalga ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarının süreyle değişimi (270 W)
 Figure 5. Variation of total phenolic content of microwave extraction samples with time (270W)

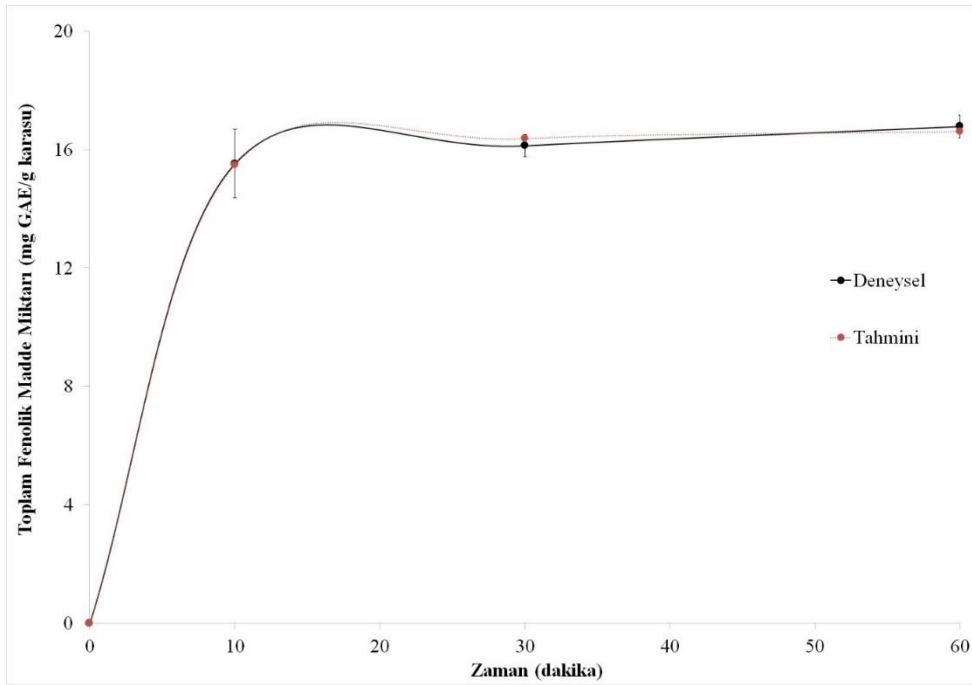
Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi konvansiyonel maserasyon işlemine göre yaklaşık %85 zaman tasarrufu sağlamıştır (Şekil 4, 5, 8). Alifaki vd. (2022) ve Kutlu vd. (2021) yaptıkları gilaburu ve kızılıcık meyvelerinin mikrodalga destekli ekstraksiyonu ile fenolik bileşiklerinin optimum ekstraksiyon sürelerinde sırasıyla maserasyona kıyasla %97.9 ve 91.6 oranında azalma sağlamışlardır.

Ultrason Destekli Ekstraksiyonda Toplam Fenolik Madde Miktarı

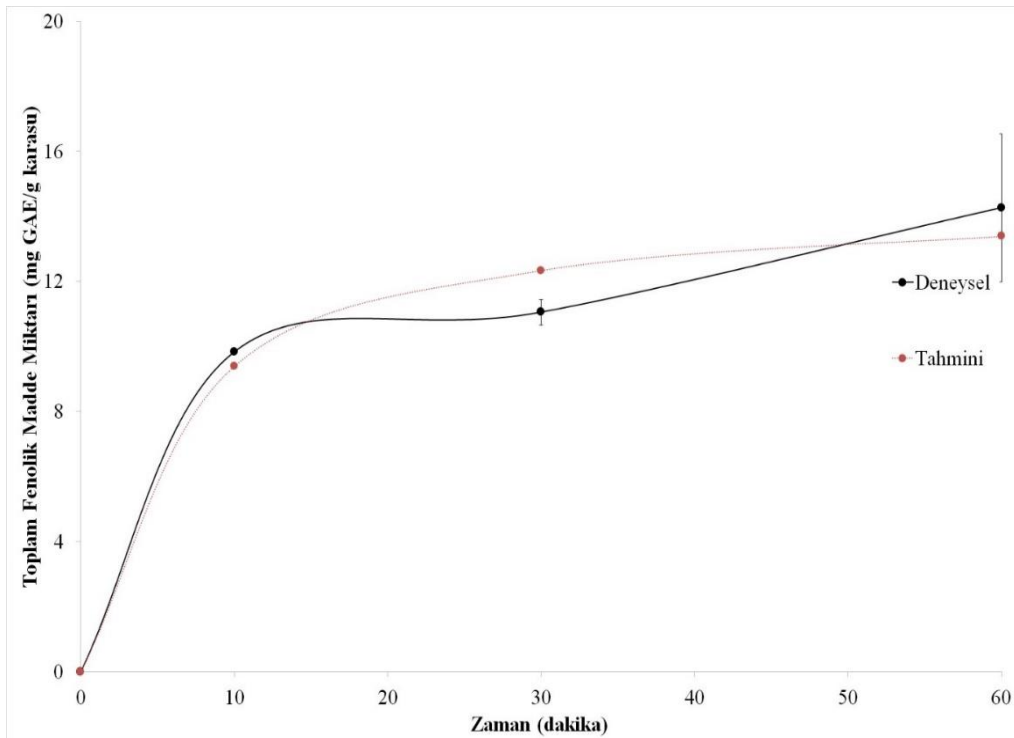
Ultrason destekli ekstraksiyon sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarları karşılaştırıldığında ultrason prob ile 54 W'da 14.26 ± 2.27 mg gallik asit/g karasu ve ultrason banyoda 16.78 ± 0.39 mg gallik asit/g karasu değerine ulaşılmıştır (Şekil 6 ve 7). Alifaki vd. (2022) gilaburu ile ultrason prob kullanarak yaptıkları çalışmalarında da 54 W güç değerinin daha düşük fenolik madde içeriğine ulaşmaya sebep olduğu sonucuna varmışlardır. Yüksek ultrason güç değerleri bazı fenolik birleşiklerde degradasyona sebep olmakta sıcaklık 25°C 'de

sabit tutulsa bile sıcak noktalar probun kenarlarında oluşmakta ve 54 W güçte fenolik bileşikler zarar görmektedir (Ma vd., 2009).

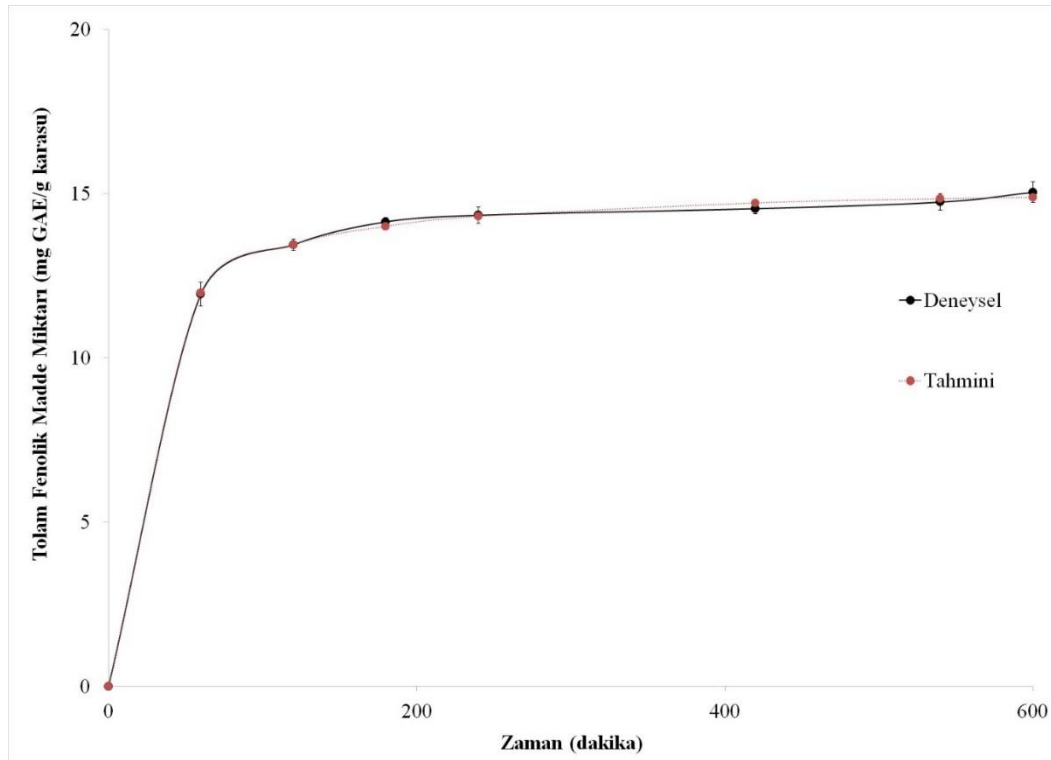
Toplam fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon zamanına göre değişimi de verilmektedir (Şekil 6 ve 7). Veriler incelendiğinde işlem süresinin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. Her iki ultrason işleminde de ekstraksiyon süresi arttıkça belli bir değere kadar toplam fenolik madde miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum kütle aktarımının işlem süresi boyunca devam etmesi ancak belli bir noktada sistemin dengeye gelmesi ile açıklanabilmektedir. Alifaki vd. (2018) ve Yılmaz vd. (2021) gilaburu ve alıç ile yaptıkları çalışmalarda fenolik ekstraksiyonunun süreyle ilişkisini benzer şekilde bulmuşlardır. Kontrol olarak kullanılan maserasyon işlemi ile elde edilen sonuçlar ile ultrason destekli ekstraksiyon sonucu elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında ultrason destekli ekstraksiyon ile işlem süresinde yaklaşık % 93.3 oranında tasarruf sağlandığı dikkati çekmektedir (Şekil 6, 7 ve 8).



Şekil 6. Ultrason ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarının süreyle değişimi (Banyo 45 °C)
Figure 6. Variation of total phenolic content of ultrasonic extraction samples with time (Bath 45°C)



Şekil 7. Ultrason ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarının süreyle değişimi (Prob 54 W)
Figure 7. Variation of total phenolic content of ultrasonic extraction samples with time (Probe 54 W)



Şekil 8. Maserasyon ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarının süreyle değişimi
 Figure 8. Variation of total phenolic content of maceration extraction samples with time

Modelleme

Peleg modeline ait K_1 , K_2 , B_0 ve C_{max} katsayıları ve R^2 değeri Çizelge 2'de verilmiştir. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen R^2 değerleri incelendiğinde 0.8969-0.9996 arasında değiştiği görülmüştür. Bu yüksek R^2 değerleri, deneysel veriler ile Peleg modelinden yararlanılarak hesaplanan tahmini değerlerin birbirleri ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Düşük K_1 değerleri ekstraksiyon işleminin daha hızlı olduğunu, düşük K_2 değerleri ise ekstraksiyon veriminin daha yüksek olduğunu göstermektedir (Kaderides vd., 2019). Maserasyon işlemi ile

yapılan ekstraksiyonun süresi diğer yöntemlere kıyasla daha uzundur. Peleg denkleminde elde edilen K_1 değerlerine bakıldığında da bu sonucu desteklediği görülmüştür. C_{max} değeri en yüksek 270 W mikrodalga gücü ile yapılan ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. 270 W mikrodalga gücünde en yüksek toplam fenolik madde miktarına ulaşılmıştır ve sonuçların birbirini desteklediği görülmüştür. En yüksek B_0 değerine ise ohmik destekli ekstraksiyon işleminde ulaşılmıştır. Bu da işlemin diğer ekstraksiyon tekniklerine göre daha hızlı gerçekleştiğini göstermesi açısından önemlidir.

Çizelge 2. Modelleme katsayıları
 Table 2. Modeling coefficients

Metot	K_1	K_2	B_0	C_{max}	R^2
Maserasyon	1.0862	0.0654	0.9206	15.2905	0.9995
ODE	0.0068	0.0669	147.0588	14.9477	0.9992
UDE banyo 45 °C	0.0529	0.0594	18.9036	16.8350	0.9996
UDE prob 54 W	0.3821	0.0683	2.6171	14.6413	0.9770
MDE 180 W	0.0623	0.0587	16.0514	17.0358	0.8969
MDE 270 W	0.0901	0.0463	11.0988	21.5983	0.9116

SONUÇ

Bu çalışmanın ana amacı, zeytinyağı proses atığı olan karasuyun içerisinde bulunan fenolik maddelerin bertaraf edilmesi için ekstraksiyon sistemlerinin kıyaslanmasıdır. Karasu içerisindeki fenolik maddeler nedeniyle önem arz eden ve atık olarak değerlendirilmesi gereken bir yan üründür. Çalışmamızda yenilikçi ekstraksiyon tekniklerinin DÖÇ ile kombinasyonunun karasu içerisindeki kalan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda üstün özelliklerini tespit etmek amaçlanmıştır. Maserasyona göre ultrason destekli ekstraksiyon ile işlem süresinde yaklaşık %93.3 azalma sağlanırken bu değer sırasıyla mikrodalga ve ohmik destekli ekstraksiyon için %85 ve %95 olarak hesaplanmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinin Peleg modeline uyum sağladığı görülmüştür. C_{max} değeri en yüksek 270 W mikrodalga gücü ile yapılan ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. 270 W mikrodalga gücünde en yüksek toplam fenolik madde miktarına ulaşılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu araştırma makalesinde herhangi bir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Yaşar Özlem ALİFAKI laboratuvar analizlerini, metodoloji, bulguların değerlendirilmesi ve yorumlanması, istatistiksel analizler ve makale yazımını gerçekleştirmiştir. Merve Sılanur YILMAZ modelleme analizlerini ve makale yazımını gerçekleştirmiştir. Özge ŞAKIYAN süreç yönetimi, metodoloji, proje yönetimi ve makalenin kontrol edilmesi konularında katkı sağlamıştır. Aslı İŞÇİ metodoloji ve makalenin kontrol edilmesi konularında katkı sağlamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu makale T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü TAGEM-20/AR-GE/07 proje numaralı ARGE Destek projesi kapsamında yürütülmüştür. Ayrıca İzorya Zeytinyağı Fabrikası (Mersin, Türkiye)'ye karasu temini için teşekkür ederiz. Hatice Büşra KÖSE'ye laboratuvar analizlerine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Abbott, A.P., Capper, G., Davies, D.L., Rasheed, R.K., Tambyrajah, V. (2003). Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical Communications*, (1): 70-71, doi: 10.1039/B210714G.

Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Ukaegbu, C.I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4: 200-214, doi: 10.1016/j.crf.2021.03.011.

Al-Hilphy, A.R., AlRikabi, A.K., Al-Salim, A.M. (2015). Extraction of phenolic compounds from wheat bran using ohmic heating. *Food Science and Quality Management*, 43: 21-28.

Alifaki, Y.Ö., Şakıyan, Ö., İsci, A. (2022). Extraction of phenolic compounds from cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit using ultrasound, microwave, and ultrasound-microwave combination methods. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 4009-4024, doi: 10.1007/s11694-022-01498-9.

Alifaki, Y.Ö., Şakıyan Demirkol, Ö., İsci Yakan, A. (2018). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesinden Fenolik Bileşiklerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu. *GIDA*, 43(5): 846-855, doi: 10.15237/gida.GD18069.

Alvi, T., Asif, Z., Khan, M.K.I. (2022). Clean label extraction of bioactive compounds from food waste through microwave-assisted extraction technique-A review. *Food Bioscience*, 46, 101580, doi: 10.1016/j.fbio.2022.101580.

Bagade, S.B., Patil, M. (2019). Recent Advances in Microwave Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Complex Herbal Samples: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51(2), 138-149, doi: 10.1080/10408347.2019.1686966.

Bondam, A.F., da Silveira, D.D., dos Santos, J.P., Hoffmann, J.F. (2022). Phenolic compounds from coffee by-products: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. *Trends in Food Science and Technology*, 123: 172-186, doi: 10.1016/j.tifs.2022.03.013.

Bubalo, M.C., Ćurko, N., Tomašević, M., Ganić, K.K., Redovniković, I.R. (2016). Green extraction

- of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 200:159–166, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.01.040.
- Cabas, B.M., Icier, F. (2021). Ohmic heating–assisted extraction of natural color matters from red beetroot. *Food and Bioprocess Technology*, 14: 2062–2077, doi: 10.1007/s11947-021-02698-9.
- Chanoti, S., Tzia, C. (2018). Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 48: 228–239, doi: 10.3390/ijerph18179153.
- Chemat, F., Cravotto, G. (2012). Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice. Springer, New York.
- Çilingir, S., Goksu, A., Sabanci, S. (2021). Production of pectin from lemon peel powder using ohmic heating-assisted extraction process. *Food and Bioprocess Technology*, 14(7): 1349–1360, doi: 10.1007/s11947-021-02636-9.
- De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A., Sacchi, R. (2007). Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food chemistry*, 104(2), 858–867.
- El-Abbassi, A., Kiai, H., Hafidi, A. (2012). Phenolic profile and antioxidant activities of olive mill wastewater. *Food Chemistry*, 132(1), 406–412.
- Ferreira-Santos, P., Nobre, C., Rodrigues, R.M., Genisheva, Z., Botelho, C., Teixeira, J.A. (2024). Extraction of phenolic compounds from grape pomace using ohmic heating: Chemical composition, bioactivity and bioaccessibility. *Food Chemistry*, 436: 137780, doi: 10.1016/j.foodchem.2023.137780.
- Foti, P., Romeo, F.V., Russo, N., Pino, A., Vaccalluzzo, A., Caggia, C., Randazzo, C.L. (2021). Olive mill wastewater as renewable raw materials to generate high added-value ingredients for agro-food industries. *Applied Sciences*, 11(16): 7511, doi: 10.3390/app11167511.
- García, A., Rodríguez-Juan, E., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rios, J.J., Fernández-Bolaños, J. (2016). Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvents (DESs). *Food Chemistry*, 197: 554–561, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.131.
- Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cienciosi, D., Giampieri, F., Battino, M. (2022). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 378: 131918, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131918.
- Grishina, E.P., Kudryakova, N.O. (2017). Conductivity and electrochemical stability of concentrated aqueous choline chloride solutions. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 91: 2024–2028, doi: 10.1134/S0036024417100144.
- Gueboudji, Z., Kadi, K., Mahmoudi, M., Hannachi, H., Nagaz, K., Addad, D., ... Hessini, K. (2023). Maceration and liquid–liquid extractions of phenolic compounds and antioxidants from Algerian olive oil mill wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(2): 3432–3439, doi: 10.1007/s11356-022-22482-2.
- Hashemi Gahruie, H., Parastouei, K., Mokhtarian, M., Rostami, H., Niakousari, M., Mohsenpour, Z. (2020). Application of innovative processing methods for the extraction of bioactive compounds from saffron (*Crocus sativus*) petals. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 19: 100264, doi: 10.1016/j.jarmap.2020.100264.
- Icier, F., Ilcali, C. (2004). Electrical conductivity of apple and sourcherry juice concentrates during ohmic heating. *Journal of Food Process Engineering*, 27(3): 159–180, doi: 10.1111/j.1745-4530.2004.tb00628.x.
- Jesus, M.S., Ballesteros, L.F., Pereira, R.N., Genisheva, Z., Carvalho, A.C., PereiraWilson, C., Teixeira, J.A., Domingues, L. (2020). Ohmic heating polyphenolic extracts from vine pruning residue with enhanced biological activity. *Food Chemistry*, 316: 126298, doi: 10.1111/j.1745-4530.2004.tb00628.x.
- Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M., Goula, A.M. (2019). Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with

- ultrasounds extraction. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 137: 1-11, doi: 10.1016/j.cep.2019.01.006.
- Kaur, M., Kumar, S., Samota, M. K., Lalremmawii. (2024). Ohmic heating technology systems, factors governing efficiency and its application to inactivation of pathogenic microbial, enzyme inactivation, and extraction of juice, oil, and bioactive compounds in the food sector. *Food and Bioprocess Technology*, 17(2), 299-324, doi: 10.1007/s11947-023-03126-w.
- Kehili, M., Isci, A., Thieme, N., Kaltschmitt, M., Zetzl, C., Smirnova, I. (2024). Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction of phenolics from defatted date seeds and its effect on solubilization of carbohydrates. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(6): 7695-7706, doi: 10.1007/s13399-022-03027-6.
- Khdair, A. I., Abu-Rumman, G., Khdair, S. I. (2019). Pollution estimation from olive mills wastewater in Jordan. *Heliyon*, 5(8), doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02386.
- Kumar, N., Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24: 00370, doi: 10.1016/j.btre.2019.e00370.
- Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V.S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70: 105325, doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105325.
- Kumari, B., Tiwari, B. K., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. P. (2017). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from potato peels: profiling and kinetic modelling. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(6), 1432-1439, doi: 10.1111/ijfs.13404.
- Kumari, T., Das, A.B., Deka, S.C. (2022). Impact of extraction methods on functional properties and extraction kinetic of insoluble dietary fiber from green pea peels: A comparative analysis. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(4): 16476, doi: 10.1111/jfpp.16476.
- Kutlu, N., Isci, A., Sakiyan, O., Yilmaz, A.E. (2021). Extraction of phenolic compounds from cornelian cherry (*Cornus mas* L.) using microwave and ohmic heating assisted microwave methods. *Food and Bioprocess Technology*, 14: 650-664, doi: 10.1007/s11947-021-02588-0.
- Lin, D., Ma, Q., Zhang, Y., Peng, Z. (2020). Phenolic compounds with antioxidant activity from strawberry leaves: a study on microwave-assisted extraction optimization. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 50(9), 874-882, doi: 10.1080/10826068.2020.1762213.
- Lomba, L., Ribate, M.P., Sangüesa, E., Concha, J., Garralaga, M.A.P., Errazquin, D., ... Giner, B. (2021). Deep eutectic solvents: are they safe? *Applied Sciences*, 11(21): 10061, doi: 10.3390/app112110061.
- López-Salazar, H., Camacho-Díaz, B.H., Ocampo, M.L.A., Jiménez-Aparicio, A.R. (2023). Microwave-assisted extraction of functional compounds from plants: A Review. *Bioresources*, 18(3): 6614-6638.
- Lovrić, V., Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Jukić, M., Dragović-Uzelac, V. (2017). Effect of microwave-assisted extraction on the phenolic compounds and antioxidant capacity of blackthorn flowers. *Food technology and biotechnology*, 55(2), 243-250.
- Ma, Y.Q., Chen, J.C., Liu, D.H., Ye, X.Q. (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16: 57-62, doi: 10.1016/j.ultsonch.2008.04.012.
- Safarzadeh Markhali, F., Teixeira, J. A., Rocha, C. M. (2022). Effect of ohmic heating on the extraction yield, polyphenol content and antioxidant activity of olive mill leaves. *Clean Technologies*, 4(2), 512-528, doi: 10.3390/cleantechnol4020031.
- Muley, P.D., Mobley, J.K., Tong, X., Novak, B., Stevens, J., Moldovan, D., ... Boldor, D. (2019). Rapid microwave-assisted biomass delignification and lignin depolymerization in deep eutectic solvents. *Energy Conversion and Management*, 196: 1080-1088, doi: 10.1016/j.enconman.2019.06.070.

- Muley, P. D., Boldor, D. (2013). Investigation of microwave dielectric properties of biodiesel components. *Bioresource technology*, 127, 165-174.
- Milićević, N., Kojić, P., Sakač, M., Mišan, A., Kojić, J., Perussello, C., ... Tiwari, B. (2021). Kinetic modelling of ultrasound-assisted extraction of phenolics from cereal brans. *Ultrasonics Sonochemistry*, 79: 105761, doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105761.
- Peleg, M. (1988). An empirical model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science*, 53(4): 1216–1219, doi: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb13565.x.
- Pereira, R.N., Coelho, M.I., Genisheva, Z., Fernandes, J.M., Vicente, A.A., Pintado, M.E. (2020). Using Ohmic Heating effect on grape skins as a pretreatment for anthocyanins extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 124: 320-328, doi: 10.1016/j.fbp.2020.09.009.
- Pereira, R.N., Rodrigues, R.M., Genisheva, Z., Oliveira, H., de Freitas, V., Teixeira, J.A., Vicente, A.A. (2016). Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. *Lwt*, 74: 493-503, doi: 10.1016/j.lwt.2016.07.074.
- Popovic, B.M., Micic, N., Potkonjak, A., Blagojevic, B., Pavlovic, K., Milanov, D., Juric, T. (2022). Novel extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents—Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction. *Food Chemistry*, 366: 130562, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130562.
- Rashmi, H.B., Negi, P.S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International*, 136: 109298, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109298.
- Romeo, R., De Bruno, A., Imeneo, V., Piscopo, A., Poiana, M. (2019). Evaluation of enrichment with antioxidants from olive oil mill wastes in hydrophilic model system. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(11), e14211.
- Shabir, S., Ilyas, N., Saeed, M., Bibi, F., Sayyed, R.Z., Almalki, W.H. (2023). Treatment technologies for olive mill wastewater with impacts on plants. *Environmental Research*, 216: 114399, doi: 10.1016/j.envres.2022.114399.
- Shewale, S.P., Kapadia, M., Rathod, V.K. (2022). Intensification of total phenolic compounds extraction from *Azadirachta indica* (Neem) leaves by ultrasound. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 181: 109099, doi: 10.1016/j.cep.2022.109099.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158, doi: 10.5344/ajev.1965.16.3.144.
- Shaukat, S., Buchner, R. (2011). Densities, viscosities [from (278.15 to 318.15) K], and electrical conductivities (at 298.15 K) of aqueous solutions of choline chloride and chloro-choline chloride. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 56(12): 4944-4949.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J.C., Bryan, M., Wu, Y. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *Food, Agriculture and Environment*, 1(2): 42-47.
- Solomakou, N., Goula, A.M. (2021). Treatment of olive mill wastewater by adsorption of phenolic compounds. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20(3): 839-863, doi: 10.1007/s11157-021-09585-x.
- Suthar, P., Kaushal, M., Vaidya, D., Thakur, M., Chauhan, P., Angmo, D., ... Negi, N. (2023). Deep eutectic solvents (DES): an update on the applications in food sectors. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14: 100678, doi: 10.1016/j.jafr.2023.100678.
- Wang, Y., Wang, C., Xue, H., Jin, Y., Yang, M., Leng, F. (2023). Comparative analysis of three kinds of extraction kinetic models of crude polysaccharides from *Codonopsis pilosula* and evaluate the characteristics of crude polysaccharides. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(14), 12917-12933, doi: 10.1007/s13399-022-02518-w.
- Xu, Q., Wang, S., Milliron, H., Han, Q. (2022). The efficacy of phenolic compound extraction

from potato peel waste. *Processes*, 10(11): 2326, doi: doi.org/10.3390/pr10112326.

Yılmaz, M.S., Kantar, N.K., Erdem, G., Demirkol, Ö.Ş., Yakan, A.İ. (2021). Fenolik bileşiklerin aliç meyvesinden (*Crataegus monogyna*) mikrodalga ve ultrases destekli yöntemler ile ekstraksiyonu. *GIDA*, 46(4): 1002-1015, 10.15237/gida.GD21018.

Yusoff, I.M., Taher, Z.M., Rahmat, Z., Chua, L.S. (2022). A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics,

flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food research international*, 157, 111268. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111268.

Zahi, M.R., Zam, W., El Hattab, M. (2022). State of knowledge on chemical, biological and nutritional properties of olive mill wastewater. *Food Chemistry*, 381: 132238, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132238.



ANTIMICROBIAL, ANTIBIOFILM, ANTI-QUORUM SENSING AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SOME EDIBLE ASTERACEAE MEMBERS

Özgür CEYLAN^{1*}, Aysel UĞUR², Nurdan SARAÇ³, Büşra EROĞLU ARSLAN⁴

¹ Food Quality Control and Analysis Program, Ula Ali Kocman Vocational School, Muğla Sitki Koçman University, Muğla, Türkiye

² Section of Medical Microbiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Dentistry, Gazi University, Ankara, Türkiye

³ Department of Biology, Faculty of Science, Muğla Sitki Koçman University, Muğla, Türkiye

⁴ Department of Chemistry, Faculty of Science, Muğla Sitki Koçman University, Muğla, Türkiye

Received/Geliş: 08.07.2024; Accepted/Kabul: 07.10.2024; Published online/Online baskı: 18.10.2024

Ceylan, Ö., Uğur, A., Saraç, N., Eroğlu Arslan, B (2024) Antimicrobial, antibiofilm, anti-quorum sensing and antioxidant activities of some edible Asteraceae members. GIDA (2024) 49 (6) 1028-1037 doi: 10.15237/gida.GD24067

Ceylan, Ö., Uğur, A., Saraç, N., Eroğlu Arslan, B (2024) Bazı yenilebilir Asteraceae üyelerinin antimikrobiyal, antibiyofilm, anti-quorum sensing ve antioksidan aktiviteleri. GIDA (2024) 49 (6) 1028-1037 doi: 10.15237/gida.GD24067

ABSTRACT

In this study, antimicrobial, antioxidant and anti-quorum sensing activities of *S. oleraceus*, *T. scaturiginosum*, *T. bithynicum* and *L. tuberosus* were investigated. *T. scaturiginosum* and *T. bithynicum* were effective in terms of antimicrobial activity. The highest antibiofilm inhibition was shown by 33.30% aqueous extract of *S. oleraceus* on *P. aeruginosa* ATCC 27853. While *S. oleraceus* aqueous extract showed 35.32% violacein inhibition, *T. bithynicum* had a zone diameter of 13 mm for quorum sensing inhibition. *L. tuberosus* ethanol extract was found remarkable with its 52.5% anti-swarming activity. The most effective plant in terms of antioxidant activity was determined as *L. tuberosus*. This value is IC₅₀ 4.36 mg/mL for DPPH and 67.64% for FTC activity. It has been shown that these edible plants may be suitable candidates for reducing microorganismal resistance and using them in the treatment of diseases.

Keywords: Antimicrobial, antibiofilm, anti-quorum sensing, antioxidant, edible plants

BAZI YENİLEBİLİR ASTERACEAE ÜYELERİNİN ANTİMİKROBİYAL, ANTİBİYOFİLM, ANTI-QUORUM SENSİNG VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ

ÖZ

Bu çalışmada, *S. oleraceus*, *T. scaturiginosum*, *T. bithynicum* ve *L. tuberosus*'un antimikrobiyal, antioksidan ve anti-quorum sensing aktivitesi araştırılmıştır. *T. scaturiginosum* ve *T. bithynicum* antimikrobiyal aktivite açısından etkili bulunmuştur. En yüksek antibiyofilm inhibisyonunu *P. aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde *S. oleraceus*'un %33.30'luk sulu ekstraktı göstermiştir. *S. oleraceus* sulu ekstraktı %35.32 viyolasin inhibisyonu gösterirken, *T. bithynicum* quorum sensing inhibisyonu için 13 mm'lik zon çapı

* Corresponding author/ Sorumlu yazar

✉: ozgurceylan@mu.edu.tr

☎: (+90) 252 211 3284

Özgür Ceylan; ORCID no: 0000-0002-1865-1093

Aysel Uğur; ORCID no: 0000-0002-5188-1106

Nurdan Saraç; ORCID no: 0000-0001-7676-542X

Büşra Eroğlu Arslan; ORCID no: 0000-0002-4858-4397

göstermiştir. *L. tuberosus* etanol ekstraktı, %52.5 anti-swarming aktivitesi ile dikkat çekici bulunmuştur. Antioksidan aktivite açısından en etkili bitki *L. tuberosus* olarak tespit edilmiştir. Bu değer DPPH için 4.36 mg/mL IC₅₀ ve FTC aktivitesi için %67.64'tür. Elde edilen bulgular yenilebilir bitkilerin mikroorganizma direncinin azaltılması ve hastalıkların tedavisinde kullanılması için uygun adaylar olabileceği göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal, antibiyofilm, anti-quorum sensing, antioksidan, yenilebilir bitkiler

INTRODUCTION

Infectious diseases pose an important health problem for both society and individuals. One of the major reasons for this problem is the rise of acquired bacterial resistance to antibiotics, a major worldwide health threat facing the world today (Hemeg et al., 2020). As antibiotic resistance increases over time, attention is increasing for plants used as herbal remedies in traditional medicine, which have the potential to contain biologically active compounds with strong antibacterial and antifungal properties (Erfan and Marouf, 2019; Singh et al., 2023).

Medicinal plants have been exploited for centuries, laying the construction for modern pharmacology. Over the centuries, humans have employed these plants in the cure of varied illnesses, contributing significantly to the development of contemporary medical practices (Pammi et al., 2023). Additionally, medicinal plants, grains, vegetables, and fruits contain bioactive organic chemical compounds. These compounds play important defensive roles both in metabolic and genetic dysfunction of the host, as well as in infections and chronic diseases. Revealing the chemical content of medicinal plants has enabled the detection of various bioactive compounds such as saponins, phenols, alkaloids, tannins, anthraquinone, lignin, organic acids, volatile oils, and polysaccharides (Lambo et al., 2024). Phytochemicals have many therapeutic potentials as antioxidant, antimicrobial, anticancer, anti-inflammatory, immune enhancing, neuropharmacological agents. (Ugboko et al., 2020). The Asteraceae family, typically known as the sunflower family, is one of the largest flowering plants. Many members of the Asteraceae family have been cultivated for edible and medicinal purposes for over 3000 years. It is most common in arid and semi-arid subtropical regions but is known and distributed worldwide.

These plants demonstrate a broad activity, including, hepatoprotective, antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory properties (Garcia-Oliveira et al., 2021). *Sonchus oleraceus* L. (Eşek halvesi), *Taraxacum scaturiginosum* G. HAGL. (Meyram göbeği), *Taraxacum bithynicum* DC. (Sarı çiçekli ot), and *Leontodon tuberosus* L. (Yumaklı ot) are the Asteraceae members that can be edible plants of the Muğla region and are also used in conventional treatment for the remedy of different ailments. Based on current knowledge, there are a few studies on the antimicrobial and antioxidant activities of *S. oleraceus*, *T. scaturiginosum*, *T. bithynicum*, and *L. tuberosus* there is no research on their antibiofilm and quorum-sensing inhibitory effects, including violacein production, swarming inhibition. This study aims to investigate the antimicrobial, antioxidant, antibiofilm, and quorum-sensing inhibitory effects of ethanol and aqueous extracts from four plants that grow in the Muğla region and are used as food, focusing on their impact on clinically important microorganisms.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of Plant Extracts

Plants subject to study: *Sonchus oleraceus* L., *Taraxacum scaturiginosum* G. HAGL., *Taraxacum bithynicum* DC., and *Leontodon tuberosus* L. These species, belonging to the Asteraceae family, were collected from Muğla the southwestern region of Türkiye. The plant materials were identified by Assistant Professor Mehtap Dönmez Şahin from Uşak University. The plants were dried and subjected to extraction processes. A Soxhlet device was used for ethanol extract and a lyophilizer was used for aqueous extract.

Microbial Strains

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLL B-4375, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10239, and multiresistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* and various species of *Staphylococcus*, *Chromobacterium violaceum* CV 12472,

Chromobacterium violaceum CV026, and *Pseudomonas aeruginosa* PA01. Microbial strains used in this study were given at Table 1.

Table 1. Microbial strains and growth conditions

Test strains	Growth conditions
Gram positive	Nutrient Broth (NB)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	37°C, 24 h
<i>Micrococcus luteus</i> NRRL B-4375	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
<i>Staphylococcus aureus</i> MU 38	
<i>Staphylococcus aureus</i> MU 40	
<i>Staphylococcus</i> MU 46	
<i>Staphylococcus</i> MU 47	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MU 30	
Gram negative	Nutrient Broth (NB)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	30°C, 24 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MU 187	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MU 188	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MU 189	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> MU 180	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> MU 181	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	
<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Luria Bertani (LB) Broth 30°C, 24-48 h
<i>Chromobacterium violaceum</i> CV 12472	Luria Bertani (LB) Broth 30°C, 24 h
Yeast	Saboraud Dextrose Broth'da (SDB) 30°C, 24-48 h
<i>C. albicans</i> ATCC 10239	

Determination of Antimicrobial Activity

Disc diffusion method (Bauer et al., 1966; Collins et al., 1995; Murray et al., 1995) and minimum inhibition concentration (MIC) (CLSI, 2006) were used for antimicrobial activity. In the disc diffusion test, discs impregnated with plant extracts (20 µL) were placed on plates containing bacteria (100 µL) spread on Mueller-Hinton agar. For MIC, plant extracts in the range of 20-125 mg/mL were added to the bacteria inoculated in Mueller Hinton Broth. The experiment was performed in 96-well microplates. The bacterial density for both tests was 5×10^5 colony forming units (CFU)/mL. As a result of appropriate incubation conditions, the inhibition zone (mm) and MIC were measured.

Antibiofilm Activity

Biofilm inhibition of MIC and sub-MIC values of plant extracts on bacteria were measured. Briefly, 1% of overnight cultures (OD adjusted to 0.4 at

600 nm) of test pathogens were added into 200 µL of fresh TSB medium and cultivated in the presence/absence of extract. The wells containing only TSB served as control. After two days of incubation conditions at the appropriate temperature, bacteria were evacuated from the wells. The remaining bacteria were subsequently stained with 0.1% crystal violet solution for 10 min at room temperature. The wells were washed to remove the crystal violet solution. 95% ethanol was added to the wells for Gram-negative bacteria and *C. albicans*, and 33% acetic acid was added to the wells for Gram-positive bacteria. Measuring was made at 550 nm on a microreader (Merritt et al., 2005). Antibiofilm activity was calculated with the following formula:

$$\text{Biofilm inhibition (\%)} = \frac{\text{OD 550 control} - \text{OD550 sample}}{\text{OD 550 control}} \times 100$$

Anti-Quorum sensing activity

Violacein inhibition assay using C. violaceum CV12472
C. violaceum CV12472 was inoculated into LB broth in microplate wells and added plant extracts. It was incubated at 37°C for 24 hours. Sub-MIC concentrations of the extracts were read in a microreader to examine violacein inhibition (Tamfu et al., 2020). Violacein pigment production inhibition percentage was calculated by the following formula:

$$\text{Violacein inhibition (\%)} = \frac{\text{OD 585 control} - \text{OD585 sample}}{\text{OD 585 control}} \times 100$$

Bioassay for Quorum sensing inhibition (QSI) activity using CV026

The method of Koh & Tham (2011) is slightly modified. *C. violaceum* CV026 and C₆HSL were added to Molten Soft Top Agar, mixed and poured onto LBA. Wells were made in the solidified medium. Sub-MIC concentrations of plant extracts were put in each well. The plates were incubated at 30°C for 3 days. Halo formation on the purple-colored medium was evaluated as Quorum sensing inhibition and zone diameters were measured in mm.

Swarming motility inhibition on Pseudomonas aeruginosa PA01

Plant extracts were added to plates containing 1% peptone, 0.5% NaCl, 0.5% agar and 0.5% D-glucose and mixed. Thereupon, central point-inoculated of *P. aeruginosa* PA01 was performed. The plates were incubated at 37°C for 18-24 hours. Inhibition of swarming motility was determined by measuring swarm zones (Packiavathy et al., 2012).

Antioxidant Activity

Antioxidant activity of plant extracts was determined according to two methods: DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) (Yamasaki et al., 1994) and FTC (Ferric thiocyanate) (Kikuzaki and Nakatani, 1993). For DPPH radical scavenging activity, extracts were added to the DPPH solution. It was incubated for 30 minutes and its absorbance was measured at 517 nm. DPPH radical scavenging activity was calculated as IC₅₀. Standards were ascorbic acid and BHT. In FTC, the solution consisting of ethanol, plant extracts,

linoleic acid and buffer was incubated at 40°C. Then, some amount of this solution was taken, ethanol, ammonium thiocyanate and ferric chloride were added, left for 3 minutes and measurements were made at 500 nm. This was repeated at 24-hour intervals until the maximum value of the control was reached.

RESULTS AND DISCUSSION**Antimicrobial Activity**

The present investigation determined the antimicrobial activity of aqueous and ethanol extracts of *S. oleraceus*, *T. scaturiginosum*, *T. bithynicum*, and *L. tuberosus* plants against various microorganisms. Antimicrobial activity was performed by two methods: disc diffusion and minimum inhibition concentration. The findings are exhibited in Table 2. According to the disc diffusion method, it was determined that aqueous extracts showed limited activity against the test microorganisms, and ethanol extracts did not show an inhibition zone. However, it is noteworthy that all of the aqueous extracts are especially active against *S. aureus* MU 47 and the highest activity belongs to *T. bithynicum* (14 mm zone diameter). When looking at the MIC, it is understood that plant extracts generally inhibit test microorganisms in the concentration range of 5-20 mg/mL (Table 2). In particular, it was determined that the alcohol extract of *T. scaturiginosum* inhibited *S. aureus* ATCC 25923 with a concentration as low as 5 mg/mL. Finally, in terms of antimicrobial activity, it can be said that not all extracts are active against fungi, but are more effective against gram-positive bacteria than gram-negative bacteria. In this context, it was determined that all extracts used in our study had more effective antimicrobial potential against gram-positive bacteria. Modern science utilizes plants as probable sources of medicines to treat or prevent illnesses. Antimicrobial resistance, highlighted as a global health crisis by the WHO, demands concerted action from nations and societies alike. The rise of multidrug-resistant microbes (MDR) has triggered socioeconomic turmoil and exacerbated public health challenges worldwide. In developing regions, these resilient microorganisms undermine the effectiveness of many affordable antimicrobial treatments (Arslan,

2023). Given this escalating threat, exploring medicinal plants as potential sources of new antimicrobial drugs is imperative to combat these MDR strains (Kebede et al., 2021). The study reveals that extracts from numerous medicinal plants exhibit promising antimicrobial properties, suggesting a fertile ground for discovering novel treatments against diseases caused by pathogenic microbes.

In particular, the inhibition activity of *T. bithynicum* and *T. scaturiginosum* against different strains of *S. aureus* reveals the potential of the plants extracts (Table 2). These findings echo previous research advocating for plant-based therapeutic agents as viable substitutes, alternatives, or complementary treatments for infectious diseases (Seğmenoğlu and Sevindik, 2022; Naz et al., 2022; Machado et al., 2023).

Table 2. Antimicrobial activity of extracts

Microorganisms	Extracts	<i>S.oleraceus</i>		<i>T. scaturiginosum</i>		<i>T.bithynicum</i>		<i>L.tuberosus</i>	
		DD (mm)	MIC (mg/mL)	DD (mm)	MIC (mg/mL)	DD (mm)	MIC (mg/mL)	DD (mm)	MIC (mg/mL)
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	Aqueous	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	20	-	10	-	-	-	-
<i>M.luteus</i> NRRL B-4375	Aqueous	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	10	-	10	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	Aqueous	11	20	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	20	-	5	-	10	-	-
<i>S.aureus</i> MU 38	Aqueous	-	-	-	-	9	-	8	-
	Ethanol	-	20	-	10	-	10	-	-
<i>S.aureus</i> MU 40	Aqueous	-	-	-	-	9	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> MU 46	Aqueous	10	20	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	10	-	10	-	-
<i>S.aureus</i> MU 47	Aqueous	10	-	12	20	14	20	11	-
	Ethanol	-	-	-	-	-	20	-	-
<i>S.epidermidis</i> MU 30	Aqueous	-	-	8	-	9	-	8	-
	Ethanol	-	20	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> ATCC 25922	Aqueous	-	20	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	20	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	Aqueous	-	-	-	-	-	-	9	-
	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> MU 187	Aqueous	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> MU 188	Aqueous	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	20	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> MU 189	Aqueous	-	20	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	20	-	20	-	-	-	-
<i>P.fluorescens</i> MU 180	Aqueous	-	-	7	-	7	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.fluorescens</i> MU 181	Aqueous	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	10	-	20	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10239	Aqueous	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) No inhibition, (DD) Disc diffusion, (MIC) Minimum inhibition concentration

Antibiofilm activity

In the study, sub-MIC antibiofilm effects of all plant extracts against test strains were investigated. The obtained results are shown in Table 3. According to the findings, among all of

the extracts, the aqueous extract of *S. oleraceus* was observed to inhibit biofilm formation *P.aeruginosa* ATCC 27853 with 33.3 % (at 10 mg/mL concentration).

Table 3. Antibiofilm activity of extracts

Microorganisms	Extracts	<i>S.oleraceus</i>	<i>T. scaturiginosum</i>	<i>T.bithynicum</i>	<i>L.tuberosus</i>
		Concentration (mg/mL) / Inhibition (%)			
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	10 (7.19)	-	-
<i>M.luteus</i> NRRL B-4375	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	10 (11.87)	-	-
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> MU 38	Aqueous	-	-	10 (21.2)	-
	Ethanol	-	10 (13.08)	5 (14.39) 2,5 (5.24)	-
<i>S.aureus</i> MU 40	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> MU 46	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> MU 47	Aqueous	-	10 (32.51) 5 (15.4)	10 (9.65)	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>S.epidermidis</i> MU 30	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>E.coli</i> ATCC 25922	Aqueous	10 (9.95)	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	Aqueous	10 (33.3) 5 (15.51)	-	-	-
	Ethanol	20 (17.51)	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> MU 187	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> MU 188	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> MU 189	Aqueous	10 (23.91) 5 (10.17)	-	-	-
	Ethanol	20 (6.89)	20 (26.20) 10 (10.34)	20 (6.20)	-
<i>P.fluorescens</i> MU 180	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>P.fluorescens</i> MU 181	Aqueous	10 (11.51)	-	10 (23.5) 5 (8.88)	-
	Ethanol	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10239	Aqueous	-	-	-	-
	Ethanol	-	-	-	20 (11.47)

(-) No inhibition

Microorganisms, such as bacteria and fungi, are implicated in nearly 87% of healthcare-associated infections affecting humans. The virulence of these microorganisms stems from various mechanisms, including the modulation of biofilm production, crucial for colonization and infection development. Biofilm formation contributes significantly to approximately 80% of infections caused by bacteria and fungus in human tissue, causing persistent infections, especially in chronic wounds. Given the looming threat of antimicrobial resistance, which could potentially

cause 10 million deaths annually by 2050, the urgency to develop novel antibiofilm therapies alongside conventional antibiotics has never been more critical (Lopes et al., 2021).

In current work, the antibiofilm activity of plants frequently used in traditional medicine and nutrition was demonstrated and especially the activity of *S. oleraceus* aqueous extract revealed that this plant has a potential in the production of new therapeutic for diseases. There is no study on the antibiofilm activity of *S. oleraceus* in the literature,

so it is not possible to make a reliable comparison. However, this study significantly contributes to the existing literature and underscores its importance for future investigations.

Anti-Quorum sensing activity

Quorum sensing (QS), a density-dependent mechanism in gram-negative bacteria mediated by autoinducers like AHLs, orchestrates gene expression, including virulence factors crucial for pathogenesis. Targeting QS with natural and herbal compounds has emerged as a strategy to control bacterial virulence (Li et al., 2022). In this study, the anti-QS inhibition activity of plants was determined by three different methods: Violacein inhibition, QS inhibition and Swarming motility.

C. violaceum CV12472, a gram-negative bacterium, produces purple violacein pigment indicative of

QS activity and protects its membrane against oxidative stress. The purple violacein produced can be measured and reflects the quorum-sensing process in bacteria. Prior to violacein inhibition, the MIC values of the extracts were determined against strain *C. violaceum* CV12472 and the ability of the extracts to inhibit violacein production was measured at sub-MIC concentrations. The results obtained are reported in Table 4. MIC values varied between 1.25 mg/mL and >25 mg/mL for all extracts. The sub-MIC concentrations were used to determine the percent violacein inhibition of the extracts. The most active *S. oleraceus* aqueous extract showed 35.32% inhibition at a concentration of 2.5 mg/mL. Also, all extracts of *S. oleraceus* and alcohol extract of *T. scaturiginosum* are two herbs that inhibit violacein.

Table 4. Anti-quorum sensing activity by extracts

Plant extracts		MIC (mg/mL)	VI (%) / Con (mg/mL)	MIC (mg/mL)	QSI (mm) / Con (mg/mL)	SI (%)
<i>S. oleraceus</i>	Aqueous	5	35.32 / 2.5 20.32 / 1.25	100	-	19
	Ethanol	25	5.54 / 12.5	2	-	4.8
<i>T. scaturiginosum</i>	Aqueous	>25	-	100	-	-
	Ethanol	12.5	14.26 / 10	2	-	-
	Aqueous	>25	-	100	-	19
<i>T. bithynicum</i>	Ethanol	>25	-	0.8	13 / 0.75 11 / 0.50 9 / 0.25	9.5
	Aqueous	10	-	100	-	-
<i>L. tuberosus</i>	Ethanol	>25	-	2	12 / 1 10 / 0.5	52.5

*(VI) Violacein inhibition, (Con) Concentration, (QSI) Quorum sensing inhibition, (SI) Swarming inhibition, (-) No inhibition

The mutant strain *C. violaceum* CV026, supplemented with external AHL, served to detect QS impairments through quorum sensing inhibition zones. These bacteria can be used to find impairments in quorum sensing by determining quorum sensing inhibition zones. In test plates with purple lawn colour produced by activated *C. violaceum* CV026 bacteria, the formation of a cream or yellowish halo around the well was an indicator of QS inhibition. The quorum sensing inhibition zones were determined at sub-MIC concentrations and

diameters were measured in millimetres (Table 4). Only ethanol extract of *T. bithynicum* and *L. tuberosus* exhibited anti-QS activity. *T. bithynicum* ethanol extract had the highest QS inhibition zone diameter (13 mm) at the low concentration of 0.75 mg/mL.

During bacterial communication, small signaling molecules produced inside cells diffuse into the extracellular space. Thus, it mediates the behavior of colonies. Phenotypic factors regulated during this process include bacterial motility. The

motility of microorganisms is associated with QS-mediated biofilm formation. *P. aeruginosa* PA01 uses swarming motility to invade and colonize surfaces. We examined the anti-QS potential of extracts from four plants against QS-dependent swarming motility in this strain. The swarming motility of *P. aeruginosa* PA01 strain was evaluated at a concentration of 100 mg/mL and the results are shown in Table 4. The results showed that the PA01 pathogen inhibited swarming behavior to different levels among test plants, except for *T. scaturiginosum*. Contrary to the fact that the aqueous extract of *L. tuberosus* showed no anti-swarming activity, the ethanol extract of this plant showed the highest level of inhibition in the migration of PA01, with 52%.

Antioxidant Activity

The concept of oxidative stress, a relatively recent focus in medical sciences over the past three decades, is intricately involved in the pathophysiology of prevalent diseases such as diabetes, hypertension, pre-eclampsia, atherosclerosis, acute renal failure, Alzheimer's, and Parkinson's disease. Cells utilize oxygen in metabolic processes, generating reactive oxygen

species (ROS) that can be harmful. Normally, the production and elimination of ROS are balanced; however, when this equilibrium is disrupted typically due to an excess of pro-oxidants or a deficiency in antioxidants oxidative stress occurs. Elevated ROS levels within cells profoundly impact cellular function, contributing to cellular dysfunction, accelerated aging, and disease progression. Antioxidants play a crucial role in biological cells by neutralizing free radicals, which are highly reactive molecules that can inflict damage on living organisms. (Munteanu et al., 2021).

This study used DPPH free radical scavenging and Ferric thiocyanate (FTC) method for antioxidant activity. Table 5 gives information about the antioxidant activity values of all extracts. Test plants showed radical scavenging activity in various ranges. The aqueous extract of *L. tuberosus* showed the best radical scavenging activity with an IC₅₀ value of 4.36±0.58 mg/mL. However, the antioxidative capacity of all extracts was weaker than the standard substances. The IC₅₀ values of BHT and α-tocopherol are 0.487 mg/mL and 1.75 mg/mL, respectively.

Table 5. Antioxidant activity of extracts

Plant extracts		DPPH	FTC
		IC ₅₀ (mg/mL)	Inhibition %
<i>S. oleraceus</i>	Aqueous	63.47±2.45	54.76±1.72
	Ethanol	56.67±1.18	27.55±0.63
<i>T. scaturiginosum</i>	Aqueous	46.32±0.94	62.72±2.80
	Ethanol	28.88±0.22	19.91±1.02
<i>T. bithynicum</i>	Aqueous	6.96±0.55	64.27±2.15
	Ethanol	44.3±1.14	28.46±0.44
<i>L. tuberosus</i>	Aqueous	4.36±0.58	67.64±2.08
	Ethanol	43.54±1.22	22.88±0.34
Standards	BHT	0.487±0.014	63.36±2.52
	α-tocopherol	1.75±0.04	39.96±1.65
	Ascorbic acid	NT	77.67±2.81

(NT) Not tested

FTC is a method by which the amount of peroxide in the initial stages of lipid peroxidation is measured. FTC test results displayed that aqueous extracts were more effective than alcohol extracts, especially the aqueous extract of *L. tuberosus* showed the highest inhibition with 67.64%. Moreover, it appears that the aqueous

extract of *L. tuberosus* has more effective antioxidant potential in preventing lipid peroxidation chain reactions and free radical scavenging. In the literature, data on the antioxidant activity of natural plant extracts can be found (Benitez et al., 2023; Christou et al., 2024; Abd-El-Aziz et al., 2024). The results

obtained are consistent with each other. Therefore, it is thought that it would be appropriate to include these plants used as food in diets as antioxidant agents.

CONCLUSION

There is limited knowledge and research on wild species traditionally consumed as food. In conclusion, the antimicrobial and anti-quorum sensing activities of edible plants grown in the Muğla region and included in local diets are promising as important antioxidant agents, especially in reducing the damage caused by reactive oxygen species. Therefore, it has emerged that these plants and the compounds they contain, which traditionally have an important potential, can be evaluated in a broader perspective.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is financially supported by Muğla Sıtkı Kocman University Research Funds (Project 12/68). *Sonchus oleraceus* was presented as a poster at the SEAB 2016 Symposium on Euroasian Biodiversity, and *Taraxacum scaturiginosum* and *Taraxacum bithynicum* were presented as posters at the 22nd National Biology Congress. *Leontodon tuberosus* presented as an oral presentation at the 3rd International Eurasian Biodiversity Symposium.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Özgür Ceylan: Material collection, organization and data analysis of all studies; Aysel Uğur: Antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities; Nurdan Saraç: Antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities; Büşra Eroğlu Arslan: Anti-Quorum sensing activity and writing

REFERENCES

Abd-El-Aziz, N. M., Hifnawy, M. S., Lotfy, R. A., Younis, I. Y. (2024). LC/MS/MS and GC/MS/MS metabolic profiling of *Leontodon hispidulus*, in vitro and in silico anticancer activity evaluation targeting hexokinase 2 enzyme. *Scientific Reports*, 14(1), 6872.

Al-Hussaini, R., Mahasneh, A. M. (2009). Microbial growth and quorum sensing activities

of herbal plants extracts. *Molecules*, Vol. 14, p: 3425-3435.

ALrashidi, A. A., Noumi, E., Snoussi, M., Feo, V. D. (2022). Chemical composition, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Pimenta dioica* L. essential oil and its major compound (eugenol) against foodborne pathogenic bacteria. *Plants*, 11(4), 540.

Arslan, K. (2023). The Antioxidant, Antimicrobial, and Total Phenolic Potential of Clove Extracts for Inhibition of Food Pathogens. *Erzincan University Journal of Science and Technology* 16(2), 453-464.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493–496.

Benítez, G., Molero-Mesa, J., González-Tejero, M. R. (2023). Wild edible plants of andalusia: traditional uses and potential of eating wild in a highly diverse region. *Plants*, 12(6), 1218.

Christou, A., Stavrou, C., Michael, C., Botsaris, G., Goulas, V. (2024). Antibacterial and Carbohydrate Digestive Enzyme Inhibitory Effects of Native Plants Used for Medicinal and Culinary Purposes in Cyprus. *Natural Product Communications*, 19(1), 1934578X231222105.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2006). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard*, 7th ed. (M7-A7). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M. (1995). *Microbiological Methods*, 7th ed. Butterworths, London.

Kazemian, H., Ghafourian, S., Heidari, H., Amiri, P., Yamchi, J. K., Shavalipour, A., Hourri, H., Maleki, A., Sadeghifard, N. (2015). Antibacterial, anti-swarming and anti-biofilm formation activities of *Chamaemelum nobile* against *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48, 432-436.

Kebede, T., Gadisa, E., Tufa, A. (2021). Antimicrobial activities evaluation and phytochemical screening of some selected

- medicinal plants: A possible alternative in the treatment of multidrug-resistant microbes. *PLoS one*, 16(3), e0249253.
- Kikuzaki, H., Nakatani, N. (1993). Antioxidant effects of some ginger constituents. *Journal of Food Sciences*, 58: 1407-1410.
- Koh, K.H., Tham, F.Y. (2011). Screening of traditional Chinese medicinal plants for quorum-sensing inhibitors activity. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 44(2): 144-148.
- Li, Q., Mao, S., Wang, H., & Ye, X. (2022). The molecular architecture of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing inhibitors. *Marine Drugs*, 20(8), 488.
- Lopes, A. P., Branco, R. R. D. O. C., de Alcântara Oliveira, F. A., Campos, M.A. S., de Carvalho Sousa, B., Agostinho, I. R. C., Gonzalez, A. G. M., Rocha, J. A., Pinheiro, R. E. E., Araújo, A. R., dos Santos Soares, M. J. (2021). Antimicrobial, modulatory, and antibiofilm activity of tt-farnesol on bacterial and fungal strains of importance to human health. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 47, 128192.
- Machado, A., Zamora-Mendoza, L., Alexis, F., Álvarez-Suarez, J. M. (2023). Use of plant extracts, Bee-Derived products, and probiotic-related applications to fight Multidrug-resistant pathogens in the post-antibiotic era. *Future Pharmacology*, 3(3), 535-567.
- Merritt, JH, Kadouri, D.E., O'Toole, G.A. (2011). Growing and analyzing static biofilms. *Current protocols in microbiology*, 22(1): 1B-1.
- Munteanu, I. G., Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (1995). *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. ASM Press, Washington, DC, USA.
- Naz, S., Alam, S., Ahmed, W., Khan, S. M., Qayyum, A., Sabir, M., Naz, A., Iqbal, A., Bibi, Y., Nisa, S., Khalifa, A.S., F. Gharib, A., El Askary, A. (2022). Therapeutic potential of selected medicinal plant extracts against multi-drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 941-954.
- Packiavathy, I.A.S.V., Agilandewari, P., Musthafa, K.S., Pandian, S.K., Ravi, A.V. (2012). Antibiofilm and quorum sensing inhibitory potential of *Cuminum cyminum* and its secondary metabolite methyl eugenol against Gram negative bacterial pathogens. *Food Research International*, 45(1): 85-92.
- Seğmenoğlu, M. S., Sevindik, M. (2024). Antioxidant and antimicrobial potentials of functional food *Arum Dioscoridis*. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 42(1), 116-120.
- Tamfu, AN., Ceylan, O., Fru, G.C., Ozturk, M., Duru, M.E., Shaheen, F. (2020). Antibiofilm, anti-quorum sensing and antioxidant activity of secondary metabolites from seeds of *Annona senegalensis*. *Persoon. Microbial pathogenesis*, 144: 104191.
- Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T., Sato, T. (1994). Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 42(8): 1663-1665.



**BIOCHEMICAL COMPOSITION AND DETERMINATION OF
ADULTERATION OF BLACK MULBERRY EXTRACTS**

**Yakup ŞİRİN*, Büşra ERDEM, Sertan CENGİZ,
Semih GÜRKAN, Perihan GÜRKAN**

Research and Development Unit, Sem-As Food, Tourism, Industry and Trade Limited Company, Ankara,
Türkiye

Received/Geliş: 18.07.2024; Accepted/Kabul: 17.10.2024; Published online/Online baskı: 21.10.2024

Şirin, Y., Erdem, B., Cengiz, S., Gürkan, S., Gürkan, P. (2024) Biochemical composition and determination of adulteration of black mulberry extracts. *GIDA* (2024) 49 (6) 1038-1061 doi: 10.15237/ gida.GD24071

Şirin, Y., Erdem, B., Cengiz, S., Gürkan, S., Gürkan, P. (2024) Karadut özlerinin biyokimyasal bileşimi ve tağşişin belirlenmesi. *GIDA* (2024) 49 (6) 1038-1061 doi: 10.15237/ gida.GD24071

ABSTRACT

Black mulberry is crucial for its high content of bioactive substances, such as phenolic compounds and vitamin C, as well as nutritional values, such as carbohydrates, fats, fibre and minerals. This study aimed to determine the physical, biochemical and nutritional properties of 35 different brands of black mulberry extracts sold in our country. Consequently of the studies, it was observed that some of the extracts sold in our country had a very high HMF value; most of them contained no protein and additional maltose and derivatives. In addition, all of these black mulberry extracts were low in minerals and contained additional sweeteners, preservatives and synthetic colourings. Synthetic colourings were found in many of these black mulberry extracts and carbon 13 levels were not appropriate. When BME-34 and 35 brands of black mulberry extract were analysed, all of the above values were appropriate, and consistent with previous studies in the literature.

Keywords: Black mulberry, fruit extract, food

**KARADUT ÖZLERİNİN BİYOKİMYASAL BİLEŞİMİ VE TAĞŞİŞİN
BELİRLENMESİ**

ÖZ

Karadut, içeriğindeki yüksek miktarda fenolik bileşikler ve C vitamini gibi biyoaktif maddelerin yanı sıra karbohidrat, yağ, lif, mineral gibi besleyici değerlerden dolayı önemlidir. Bu çalışmada ülkemizde satışı yapılan 35 farklı marka karadut özlerinin fiziksel, biyokimyasal ve besinsel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda ülkemizde satışı yapılan karadut özlerinin bazılarında HMF değerinin çok yüksek olduğu, birçoğunun protein içermediği ve ilave maltoz ve türevlerini içerdiği görülmüştür. Ayrıca bu karadut özlerinin tamamının mineralce fakir olduğu, ilave tatlandırıcı, koruyucu ve sentetik boya içerdiği tespit edilmiştir. Bu karadut özlerinin birçoğunda sentetik boyaya rastlanmış ve karbon 13 değerlerinin de uygun olmadığı görülmüştür. BME-34 ve 35

* *Corresponding author/ Sorumlu yazar*

✉: yakup@semas.com.tr

☎: (+90) 312 814 2025

Yakup Şirin; ORCID no: 0000-0002-8759-0132

Büşra Erdem; ORCID no: 0009-0007-6776-0046

Sertan Cengiz ORCID no: 0009-0001-6494-9480

Semih Gürkan ORCID no: 0000-0003-4096-8668

Perihan Gürkan ORCID no: 0000-0002-0625-2482

marka karadut özü incelendiğinde ise yukarıda bahsedilen tüm değerlerin uygun olduğu ve literatürle de benzer sonuçlar verdiği görülmüştür. Sonuç olarak ülkemizde karadut özü olarak satılan ürünlerin hileli bir ürün olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Karadut, meyve özü, gıda

INTRODUCTION

Recently, there has been a marked increase in the demand for fresh fruits. This surge can be attributed to a combination of factors, including changes in production methodologies, innovative marketing approaches, and the effective utilization of social media platforms to emphasize the rich presence of bioactive compounds in fruits (Skrovankova et al. 2015). Fruits, a significant source of nutrients, play a pivotal role in human health and are integral to a balanced diet. They are primary provitamin A and vitamin C sources and are abundant in phytochemicals and bioactive constituents. These components have demonstrated potential therapeutic effects against cardiovascular diseases and may also mitigate cancer risks (Serçe et al. 2010). Furthermore, fruits contribute dietary fiber and essential minerals to an adult diet while offering a diverse range of flavors and colors. The presence of these attributes and the concentration of bioactive compounds in fruits are significantly influenced by their genotypes and the environmental conditions under which they are grown (Skrovankova et al. 2022).

Specifically, berries have garnered substantial attention in nutritional science, earning the title 'super-food' due to their positive impact on human health (Kalt et al. 2017). This is primarily due to their high content of anthocyanins and other phenolic compounds. Berry fruits are typically consumed in their fresh state but are also available in frozen and processed forms (Okatan and Çolak 2019).

The black mulberry (*Morus nigra*), a member of the Moraceae family within the *Morus* genus, is cultivated for its fruit, leaves, and wood. Widely distributed across Asia, Europe, and America (Özgen et al. 2019), it shares prominence with two other well-researched mulberry species: white mulberry (*Morus alba* L.) and red mulberry (*Morus rubra* L.). Black mulberry fruits are flavorful and rich in nutritional value. Their high content of

vitamins, minerals, and antioxidants makes them desirable for human consumption (Dalmagro et al. 2019; Shekarabi et al. 2020).

In regions, such as India, China, and Japan, black mulberry is primarily grown for its leaves, which play a crucial role in silkworm breeding. Silkworms (*Bombyx mori*) exclusively feed on mulberry leaves, which provide essential nutrients for their growth and silk production. The genetic basis for this feeding preference involves the GR66 gene, which influences silkworms' affinity for mulberry leaves (Zhang et al. 2018; Vijayan et al. 1997). In contrast, European countries like Türkiye and Greece focus on cultivating black mulberry for its fruit (Gerasopoulos and Stavroulakis 1997; Ercisli 2005). Notably, Anatolia is renowned for high-quality black mulberry cultivation (Erarslan et al. 2021), with Türkiye leading in production, especially in the Middle Eastern Anatolia and Black Sea regions (Toğrul and Hayoğlu 2020).

Black mulberry fruits, which are approximately 2.5 cm in length, mature from a reddish hue to a deep black color, resembling raspberries. Harvested during July and August (3), these fruits are versatile in consumption, being enjoyed fresh or processed into dried fruit, molasses, and juice (Kutlu et al. 2011). Their palatable taste has led to their extensive use in jams, liqueurs, and natural dyes, and they are also valued in the cosmetic industry due to their beneficial properties (Memete et al. 2023; Nguyen et al. 2022).

Among fruits and vegetables, black mulberries are recognized as one of the richest sources of antioxidants (Zhang et al. 2018). Specifically, they contain high concentrations of phenolic compounds, including anthocyanins, flavonoids, and other polyphenols, contributing to their strong antioxidant properties (Liu and Zhang 2024). Anthocyanins, glycosides formed by the attachment of sugar groups to anthocyanidins, are categorized into two subgroups: sugar-free

anthocyanidin aglycones and sugar-containing anthocyanin glycosides. Over 500 distinct anthocyanins have been identified, with the six most prevalent anthocyanidins in fruits and vegetables being cyanidin (50%), delphinidin (12%), pelargonidin (12%), peonidin (12%), petunidin (7%), and malvidin (7%). The 3-glycoside, 3,5- and 3,7-diglycoside derivatives of anthocyanidins are more abundant, and 3-glycoside derivatives are 2.5 times more abundant than 3,5-diglycosides. The most common anthocyanin in nature is cyanidin-3-glycoside (Castañeda-Ovando et al. 2009).

Anthocyanins, responsible for the vibrant colors observed in many fruits and vegetables, play a significant role in preventing or treating health conditions associated with inflammation and oxidative stress. Anthocyanins have been recognized for their potential therapeutic applications against various diseases, including oral and dental diseases, hypertension, diabetes, anemia, and cancer (Suh et al. 2003; Mahesh et al., 2017; Naseri et al. 2018; Ahmed et al. 2023).

These compounds exhibit a fascinating color variability that depends on their concentration, pH levels, and the presence or absence of co-pigments (Sendri and Bhandari 2024; Guo et al., 2023). In acidic environments, anthocyanins appear red; in neutral environments, they turn purple; and in basic environments, they range from blue-green to violet (Espín et al. 2000; Ananga et al., 2013). These pigments are used as natural colorants in food products due to their stability and health benefits (Katsube et al. 2006; Palonen and Weber 2019; Svanberg et al. 2019).

The antioxidant content of black mulberries is influenced by several factors, including soil composition, geographical location, and growing conditions (Kostić et al. 2019; Pruteanu et al. 2023). For instance, soil rich in humic substances can enhance the transport of nutrients and water, redox reactions, chelate formation, and the secretion of various compounds (i.e., organic acids, sugars, phenols, and amino acids) by plant roots (Rodrigues de Queiroz et al., 2023). Black mulberries contain significant amounts of

anthocyanins, such as cyanidin-3-glycoside, cyanidin-3-rutinoside, pelargonidin-3-glycoside, and pelargonidin-3-rutinoside, which have shown various health benefits, including inhibitory effects on cancer cells (Chen et al. 2006). Cyanidin, a type of anthocyanin, has been suggested to form a complex with DNA, providing a protective effect. The formation of this complex is believed to shield both cyanidin and DNA from oxidative damage, particularly from the attack of hydroxyl radicals (Sarma et al. 1999; Mattioli et al. 2020). This protective mechanism underscores the potential of anthocyanins in mitigating oxidative stress-related damage.

Black mulberries are packed with essential nutrients, including vitamins C and K, iron, potassium, and dietary fiber, supporting overall health, including boosting immunity, aiding digestion, and promoting proper blood clotting. They have shown potential in reducing cholesterol, blood sugar levels, and cancer risk due to their phenolic compounds, organic acids, and sugar content (Naeem 2020; Gundogdu et al. 2011).

In Türkiye, a significant portion of black mulberries is used to produce molasses (70%) (Aybastier 2021). Recently, the industrial production of black mulberry juice has increased, offering more opportunities for its use in various products (Polat 2004). However, the commercial use of anthocyanins is limited by their low extraction yields and susceptibility to degradation by heat, light, oxygen, and pH changes during processing and storage (Cavalcanti et al. 2011).

Modern developments in the food industry, such as the cold-press method, have enhanced the preservation of nutrients in fruit products. This method, which does not use chemicals or heat, retains the nutritional content of the fruit (Rabrenović et al. 2014). Cold-pressed fruit musts, which have high nutritional value, are increasingly popular due to their sensory properties and health benefits (Kaplan 2022).

The rising demand for black mulberry products has also led to increased incidences of adulteration. Common adulterants include preservatives like sorbic acid and benzoic acid, synthetic dyes, and artificial sweeteners, such as Acesulfame potassium, Saccharin, Aspartame, and Sucralose. These substances can significantly alter the nutritional profile and safety of black mulberry products, raising concerns about their health implications.

Given the rising demand for black mulberry products, the incidence of adulteration has increased, with many products containing synthetic additives. This study aims to analyze the physical-chemical, nutritional, and antioxidant properties of black mulberry extracts from various companies and to identify any adulteration. By examining 35 different brands and analyzing each sample in triplicate, we seek to provide insights and raise public awareness about the quality and authenticity of black mulberry extracts, ensuring consumers have access to genuine and beneficial products. This study also includes an evaluation of BME-34 Black Mulberry Extract and BME-35 Black Mulberry Mix, products by Sem-As Food, to ensure a comprehensive market understanding. The companies producing the extracts are coded and discussed in accordance with ethical guidelines.

MATERIALS and METHODS

Materials

This study undertook the examination of 35 distinct brands of black mulberry extracts available in the Turkish market, with the objective of assessing their physical, biochemical, and nutritional properties to determine their naturalness. To facilitate this, three samples from each of the 35 brands were procured from the market between March 1, 2024, and March 31, 2024, and preserved under standardized conditions pending analysis. For each brand of black mulberry extract, three samples were taken, and each sample was tested in triplicate. Each example was examined with three repetitions. Furthermore, the physical, biochemical, and nutritional characteristics of the black mulberry extracts produced by SEM-AS Gıda Sanayi

Ticaret Ltd. Şti. were ascertained for comparative purposes with the other extracts. The black mulberry extracts from all brands were assigned codes to maintain ethical standards. All figures and tables included in the text are provided in the appendix.

Methods

pH Value

The pH values of each sample were determined using a pH meter (Hanna, HI 2020, US) in accordance with the TS 1728 ISO 1842 standard. Measurements were conducted at a controlled temperature of 20°C to ensure accuracy and consistency. Each sample was measured in triplicate to ensure the reliability and reproducibility of the results.

Electrical Conductivity

The electrical conductivity of each sample was measured using a conductivity meter (Ohaus, St300c, US). Measurements were performed at a constant temperature of 20°C. To ensure the precision of the readings, samples were diluted with deionized ultra-pure water (Millipore, Synergy, Germany), which has a conductivity of 0.0006 Ms/cm. Each sample was measured in triplicate to confirm the consistency and accuracy of the data.

Determination of Soluble Solids Content (Brix°)

The soluble solid content of the samples was measured using a tabletop manual refractometer (Refrakto Abbe, Ertich, Abbe-2, Germany). The results were expressed in degrees Brix (°), with the final values reported as percentages of Brix°. Each measurement was conducted in triplicate to ensure the dependability and precision of the results.

Determination of viscosity

The viscosity of the black mulberry extracts was measured using a First Plus Viscometer. The measurements were conducted with an R-4 spindle at a speed of 200 rpm for 60 seconds.

Ash Determination

The determination of ash content was conducted using the gravimetric method, as described by

Czaja (2020). A precision scale (RADWAG, AS220.R2, Poland) was employed for the analysis. Approximately 2 g of each sample, measured with an accuracy of 0.01 mg, were placed in porcelain crucibles that had been brought to a constant weight. The samples were first incinerated using a Bunsen burner flame and then heated in a muffle furnace at 550°C until they turned light gray-white. The samples were then weighed, and the ash content was determined as a percentage. Each sample was analyzed in triplicate to ensure the accuracy and reproducibility of the results.

Determination of Density

In this study, the densities of the black mulberry extracts were determined using a pycnometer, a standard instrument for such measurements.

Hydroxymethylfurfural (HMF) Determination

The quantification of HMF was performed by weighing a 5 g sample from each sample with a precision of 0.01 mg and dissolving it in 100 mL of ultrapure water. Following this, 2 mL of Carrez I solution (15 g potassium ferrocyanide dissolved in pure water and diluted to 100 mL) and Carrez II solution (30 g zinc acetate dissolved in pure water and diluted to 100 mL) were added to the sample. The resulting solution was filtered through a 0.45 µm filter. Subsequently, 2 mL of the filtrate was transferred to two separate test tubes. To each tube, 5 mL of p-toluidine solution (Sigma-Aldrich, Munich, Germany) was added. Then, 1 mL of barbituric acid solution (Sigma-Aldrich, Munich, Germany) was added to one tube (sample) and 1 mL of pure water to the other (blank). The tubes were thoroughly mixed, and the absorbance values at 550 nm were measured using a spectrophotometer (SHIMADZU, UV-1900I, Japan). The results were multiplied by a correction factor of 192 to calculate HMF content in mg/kg (Güngör 2007). Each sample was measured in triplicate to ensure reliability.

$$HMF = A \times 192 \quad (\text{Equation 1})$$

Water Activity Determination

The water activity (a_w) of the samples was measured using a water activity meter (Novasina Labmaster, 1119971, Switzerland) at room temperature. Each sample was measured in

triplicate to guarantee the accuracy and consistency of the results.

Determination of Protein

The protein content in black mulberry was determined using the Kjeldahl method by measuring nitrogenous compounds and multiplying by a factor of 6.25, as recommended by Bremner (1965). The results were expressed as a percentage (Koyuncu et al. 2014).

Hunter Color Analysis (L^ , a^* , b^*)*

The Hunter color values (L^* , a^* , b^*) of the samples were determined using a color measurement device (Konica Minolta, CR-410, Japan). The L^* value represents lightness (100: white, 0: black), the a^* value represents the red-green spectrum ($+a^*$: red, $-a^*$: green), and the b^* value represents the yellow-blue spectrum ($+b^*$: yellow, $-b^*$: blue). Each measurement was conducted in triplicate to ensure precision and reproducibility.

Determination of Titratable Acidity

The titratable acidity of the samples was assessed following the guidelines outlined in TS 1125 ISO 750. Initially, a 25 mL aliquot of each sample was appropriately diluted to a final volume of 250 mL. Subsequently, a 50 mL portion of this diluted solution underwent titration using a standardized 0,1 N sodium hydroxide (NaOH) solution (Merck, Darmstadt, Germany) with phenolphthalein employed as the indicator (Işık and Çelik 2023).

Sugar Profile Analyses

Quantitative analysis of glucose, fructose, sucrose, maltose, and lactose within the samples was performed using high-performance liquid chromatography (HPLC) in accordance with the DIN 10758 methodology. This methodology is universally applicable across diverse food matrices, such as honey, jams, marmalades, molasses, confectionery, and fruit juices. Calibration standards encompassing glucose, fructose, and sucrose at concentrations of 10000, 15000, and 20000 ppm were meticulously prepared and injected into the HPLC system (SHIMADZU, Reservoir Tray, Japan) to

construct a robust calibration curve. Following precise weighing (to 0.01 mg) of 5 g of each sample, dissolution in 40 mL of water ensued. This solution, along with 25 mL of methanol, were quantitatively transferred to a volumetric

flask and made up to a final volume of 100 mL with water. Before HPLC analysis, the resultant mixture underwent filtration through a 0.45 µm filter. Detailed chromatographic parameters are delineated in Table 1.

Table 1. Chromatographic conditions for HPLC

Device	HPLC SHIMADZU, Reservoir Tray model
Mobile Phase	Water/Acetonitrile solution (20/80)
Detector	Agilent RID Detector, wavelength 284 nm
Column	Agilent Zorbax NH2 analytical column (4.6x250 mm, 5 µm)
Flow Rate	1.8 mL/min
Column Temperature	30 °C
Injection Volume	20 µL

Determination of Sorbic acid and Benzoic acid

This investigation employed high-performance liquid chromatography (HPLC) to perform quantitative analysis of benzoic acid and sorbic acid. The sample preparation adhered to the protocol outlined by the Nordic Committee on Food Analysis, specifically the method titled “Liquid Chromatographic Determination of Benzoic Acid, Sorbic Acid, and p-Hydroxybenzoic Acid Esters in Foods” (Karataşlı et al. 2026).

The chromatographic separation of benzoic acid and sorbic acid was facilitated using a C18 column (Agilent, 250 mm length, 4.6 mm outer diameter, inclusive of 5 µm silica particles). The mobile phase was a mixture of an acetate buffer (pH=4.74) and methanol in a 65:35 ratio. The column was conditioned before the analysis by passing the mobile phase through it at a flow rate of 1 ml/min for approximately 40 minutes. The flow rate of the mobile phase was consistently maintained at 1 ml/min throughout the chromatographic separation process. The detection of benzoic acid and sorbic acid was performed at a wavelength of 250 nm.

Determination of Synthetic paint

In this study, the presence of synthetic colorants, which are frequently incorporated into food substances during the manufacturing process, was verified in blackberry extracts. This verification

was based on the NMKL-130 method and utilized an HPLC device for the analysis.

Antioxidant Assessment

The antioxidant capacity of the samples was quantified utilizing the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay. The FRAP methodology is predicated on the reduction of the Fe(III)-TPTZ complex-2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazine- (Sigma-Aldrich, Munich, Germany) in the presence of antioxidants, leading to the formation of the blue Fe(II)-TPTZ complex. This complex exhibits peak absorbance at 593 nm when measured using a spectrophotometer (SHIMADZU, UV-1900I, Japan) (Benzie and Strain 1996).

A calibration curve was established using a range of concentrations of FeSO₄.7H₂O (Sigma-Aldrich, Munich, Germany) (31,25/62,5/125/250/500/1000 µM) (Figure 1). The FRAP reagent, a mixture of 300 mM pH 3.6 acetate buffer (Merck, Darmstadt, Germany), 10 mM TPTZ, and 20 mM FeCl₃ (Sigma-Aldrich, Munich, Germany) in a 10:1:1 ratio, was prepared. A volume of 3 mL of this reagent was combined with 100 µL of the sample.

The results were benchmarked against a standard FeSO₄.7H₂O, tested under identical conditions and expressed as the µM FeSO₄.7H₂O equivalent antioxidant power. The pipetting procedure was executed as delineated in Table 2 (Can et al. 2015).

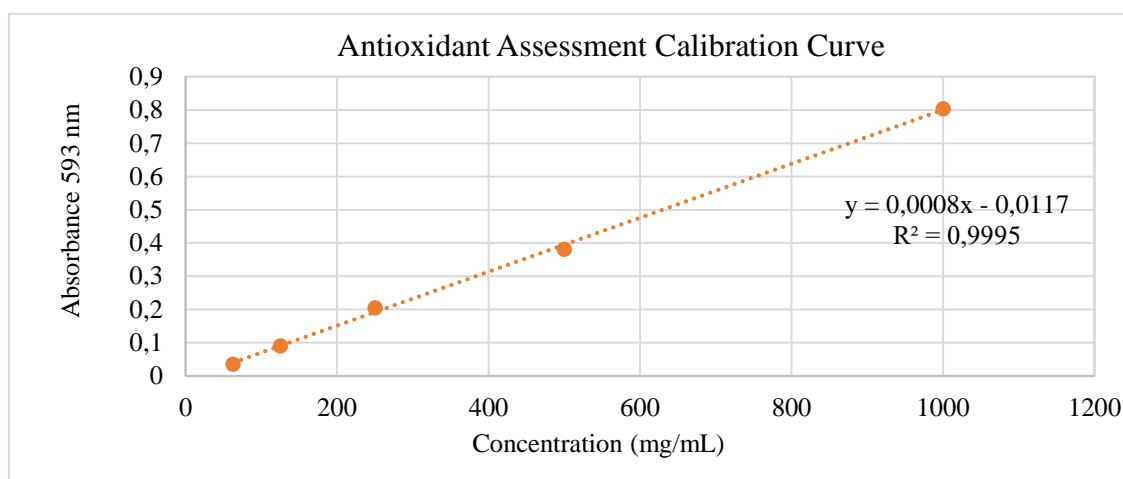


Figure 1. Antioxidant assessment calibration curve

Table 2. Pipetting procedure in FRAP determination.

	Blank MeOH	Test (Sample)	Color Blank MeOH	FeSO ₄ .7H ₂ O
FRAP Reagent	3 mL	3 mL	-	3 mL
Sample	-	100 µL	100 µL	-
FeSO ₄ .7H ₂ O (Variable Conc.)	-	-	-	100 µL
Methanol	100 µL	-	3 mL	-

In the 4th minute, absorbance is read at 593 nm.

Color Blank MeOH: Color blank for the sample dissolved in methanol.

Total Polyphenol Analysis

The quantification of total phenolic content is predicated on a redox reaction, wherein phenolic compounds reduce the Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, Munich, Germany), an oxidative compound in a basic medium, thereby transforming them into their oxidized forms. Subsequent to this reaction, the total quantity of phenolic compounds present in the sample is ascertained by measuring the absorbance of the resultant purple-blue color of the reduced reagent

using a spectrophotometer (SHIMADZU, UV-1900I, Japan) at 760 nm.

For the construction of the standard curve, a range of concentrations of gallic acid (1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, and 0.015625 mg/mL) were employed (Figure 2). The total polyphenol content was quantified in terms of gallic acid (Sigma-Aldrich, Munich, Germany) equivalents (Slinkard and Singleton 1977). The comprehensive procedures for the quantification of total polyphenols are delineated in Table 3.

Table 3. Pipetting procedure for total polyphenolic determination

	Blank	Standard	Sample
Distilled Water	700 µL	680 µL	680 µL
Standard (Various Conc.)	-	20 µL	-
Mixture Samples	-	-	20 µL
0,2 N Folin Reagent	400 µL	400 µL	400 µL

The tubes were mixed by vortex, and after three minutes, the following chemical was added.

%10 Na ₂ CO ₃	400 µL	400 µL	400 µL
-------------------------------------	--------	--------	--------

The absorbance was read against the blank at 760 nm.

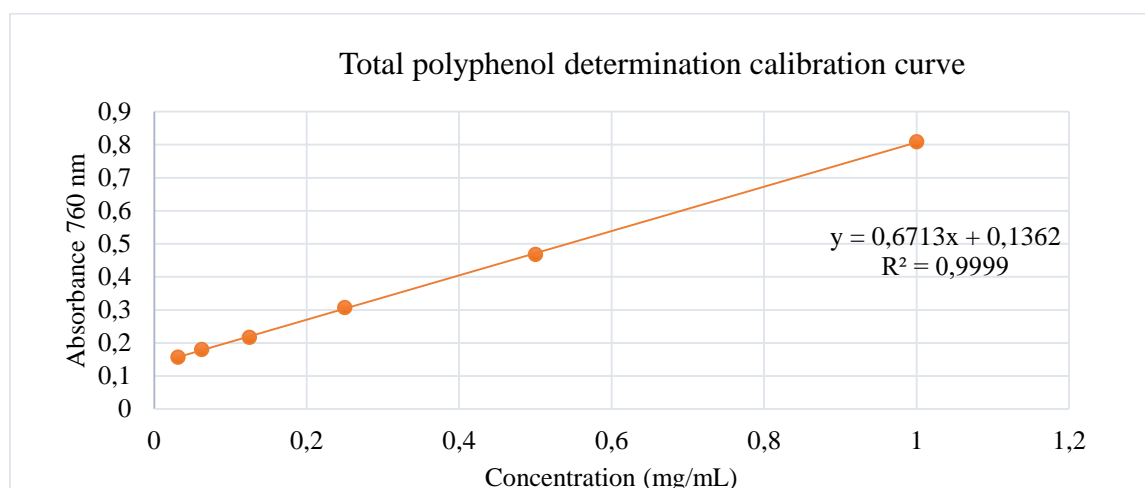


Figure 2. Total polyphenol determination calibration curve

DPPH• Radical Scavenging Activity Analysis

The DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical, a synthetic free radical commercially available, is utilized as a model for quantifying antioxidant activity. The radical form, which exhibits an absorbance at 517 nm, undergoes a color change upon reduction in the presence of an antioxidant agent (Table 4). The efficacy of

DPPH radical scavenging was quantified in terms of SC₅₀, a parameter defined as the concentration of the antioxidant agent required to reduce (scavenge) 50% of the radical (Cuendet et al. 1997). A graphical representation was constructed with concentration plotted against absorbance, facilitating the calculation of the SC₅₀ value in mg/ml.

Table 4. Pipetting procedure in DPPH determination.

	Blank	Color Blank	Sample
Sample (Black Mulberry Extract)	-	750 µL	750 µL
Methanol	750 µL	750 µL	-
DPPH•	750 µL	-	750 µL

In the 40 minutes, absorbance is read at 517 nm.

Color Blank MeOH: Color blank for the sample dissolved in methanol.

Total Flavonoid Substance Analysis

Flavonoids, representing the most extensive subclass within the polyphenol family, are notable bioactive constituents of honey. The total flavonoid content in honey was quantified employing the spectrophotometric method, specifically the aluminum chloride method (Fukumoto and Mazza 2000). The absorbance of the colored complex, formed due to the redox reaction between the flavonoids present in honey and aluminum (III), was measured at 415 nm. A standard working graph or calibration graph was established using a Quercetin standard (1 mg/ml).

Working solutions of varying concentrations (0.500/ 0.250/ 0.125/ 0.062/ 0.031 and 0.015 mg/ml) were prepared through serial dilution, and their respective absorbance values were recorded in accordance with the method (Table 5). A standard calibration graph was subsequently generated by plotting the absorbance values against the Quercetin concentration. The results were expressed as mg Quercetin equivalent (mg QE/100 g).

Table 5. Pipetting procedure in Flavonoid determination.

	Blank	Color Blank	Standard	Sample
Sample	-	250 µL	-	250 µL
Standard (Quercetine)	-	-	250 µL	-
Methanol	2.4 mL	2.25 mL	2.15 mL	2.15 mL
10% Al(NO ₃) ₃	50 µL	-	50 µL	50 µL
1M NH ₄ CH ₃ COO	50 µL	-	50 µL	50 µL

In the 4th minute, absorbance is read at 415 nm.

Color Blank MeOH: Color blank for the sample dissolved in methanol.

Determination of Mineral Content

In this research, a homogeneous sample weighing approximately 0.5 g was placed into a Teflon crucible, to which 6 mL of pure HNO₃ and 3 mL of H₂O₂ (both sourced from Sigma-Aldrich, Munich, Germany) were added. The samples were incinerated in a Milestone microwave oven, and the resultant ashes were diluted with distilled water to achieve a total volume of 25 mL. The mineral constituents within the samples, encompassing calcium (Ca), sodium (Na), phosphorus (P), and potassium (K), were ascertained utilizing an Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) (Thermo ICAP, 7400, Japan) (Yıldız et al. 2009).

Carbon isotope analysis (C13)

The most prevalent method for detecting sugar additives in fruit extracts today is ¹³C analysis, a technique first implemented in 1978 (Padovan et al. 2007). This method relies on the carbon isotope difference (¹³C/¹²C) between the fruit protein fraction, serving as a qualitative and quantitative indicator of the purity of the fruit extract. The ¹³C analysis is an isotopic technique used to detect fruit extracts fed with sugar; it is based on the differences in isotope ratios between C3 and C4 naturally present in plants due to photosynthesis.

The ¹³C analysis, an isotopic technique used to detect sugar-fed fruit extracts, is based on the differences in isotope ratios between C3 and C4 naturally present in plants due to photosynthesis. Typically, in C4 plants, this ratio is between -22% and -35% compared to nectar-bearing C3 plants. This analysis method, which detects adulteration in fruit extracts produced or fed with externally

added C4 sugar, involves the complete combustion of the protein solution obtained from the fruit extract. The resulting CO₂ gas contains a C atom with a ¹³C/¹²C ratio, which is determined by mass spectrometry, and the % C4 sugar ratio is calculated from this value.

RESULTS and DISCUSSION

The results of the physical, chemical, and nutritional properties of black mulberry extracts sold by various companies in Türkiye, as well as BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix products, are presented in Tables 6-14.

The results of the analysis indicated that the brix values of black mulberry extracts exhibited considerable variability, ranging from 41.9 to 81.8, with an overall mean of approximately 75 brix. The pH values of black mulberry extracts showed a similarly wide range, spanning from 1.76 to 4.9. The literature review revealed that the pH value of black mulberry fruit varies from 2.60 to 4.00. The pH value of the BME-34 and 35 brand black mulberry extract was 3.5. Upon examination of the density values of all black mulberry extracts, it was found that they fall within the range of 1.36 to 1.43 g/cm³ (Table 6).

When the colour analysis was examined, it was determined that the redness value of blackberry extracts containing synthetic dyes was higher, although there was no obvious difference (Table 6). When the water activity of black mulberry extracts was analysed, it was found to vary from 0.555 to 0.934. Considering the viscosity results, it was found that they varied from 795 to 56263 cP (Table 7).

Black mulberry extracts: Biochemical composition and adulteration detection

Table 6. Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	% Brix°	pH	Density (g/cm ³)	Hunter color parameters		
				L*	a*	b*
BME-1	76.0±1.1	2.53±0.03	1.39±0.01	18.14±0.2	1.86±0.03	0.7±0.01
BME-2	75.6±1.2	1.86±0.01	1.42±0.01	18.36±0.4	2.31±0.01	1.01±0.04
BME-3	76.3±0.9	1.85±0.01	1.39±0.00	18.25±0.7	1.64±0.06	0.95±0.02
BME-4	75.8±1.4	2.44±0.01	1.41±0.01	18.13±0.1	1.73±0.07	0.73±0.04
BME-5	77±1.1	2.48±0.02	1.38±0.03	17.99±0.8	0.24±0.08	0.44±0.06
BME-6	75.7±1.3	2.03±0.03	1.37±0.01	18.29±0.5	0.18±0.01	0.52±0.02
BME-7	76±0.7	2.58±0.04	1.39±0.02	18.01±0.4	0.2±0.07	0.44±0.05
BME-8	79±1.6	2.08±0.01	1.41±0.01	18.36±0.6	1.95±0.05	0.88±0.01
BME-9	75.3±1.8	1.76±0.02	1.37±0.00	19.47±0.9	1.7±0.09	0.73±0.01
BME-10	41.9±0.5	2.33±0.02	1.18±0.01	18.44±0.3	0.37±0.01	0.46±0.02
BME-11	80.2±0.6	1.93±0.03	1.43±0.04	18.18±0.5	0.54±0.03	0.69±0.04
BME-12	73.1±1.4	3.61±0.01	1.38±0.02	18.63±0.3	-0.18	1.07±0.04
BME-13	77.6±0.4	1.95±0.02	1.43±0.01	18.19±0.8	0.32±0.01	0.57±0.07
BME-14	78.7±0.7	2.01±0.03	1.39±0.02	18.81±0.2	3.11±0.03	1.74±0.02
BME-15	77.4±0.7	2.04±0.04	1.41±0.02	19.72±0.4	0.45±0.01	0.4±0.01
BME-16	75.5±0.9	2.05±0.03	1.37±0.03	18.58±0.6	0.79±0.02	0.68±0.05
BME-17	82.1±1.4	4.39±0.02	1.4±0.02	18.31±0.1	-0.14	0.84±0.06
BME-18	81.7±0.9	4.46±0.03	1.43±0.01	18.79±0.5	-0.32	1.41±0.09
BME-19	80.8±1.4	4.37±0.02	1.4±0.01	18.44±0.7	-0.05	0.94±0.01
BME-20	79.6±1.1	2.28±0.01	1.39±0.00	18.06±0.3	0.78±0.02	0.48±0.01
BME-21	76.7±1.7	2.24±0.02	1.39±0.00	17.91±0.7	0.22±0.03	0.25±0.03
BME-22	75.3±1.4	2.05±0.01	1.43±0.01	18.02±0.3	0.35±0.03	0.41±0.02
BME-23	81±0.7	4.9±0.01	1.42±0.02	18.21±0.4	0.33±0.03	0.44±0.04
BME-24	80.6±1.2	4.62±0.02	1.39±0.04	19.4±0.6	-0.12	2.33±0.07
BME-25	80.2±1.4	4.61±0.01	1.4±0.03	18.13±0.3	0.35±0.01	0.47±0.08
BME-26	75.1±1.4	2.06±0.02	1.36±0.01	17.99±0.4	0.38±0.01	0.45±0.06
BME-27	75.8±1.2	2.01±0.01	1.37±0.01	18.08±0.7	0.31±0.01	0.45±0.07
BME-28	33.5±0.3	2.14±0.04	1.38±0.01	18.35±0.5	1.55±0.02	0.83±0.07
BME-29	79.7±1.2	2.32±0.02	1.39±0.02	18.47±0.2	1.21±0.07	0.91±0.05
BME-30	75.5±1.1	2.07±0.03	1.43±0.02	18.18±0.2	1.89±0.05	0.65±0.01
BME-31	73.6±0.8	2.54±0.03	1.37±0.03	18.39±0.3	2.13±0.06	1.01±0.03
BME-32	77.3±1.2	2.1±0.03	1.38±0.01	18.11±0.6	0.98±0.03	0.88±0.02
BME-33	75±0.8	2.2±0.02	1.39±0.03	18.37±0.9	1.84±0.04	0.76±0.05
BME-34	81.8±1.6	3.5±0.02	1.4±0.02	18.05±0.1	0.39±0.08	0.41±0.02
BME-35	60±1.3	2.7±0.01	1.36±0.03	18.01±0.2	0.42±0.09	0.45±0.07

Table 7. Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	Water Activity (a_w)	% Ash	Viscosity (cP)	HMF (mg/kg)
BME-1	0.761±0.13	0.09±0.01	6698±62	14±1
BME-2	0.731±0.10	0.06±0.01	6721±47	92±2
BME-3	0.727±0.12	0.05±0.01	6624±101	275±5
BME-4	0.782±0.87	0.06±0.01	6333±42	12±1
BME-5	0.721±0.17	0.05±0.00	6952±121	137±8
BME-6	0.727±0.15	0.15±0.02	4404±53	980±12
BME-7	0.777±0.13	0.07±0.01	6922±81	40±2
BME-8	0.681±0.21	0.035±0.00	11524±113	100±3
BME-9	0.72±0.18	0.005±0.00	3753±78	176±5
BME-10	0.934±0.11	0.14±0.01	795±71	77±3
BME-11	0.742±0.19	0.38±0.03	53207±167	376±8
BME-12	0.745±0.27	0.35±0.03	17834±101	272±15
BME-13	0.784±0.32	0.08±0.01	15141±121	72±6
BME-14	0.685±0.10	0.17±0.02	12349±47	114±11
BME-15	0.71±0.31	0.32±0.03	17650±203	870±25
BME-16	0.804±0.22	0.19±0.02	10800±59	154±12
BME-17	0.555±0.19	1.37±0.01	51496±236	55±3
BME-18	0.558±0.25	1.53±0.02	56263±245	64±7
BME-19	0.568±0.21	1.46±0.03	32575±282	52±11
BME-20	0.785±0.12	0.14±0.01	14953±168	132±7
BME-21	0.801±0.14	0.055±0.01	20545±153	49±3
BME-22	0.814±0.33	0.13±0.01	13864±109	135±11
BME-23	0.569±0.17	0.38±0.01	28822±80	15±3
BME-24	0.572±0.17	0.78±0.01	20603±73	66±7
BME-25	0.581±0.24	0.84±0.04	28263±82	244±18
BME-26	0.749±0.26	0.03±0.00	3933±221	119±21
BME-27	0.809±0.17	0.085±0.00	6589±78	21±3
BME-28	0.798±0.11	0.41±0.01	12895±98	453±31
BME-29	0.813±0.24	0.02±0.00	13684±105	339±18
BME-30	0.804±0.17	0.32±0.00	32134±155	165±11
BME-31	0.752±0.11	0.11±0.01	22890±86	532±15
BME-32	0.791±0.12	0.2±0.01	10903±59	105±9
BME-33	0.777±0.18	0.09±0.01	16534±167	229±17
BME-34	0.562±0.19	1.96±0.01	38906±137	48±21
BME-35	0.792±0.32	1.78±0.02	2459 ±42	35±3

Upon analysis of the ash content of black mulberry extracts, it was observed that the ash values were generally low, indicating that the products were low in minerals. While the lowest ash content was 0.005%, the highest ash content was 1.53%. The ash content of the BME-34 brand black mulberry extract was 1.96%, while that of the BME-35 black mulberry mix was 1.78%. This indicates that the latter is rich in minerals (Table 7).

Taking a look into the analysis of the HMF (5-Hydroxymethyl Furfural) values of black mulberry extracts, it was observed that they exhibited a considerable range, spanning from 12 to 980. The HMF value, known to be harmful to human health, especially in products subjected to high temperatures, was elevated in most products. The HMF value was 48 in the BME-34 brand black mulberry extract and 35 in the BME-35 black mulberry mix (Table 7).

The acidity values of black mulberry extracts ranged from 0.29 to 3.26 (citric acid equivalent) g/100 mL, while the conductivity values were observed to vary from 475 to 2970 $\mu\text{S}/\text{cm}$. The electrical conductivity of the BME-34 brand blackberry extract was 4100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Table 8).

Upon examination of the protein content of black mulberry extracts, it was observed that they demonstrated a very low protein content. The protein content of black mulberry extracts exhibited a range of values between 0.078 and 0.4%. The protein content of the BME-34 brand black mulberry extracts was calculated to be 1.5%, consistent with the literature and 1.2% in the BME-35 black mulberry mix (Table 8).

When the sugar profile of black mulberry fruit was examined, it was observed that the fructose/glucose ratio should be close to 1, there should be no sucrose in it, and the maltose maximum should be around 2%. It was also confirmed with the literature. It was determined that the fructose/glucose ratio of many extracts did not match the expected value and contained additional maltose. Some black mulberry extracts were even found to contain sucrose. It was

deduced that the fructose content of black mulberry extracts showed a considerable range, varying from 1.48 to 28.37%. Similarly, the glucose content exhibited a wide range, varying from 2.3 to 38.26%. In most products, the maltose content exceeded 20%, while in some instances, sucrose was present at a concentration of up to 11%. In the case of the BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix, the fructose-to-glucose ratio did not contain sucrose in a concentration close to 1. Furthermore, it was noted that no additional maltose was added (Table 9).

The preservative content of black mulberry extracts was analysed, and it was found that many extracts contained sorbic acid and benzoic acid. Sorbic acid was added between 37 and 446 mg/kg, and benzoic acid was added between 38 and 844 mg/kg in black mulberry extracts. The BME-34 brand blackberry extract and BME-35 mix were found to contain no preservatives (Table 10). Dyes were utilized in many of the extracts to impart coloration. No evidence of the use of dyes was found in the BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix (Table 10).

To ascertain the presence of sweeteners in black mulberry extracts, an investigation was conducted to determine the presence of various sweeteners. The most commonly used sweeteners, namely Acesulfame-K, Saccharine, Aspartame and Sucralose were analysed for this purpose. The results of the analyses indicated that some black mulberry extracts contained Acesulfame-K (30-204 mg/kg), saccharine (34-134 mg/kg), aspartame (2.6-25 mg/kg) and sucralose (0.78-12.8 mg/kg). The BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix were devoid of any sweetener (Table 11).

The results of the analyses conducted to determine the mineral content of black mulberry extracts revealed that the mineral values of the extracts were relatively low. In particular, the amounts of calcium, potassium, sodium and phosphorus, which were most abundant in black mulberry, were analysed. The results

demonstrated that the mineral contents of all BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix was high (Table 12).
extracts were low. The mineral content of the

Table 8. Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	Acidity (Citric acid eq.) (g /100 mL)	Electrical Conductivity (μ S/cm)	% Protein
BME-1	0.94 \pm 0.05	492 \pm 15	0.1 \pm 0.01
BME-2	1.86 \pm 0.07	483 \pm 22	0.2 \pm 0.01
BME-3	1.67 \pm 0.09	475 \pm 17	0.2 \pm 0.01
BME-4	1.24 \pm 0.06	622 \pm 11	0.05 \pm 0.01
BME-5	1.18 \pm 0.06	626 \pm 13	n.d.
BME-6	0.9 \pm 0.02	772 \pm 27	0.03 \pm 0.01
BME-7	1.02 \pm 0.07	575 \pm 12	0.07 \pm 0.01
BME-8	0.86 \pm 0.07	570 \pm 16	0.1 \pm 0.01
BME-9	2.18 \pm 0.09	989 \pm 19	n.d.
BME-10	1.63 \pm 0.07	884 \pm 18	n.d.
BME-11	1.35 \pm 0.03	765 \pm 22	0.09 \pm 0.02
BME-12	0.81 \pm 0.03	885 \pm 23	0.06 \pm 0.00
BME-13	3.26 \pm 0.17	1235 \pm 47	0.3 \pm 0.01
BME-14	0.97 \pm 0.05	596 \pm 15	0.04 \pm 0.02
BME-15	0.79 \pm 0.03	615 \pm 10	0.1 \pm 0.02
BME-16	2.31 \pm 0.08	856 \pm 24	0.03 \pm 0.02
BME-17	0.54 \pm 0.07	2450 \pm 57	0.3 \pm 0.01
BME-18	0.43 \pm 0.06	2970 \pm 59	n.d.
BME-19	0.5 \pm 0.08	2955 \pm 62	0.16 \pm 0.03
BME-20	3.25 \pm 0.19	1119 \pm 39	0.23 \pm 0.05
BME-21	1.42 \pm 0.04	803 \pm 22	0.4 \pm 0.03
BME-22	2.41 \pm 0.09	879 \pm 14	0.11 \pm 0.01
BME-23	0.29 \pm 0.06	2653 \pm 47	0.3 \pm 0.04
BME-24	0.33 \pm 0.01	1380 \pm 33	n.d.
BME-25	0.4 \pm 0.05	367 \pm 17	0.3 \pm 0.01
BME-26	1.95 \pm 0.32	922 \pm 18	n.d.
BME-27	2.23 \pm 0.23	1115 \pm 26	0.36 \pm 0.02
BME-28	1.34 \pm 0.02	882 \pm 18	0.17 \pm 0.01
BME-29	1.56 \pm 0.08	757 \pm 28	n.d.
BME-30	1.28 \pm 0.05	1064 \pm 43	n.d.
BME-31	1.17 \pm 0.09	736 \pm 11	0.078 \pm 0.00
BME-32	1.24 \pm 0.08	670 \pm 25	0.13 \pm 0.03
BME-33	1.33 \pm 0.16	1145 \pm 33	0.28 \pm 0.04
BME-34	0.8 \pm 0.01	4100 \pm 86	1.5 \pm 0.01
BME-35	0.97 \pm 0.02	1875 \pm 78	1.2 \pm 0.02

Black mulberry extracts: Biochemical composition and adulteration detection

Table 9. Sugar Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	% Fructose	% Glucose	% Saccharose	% Maltose	F/G Ratio
BME-1	4.57±0.4	13.02±0.01	n.d.	30.18±0.06	0.351
BME-2	16.8±0.2	20.31±0.01	n.d.	20.05±0.02	0.827
BME-3	13.74±0.5	24.13±0.01	n.d.	11.41±0.1	0.569
BME-4	3.38±0.6	9.47±0.01	0.42±0.03	28.58±0.9	0.357
BME-5	12.62±0.8	21.56±0.02	n.d.	20.81±0.3	0.585
BME-6	16.16±0.5	21.01±0.01	n.d.	16.23±0.07	0.769
BME-7	4.24±0.9	11.75±0.03	n.d.	31.79±0.4	0.361
BME-8	16.34±0.1	23.05±0.02	n.d.	19.21±0.07	0.709
BME-9	16.69±0.1	19.67±0.02	n.d.	18.09±0.03	0.849
BME-10	7.08±0.2	9.32±0.01	n.d.	10.83±0.9	0.760
BME-11	1.48±0.2	4.38±0.01	0.3±0.01	35.05±0.05	0.338
BME-12	17.81±0.3	21.55±0.00	n.d.	14.57±0.08	0.826
BME-13	0.073±0.0	1.87±0.00	0.3±0.03	37.78±0.6	0.039
BME-14	17.49±0.1	20.12±0.01	n.d.	20.12±0.5	0.869
BME-15	14.73±0.2	20.03±0.01	0.3±0.01	18.53±0.09	0.735
BME-16	0.19±0.0	2.94±0.00	0.29±0.01	36.38±0.00	0.065
BME-17	20.89±0.1	34.14±0.03	12.06±0.04	1.22±0.01	0.612
BME-18	24.25±0.2	38.26±0.01	11.1±0.02	0.75±0.6	0.634
BME-19	24.94±0.1	37.36±0.02	0.33±0.05	0.31±0.08	0.668
BME-20	0.34±0.2	5.56±0.01	n.d.	37.87±0.8	0.061
BME-21	0.076±0.0	2.38±0.04	0.3±0.02	40.83±0.05	0.032
BME-22	0.25±0.0	1.86±0.05	n.d.	37.56±0.3	0.134
BME-23	20.44±0.5	30.68±0.01	0.92±0.01	19.46±0.5	0.666
BME-24	20.42±0.9	30.77±0.00	0.43±0.03	21.32±0.7	0.664
BME-25	28.37±0.2	29.74±0.02	1.14±0.04	14.99±0.3	0.954
BME-26	8.81±0.2	17.71±0.02	n.d.	21.76±0.9	0.497
BME-27	0.08±0.1	2.3±0.01	n.d.	37.8±0.2	0.035
BME-28	12.63±0.5	12.2±0.01	n.d.	0.2±0.00	1.035
BME-29	11.8±0.1	17.17±0.02	n.d.	23.11±0.04	0.687
BME-30	0.36±0.05	2.7±0.4	0.86±0.04	39.45±0.06	0.133
BME-31	13.67±0.6	17.45±0.45	1.1±0.32	22.54±0.4	0.783
BME-32	16.82±0.3	23.5±0.06	n.d.	18.54±0.9	0.716
BME-33	6.21±0.6	10.45±0.08	n.d.	34.72±1.7	0.594
BME-34	35.83±0.4	36.75±0.07	n.d.	1.49±0.05	0.975
BME-35	28.54±0.06	28.89±0.12	n.d.	1.05±0.07	0.988

Table 10. Protector and Paint Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	Sorbic Acid (mg/kg)	Benzoic Acid (mg/kg)	Synthetic paint
BME-1	224.5±8.3	351.6±14.76	n.d.
BME-2	81.98±3.03	n.d.	Positive
BME-3	229.6±10.1	n.d.	Positive
BME-4	189.5±5.2	288.9±11.5	Positive
BME-5	n.d.	303.34±15.9	Positive
BME-6	176.9±6-8	n.d.	Positive
BME-7	103.5±11.4	207.22±10.8	Positive
BME-8	n.d.	n.d.	n.d.
BME-9	165.49±12.7	189.4±9.6	n.d.
BME-10	445.94±16.5	843.78±35.4	Positive
BME-11	n.d.	n.d.	Positive
BME-12	102.6±3.8	n.d.	n.d.
BME-13	37.23±56	48.8±2.6	Positive
BME-14	n.d.	57.3±6.1	Positive
BME-15	15.08±0.56	38±0.56	Positive
BME-16	80.9±3	182.4±7.7	n.d.
BME-17	124.75±7.8	n.d.	n.d.
BME-18	305.77±8.9	413.9±12.8	Positive
BME-19	219.44±12.8	276.90±17.9	n.d.
BME-20	n.d.	n.d.	n.d.
BME-21	n.d.	146.14±6.14	Positive
BME-22	n.d.	56.88±10.9	Positive
BME-23	175.8±7.91	n.d.	n.d.
BME-24	116.93±13.5	n.d.	n.d.
BME-25	74.76±2.8	135.55±23.4	n.d.
BME-26	n.d.	n.d.	Positive
BME-27	49.2±1.9	96.9±2.26	Positive
BME-28	n.d.	241.98±13.2	n.d.
BME-29	n.d.	n.d.	Positive
BME-30	102.55±6.1	108.89±4.7	Positive
BME-31	89.45±8.4	95.34±2.9	Positive
BME-32	181.5±5.7	278.9±12.54	n.d.
BME-33	171.8±7.1	n.d.	Positive
BME-34	n.d.	n.d.	n.d.
BME-35	n.d.	n.d.	n.d.

Black mulberry extracts: Biochemical composition and adulteration detection

Table 11. Sweetener Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	Acesulfame-K (mg/kg)	Saccharine (mg/kg)	Aspartam (mg/kg)	Sucralose (mg/kg)
BME-1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-3	56.73±3.5	52.9±1.8	18.54±2.2	7.15±1.2
BME-4	n.d.	103.92±4.2	n.d.	n.d.
BME-5	101.63±7.8	n.d.	3.7±0.9	n.d.
BME-6	n.d.	n.d.	25.32±4.3	12.8±2.3
BME-7	143.62±8.4	65.7±9.5	n.d.	n.d.
BME-8	n.d.	n.d.	5.8±0.75	n.d.
BME-9	76.30±11.7	19.4±2.8	n.d.	5.2±0.76
BME-10	168.93±7.1	104.4±4.7	21.03±2.11	n.d.
BME-11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-12	n.d.	n.d.	13.11±1.12	n.d.
BME-13	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-14	203.77±13.4	89.5±4.2	n.d.	2.8±0.3
BME-15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-16	178.86±9.5	133.96±6.03	n.d.	n.d.
BME-17	n.d.	n.d.	2.6±0.7	0.78±0.13
BME-18	n.d.	42.6±11.9	n.d.	n.d.
BME-19	55.23±8.2	n.d.	n.d.	n.d.
BME-20	104.57±3.8	34.5±3.0	13.76±3.11	n.d.
BME-21	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-22	108.65±4.2	64.8±5.5	n.d.	n.d.
BME-23	116.7±6.5	n.d.	n.d.	n.d.
BME-24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-25	n.d.	n.d.	3.8±0.55	n.d.
BME-26	83.7±5.7	43.35±3.8	n.d.	n.d.
BME-27	61.3±7.2	n.d.	n.d.	n.d.
BME-28	n.d.	69.32±1.9	4.2±0.3	n.d.
BME-29	29.5±7.2	n.d.	18.9±2.4	n.d.
BME-30	n.d.	101.56±5.2	n.d.	n.d.
BME-31	n.d.	n.d.	2.9±0.11	n.d.
BME-32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-33	78.34±6.4	n.d.	8.31±1.05	n.d.
BME-34	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-35	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Table 12. Mineral Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	Calcium (Ca)	Potassium (K)	Sodium (Na)	Phosphorus (P)
BME-1	35.1±7.4	216±45.4	108.4±22.8	50.4±10.6
BME-2	30±6.3	36.9±7.7	64.4±13.5	16.3±3.4
BME-3	43.6±6.3	103.4±9.5	69.3±10.8	12.8±3.3
BME-4	57.21±12.8	52.5±12.7	57.2±8.45	19.34±3.8
BME-5	27.83±7.2	67.5±6.8	48.7±4.5	24.5±6.2
BME-6	98.44±13.42	98.7±7.7	77.8±12.6	27.3±5.1
BME-7	41.6±10.8	119.8±11.8	101.3±7.9	35.3±9.2
BME-8	43.7±9.2	65.5±13.8	30.4±6.4	21.6±4.5
BME-9	20.05±5.3	142.4±6.6	309.2±13.6	41.6±8.3
BME-10	57.3±12	314±65.9	554.4±116.4	9±1.9
BME-11	16±3.4	n.d.	75.8±15.9	1.6±0.3
BME-12	146.5±30.8	1445.2±303.5	353.5±74.2	194.4±40.8
BME-13	65.9±11.6	308.5±4.9	n.d.	7.4±1.1
BME-14	14.9±2.2	78.14±8.4	109.4±10.5	54.2±9.3
BME-15	27.4±5.8	82.8±17.4	174±36.5	25.5±5.4
BME-16	18.6±3.9	54.3±11.4	356.1±74.8	17±3.6
BME-17	75.44±15.4	61.7±4.0	206.4±7.5	n.d.
BME-18	36.9±8.5	72.1±9.3	401.7±6.6	n.d.
BME-19	48.13±10.5	66.4±8.3	59.3±8.2	19.3±2.6
BME-20	52.9±3.3	243.0±5.8	209.8±12.7	32.6±4.0
BME-21	141.5±29.7	24.9±5.2	365±76.7	275±57.8
BME-22	77.34±13.6	118.6±7.3	56.7±6.8	22.1±52.7
BME-23	18.56±2.5	71.8±12.9	259.1±8.9	56.3±7.6
BME-24	28.22±3.8	n.d.	n.d.	101.5±7.8
BME-25	61.7±9.4	67.9±11.7	207.9±16.3	98.6±5.5
BME-26	101.44±15.3	307.6±34.3	51.8±2.7	62.7±6.3
BME-27	40.6±8.6	22.7±1.9	n.d.	29.4±6.9
BME-28	44.2±7.4	36.8±2.9	48.9±3.1	57.3±6.9
BME-29	65.92±14.5	417.8±33.5	101.7±15.9	32.9±6.3
BME-30	20.8±3.3	86.4±3.9	74.5±9.4	48.9±4.4
BME-31	16.7±2.4	276.7±6.3	78.3±16.9	38.6±7.0
BME-32	39.5±4.9	72.7±11.9	59.13±14.8	108.7±34.1
BME-33	81.56±4.6	138.8±41.3	88.9±3.0	129.22.8
BME-34	1098.2±230.6	8224.6±1727.2	2190.6±460.1	586.5±123.2
BME-35	787.5±34.73	6543.3±57.4	1879.9±101.3	357.3±43.7

Black mulberry extracts: Biochemical composition and adulteration detection

When the total phenolic contents of black mulberry extracts were investigated, it was found that the phenolic content could not be calculated in all but one or two of them. Similarly, FRAP and DPPH could not be calculated in most cases. In the BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix, the calculated phenolic contents ranged from 1547 to 1728 mg

GAE/100 g. The antioxidant contents were similarly calculated, with FRAP values ranging from 1850 to 2245 mg/100 g FeSO₄ and DPPH (SC₅₀) values ranging from 10.9 to 12.6 mg/mL. The total flavonoid contents of the BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix ranged from 350 to 526 mg QE/100 g (Table 13).

Table 13. Antioxidant Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	Antioxidant - FRAP (mg/ 100 g FeSO ₄)	Antioxidant - DPPH SC ₅₀ (mg/mL)	Total phenolic (mg GAE/100 g)	Total flavonoid (mg QE/100 g)
BME-1	25.7±3.2	n.d.	n.d.	n.d.
BME-2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-12	86.3±7.2	n.d.	25.9±1.1	2.6±0.3
BME-13	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-17	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-18	52.7±9.1	n.d.	21.3±0.5	n.d.
BME-19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-21	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-23	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-26	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-27	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-29	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-31	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-33	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BME-34	2245.4±38.3	10.9±0.4	1728.3±28.6	525.8±11.8
BME-35	1852.7±19.8	12.6±0.7	1547.4±33.7	349.5±8.4

Upon examination of the carbon 13 isotope analyses of the black mulberry extracts, it was observed that all of them were not suitable. While the carbon 13 isotope value in fruits should be -23 and more negative, it was observed that the

value varied from -12 to -15 in all extracts. In the case of the BME-34 brand black mulberry extract and BME-35 black mulberry mix, the calculated value was approximately -25 (Table 14).

Table 14. Carbon 13 Analysis Results of Black Mulberry Extract (Karadut Özü)

Product code	Delta C13 ($\delta^{13}C$)	Product code	Delta C13 ($\delta^{13}C$)
BME-1	-12.36 \pm 0.31	BME-19	-12.18 \pm 0.31
BME-2	-12.26 \pm 0.31	BME-20	-12.69 \pm 0.31
BME-3	-12.42 \pm 0.32	BME-21	-12.40 \pm 0.31
BME-4	-12.56 \pm 0.32	BME-22	-12.26 \pm 0.34
BME-5	-12.28 \pm 0.31	BME-23	-13.45 \pm 0.32
BME-6	-12.54 \pm 0.32	BME-24	-12.57 \pm 0.34
BME-7	-12.29 \pm 0.33	BME-25	-12.48 \pm 0.31
BME-8	-12.38 \pm 0.31	BME-26	-12.40 \pm 0.32
BME-9	-12.58 \pm 0.32	BME-27	-12.26 \pm 0.32
BME-10	-12.66 \pm 0.32	BME-28	-14.72 \pm 0.33
BME-11	-12.54 \pm 0.31	BME-29	-12.83 \pm 0.31
BME-12	-14.03 \pm 0.35	BME-30	-12.61 \pm 0.32
BME-13	-12.39 \pm 0.33	BME-31	-12.74 \pm 0.32
BME-14	-12.41 \pm 0.31	BME-32	-12.52 \pm 0.31
BME-15	-12.86 \pm 0.32	BME-33	-14.57 \pm 0.32
BME-16	-12.84 \pm 0.32	BME-34	-25.19 \pm 0.63
BME-17	-12.21 \pm 0.31	BME-35	-25.18 \pm 0.63
BME-18	-14.57 \pm 0.33		

To compare the results of this study, various studies with low Brix content were analyzed, and their Brix values were adjusted to 75°Brix for a consistent assessment of the findings. It was found that the total acidity results of all samples were consistent with those in other studies, while the total phenolic contents were generally lower, except for samples BME-34 and BME-35, which were within the expected range (Wang et al., 2022). Regarding total flavonoid content, only BME-34 and BME-35 had results comparable to other studies; however, the values were slightly lower. This discrepancy could be attributed to the fact that other studies used fresh fruit juices, whereas this study involved heat-treated and evaporated fruit extracts (Wang et al., 2022; Ercisli and Orhan, 2007).

Moreover, the mineral content of black mulberry fruit was evaluated post-Brix adjustment. The calcium, potassium, and phosphorus contents of black mulberry fruit were similar to those of samples BME-34 and BME-35, while the other samples contained lower mineral levels. However, the sodium content was slightly higher than the adjusted fruit mineral values (Ercisli and Orhan, 2007; Paunović, Mašković and Milinković, 2020).

In the study by Paunović et al., the protein content and sugar composition of the fruit extracts were also analyzed. The results for samples BME-34 and BME-35 were similar to their findings, except for the sucrose content, which was not found in samples BME-34 and BME-35. However, the remaining samples did not exhibit similar sugar compositions or protein

content (Paunović, Mašković and Milinković, 2020).

CONCLUSION and RECOMMENDATIONS

The increasing demand for black mulberry is driven by its recognized nutritional value, characterized by many antioxidants, vitamins, and minerals. Renowned for its richness in potassium, calcium, and vitamins C and K, black mulberry extract stands as a significant nutritional source, contributing to the enhancement of the human immune system.

This study aims to enhance consumer awareness regarding the black mulberry extracts available in the Turkish market by conducting comprehensive analyses of these products. Notably, many extracts of black mulberry sold within the country contain added sugars, sweeteners, and preservatives.

Evaluation of this study outcomes reveals that while the pH values of several examined black mulberry extracts meet the standards for human consumption, certain extracts exhibit elevated pH levels, posing health risks. Furthermore, many tested extracts show excessive levels of Hydroxymethylfurfural (HMF), a known carcinogenic substance, thus rendering the consumption of these products hazardous.

Except for the BME-34 and 35 brands, the protein content in the analyzed products is notably absent, suggesting a low fruit content or the absence of fruit entirely. Similarly, the sugar profile analysis indicates the absence of fruit sugars, with the presence of maltose and its derivatives, implying the products' lack of complete naturalness. Moreover, varying levels of sweeteners were detected, posing risks, especially for diabetic patients and potentially causing digestive system complications. Hence, product labels should transparently disclose the presence of sweeteners.

Many black mulberry extracts contain sorbic and benzoic acids as preservatives, yet their usage is often undisclosed on product labels. Such

preservatives may elicit adverse health effects ranging from skin rash and itching to digestive complications and allergic reactions. Therefore, the inclusion of preservatives on product labels is imperative. Additionally, some extracts contained added colorants.

The mineral analysis of black mulberry extracts indicates lower-than-optimal mineral content. Similarly, the Carbon 13 analysis reveals inadequate fruit content in these extracts. The analysis reveals insufficient phenolic compounds, total flavonoids, and antioxidants in several products despite labels claiming suitability for infants and diabetic patients. However, the findings obtained in the analyses suggest these products are unsuitable for such populations.

Conversely, examination of BME-34 and 35 brand products reveals mineral richness, high antioxidant values, and comparable nutritional profiles to black mulberry fruit as documented in the literature. Notably, these products lack added sugars, preservatives, colorants, and sweeteners and exhibit appropriate Carbon 13 values.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no potential conflict of interest concerning this research, authorship, and publication of this article.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Yakup Şirin: Investigation, Laboratory Analysis, Methodology, Conceptualization, Funding acquisition, Supervision, Writing - review & editing; Büşra Erdem: Laboratory Analysis, Methodology; Sertan Cengiz: Laboratory Analysis, Writing, Investigation; Semih Gürkan: Investigation, Funding acquisition; Perihan Gürkan: Investigation, Funding acquisition, Supervision, Writing - review & editing.

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my sincere gratitude to everyone who contributed to the successful completion of this study. I would also like to thank SEM-AS Tourism Food Industry Trade Limited Company General Manager Reşat

GÜRKAN for his valuable contributions and Aslı GÜRKAN for his support.

REFERENCES

- Ahmed, M., Bose, I., Goksen, G., Roy, S. (2023). Himalayan sources of anthocyanins and its multifunctional applications: A review. *Foods*, 12(11), 2203.
- Ananga, A., Georgiev, V., Ochieng, J., Phills, B., Tsoolova, V. (2013). Production of anthocyanins in grape cell cultures: a potential source of raw material for pharmaceutical, food, and cosmetic industries. *The Mediterranean genetic code-grapevine and olive*, 1(0), 247-287.
- Aybastier, Ö. (2021). Isolation and determination of antioxidant compounds from black mulberry (*Morus nigra* L.) by chromatographic methods. *Journal of Food*, 32-41.
- Benzie, I. F., Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food chemistry*, 180, 133-141.
- Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 113(4), 859-871.
- Cavalcanti, R. N., Santos, D. T., Meireles, M. A. A. (2011). Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. *Food research international*, 44(2), 499-509.
- Chen, P. N., Chu, S. C., Chiou, H. L., Kuo, W. H., Chiang, C. L., Hsieh, Y. S. (2006). Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer letters*, 235(2), 248-259.
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., Dyatmiko, W. (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80(4), 1144-1152.
- Czaja, T., Sobota, A., Szostak, R. (2020). Quantification of ash and moisture in wheat flour by Raman spectroscopy. *Foods*, 9(3), 280.
- Dalmagro, A. P., Camargo, A., Rodrigues, A. L. S., Zeni, A. L. B. (2019). Involvement of PI3K/Akt/GSK-3 β signaling pathway in the antidepressant-like and neuroprotective effects of *Morus nigra* and its major phenolic, syringic acid. *Chemico-biological interactions*, 314, 108843.
- Eraslan, Z. B., Karagöz, S., Kültür, Ş. (2021). Comparative morphological and anatomical studies on *Morus* species (Moraceae) in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18(2), 157.
- Ercisli, S. (2004). A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51, 419-435.
- Ercisli, S., Orhan, E. (2007). Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food chemistry*, 103(4), 1380-1384.
- Espín, J. C., Soler-Rivas, C., Wichers, H. J., García-Viguera, C. (2000). Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1588-1592.
- Fukumoto, L. R., Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3597-3604.
- Gerasopoulos, D., Stavroulakis, G. (1997). Quality characteristics of four mulberry (*Morus* sp) cultivars in the area of Chania, Greece. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(2), 261-264.
- Gundogdu, M., Muradoglu, F., Sensoy, R. G., Yilmaz, H. J. S. H. (2011). Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Scientia horticulturae*, 132, 37-41.
- Guo, F., Guan, R., Sun, X., Zhang, C., Shan, C., Liu, M., Lin, H. (2023). Integrated metabolome and transcriptome analyses of anthocyanin

- biosynthesis reveal key candidate genes involved in colour variation of *Scutellaria baicalensis* flowers. *BMC Plant Biology*, 23(1), 643.
- Güngör, N. (2007). Dut pekmezinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri ile antioksidan aktivitesi üzerine depolamanın etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, Türkiye, 84s.
- Işık, S., Çelik, Ş. (2023). Sürülebilir Özellikte Yeni Kahvaltılık Bir Ürün: Dut Pekmezi Kreması. *Kabramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Taram ve Doğa Dergisi*, 26(2), 326-338.
- Kalt, W., McDonald, J. E., Vinqvist-Tymchuk, M. R., Liu, Y., Fillmore, S. A. (2017). Human anthocyanin bioavailability: effect of intake duration and dosing. *Food & Function*, 8(12), 4563-4569.
- Kaplan, K. (2022). Konvansiyonel ve organik tahin üretimi sırasında bazı fizikokimyasal özelliklerdeki değişimlerin incelenmesi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 70s.
- Karataşlı, M., Çakmak, B., Özpınar, H. (2016). Investigation of sorbic acid and benzoic acid amount of some food exposed for sale in Istanbul. *International Journal of Food Engineering Research*, 2(2), 43-58.
- Katsube, T., Imawaka, N., Kawano, Y., Yamazaki, Y., Shiwaku, K., Yamane, Y. (2006). Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food chemistry*, 97(1), 25-31.
- Kostić, E., Arsić, B., Mitić, M., Dimitrijević, D., Marinkovic, E. P. (2019). Optimization of the solid-liquid extraction process of phenolic compounds from mulberry fruit. *Notulae botanicae horti agrobotanici cluj-napoca*, 47(3), 629-633.
- Koyuncu, F., Çetinbas, M., Erdal, İ. (2014). Nutritional constituents of wild-grown black mulberry (*Morus nigra* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87.
- Kutlu, T., Durmaz, G., Ateş, B., Yılmaz, I., Çetin, M. Ş. (2011). Antioxidant properties of different extracts of black mulberry (*Morus nigra* L.). *Turkish Journal of Biology*, 35(1), 103-110.
- Liu, S., Zhang, Y. (2024). Antioxidant properties and electrochemical activity of anthocyanins and anthocyanidins in mulberries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-8.
- Mahesh, D. S., Vidhathri, B. S., Vidyashree, D. N., Narayanaswamy, T. K., Subbarayappa, C. T., Muthuraju, R. (2017). Biochemical composition and pharmacological properties of mulberry (*Morus* spp.)-a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(7), 2207-2217.
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., Silva, P. (2020). Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 25(17), 3809.
- Memete, A. R., Miere, F., Laslo, V., Purcarea, C., Vicas, L., Ganea, M., Vicas, S. I. (2023). An In Vitro Study of the Healing Potential of Black Mulberry (*Morus nigra* L.) Extract in a Liposomal Formulation. *Applied Sciences*, 13(2), 1041.
- Naeem, M. Y. (2020). Medicinal potentials and health benefits of black mulberry. *Eurasian Journal of Food Science and Technology*, 4(1), 1-5.
- Naseri, R., Farzaei, F., Haratipour, P., Nabavi, S. F., Habtemariam, S., Farzaei, M. H., Momtaz, S. (2018). Anthocyanins in the management of metabolic syndrome: A pharmacological and biopharmaceutical review. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1310.
- Nguyen, L. T. H. (2022). Biological Activities of Paper Mulberry (*Broussonetia papyrifera*): More than a Skin-Lightening Agent. *Cosmetics*, 9(6), 112.
- Okatan, V., Çolak, A. M. (2019). Chemical and phytochemicals content of barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruit genotypes from Sivasli district of Usak province of western Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, 51(1), 165-170.
- Özgen, M., Serçe, S., Kaya, C. (2009). Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientia horticulturae*, 119(3), 275-279.

- Padovan, G. J., Rodrigues, L. P., Leme, I. A., De Jong, D., Marchini, J. S. (2007). Presence of C4 Sugars in Honey Samples Detected by The Carbon Isotope Ratio Measured by IRMS. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 2(3).
- Palonen, P., Weber, C. (2019). Fruit color stability, anthocyanin content, and shelf life were not correlated with ethylene production rate in five primocane raspberry genotypes. *Scientia Horticulturae*, 247, 9-16.
- Paunović, S. M., Mašković, P., Milinković, M. (2020). Determination of primary metabolites, vitamins and minerals in black mulberry (*Morus nigra*) berries depending on altitude. *Erverbs-obstbau*, 62(3), 355-360.
- Polat, A. A. (2004). Hatay'ın Antakya ilçesinde yetiştirilen bazı dut tiplerinin meyve özelliklerinin belirlenmesi. *Babçe*, 33(1).
- Pruteanu, L. L., Bailey, D. S., Grădinaru, A. C., Jäntsch, L. (2023). The biochemistry and effectiveness of antioxidants in food, fruits, and marine algae. *Antioxidants*, 12(4), 860.
- Rabrenović, B. B., Dimić, E. B., Novaković, M. M., Tešević, V. V., Basić, Z. N. (2014). The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2), 521-527.
- Rodrigues de Queiroz, A., Hines, C., Brown, J., Sahay, S., Vijayan, J., Stone, J. M., Roston, R. L. The effects of exogenously applied antioxidants on plant growth and resilience. *Phytochemistry Reviews*. 2023; 22(2), 407-447.
- Sarma, A. D., Sharma, R. (1999). Anthocyanin-DNA copigmentation complex: mutual protection against oxidative damage. *Phytochemistry*, 52(7), 1313-1318.
- Sendri, N., Bhandari, P. (2024). Anthocyanins: a comprehensive review on biosynthesis, structural diversity, and industrial applications. *Phytochemistry Reviews*, 1-62.
- Serçe, S., Özgen, M., Torun, A. A., Ercişli, S. (2010). Chemical composition, antioxidant activities and total phenolic content of *Arbutus andrachne* L.(Fam. Ericaceae)(the Greek strawberry tree) fruits from Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 619-623.
- Shekarabi, S. P. H., Omidi, A. H., Dawood, M. A., Adel, M., Avazeh, A., Heidari, F. (2020). Effect of Black Mulberry (*Morus nigra*) Powder on Growth Performance, Biochemical Parameters, Blood Carotenoid Concentration, and Fillet Color of Rainbow Trout. *Annals of Animal Science*, 20(1), 125-136.
- Skrovankova, S., Ercişli, S., Ozkan, G., Ilhan, G., Sagbas, H. I., Karatas, N., Mlcek, J. (2022). Diversity of phytochemical and antioxidant characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) fruits from Turkey. *Antioxidants*, 11(7), 1339.
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., Sochor, J. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International journal of molecular sciences*, 16(10), 24673-24706.
- Slinkard, K., Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Suh, H. J., Noh, D. O., Kang, C. S., Kim, J. M., Lee, S. W. (2003). Thermal kinetics of color degradation of mulberry fruit extract. *Food/Nahrung*, 47(2), 132-135.
- Svanberg, L., Malmberg, K., Gustinelli, G., Öhgren, C., Persson, I., Brive, L., Wassén, S. (2019). Effect of anthocyanins on lipid oxidation and microbial spoilage in value-added emulsions with bilberry seed oil, anthocyanins and cold set whey protein hydrogels. *Food chemistry*, 272, 273-278.
- Toğrul, Ö., Hayoğlu, İ. (2020). As a new kind of isotonic drinks; the possibilities of the production of apple juice enriched by pomegranate, cranberry and black mulberry juice. *Harran Journal of Agricultural and Food Science*, 24(2), 165-173.
- Vijayan, K., Chauhan, S., Das, N. K., Chakraborti, S. P., Roy, B. N. (1997). Leaf yield component combining abilities in mulberry (*Morus* spp.). *Euphytica*, 98(1), 47-52.
- Wang, R. S., Dong, P. H., Shuai, X. X., Chen, M. S. (2022). Evaluation of different black mulberry

fruits (*Morus nigra* L.) based on phenolic compounds and antioxidant activity. *Foods*, 11(9), 1252.

Yıldız, M. U., Özcan, M. M., Çalışır, S., Demir, F., Er, F. (2009). Physico-chemical properties of wild chestnut (*Castanea sativa* Mill.) fruit grown in Turkey. *World Applied Sciences Journal*, 6(3), 365-372.

Zhang, H., Ma, Z. F., Luo, X., Li, X. (2018). Effects of mulberry fruit (*Morus alba* L.) consumption on health outcomes: A mini-review. *Antioxidants*, 7(5), 69.



ZERDEÇAL EKSTRAKTI KULLANIMININ KEFİRİN BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Hayri COŞKUN*, Beyza ALBAYRAK, Maria HELAL,
Suaad DHEYAA, Büşra Beyza ÖZTÜRK, Merve ERTEM

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş/Received: 29.07.2024; Kabul /Accepted: 11.10.2024; Online baskı /Published online: 21.10.2024

Coşkun, H., Albayrak, B., Helal, M., Dheyaa, S., Öztürk, B. B., Ertem, M. (2024). Zerdeçal ekstraktı kullanımının kefirin bazı fizikokimyasal özelliklerine etkisi. GIDA (2024) 49 (6) 1062-1073 doi: 10.15237/ gida.GD24077

Coşkun, H., Albayrak, B., Helal, M., Dheyaa, S., Öztürk, B. B., Ertem, M. (2024). The effect of turmeric extract usage on some physicochemical properties of kefir. GIDA (2024) 49 (6) 1062-1073 doi: 10.15237/ gida.GD24077

ÖZ

Bu çalışmada, zerdeçal ekstraktı ilavesinin kefirin bazı fizikokimyasal özelliklerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla çiğ inek sütü 80-85 °C arasında 10 dakika pastörize edilerek 25-28 °C'ye soğutulmuş ve içerisine kefir starteri katılmıştır. Aynı ayrı kaplarda hazırlanan süt örneklerine %0 (kontrol), 2, 4, 6, 8 ve 10 oranlarında zerdeçal ekstraktı ilave edilerek pH 4.6'ya düşene kadar fermente edilmiştir. Fermantasyondan önce ve sonra, depolamanın 1., 7. ve 14. günlerinde kefirin bazı özellikleri analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, zerdeçal ilave edilmiş örneklerde viskozite ve serum ayrılması değerleri kontrole göre yüksek ($P > 0.05$) çıkmıştır. Zerdeçal oranları viskozite ve serum ayrılması değerlerini etkilememiştir ($P < 0.05$). Kefire zerdeçal ekstraktı ilavesi renk L^* , a^* ve b^* değerleri ile duyu renk, yapı, koku, tat ve genel beğeni puanlarını etkilemiştir ($P < 0.05$). Kefir örneklerine 21 mL (%6) ve 14 mL (%4) zerdeçal ekstraktı ilave edilmesi, tüketici beğenisine farklı bir tat ve aroma alternatifi sunması bakımından başarılı bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Kefir, zerdeçal, zerdeçal ekstraktı

THE EFFECT OF TURMERIC EXTRACT USAGE ON SOME PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF KEFIR

ABSTRACT

In this research, the effect of turmeric extract on some physicochemical properties of kefir was examined. For this purpose, raw cow milk was pasteurized between 80-85 °C for 10 minutes and cooled to 25-28 °C and kefir starter was added. Pasteurized turmeric extracts at level of 0 (control), 2, 4, 6, 8 and 10% was added to the milk samples prepared in separate containers and fermented until pH dropped to 4.6. Some properties of kefir samples were examined before and after fermentation and on the 1st, 7th and 14th days of storage. According to the results, viscosity and serum separation values were high ($P > 0.05$) in the turmeric extract added samples when compared with control. The addition of turmeric extract to kefir affected the color L^* , a^* and b^* values, as well as the sensory

* Sorumlu yazar /corresponding author:

✉: coskunhayri@ibu.edu.tr

☎: (+90) 374 254 1000/5829

Hayri Coşkun; ORCID no: 0000-0001-9813-0046

Beyza Albayrak; ORCID no: 0009-0008-4577-3417

Maria Helal; ORCID no: 0009-0003-7155-414X

Suaad Dheyaa; ORCID no: 0009-0002-9689-782X

Büşra Beyza Öztürk; ORCID no: 0009-0008-1385-0123

Merve Ertem; ORCID no: 0000-0002-0474-095X

color, texture, odor, taste and general acceptability scores ($P<0.05$). Adding 21 mL (6%) and 14 mL (4%) of turmeric extract to kefir samples has been found to be successful in terms of providing an alternative taste and aroma for consumer liking.

Keywords: Kefir, turmeric, turmeric extract

GİRİŞ

Yoğurt, ayran ve kıymız gibi fermente süt ürünü olan kefir gerek süttten gelen ve gerekse fermantasyon esnasında oluşan bileşenlerden dolayı hem beslenme ve hem de sağlık açısından önem taşır. Probiyotik etkisi yanında kefirin gastrointestinal sisteme, kronik kalp rahatsızlıklarına ve bağışıklık sistemine olumlu etkileri vardır. Kefir kolesterol, kan şekeri ve tansiyonu dengeleyici özellik taşır; ayrıca antimikrobiyel, antikarsinojenik ve antialerjik etkileri de söz konusudur (John ve Deeseenthum, 2015). Türkçede keyif veren anlamına gelen ve çıkış yeri Kafkaslar, Tibet ve Moğolistan olan kefirde; *Lactobacillus kefirii*; *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* suşları; *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus* gibi mikroorganizmalar bulunur (Anonim, 2009; Tomar vd., 2017).

Zerdeçal (*Curcuma longa* L.) *Zingiberaceae* üyesi olup çok yıllık, sarı çiçekli ve anavatanı Hindistan olan bir bitkidir. Toprak altındaki ana kökleri yumurta şeklinde, yan kökleri ise yumru şeklindedir. Zerdeçalın ana bileşeni "kurkumin"dir. Gıdalarda renk verici olarak kullanılır ve sağlığa pek çok faydası vardır (Akbay ve Pekcan, 2016). Zerdeçalın önemli bir bileşeni olan kurkuminin antioksidan, anti-inflamatuar, anti-bakteriyel ve anti-aterosklerotik özelliklere sahip olduğu; bu özellikleri dolayısıyla alzheimer, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ile diyabet, obezite ve depresyon vb. hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Erkul vd., 2021). Çöteli ve Karataş (2017) tarafından yapılan bir çalışmada zerdeçal (*Curcuma longa* L.) tozunda yüksek oranda Glutasyon (GSH, GSSG), A, E, C, B1, B3 ve B9 vitaminleri bulunduğu; fenolik ve flavonoid maddelerce zengin olduğu, dolayısıyla güçlü bir antioksidan etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çöteli ve Karataş, 2017).

Diyetlerde fonksiyonel gıda bulundurulmasına yönelik taleplerin artması ve böylece sağlık problemlerinden korunma çabası gibi sebeplerden

dolayı peynir, peynir altı suyu, yoğurt ve kefir gibi süt ürünlerine farklı meyve, baharat veya bunların değişik türevleri katılmaktadır. Silva vd. (2020) taze Shanklish peynirine kefir ve zerdeçal ekstraktı katarak fonksiyonel özelliklerini geliştirmeye çalışmışlardır. Benzer şekilde Rohmah vd. (2024) peynir altı suyuna zerdeçal doğal boyası katarak fonksiyonel içecek üretme yoluna gitmişlerdir. Coşkun vd. (2023) peynir altı suyu, zerdeçal ekstraktı ve akçaağaç şurubundan (%10) oluşan bir içecek üretmişlerdir. Örneklerde tat ve aroma bakımından en iyi sonucun elde edildiği depolamanın 14. gününde kuru madde oranı %13.01, asitlik %0.42, pH 3.84, maya-küf sayısı 1.99 log KOB/mL, L^* değeri 26.39, a^* değeri -1.57 ve b^* değeri 3.05 olarak rapor edilmiştir. Kim ve Kim (2020), zerdeçal miktarı arttıkça fermantasyon esnasında Doenjang'da (soya fasulyesi ezmesi) maya, anaerobik bakteri sayısı, asitlik ve renk L değerinin kademeli olarak düştüğünü, renk b değerinin ise arttığını rapor etmişlerdir. Martina vd. (2020) zerdeçal miktarı arttıkça yoğurtta mikrobiyel yükün düştüğünü, pH'nın arttığını ve bunun zerdeçalın alkali özelliğinden kaynaklandığını, ayrıca zerdeçalın yoğurt rengini etkilediğini, 95 mL yoğurtta 5 mL zerdeçal ekstraktı bulunan yoğurt örneğinin duyuşal olarak daha çok tercih edildiğini tespit etmişlerdir. Foda vd. (2007), manda yoğurdunda zerdeçal oranındaki artışın suda eriyen azot oranını düşürdüğünü, pH değerlerini etkilemediğini, serum ayrılmasını azalttığını, yoğurdun sıklığının arttığını ve duyuşal olarak zerdeçal oranı arttıkça görünüş, lezzet ve genel beğeni puanlarının düştüğünü rapor etmişlerdir. Ayrıca yoğurtta zerdeçal tozunun %0.1 oranında kullanımının yüksek oranda tercih edildiğini belirtmişlerdir.

Fonksiyonel özelliğe sahip meyve, baharat ve türevleri kefir üretiminde de kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, Zivzik (Siirt) narı sulu konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak, kefirin kırmızılık, yeşillik ve mavilik renk değerlerinde azalma tespit edilmiştir. Duyusal olarak, en az

%6.25 (10.12) ve en yüksek %50 konsantrasyona (15.94) sahip nar suyu ilave edilmiş örnekler genel beğeni görmüştür (Hallac ve Sancak, 2021). Farklı oranlarda (%0.5 ve %1) propolis (P2) ilave edilerek üretilen kefir örneklerinde; %0.5 propolis içeren örneklerin duyuşsal olarak daha kabul edilebilir nitelikte olduğu, ayrıca toplam fenolik madde içeriği ve radikal süpürme aktivitesinin kontrole kıyasla arttığı tespit edilmiştir (Bağdat ve Ilıkkan, 2024). Doğan (2011) yaptığı bir çalışmada, çiçek ve çam balı ilave ederek ürettiği kefir örneklerinde bal konsantrasyonu arttıka pH değerinin düştüğünü, düşüşün çam balı ilave edilmiş kefir örneklerinde daha fazla olduğunu rapor etmiştir. Bal ilaveli örneklerde düşük oranda vizkozite ve renk *L* değerleri elde edilirken, yüksek oranda renk *b* değerleri elde edilmiştir. Çınar (2019) mavi yemiş ilave ederek ürettiği kefir örneklerinde daha yüksek antioksidan aktivite ve daha düşük sayıda mikroorganizma kaydetmişlerdir. Ataman (2020) çilek ilaveli kefir örneklerinde daha düşük vizkozite, sertlik ve pH değerleri elde etmiştir. Yalçın (2021) havuç lifi ilave ederek ürettiği kefir örneklerinde, havuç lifinin fiziksel, tekstürel, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri geliştirdiğini ve kefir üretiminde başarıyla kullanılabileceğini rapor etmiştir.

Meyve veya baharatların kefir veya benzeri fermente süt ürünlerine katılmasının ve bunun yaygınlaşmasının pek çok nedeni bulunmaktadır. Kefirde alternatif tat geliştirmesi, sağlık ve beslenme alanlarına artan ilgi ve tüketici talepleri bu nedenler arasında sayılabilir (Martina vd., 2020; Foda vd., 2007; Felfoul vd., 2017; Anonim, 2024). Ülkemizde faaliyet gösteren bazı marketlerde zerdeçal ve meyve karışımları kullanılarak üretilmiş ticari marka kefişlere rastlamak

mümkündür (Anonim, 2024). Ancak, zerdeçal kullanımının kefirin özellikleri üzerine etkisi konusunda bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, kefire farklı oranlarda zerdeçal ekstraktı ilave ederek alternatif bir lezzet geliştirmesine, bazı fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerine etkisinin belirlenmesine ve ayrıca en uygun zerdeçal ekstraktı oranının tespit edilmesine çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, kefir üretiminde çiğ inek sütü (ortalama olarak pH 6.66, asitlik %0.12, yağ %3.34 ve kuru madde %10.80) kullanılmıştır. Sütler Bolu'da faaliyet gösteren bir üreticiden temin edilmiştir. Kefir starteri ticari toz kültürden (Danisco Biolacta DC1) hazırlanmıştır. Üretici firmaya göre kefir starter kültürü kefir taneleri mikroflorasını, kefir mayalarını, *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. ve *Streptococcus thermophilus* vb. mikroorganizmaları içermektedir. Çalışmada kullanılan toz zerdeçal, baharatçılardan (Knorr) temin edilerek su ile ekstrakte edilmiştir. Yapılan ön denemeler neticesinde, ihtiyaç duyulan zerdeçal ekstraktını elde etmek için 255g toz zerdeçal tartılıp üzerine 40-50 °C'deki saf sudan 1000 mL ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra buzdolabında bir gece dinlendirilmiştir. Sonra yine iyice karıştırılarak 4 kattan oluşan bir tülbentten iki defa süzölmüştür. Süzme esnasında ekstrakta zerdeçal partikülü geçmemesine dikkat edilmiştir. Elde edilen süzöntü su banyosunda 65-68 °C arasında yarım saat pastörize edilmiştir. Sonra soğutularak kullanım anına kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Zerdeçal ekstraktı steril bir mezür yardımıyla aşığıdaki oranlarda kefir yapımı için kullanılan süte ilave edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan süt ve zerdeçal ekstraktı miktar ve oranları

Table 1. Amounts and proportions of milk and turmeric extract used in the study

Örnek kodu <i>Sample code</i>	Süt miktarı (mL) <i>Milk amount (mL)</i>	Zerdeçal miktarı (mL) <i>Turmeric amount (mL)</i>	% Oran (v/v) <i>Ratio % (v/v)</i>
0 (<i>Control</i>)	350	0	0
7	343	7	2
14	336	14	4
21	329	21	6
28	322	28	8
35	315	35	10

YÖNTEM**Kefir üretimi**

Çiğ inek sütü öncelikle bir tülbent yardımıyla süzülmüştür. Çiğ süt 80-85 °C aralığında 10 dakika pastörize edilerek 25-28 °C'ye soğutulmuş ve içerisine Çizelge 1'de belirtilen oranlarda (%0, 2, 4, 6, 8 ve 10) zerdeçal ekstraktı katılmıştır. Ayrıca içerisine %2 oranında kefir starteri ilave edilmiştir. Süt iyice karıştırılıp 25-28 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon esnasında sütün pH'sı 4.6'ya geldiğinde (yaklaşık 12 saat sonra) fermantasyona son verilmiştir. Elde edilen örnekler buzdolabı şartlarında 14 gün depolanmıştır. Fermantasyonun başında ve sonunda, depolamanın ise 1., 7. ve 14. günlerinde örnekler alınarak hedeflenen analizler yapılmıştır. Çalışma iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Analizler

Kefir örneklerinin pH tayininde, WTW 720 marka pH metre kullanılmıştır. Ölçüm Kurt vd. (1996)'ne göre yapılmıştır. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı Plate Count Agar kullanılarak yapılmıştır. Ekimi yapılan petriyeler 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Mainville vd., 2001). Sütlerin ve kefir örneklerinin viskozite değerleri titreşimli viskozimetre cihazı (AND vibro viscometer SV-10, Japonya) ile ölçülmüştür. Ölçüm 15 °C'de yapılmıştır. Cihazdan 15 saniyede bir olmak üzere 2 dakika boyunca toplam 9 ölçüm alınmıştır. Alınan 9 ölçümün ortalaması, o örneğin viskozite değeri olarak kabul edilmiştir. Sonuç mPa.s cinsinden ifade edilmiştir. Serum ayrılması Sodini vd. (2005)'nin bildirdiği yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Buna göre 25'er g kefir örneği darası alınmış santrifüj tüpleri içerisine tartılıp, 4 °C'de 1250xg'de 10 dakika süreyle santrifüj (Sigma 2-16KC, Almanya) edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerin üstünde kalan serum kısmı döküldükten sonra geriye kalan kısım tüplerle beraber tartılıp (son tartım) serum ayrılmasına ait değerler şu formülle hesaplanmıştır:

Serum ayrılması (%) = $(A + B - C) \times 100 / B$
Burada; A= Santrifüj tüpünün darası (g), B= Santrifüj tüpüne tartılan kefirin miktarı (g) ve C=

Santrifüj sonrası serumun döküldükten sonraki kalan dara ve pelet miktarıdır (g).

Renk L^* , a^* ve b^* değerleri CIE (International Commission on Illumination) renk ölçüm sistemine göre Konica Minolta CR-400 (Osaka, Japonya) renk tayin cihazı ile yapılmıştır. Duyusal analizlerde "Skalaya göre dereceleme testi" kullanılmıştır (Metin, 1977). Duyusal panelde 6 panelist görev almıştır. Duyusal testlerden önce panelistlere eğitim verilmiş ve ön testler yaptırılmıştır. Panelistlere örnekler aynı anda sunulmuştur. Tat ve koku testlerinde örnekler arası geçişte ağız su ile çalkalanmış ve bir müddet beklenmiştir. Panelistlerden örneklerin renk, yapı, koku, tat ve genel beğeni özelliklerinin değerlendirilmesi (1-5 arası puan) istenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Devore ve Peck, 1993). İstatistiki analizler "SPSS 20" programı ile yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA**Kefir örneklerinin pH değerlerinde meydana gelen değişimler**

Farklı miktarlarda zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş kefir örneklerinde fermantasyon esnasında ve depolama boyunca pH'da meydana gelen değişimler Çizelge 2'de sunulmuştur.

Çizelge 2'in incelenmesinden anlaşılacağı üzere, farklı oranlarda zerdeçal ekstraktı içeren kefir örneklerine ait genel ortalama pH değerleri ile fermantasyon öncesi zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş örneklerde pH değerleri kontrol örneğinkinden bir miktar yüksek çıkmış, ancak bu istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Beklendiği üzere, pH değerleri fermantasyon sonrasında tüm örneklerde düşüş göstermiştir ($P < 0.05$). Fermantasyondan sonra örneklere ait pH değerleri birbirine oldukça yakın çıkmıştır. Depolama boyunca kefir örneklerinin pH değerlerinde pek bir değişim olmamıştır ($P > 0.05$). Martina vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, zerdeçal miktarı arttıkça yoğurt örneklerinde pH değerlerinin yükseldiğini tespit etmişlerdir. Bu bulgu, bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzerdir. Ataman (2020) çilek ilave ederek ürettiği kefir örneklerinde daha düşük pH

değeri tespit etmiştir. Bu çalışmada depolama boyunca elde edilen pH değerleri, Sarıca ve Coşkun (2020) tarafından kefir örnekleri için

rapor edilen pH değerleri (4.31 – 4.47) ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 2. Kefir örneklerinin pH değerlerinde meydana gelen değişimler
Table 2. The changes in pH values of kefir samples

Zerdeçal ekstraktı/ Turmeric extract (%)	Fermantasyon/ Fermentation (n=2)		Depolama periyodu (Gün)/ Storage period (Day) (n=2)			Genel ortalama/ General mean (N=10)
	Önce/ Before	Sonra/ After	1	7	14	
0 (Control)	6.63±0.000 ^c	4.50±0.021 ^b	4.41±0.057 ^a	4.40±0.021 ^a	4.44±0.035 ^{ab}	4.88±0.926 ^A
2	6.66±0.014 ^b	4.46±0.021 ^a	4.38±0.078 ^a	4.38±0.042 ^a	4.40±0.035 ^a	4.86±0.951 ^A
4	6.70±0.014 ^b	4.50±0.078 ^a	4.40±0.078 ^a	4.39±0.021 ^a	4.41±0.000 ^a	4.88±0.960 ^A
6	6.72±0.07 ^b	4.51±0.106 ^a	4.41±0.050 ^a	4.41±0.035 ^a	4.42±0.057 ^a	4.89±0.962 ^A
8	6.76±0.007 ^b	4.51±0.120 ^a	4.43±0.042 ^a	4.43±0.007 ^a	4.44±0.042 ^a	4.91±0.973 ^A
10	6.79±0.021 ^b	4.51±0.057 ^a	4.46±0.050 ^a	4.43±0.007 ^a	4.47±0.042 ^a	4.92±0.984 ^A

n: Her bir hücredeki iki tekrerrüt ortalamasını, N: Her bir satırdaki verilerin ortalamasını, a,b,c: Fermantasyon ve depolama boyunca ortalamalar arasındaki farkı, A,B,C: Zerdeçal miktarlarına ait ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($\alpha=0.05$).
n: Each cell shows the average of two replicates, N: Shows the average of the extract in each row. a,b,c,: Shows the difference among the averages during fermentation and storage, A,B,C: Shows the difference among the averages of turmeric amounts ($\alpha=0.05$).

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarında meydana gelen değişimler
Zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş kefir örneklerinde toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB)

sayılarında meydana gelen değişimler ve bu değişimlere ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 3'te sunulmuştur.

Çizelge 3. Kefir örneklerinin TAMB sayılarında meydana gelen değişimler (log KOB/mL)
Table 3. The changes in TAMB counts of kefir samples (log CFU/mL)

Zerdeçal ekstraktı/ Turmeric extract (%)	Fermantasyon/ Fermentation (n=2)		Depolama periyodu (Gün)/ Storage period (Day) (n=2)			Genel ortalama/ General mean (N=10)
	Önce/ Before	Sonra/ After	1	7	14	
0 (Control)	7.89±0.184 ^a	9.51±0.028 ^{bc}	9.74±0.198 ^c	9.17±0.035 ^b	7.78±0.240 ^a	8.82±0.876 ^A
2	7.79±0.085 ^b	9.56±0.079 ^d	9.64±0.149 ^d	9.03±0.021 ^c	7.43±0.042 ^a	8.69±0.963 ^A
4	7.80±0.035 ^a	9.53±0.070 ^c	9.60±0.254 ^c	8.83±0.254 ^b	7.69±0.353 ^a	8.69±0.878 ^A
6	7.78±0.113 ^a	9.60±0.269 ^c	9.56±0.120 ^c	8.84±0.283 ^b	7.85±0.375 ^a	8.73±0.856 ^A
8	7.77±0.106 ^a	9.55±0.283 ^b	9.41±0.233 ^b	8.96±0.099 ^b	7.87±0.396 ^a	8.71±0.817 ^A
10	7.56±0.113 ^a	9.42±0.452 ^b	9.50±0.141 ^b	8.99±0.304 ^b	7.93±0.467 ^a	8.68±0.871 ^A

n: Her bir hücredeki iki tekrerrüt ortalamasını, N: Her bir satırdaki verilerin ortalamasını, a,b,c,d: Fermantasyon ve depolama boyunca ortalamalar arasındaki farkı, A,B,C: Zerdeçal miktarlarına ait ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($\alpha=0.05$).
n: Each cell shows the average of two replicates, N: Shows the average of the extract in each row. a,b,c,d: Shows the difference among the averages during fermentation and storage, A,B,C: Shows the difference among the averages of turmeric amounts ($\alpha=0.05$).

Genel ortalama dikkate alındığında, farklı oranlarda zerdeçal ekstraktı ilave edilen kefir örneklerinde kontrole göre daha düşük sayıda TAMB elde edilmiştir, ancak bu istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Tüm örneklerde TAMB sayısı depolamanın 1. gününe kadar artmış, 7. ve 14. günlerde düşüş eğilimi göstermiştir ($P <0.05$). TAMB sayılarının

depolamanın 14. gününde düşüş göstermesi, bazı mikroorganizmaların düşük pH'dan etkilenmiş olması ile açıklanabilir (Goncu vd., 2017). Elde edilen sayılar Ataman (2020) tarafından elde edilen genel ortalama değerler (8.27-8.70 log KOB/g) ile uyumludur.

Viskozite değerlerinde meydana gelen değişimler

Çalışmada üretilen kefir örneklerine ait viskozite değerleri ve bu değerlerdeki değişimler Çizelge 4'te gösterilmiştir.

Depolamanın 7. ve 14. günü ve genel ortalamalar dikkate alındığında zerdeçal miktarı arttıkça viskozite değerleri de artmıştır ($P > 0.05$). Kontrol örneğinin viskozite değerleri depolama boyunca düşerken, zerdeçal ekstraktı ilave edilen örneklerde artmıştır. Artış 7 mL (%2) ve 21 mL

(%6) zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş örneklerde önemli ($P > 0.05$) bulunmuştur. Sonuç olarak zerdeçal ilavesi kefir örneklerinde viskoziteyi artırmıştır. Ayrıca tüm örneklerde fermantasyondan sonra viskozite değerleri fermantasyon başlangıcına kıyasla oldukça artış göstermiştir ($P < 0.05$). Elde edilen viskozite değerleri, Sarıca ve Coşkun (2020) tarafından inek sütünden yapılan kefir örnekleri için depolamanın 14. gününe kadar tespit edilen değerlere (42.17-48.43 mPa.s) benzerdir.

Çizelge 4. Kefir örneklerinin viskozite değerlerinde meydana gelen değişimler (mPa.s)

Table 4. The changes in viscosity values of kefir samples (mPa.s)

Zerdeçal ekstraktı/ Turmeric extract (%)	Fermantasyon/ Fermentation (n=2)		Depolama periyodu (Gün)/ Storage period (Day) (n=2)			Genel ortalama/ General mean (N=10)
	Önce/ Before	Sonra/ After	1	7	14	
0 (Control)	2.41±0.226 ^a	38.48±1.739 ^b	42.89±10.105 ^b	35.23±6.760 ^b	30.15±3.330 ^b	29.83±15.687 ^A
2	2.24±0.573 ^a	38.30±1.457 ^b	39.34±1.089 ^b	45.71±3.840 ^c	51.08±2.772 ^c	35.33±18.190 ^A
4	2.25±0.170 ^a	39.34±4.059 ^b	38.30±4.229 ^b	50.85±13.456 ^b	52.06±0.106 ^b	36.56±19.666 ^A
6	2.19±0.170 ^a	33.59±4.257 ^b	36.27±5.197 ^{bc}	46.60±11.950 ^{bc}	51.27±4.483 ^c	33.99±18.727 ^A
8	2.57±0.092 ^a	32.58±16.483 ^b	31.83±2.737 ^b	50.45±14.036 ^b	37.90±3.889 ^b	31.06±18.154 ^A
10	2.39±0.665 ^a	38.26±6.866 ^b	30.13±7.304 ^b	40.19±1.096 ^b	37.12±4.299 ^b	29.62±15.235 ^A

n: Her bir hücredeki iki tekrarlı ortalamasını, N: Her bir satırdaki verilerin ortalamasını, a,b,c,d: Fermantasyon ve depolama boyunca ortalamalar arasındaki farkı, A,B,C: Zerdeçal miktarlarına ait ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($\alpha=0.05$).
n: Each cell shows the average of two replicates, N: Shows the average of the extract in each row. a,b,c,d: Shows the difference among the averages during fermentation and storage, A,B,C: Shows the difference among the averages of turmeric amounts ($\alpha=0.05$).

Serum ayrılması değerlerinde meydana gelen değişimler

Kefir örneklerinde fermantasyondan önce serum ayrılması değerleri %93.76-94.62 arasında

değişirken, bu değer fermantasyondan sonra %52.61 ile 58.71 arasına düşmüştür ($P < 0.05$) (Çizelge 5).

Çizelge 5. Kefir örneklerinin serum ayrılması değerlerinde meydana gelen değişimler (%)

Table 5. The changes in serum separation values of kefir samples (%)

Zerdeçal ekstraktı/ Turmeric extract (%)	Fermantasyon/ Fermentation (n=2)		Depolama periyodu (Gün)/ Storage period (Day) (n=2)			Genel ortalama/ General mean (N=10)
	Önce/ Before	Sonra/ After	1	7	14	
0 (Control)	93.76±2.602 ^b	52.61±0.976 ^a	47.24±2.828 ^a	49.21±2.913 ^a	51.41±2.044 ^a	58.85±18.589 ^A
2	94.62±0.141 ^c	58.71±5.247 ^b	49.28±0.226 ^a	49.75±2.729 ^a	50.25±0.184 ^a	60.52±18.448 ^A
4	94.14±1.725 ^c	56.58±2.913 ^b	51.02±0.990 ^a	53.84±1.018 ^{ab}	51.03±0.099 ^a	61.32±17.476 ^A
6	93.92±1.301 ^d	57.08±0.339 ^c	51.32±1.754 ^a	55.08±0.629 ^{bc}	52.73±1.117 ^{ab}	62.03±16.959 ^A
8	94.08±1.414 ^c	56.84±1.018 ^b	52.12±2.263 ^a	54.11±1.428 ^{ab}	54.48±1.358 ^{ab}	62.33±16.850 ^A
10	94.34±1.838 ^b	56.13±1.117 ^a	52.84±3.168 ^a	53.88±4.193 ^a	52.66±1.782 ^a	61.97±17.225 ^A

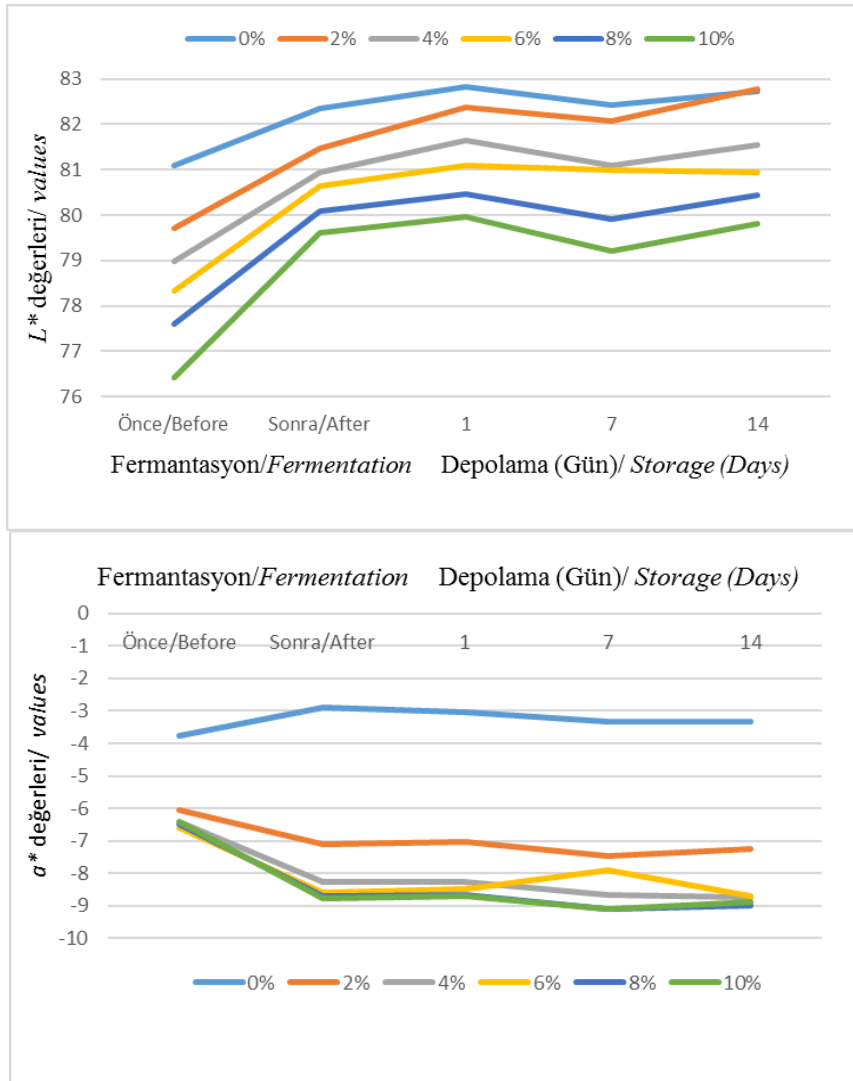
n: Her bir hücredeki iki tekrarlı ortalamasını, N: Her bir satırdaki verilerin ortalamasını, a,b,c,d: Fermantasyon ve depolama boyunca ortalamalar arasındaki farkı, A,B,C: Zerdeçal miktarlarına ait ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($\alpha=0.05$).
n: Each cell shows the average of two replicates, N: Shows the average of the extract in each row. a,b,c,d: Shows the difference among the averages during fermentation and storage, A,B,C: Shows the difference among the averages of turmeric amounts ($\alpha=0.05$).

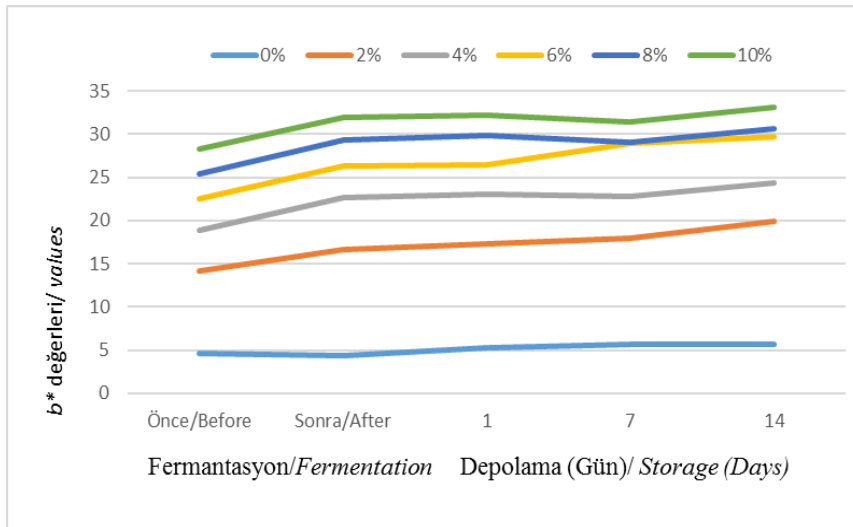
Genel olarak serum ayrılması değerleri zerdeçal ilaveli örneklerde yüksek çıkmıştır. Serum ayrılması genel ortalaması kontrol örneğinde %58.85 olurken, 28 mL (%8) zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş örnekte %62.33 olmuştur ($P > 0.05$). Genel olarak depolama boyunca serum ayrılması değerlerinde artış saptanmıştır ($P > 0.05$). Depolama sonu olması bakımından depolamanın 14. günü incelendiğinde zerdeçal oranı arttıkça serum ayrılmasında az da olsa bir artma, viskozite değerlerinde ise düşme eğilimi meydana gelmiştir. Foda vd. (2007) manda sütü kullanarak ve farklı oranlarda zerdeçal tozu ilave ederek üretmiş oldukları yoğurt örneklerinde, zerdeçal oranı arttıkça serum ayrılmasının düştüğünü

saptamışlardır. Araştırmacılar bu düşüşün nedenini, zerdeçal parçacıklarının su tutması ile açıklamaktadırlar. Elde edilen serum ayrılması değerleri, mürver ile zenginleştirilmiş kefir örneklerinde depolamanın 14. gününde elde edilen değerlere (%51.57-53.52) benzerdir (Barazi, 2022).

Renk L^* , a^* ve b^* değerlerinde meydana gelen değişimler

Kontrol ve zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş kefir örneklerine ait renk L^* , a^* ve b^* değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 1'de gösterilmiştir.





Şekil 1. Kefir örneklerinde renk L^* , a^* ve b^* değerlerinde meydana gelen değişimler

Figure 1. The changes in color L^* , a^* and b^* values of kefir samples

Genel ortalama L^* değeri (0-siyah, 100-beyaz) kontrol örneğinde 82.28 iken, bu değer düşerek 35 mL zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş örnekte 79.01 olmuştur ($P < 0.05$). Bir başka ifadeyle zerdeçal oranı arttıkça örneklerin beyazlığı azalmıştır (Şekil 1). Depolama süresi boyunca örneklerin L^* değerinde önemli bir değişim olmamıştır ($P > 0.05$). Fermantasyondan önceki değerlere kıyasla, fermantasyondan sonra L^* değerleri tüm örneklerde artış göstermiştir ($P < 0.05$). Sonuç olarak zerdeçalın sarı renkte olması örneklerin L^* değerlerini düşürmede etkili olmuştur. Havuç lifi ile zenginleştirilmiş kefir örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, havuç lifi miktarı arttıkça L^* değerlerinde düşme meydana gelmiştir. Depolamanın birinci gününde L^* değeri kontrol örneğinde 89.15 bulunurken, %1 lif ilaveli kefirde 85.71 bulunmuştur (Yalçın, 2021). Benzer sonuçlar kuşburnu ilave edilmiş kefir örneklerinde de tespit edilmiştir (Demir, 2020).

Renk a^* değeri eksi (-) tarafta yeşilliği ve artı (+) tarafta kırmızılığı ifade eder. Tüm örneklerde değerler eksi (yeşil) tarafta yer almıştır (Şekil 1). Zerdeçal ekstrakt miktarı arttıkça kefir örneklerinde a^* değerleri düşmüş (kontrol örneğinde genel ortalama -3.27, 35 mL ilave edilmiş örnekte -8.37), yani yeşillik artmıştır ($P < 0.05$). Kontrol örneğinde a^* değeri fermantasyondan sonra artarken, zerdeçal ilaveli

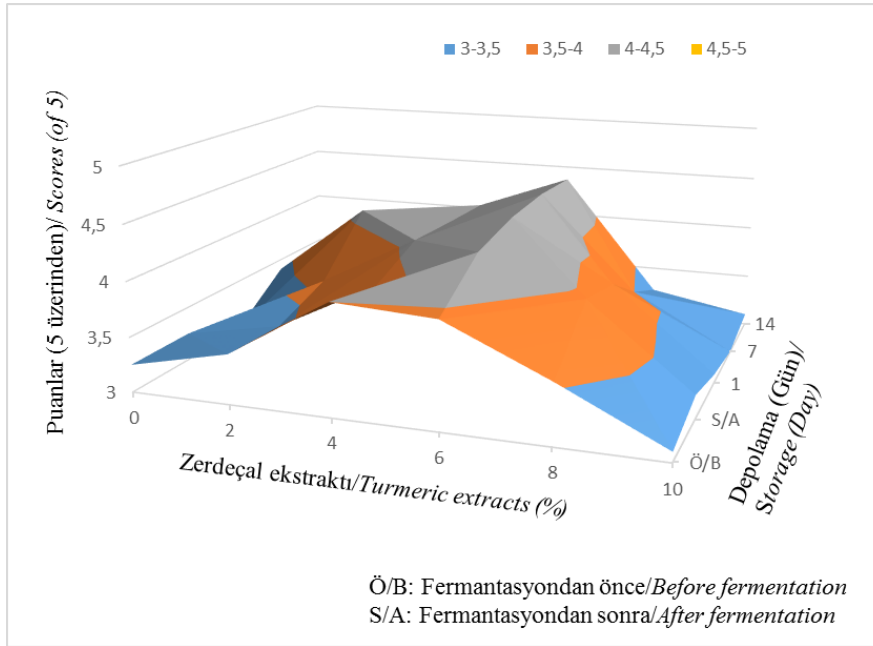
örneklerde daha da azalmıştır ($P < 0.05$). Bu durum zerdeçalın fermantasyon esnasında kefir örneklerine daha fazla nüfuz etmiş olmasıyla açıklanabilir. Depolama esnasında tüm örneklerde a^* değerlerinde pek değişim olmamıştır ($P > 0.05$). Yalçın (2021) kefir örneklerinde, havuç lifi miktarı arttıkça a^* değerlerinde yükselme kaydetmiştir. Kontrol örneklerinde a^* değeri -1.88 olurken %1 havuç lifi ilaveli örneklerde 1.90 olmuştur. Barazi (2022) mürver ilave ederek ürettiği kefir örneklerinde a^* değerlerini daha yüksek (depolamanın 14. gününde 2.95-7.41) bulmuştur.

Renk b^* değerleri eksi (-) tarafta maviliği, artı (+) tarafta sarılığı ifade eder. Şekil 1'den izleneceği üzere zerdeçal ekstrakt miktarı arttıkça o oranda sarılık (b^*) değerleri de artış göstermiştir (kontrol örneğinde b^* değeri 5.15, 35 mL ilave edilmiş örnekte 31.39) ($P < 0.05$). Fermantasyondan sonra kontrol örneğinde sarılık (b^*) değeri düşerken, zerdeçal ekstraktı ilaveli örneklerde sarılık değerleri artmıştır ($P > 0.05$). Depolama boyunca tüm örneklerde b^* değerlerinde önemli bir değişiklik olmamıştır ($P > 0.05$). Benzer şekilde havuç lifi ilave edilerek yapılmış kefir örneklerinde b^* sarılık değerleri artış göstermiştir. Değerler 7.66 ile 10.44 arasında yer almıştır. Goncu vd. (2017) kefir örneklerinde limon lifi miktarı arttıkça b^* değerlerinin de arttığını tespit etmiştir.

Duyusal özelliklerde meydana gelen değişimler

Yapılan duyu analizlerinde, 5 puan üzerinden en yüksek duyu renk puanı (genel ortalama 4.39) 21 mL (%6) zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş kefir örneğinden elde edilmiştir ($P < 0.05$). Bunu 14 mL (%4) zerdeçal ekstraktı içeren örnek takip etmiştir. Fermantasyondan önce duyu renk değerleri 14 mL'ye (%4) kadar artmış, sonra düşmüştür. Fermantasyon ve depolama boyunca en düşük duyu renk puanları 35 mL (%10) ekstrakt içeren örnekten elde edilmiştir. Duyu yapı bakımından en yüksek genel ortalama puanı (4.13) 21 mL (%6) ekstrakt içeren örnekten elde edilmiştir ($P > 0.05$). Fermantasyondan önce duyu yapı puanları, ekstrakt oranı arttıkça artmıştır. Duyu renk puanlarında olduğu gibi, en yüksek koku puanı 21 mL (%6) ekstrakt içeren örnekten (4.39) elde edilmiştir. Bunu 4.17 puan ile 14 mL (%4) ekstrakt içeren örnek takip etmiştir. Fermantasyondan önce koku puanları 21 mL'ye (%6) kadar artmış, 28 (%8) ve 35 mL (%10) ekstrakt içeren

örneklerde kademeli düşüş göstermiştir. En düşük koku değerleri kontrol örneği ve 35 mL (%10) ekstrakt içeren örnekten elde edilmiştir. En yüksek genel ortalama tat puanı 21 mL (%6) ekstrakt içeren örnekten elde edilmiştir, bunu 3.91 puan ile 14 mL (%4) ekstrakt içeren örnek takip etmiştir ($P < 0.05$). Tat puanları fermantasyondan önce 21 mL'ye (%6) kadar artmış, sonraki miktarlarda düşüş göstermiştir. Fermantasyon ve depolama boyunca en düşük tat puanları 35 mL (%10) ekstrakt içeren örnekten elde edilmiştir. Genel beğeni puanı bakımından en yüksek ortalama puan 21 mL (%6) ekstrakt içeren örnekten (4.27) elde edilmiş, bunu 4.01 puanla 14 mL (%4) ekstrakt içeren örnek takip etmiştir ($P < 0.05$). Duyu renk, yapı, koku, tat ve genel beğeni testi sonuçlarından 21 mL ve takiben 14 mL ekstrakt içeren örneklerin ön plana çıkması nedeniyle; örneklerin tüm duyu özelliklerini temsilen sadece genel beğeni puanları Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Kefir örneklerinin genel beğeni puanlarında değişimler

Figure 2. The changes in general preference scores of kefir samples

Genel beğeni puanları 21 mL'ye (%6) kadar artış göstermiş, sonraki miktarlarda düşmüştür. En düşük puanlar 35 mL (%10) zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş örnekten elde edilmiştir. Depolama

boyunca genel beğeni puanlarında meydana gelen değişimler istatistiksel bakımdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Tüm örneklerin tat puanları depolamanın 7. gününde en yüksek

olmuştur. Sonuç olarak test edilen tüm duyuşal özellikler bakımından en tercih edilen örnek 21 mL (%6) zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş örnek olmuştur, bunu 14 mL (%4) ekstrakt içeren örnek takip etmiştir (yapı hariç). Ayrıca, örneklerin duyuşal özellikleri değişmeden iki haftaya kadar buzdolabında saklanabileceğini söylemek mümkündür. Ataman (2020) çilek ilave ederek ürettiği kefir örneklerinden en beğenilenin %15 çilek ilave edilen örnek olduğunu, benzer şekilde Çınar (2019) da %15 oranında mavi yemiş ilave edilen kefir örneklerinin daha çok beğenildiğini rapor etmişlerdir. Yapılan diğer bir araştırmada, %1 mürver tozu ilave edilmiş kefir örnekleri en çok beğeni toplamıştır (Barazi, 2022).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kefirde alternatif bir lezzet ortaya koymak amacıyla farklı oranlarda zerdeçal ekstraktı kullanarak kefirin bazı özelliklerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ilave edilen zerdeçal ekstrakt miktarlarının pH ve toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı üzerinde olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Zerdeçal ilave edilmiş örneklerde kontrole göre daha yüksek oranlarda viskozite ve serum ayrılması değerleri elde edilmiştir ($P > 0.05$). Zerdeçal oranı arttıkça kefir örneklerinde beyazlık (L^*) ve yeşillik (a^*) değerleri düşmüş ($P > 0.05$), sarılık (b^*) değerleri artmıştır ($P < 0.05$). En yüksek duyuşal renk, yapı, koku, tat ve genel beğeni değerleri 21 mL (%6) zerdeçal ekstraktı ilave edilmiş örneklerden elde edilmiştir. Bunu 14 mL (%4) ekstrakt içeren örnek takip etmiştir. Sonuç olarak kefir üretiminde 21 mL (%6) ve 14 mL (%4) zerdeçal ekstraktı kullanımının alternatif bir lezzet elde etmede başarılı olduğu söylenebilir. Çalışmadan elde edilen bilgiler ve sonuçlar pratikte uygulanabilir potansiyele sahiptir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarların çalışma konusunun belirlenmesinde, örneklerin üretiminde, analizlerin yapılmasında, verilerin

değerlendirilmesinde ve makalenin hazırlanmasında katkısı olmuştur.

TEŞEKKÜR

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Ahmet EMİRMUSTAFAOĞLU'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Akbay, G.D., Pekcan, A.G. (2016). Zerdeçal: Beslenme ve sağlık yönünden değerlendirilmesi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 44(1): 68-72.

Anonim, (2024). <https://www.migros.com.tr/eker-havuc-zerdecal-mandalina-kefir-290-ml-p-b061ea> (Erişim Tarihi: 25.04.2024).

Anonim, (2009). Türk Gıda Kodeksi. Fermente Süt Ürünleri Tebliği (2022/44). Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. 30 Kasım 2022 tarih ve 32029 sayılı Resmi Gazete, Ankara.

Anonim, (2024). <https://www.migros.com.tr/eker-havuc-zerdecal-mandalina-kefir-290-ml-p-b061ea> (Erişim Tarihi: 25.04.2024).

Ataman, F. A. (2020). Laktozlu ve laktozsuz süttten kefir danesi ilavesiyle üretilen kefirlerle çilek püresi katılarak fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinin araştırılması. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 75 s.

Bağdat, E. Ş., Ilıkkın, Ö. K. (2024). Investigation of microbiological, physicochemical, and sensory properties of a kefir drink fortified with propolis. *Çukurova Journal of Agricultural and Food Sciences*, 39(1): 35-44. Doi: 10.36846/CJAIFS.2024.131.

Barazi, Ü. (2022). Mürverce zenginleştirilmiş fonksiyonel kefir üretimi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 95 s.

Çınar, K. (2019). Farklı konsantrasyonlarda mavi yemiş ilavesiyle üretilen kefirlerin depolama süresince mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve in vitro antioksidan kapasitesindeki değişimin tespiti. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Müh. Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir, Türkiye, 69 s.

- Coşkun, H., Ay, T.N., Aydın, G., Altınışık, D., Yeni, G., Oral, A. (2023). Peynir altı suyundan alternatif ve fonksiyonel bir içecek üretimi. 2nd International Traditional Food and Sustainable Nutrition Semposium, Proceeding Book, 5-6 October 2023, Mersin, Türkiye, (450-459).
- Çötel, E., Karataş, F. (2017). Zerdeçal (*Curcuma longa* L.) bitkisindeki antioksidan vitaminler ve glutasyon miktarları ile total antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 33(2): 91-101.
- Demir, B. (2020). Kuşburnu marmelatı ilaveli kefirin depolama süresince bazı özelliklerinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, Türkiye, 61s.
- Devore, J., Peck, R. (1993). *Statistics: The exploration and analysis of data*, Duxbury Press, An imprint of Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA.
- Doğan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6: 327-332. DOI 10.1007/s00003-010-0643-6.
- Erkul, C., Özenoğlu, A., Reis, E. (2021). Zerdeçalın genel sağlık üzerine etkileri. *Türkiye Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi*, 4(2): 76-87.
- Felfoul, I., Borchani, M., Samet Balı, O., Attia, H., Ayadi, M.A. (2017). Effect of ginger (*Zingiber officinalis*) addition on fermented bovine milk: Rheological properties, sensory attributes and antioxidant potential. *Journal of New Sciences*, 44(3): 2400-2409.
- Foda, M. I., Abd El-Aziz, M., Awad, A. A. (2007). Chemical, rheological and sensory evaluation of yoghurt supplemented with turmeric. *International Journal of Dairy Science*, 2(3): 252-259.
- Goncu, B., Celikel, A., Guler-Akin, M.B., Akin, M.S. (2017). Some properties of kefir enriched with apple and lemon fiber. *Mljekarstvo*, 67(3): 208-216. Doi: 10.15567/mljekarstvo.2017.0305.
- Hallac, B., Sancak, H. (2021). The Effect of Zivzik pomegranate juice on the physico-chemical and sensorial properties of kefir produced by conventional method. *Bilis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(1): 16-23.
- John, S. M., Deeseenthum, S. (2015). Properties and benefits of kefir-A review. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 37 (3): 275-282.
- Kim, D. H., Kim, S. (2020). Effect of turmeric on the physicochemical characteristics of 'Doenjang' during fermentation. *Korean Journal of Food Preservation*, 27(1): 7-16. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2020.27.1.7>.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1996). *Süt ve mamulleri muayene ve analiz metotları rehberi*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 257, Erzurum.
- Mainville, I., Montpetit, D., Durand, N., Farnworth, E.R. (2001) Deactivating the bacteria and yeast in kefir using heat treatment, irradiation and high pressure. *International Dairy Journal*, 11: 45-49. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00038-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00038-3)
- Martina, E. C., Oludayo, A. K., Linda, N. C., Chinaso, O.P., Ambrose, O. C., Muoneme, O. T. (2020). Effect of the incorporation of graded levels of turmeric (*Curcuma longa*) on different qualities of stirred yoghurt. *African Journal of Food Science*, 14(3): 71-85. <https://doi.org/10.5897/AJFS2020.1903>.
- Metin, M. (1977). *Süt ve mamullerinde kalite kontrolü*. Ankara Ticaret Borsası Yayınları No:1, Ankara. 352s.
- Rohmah, N. A., Estikomah, S.A., Kurniawan, K., Sawitri, B.S. (2024). Antioxidant activity test on kefir whey with turmeric natural dye (*Curcuma longa* L.). *Journal Ilmiab Global Farmasi*, 2(1): 31-42. <https://doi.org/10.21111/jigf.v2i1.34>
- Sarıca, E., Coşkun, H. (2020). Assessment of durability and characteristics of changes in kefir made from cow's and goat's milk. *Italian Journal of Food Science*, 32: 498-516. <https://doi.org/10.14674/IJFS-1803>
- Silva, B. M. Da, Vieira, L. G. de F., Beltrami, J. M., Serenini, G. de F., Santos, N. S. dos., Soares, A. A., Alves, G. (2020). Physical-chemical characterization of fresh shanklish cheese with kefir and turmeric extract (*Curcuma longa* L.).

Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, Umuarama 23(2cont.), e2311: 1-5.

Sodini, I., Montella, J., Tong, P.S. (2005) Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 853- 859. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2037>

Tomar, O., Çağlar, A., Akarca, G. (2017). Kefir ve sağlık açısından önemi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi*

Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi 17, 027202, 834-853. DOI: 10.5578/fmbd.57533.

Yalçın, M. M. (2021). Havuç lifli ile zenginleştirilmiş kefirin bazı özellikleri. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 77 s.



THE EFFECTS OF ETHYLENE SCAVENGING-ACTIVE PACKAGING AND STORAGE TEMPERATURE ON QUALITY AND SHELF LIFE OF CUCUMBER (*CUCUMIS SATIVUS* L.)

Tuncay TIRIBOLULU, Guliz HASKARACA, Zehra AYHAN*

Sakarya University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Sakarya, Türkiye

Geliş/Received: 12.07.2024; Kabul /Accepted: 14.10.2024; Online baskı /Published online: 24.10.2024

*Tiribolulu, T., Haskaraca, G., Ayhan, Z. (2024). The effects of ethylene scavenging-active packaging and storage temperature on quality and shelf life of cucumber (*Cucumis sativus* L.). GIDA (2024) 49 (6) 1074-1094 doi: 10.15237/gida.GD24070*

Tiribolulu, T., Haskaraca, G., Ayhan, Z. (2024). Etilen tutucu içeren aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının badem hıyarın (*Cucumis sativus* L.) kalite ve raf ömrüne etkisi. GIDA (2024) 49 (6) 1074-1094 doi: 10.15237/gida.GD24070

ABSTRACT

This study aimed to determine the effects of ethylene scavenger incorporated active packaging and storage temperature on the shelf life of cucumbers. For this purpose, cucumbers were packaged using modified atmosphere packaging (5% O₂-10% CO₂-85% N₂) in two different low-density polyethylene (LDPE) packages, with and without ethylene scavenger, and stored at 4°C and 10°C for 20 days. The group of cucumbers without packaging was prepared as the control. Throughout the storage period, changes in physical, chemical, and sensory quality parameters of the cucumbers were monitored through analyses of headspace gas analysis, weight loss, color, texture, soluble solid content (%brix), pH, titratable acidity, and sensory evaluation. Due to cold injury at 4°C, equilibrium atmosphere could not be achieved, and the %O₂ level dropped below the critical limit (2%) by the end of storage. At 10°C, the products packaged without ethylene scavenger exhibited higher ethylene concentration during storage, negatively affecting the quality parameters, whereas the group with ethylene scavenger had lower ethylene accumulation and reduced cold injury, preserving product quality better. The cucumbers packaged with ethylene scavenger and stored at 10°C was sensorially acceptable for the entire storage of 20 days suggesting the shelf life of 20 days only for this application.

Keywords: Active packaging, ethylene scavengers, post-harvest quality, chilling injury, cucumber

ETİLEN TUTUCU İÇEREN AKTİF AMBALAJLAMANIN VE DEPOLAMA SICAKLIĞININ BADEM HIYARIN (*CUCUMIS SATIVUS* L.) KALİTE VE RAF ÖMRÜNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada, etilen tutucu içeren aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının badem hıyarın raf ömrü üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla badem hıyarlar (*Cucumis sativus* L.), etilen tutucu katkı içeren ve içermeyen olmak üzere iki farklı düşük yoğunluklu polietilen (LDPE)

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: zehraayhan@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 3858

☎: (+90) 264 295 5601

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

Guliz Haskaraca ORCID no: 0000-0002-4641-866X

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

ambalajda modifiye atmosfer kullanılarak (%5 O₂-%10 CO₂-%85 N₂) ambalajlanmış ve 4°C ve 10°C'de 20 gün depolanmıştır. Ambalajlanmamış ürün grubu kontrol olarak kullanılmıştır. Depolama süresince hıyarların fiziksel, kimyasal ve duyuşsal kalite parametrelerindeki değişimin izlenmesi için tepe boşluğu gaz analizi, kütle kaybı, renk, tekstür, suda çözüner kuru madde, pH, titrasyon asitliği ve duyuşsal analizler yapılmıştır. 4°C'de hıyarlarda meydana gelen soğuk zararı nedeniyle denge atmosferine ulaşılamamış ve depolama sonunda %O₂ seviyesi kritik limitin (%2) altına inmiştir. 10°C'de ise etilen tutucu içermeyen ambalajlı grupta depolama süresince etilen konsantrasyonunun daha yüksek olması ürünün kalite parametrelerini olumsuz etkilerken, etilen tutucu içeren ambalajda etilen konsantrasyonunun daha düşük olması ve düşük soğuk zararı sayesinde ürün kalitesi daha iyi korunmuştur. 20 günlük depolama sonunda duyuşsal olarak kabul edilebilir tek ürün grubu, 10°C'de etilen tutucu içeren uygulama olmuştur. Sonuçlara göre, 10°C'de etilen tutucu katkı içeren ambalajlarda badem hıyarın raf ömrünün en az 20 gün olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Aktif ambalajlama, etilen tutucu, hasat sonrası kalite, soğuk zararı, badem hıyar

INTRODUCTION

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) belongs to the *Cucurbitaceae* family and is a widely cultivated and popular plant consumed globally, with significant economic importance (Che and Zhang, 2019). With high total water content (95% on average), cucumbers are also rich in vitamins and minerals essential for human nutrition, such as vitamin K, vitamin A, calcium, molybdenum, potassium, manganese and magnesium (Manjunatha and Anurag, 2014; Maleki et al., 2018). Although there are slight variations in the figures over the years, an average of 87 million tons of cucumbers were produced worldwide in 2021. China holds the largest share of this production with approximately 75.5 million tons. Following China, Turkey produced about 1.9 million tons and Russia 1.6 million tons of cucumbers in 2021 (Anonymous, 2023). Cucumbers belong to the group of non-climacteric fruits, meaning they do not continue to ripen after harvest (Wang et al., 2013). Therefore, if not stored under proper conditions after harvest, they quickly deteriorate, leading to significant product and economic losses. Considering the annual production volumes, it can be estimated how substantial product and financial losses can be during improper storage and transportation. To prevent these losses, it is crucial to maintain proper packaging and storage conditions that minimize product losses until the products reach the consumer.

During storage, cucumbers continue cellular respiration by taking in oxygen from the environment and releasing metabolic products

such as CO₂, water and ethylene (Sousa et al., 2017). If these metabolites released during respiration are not controlled in packaging and storage, quality losses such as color and texture changes and softening may occur in the products (Maleki et al., 2018). Indeed, it has been reported that most of the spoilage in cucumbers during storage is caused by yellowing due to the accumulation of ethylene gas and wrinkling due to cold injury when exposed to low temperatures (Manjunatha and Anurag, 2014). Cucumbers, which are highly sensitive to different storage temperatures, start to wrinkle, spot, yellow, and age when stored at temperatures below 10°C. On the other hand, cucumbers stored at temperatures above 15°C generally spoil through rotting and yellowing. Therefore, storage temperature is a crucial criterion for cucumbers and must be carefully controlled to extend the product's shelf life (Sabır and Açar, 2008; Li et al., 2014).

In addition to temperature control, various packaging techniques are being tried to prevent quality losses that may occur during storage and to extend the shelf life of cucumbers (Farber et al., 2003). At this point, modified atmosphere packaging (MAP) has become a frequently used application. It has been reported that MAP packaging significantly contributes to preventing cold injury in cucumbers during storage, and slows down water loss in products by reducing respiration rate and ethylene production (Fahmy and Nakano, 2014). Many studies in the literature highlighted the advantages of MAP technology in extending the shelf life of fruits and vegetables (Sandhya, 2010; Manjunatha and Anurag, 2014;

Oliveira et al., 2015;). However, like many developments in various fields today, packaging technologies have also advanced significantly. In addition to applications such as MAP, where only the internal atmosphere of the packaging is altered, some active packaging applications incorporate emitter or absorber systems within the packaging that capture or slow down aging by absorbing metabolites resulting from cellular respiration (Yildirim et al., 2018; Ebrahimi et al., 2022; Fan et al., 2023). Active packaging helps extend the product's shelf life by altering the atmospheric conditions around the product during storage using absorber and emitter systems for various metabolites such as carbon dioxide, oxygen, ethylene, and ethanol (Ozdemir and Floros, 2004; Yildirim et al., 2018; Bhardwaj et al., 2019). Active packaging is generally applied by including absorber/scavenger or emitter substances in a sachet or incorporating them directly into the packaging material (Soltani Firouz et al., 2021). Removing ethylene, which is produced as a result of the metabolic activities of fruits and vegetables, is one of the most critical factors in extending the shelf life (Fonseca et al., 2021). For this purpose, ethylene absorbers, which are a type of active packaging system, are used in cucumber storage. Compounds such as zeolite, potassium permanganate and palladium are used to capture ethylene in ethylene absorber systems. Among these, zeolite is one of the most commonly used ethylene absorbers in the structure of packaging materials (Yildirim et al., 2018).

Cucumbers are one of the most widely produced vegetables globally, yet they are highly sensitive to both high and low storage temperatures. Furthermore, the accumulation of ethylene within packaging can accelerate their aging, making preservation through traditional methods particularly challenging. While classical refrigeration and modified atmosphere packaging (MAP) are commonly employed, there is a growing need for active packaging solutions that extend the post-harvest shelf life of cucumbers and minimize economic losses (Li et al., 2014).

Although numerous studies have explored the effects of MAP on cucumber preservation, there is a noticeable gap in research specifically addressing the use of ethylene-absorbing packaging materials (Wills et al., 2018; Mori et al., 2022). In this study, we investigated the impact of active packaging containing ethylene absorbers and varying storage temperatures (+4°C and +10°C) on the quality parameters of cucumbers stored under modified atmosphere conditions.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Cucumbers sourced from the Sakarya fruit and vegetable wholesale market were used in this study. LDPE (low-density polyethylene) with ethylene-scavenging properties and LDPE without ethylene-scavenging properties were used in packaging. The ethylene scavenging LDPE pouches/bags (20 cm x 20 cm in size) were obtained from PEAKfresh (Peakfresh Products, Germany). The materials of these bags with a thickness of 25 µm, an oxygen transmission rate (OTR) of 23,000-24,000 cc/m²/day at 22°C and 0% relative humidity, a water vapor transmission rate (WVTR) of 25-27 g/m²/day at 22°C and 90% relative humidity, and an ethylene absorption rate of 3900 cc/m²/day at 22°C and 90% relative humidity were used. The LDPE films without ethylene scavenging properties were obtained as rolls from Sümer Plastic Inc. (Istanbul, Turkey). These films were cut into appropriate sizes, folded in half (final package size of 20 cm x 20 cm), and heat-sealed on three sides using a heat-sealing machine (ME-400 CFN, Mercier Corporation, Taiwan) at 100°C to form similar size pouches. At this stage, LDPE films with a thickness of 25 µm, an oxygen transmission rate of 4500 cc/m²/day at 22°C and 0% relative humidity, and a water vapor transmission rate of 7.36 g/m²/day at 37.8±1.1°C and 90% relative humidity were used.

All chemicals, including NaOH and phenolphthalein, were sourced from Merck (Merck Chemicals GmbH, Darmstadt, Germany), unless otherwise specified.

Methods

Packaging and Storage of Cucumbers

The cucumbers were purchased a day before the study (packaging) and quickly transported to the Food Packaging Laboratory at the Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Sakarya University. The cucumbers were transported in their original till-basket at ambient temperature. They were divided into two groups and stored in a refrigerator at 4°C and 10°C until packaging. Just before packaging, the cucumbers were taken out of the refrigerators, divided into 450 ± 50 g portions, and packaged using two different types of LDPE bags: one with ethylene-scavenging properties and one without.

The portioned cucumbers were packaged under modified atmosphere conditions using a MAP machine (Reepack RV 300, Italy) with a gas mixture of 5% O₂, 10% CO₂, and 85% N₂, maintaining 1:1 headspace ratio. The packed cucumbers were then stored at 4°C and 10°C for 20 days.

A control group of cucumbers was also stored to observe the effect of unpacked storage, and these were kept at 4°C and 10°C in an open atmosphere. Accordingly, six different groups were formed: cucumbers stored in an open atmosphere without packaging (AP4 and AP10), cucumbers packaged under MAP conditions (5% O₂–10% CO₂–85% N₂) in LDPE packages without ethylene-absorbing properties (MAP4 and MAP10), and cucumbers packaged under MAP conditions (5% O₂–10% CO₂–85% N₂) in LDPE packages with ethylene-absorbing properties (E-MAP4 and E-MAP10). The MAP conditions used in the study were determined through preliminary trials, considering the formation of an equilibrium atmosphere within the package and the headspace conditions (data were not shown). The experimental design and groups used in the study are schematically shown in Figure 1. Physical, chemical, and sensory quality analyses were performed on cucumbers stored at 4°C and 10°C on days 0, 5, 10, 15, and 20 of storage. The experiment was set up with three repetitions, and unless otherwise specified, analyses were performed in duplicate.

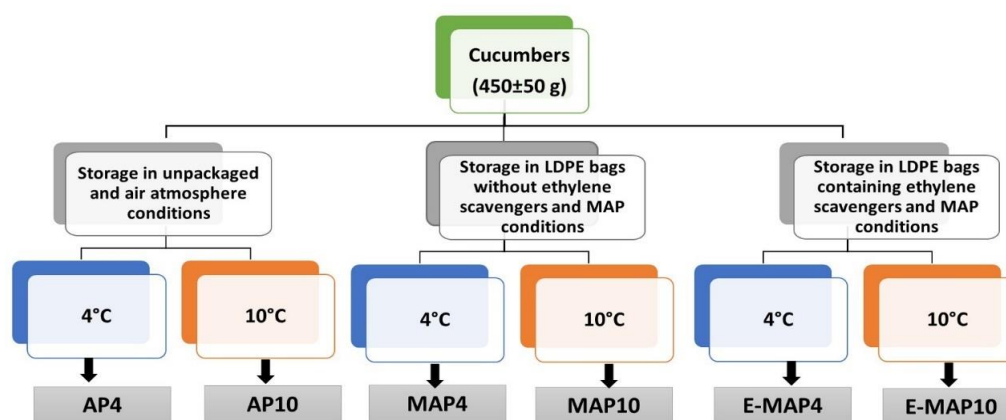


Figure 1. Experimental design

Weight Loss

The weight losses of the cucumbers were determined gravimetrically. Accordingly, the cucumbers were weighed with a precision balance (Sartorius, GE 2101, Germany) with an accuracy of ± 0.01 g on each analysis day, and the percentage (%) weight loss values were calculated.

Headspace Oxygen, Carbon Dioxide, and Ethylene Concentration

The oxygen and carbon dioxide (%v/v) concentrations in the headspace of the packages were determined on each analysis day using an

Oxybaby gas analyzer (Witt Oxybaby, Germany) (Sezer et al., 2017).

The ethylene concentration accumulated inside the packages was determined using a gas chromatography (GC) (Shimadzu, Model GC-2010, Japan) with a flame ionization detector (FID). For this purpose, 1 ml of air was drawn from the headspace of the package using a leak-proof syringe and injected into the GC to determine the ethylene concentration. A Poropak-Q column (1.8 m, Restek, USA) and nitrogen gas (Kuşaklı Sınai ve Tıbbi Gazlar Ind. Trade. Co. Ltd., Sakarya, Turkey) as the carrier gas were used during the analysis. The oven temperature was set to 50°C, the injector temperature to 210°C, and the detector temperature to 250°C throughout the analysis (Tian et al., 2004). The concentration of ethylene gas in the package was determined based on a calibration curve drawn using ethylene gas (99% purity) and air mixtures at five different concentrations, and the results were calculated as mg/kg.

Color Analysis

During storage, changes in the L*, a*, and b* color values of the cucumbers were monitored. On each analysis day, three cucumbers from each group were taken, and measurements were made from two opposite points on each cucumber using a pre-calibrated color measurement device (PCE-CSM 7, Meschede, Germany). The results were calculated as the average of 18 measurements taken for each application (Guiné et al., 2014).

Texture Analysis

To monitor the textural changes in the cucumbers during storage, texture analysis was performed using a TA.XT Plus texture analyzer (TA.XT Plus, UK). Texture analysis was carried out by taking measurements from two opposite points of the samples using a 4 mm diameter cylindrical probe, a speed of 5 mm/s, and a penetration distance of 5 mm. On each analysis day, three samples from each repetition were taken, and the results were calculated as the average of 18 measurements taken for each application. The results of the

texture analysis were expressed as the maximum penetration force in Newtons (N) (Sezer et al., 2017).

Chemical Analysis

During storage, the pH, titratable acidity and soluble solid content (SSC) analyses of the cucumbers were performed. Homogenized cucumbers using a laboratory blender (Waring, Germany) were used for pH, titratable acidity and SSC analyses.

pH Analysis

The pH analysis of the cucumbers was carried out according to the standard method described in AOAC (AOAC, 2005). For this purpose, 20 g of homogenized cucumbers were weighed and transferred to a 200 mL volumetric flask, filled to the mark with distilled water, and the prepared mixture was filtered through filter paper. A 20 ml aliquot of the resulting solution was taken into a beaker, and the pH was measured using a pre-calibrated pH meter (WTW-315i, Weilheim, Germany).

Titratable Acidity

For titratable acidity analysis, 20 g of homogenized cucumbers were transferred to a 200 ml volumetric flask, filled to the mark with distilled water, and filtered through coarse filter paper. A 25 ml aliquot of the filtrate was taken into an erlenmeyer flask and titrated with 0.1 N NaOH in the presence of phenolphthalein indicator, and the results were calculated as a percentage of malic acid (AOAC, 2005).

Soluble Solid Content (SSC)

For SSC determination, 1-2 drops of the homogenized sample were taken and measured with a refractometer (Atago N-50, Japan), and the values were expressed as % Brix (AOAC, 2005).

Sensory Evaluation

The sensory evaluation of the cucumbers was conducted according to the method demonstrated by Manjunatha and Anurag (2014) and Al-Juhaimi et al. (2012), with some modifications. The evaluation was carried out by a panel of six experienced panelists, who assessed

color, flavor, texture, and overall acceptance on a 5-point scale. The scale points used for evaluating each sensory attribute are as follows:

For surface color: 1 = very bad/severe yellowing on the skin, 3 = moderate/slightly yellow, 5 = very good/dark green

For texture: 1 = soft/not crispy, 3 = moderate/acceptable, 5 = crispy/firm

For flavor: 1 = very bad/unwanted flavor/loss of flavor, 3 = acceptable, 5 = very good/intense fruit flavor

For overall acceptance: 1 = dislike very much, 3 = acceptable, 5 = like very much

Statistical Analysis

The variance analysis of the results obtained from the study was performed using IBM SPSS 20 statistical software. The differences between applications during storage were evaluated by Duncan's multiple comparison test at a significance level of $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Weight Loss

Figure 2 shows the effect of active packaging and storage temperature on the weight loss (%) of

cucumbers during storage. It was observed that the weight loss in cucumbers packaged using LDPE bags with and without ethylene scavenger stored at both 4° or 10 °C was negligible (below 1%) during the entire storage period ($P > 0.05$). However, cucumbers stored in air atmosphere at 4° and 10 °C without packaging had a weight loss of 31.99% and 47.21%, respectively, at the end of 20 days of storage. Weight loss during storage of fresh fruits and vegetables is a significant parameter as it leads to economic losses and negatively affects the sensory quality of the products (Sezer et al., 2017). On the other hand, it has been reported that packaging significantly reduces weight loss (Halloran et al., 1996). The results from the study showed that significant weight loss occurred in cucumbers stored without packaging at 4° and 10 °C during storage, leading to sensory defects (especially wrinkling) and reducing the quality of the products. Therefore, a weight loss exceeding 30% in cucumbers sold without packaging indicates significant economic losses. On the other hand, the insignificant weight loss in cucumbers packaged with both types of LDPE bags can be attributed to the low moisture permeability of the PE-based materials used.

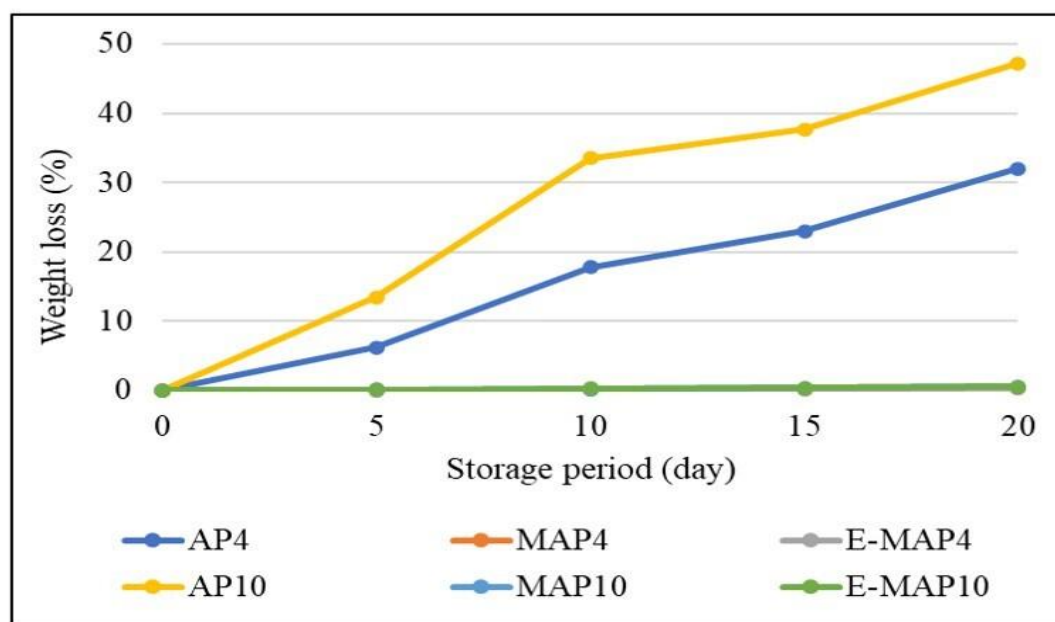


Figure 2. Effect of active packaging and storage temperature on weight loss of cucumber

It has been stated that cucumbers stored under passive MAP in polyethylene packaging exhibit significant differences in weight loss compared to those stored in open air (Sabır and Açar, 2008). In a study investigating the effects of different packaging materials and methods on the storage stability of cucumbers, Sabır and Açar (2008) reported that at the end of 21 days of storage, the highest weight loss was observed in cucumbers stored without packaging (15.86%), while the lowest weight loss was found in MAP-applied groups (0.23%) (Sabır and Açar, 2008). It was also reported that cucumbers packaged with perforated and non-perforated LDPE packaging materials and stored at 5°C for 18 days experienced weight losses of less than 1% and 9%, respectively, at the end of storage (Wang and Qi, 1997). Similarly, Kargwal et al. (2021) reported that the weight loss of cucumbers packed with PE bags under MAP conditions and stored at 10°C for 27 days ranged from 0.98% to 1.06%, whereas it reached 14.38% in unpacked samples.

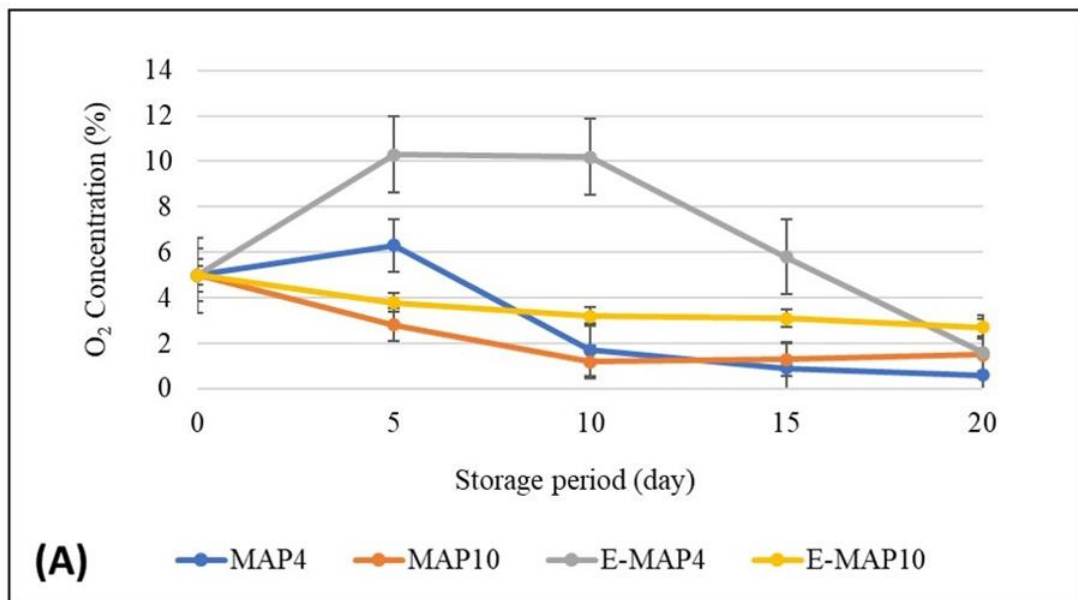
Oxygen, Carbon Dioxide and Ethylene Concentration in Headspace

O₂ and CO₂ Concentration

The effect of active packaging and storage temperature on the O₂ and CO₂ gas ratios in the headspace of the packages during storage is

shown in Figure 3 (A and B). When fruits and vegetables like cucumbers, which continue their respiration during post-harvest, are stored in MAP packaging, the critical oxygen level inside the package must remain above 2% to prevent the onset of anaerobic fermentation and establish an equilibrium atmosphere (Badillo and Segura-Ponce, 2020).

It was observed that the desired equilibrium atmosphere was not achieved at 4°C in cucumbers stored under active MAP (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂), and the O₂ level dropped below the critical limit (2%) that could cause anaerobic fermentation by the end of 20 days. This decrease can be explained by the fact that cucumbers are sensitive to cold. At temperatures below 10°C, cold injury occurs in cucumbers, increasing the respiration rate of the product. With the increase in respiration rate, the product consumes oxygen more quickly, preventing the formation of an equilibrium atmosphere. In the MAP4 group, the O₂ level rapidly decreased from the 5th day of storage, measuring 1.5% at the end of the storage period. Correspondingly, in this group, the CO₂ concentration in the headspace initially at 10% increased up to 11.4% by the end of the storage period.



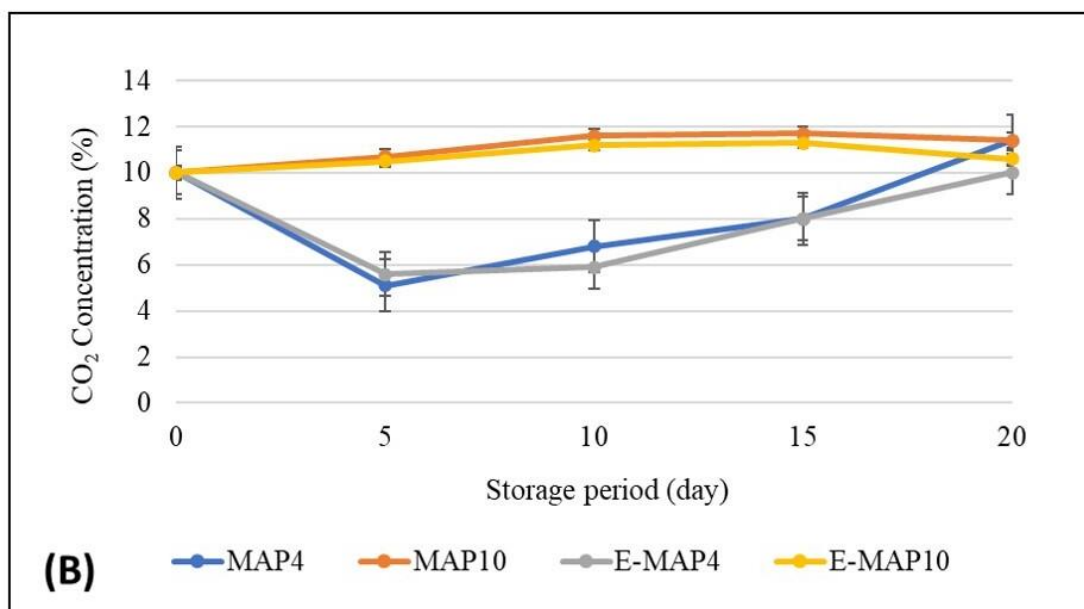


Figure 3. Effect of active packaging and storage temperature on headspace gas composition (A: effect on oxygen concentration, B: effect on carbondioxide concentration)

Similarly, at 10°C, the targeted equilibrium atmosphere was not achieved in LDPE packages without scavenger (MAP10). Although no cold injury occurred in cucumbers at this temperature, the decrease in oxygen concentration due to increased respiration at higher temperatures prevented reaching equilibrium atmosphere possibly due to insufficient O₂ permeability of the packaging material to replace the oxygen used by the respiration. At the end of the storage, the O₂ and CO₂ concentrations were observed to be 1.5% and 11.4%, respectively.

In LDPE packages with ethylene scavengers stored at 10°C (E-MAP10), an equilibrium atmosphere was achieved on the 5th day due to lower cold injury and higher OTR of the packaging material, with an O₂ concentration of 2.7% on the 20th day. CO₂ levels stabilized around 11% in groups stored at 10°C. The changes in O₂ and CO₂ concentrations in the E-MAP4 group can be explained by the high sensitivity of the product to cold. In this group, the O₂ concentration reached 10% on the 10th day of storage but then quickly dropped to 1.5% by the end of the storage period. Correspondingly, the increased sensitivity to cold accelerated the

respiration of the cucumbers, increasing CO₂ production from the 5th day onwards.

Overall, the headspace gas analysis results showed that equilibrium atmosphere was achieved in cucumbers stored in LDPE packages with ethylene absorbents at 10°C by the end of storage. Cucumbers are non-climacteric products with low ethylene production but they are ethylene sensitive. By capturing the low ethylene production in packages with scavengers, the impact of ethylene on the product was minimized. Considering the high cold injury at 4°C, a more suitable atmosphere was formed for cucumbers at 10°C.

Ethylene Concentration

The effect of active packaging and storage temperature on the ethylene concentration in the headspace is shown in Figure 4. During the first 5 days of storage, the ethylene concentration in the headspace increased to approximately 1 mg/kg in all groups. There was no significant change in ethylene concentration in all applications until the 10th day of storage, but after the 10th day, significant increases in ethylene concentration were observed (1.4 mg/kg) in packages without

ethylene scavengers at both temperatures ($P < 0.05$). At the end of storage, the difference in ethylene concentration between packages with and without ethylene scavengers was found to be statistically significant ($P < 0.05$). The lowest ethylene concentration (0.92 mg/kg) was measured in LDPE packages with ethylene scavengers stored at 4°C, however, it was determined that storage temperature did not significantly affect the ethylene concentration measured in cucumber packages ($P > 0.05$).

Although cucumbers produce ethylene at a low rate (0.1-1.0 $\mu\text{l}/\text{kg}\cdot\text{h}$ at 20°C), they are sensitive to it. Even 0.5 mg/kg ethylene in cucumbers can increase yellowing and spoilage (Srilaong and Tatsumi, 2003). Therefore, the ethylene concentration in the headspace remaining below 1 mg/kg even at the end of 20 days in packages with ethylene scavengers is thought to significantly contribute to extending the shelf life of the products.

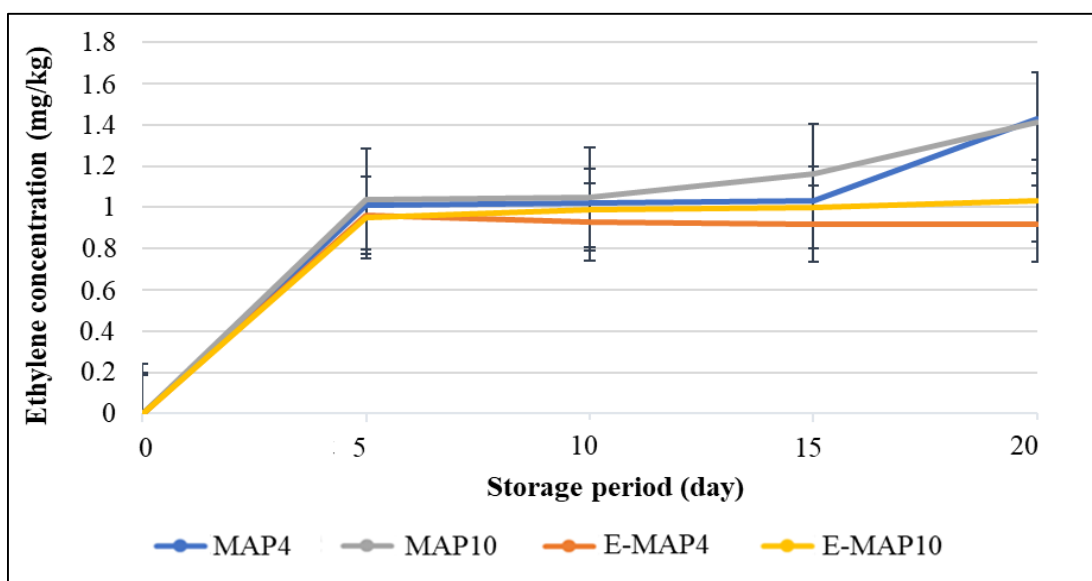


Figure 4. Effect of active packaging and storage temperature on ethylene concentration in the headspace

Color

The effect of active packaging, storage temperature, and storage period on color (L^* , a^* , b^*) is presented in Table 1. Color is one of the most critical parameters affecting the shelf life of ripe fruits and vegetables (Fagundes et al., 2015). Active packaging, storage temperature and storage period had significant effects on the L^* value of cucumber ($P < 0.05$). Due to cold injury to the product at 4°C, measurements could not be taken on the 20th day of storage in the unpackaged groups, while the results obtained in the packaged groups were measured as 33.52 and 32.40 in the MAP4 and E-MAP4 applications, respectively. The initial L^* value (39.86) was determined as 34.89, 36.06, and 42.89 at the end of storage in the AP10, MAP10, and E-MAP10 applications,

respectively. While the L^* values of the product in the E-MAP10 group increased during the storage period, a decrease was observed in other groups. This could be associated with microbial growth considering the sticky layer formed on the surface of the cucumbers. Better quality in color was obtained in the groups stored at 10°C compared to those stored at 4°C.

In a study investigating the effects of ultraviolet (UV-C) irradiation on cold injury in cucumbers, it was reported that the change in L^* value was lower at 10°C compared to 4°C, and storage at higher temperatures (10°C) was more effective in preserving the product's brightness (Küşümler, 2011).

Ethylene scavenging as active packaging for cucumber

Table 1. Effect of active packaging and storage temperature on L*, a* and b* color values of cucumber

	Day 0	Day 5	Day 10	Day 15	Day 20	
L*	AP4	39.86±1.78 ^{Aa}	38.91±2.12 ^{Aa}	32.40±2.11 ^{Db}	30.89±1.79 ^{Dc}	N.A.
	MAP4	39.86±1.78 ^{Ab}	36.68±2.28 ^{Bc}	41.31±2.02 ^{Aa}	34.00±1.70 ^{Cd}	33.52±1.40 ^{Dd}
	E-MAP4	39.86±1.78 ^{Aa}	37.53±2.24 ^{ABb}	40.38±2.00 ^{Cb}	33.24±1.99 ^{Cc}	32.40±1.73 ^{Dc}
	AP10	39.86±1.78 ^{Aa}	37.86±1.96 ^{ABa}	37.91±2.36 ^{Ba}	36.16±2.00 ^{Ab}	34.89±4.19 ^{Ac}
	MAP10	39.86±1.78 ^{Aa}	37.66±1.44 ^{ABb}	40.02±1.92 ^{ABa}	37.28±2.19 ^{Bb}	36.06±1.16 ^{Cc}
	E-MAP10	39.86±1.78 ^{Ac}	36.95±1.78 ^{Bd}	39.77±2.45 ^{Bc}	41.38±1.97 ^{Ab}	42.89±1.46 ^{Ba}
a*	AP4	-1.32±0.45 ^{Aa}	-4.44±1.11 ^{Cc}	-2.79±1.21 ^{Ab}	-3.54±1.40 ^{CDd}	N.A.
	MAP4	-1.32±0.45 ^{Aa}	-2.82±1.11 ^{Bb}	-4.10±0.70 ^{Bc}	-2.53±1.26 ^{Bb}	-4.02±1.02 ^{Bc}
	E-MAP4	-1.32±0.45 ^{Aa}	-1.95±1.06 ^{Aa}	-3.32±0.82 ^{Ac}	-1.42±0.95 ^{Aa}	-2.60±1.19 ^{Ab}
	AP10	-1.32±0.45 ^{Aa}	-2.73±0.79 ^{Bb}	-2.87±0.92 ^{Ab}	-3.96±0.90 ^{Dc}	-5.30±1.41 ^{Cd}
	MAP10	-1.32±0.45 ^{Aa}	-1.93±1.67 ^{Ab}	-3.05±0.63 ^{Ac}	-2.92±0.88 ^{BCc}	-3.48±1.42 ^{Ac}
	E-MAP10	-1.32±0.45 ^{Aa}	-1.69±0.88 ^{Aa}	-3.36±1.02 ^{Ab}	-3.60±0.73 ^{CDb}	-4.33±0.69 ^{Bc}
b*	AP4	18.23±2.53 ^{Aa}	18.86±2.89 ^{BCa}	18.41±2.27 ^{Ca}	15.77±3.80 ^{Db}	N.A.
	MAP4	18.23±2.53 ^{Ab}	18.24±2.10 ^{Cb}	25.25±2.12 ^{Aa}	17.77±2.63 ^{Cb}	15.14±1.85 ^{Dc}
	E-MAP4	18.23±2.53 ^{Ac}	20.23±2.14 ^{ABb}	22.05±2.65 ^{Ba}	16.73±2.70 ^{CDc}	14.07±1.73 ^{Dd}
	AP10	18.23±2.53 ^{Ac}	21.30±1.83 ^{Ab}	25.98±2.53 ^{Aa}	26.18±2.72 ^{Aa}	22.97±4.47 ^{Bb}
	MAP10	18.23±2.53 ^{Ac}	19.78±1.36 ^{ABb}	22.65±2.20 ^{Ba}	21.99±2.14 ^{Ba}	19.16±1.27 ^{Cbc}
	E-MAP10	18.23±2.53 ^{Ac}	18.91±2.48 ^{BCc}	23.30±3.17 ^{Bb}	24.77±2.40 ^{Ab}	27.59±2.94 ^{Aa}

A-D: For the same parameter, differences between means in the same column for a given storage day are statistically significant ($P < 0.05$).

a-d: For the same parameter, differences between means in the same row for a given application are statistically significant ($P < 0.05$).

(AP4: at 4°C without packaging and in air atmosphere, AP10: at 10°C without packaging and in air atmosphere, MAP4: at 4°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, MAP10: at 10°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, E-MAP4: at 4°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, E-MAP10: at 10°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, N.A.: Could not be analyzed)

The effects of packaging method, temperature and storage period on the a* values of cucumbers were found to be statistically significant ($P < 0.05$). The negative a* value indicates the greenness of the products. According to Table 1, a decrease in the a* value was observed in all applications at the end of storage compared to the beginning. This decrease indicates that the color of the cucumbers has darkened and ripened. The a* value, initially at -1.32, dropped to -5.30 in the AP10 application at the end of storage. The a* value closest to the initial value (-2.60) at the end of storage was obtained in the E-MAP4 application. The use of ethylene scavenger at low temperatures limited the change in a* value. It is thought that the wrinkles occurred in the cucumbers in the E-

MAP4 application may have affected the color (Manjunatha and Anurag, 2014).

The change in skin color is a part of the natural development of agricultural products during maturation and aging. During this process, pigments such as carotenoids and anthocyanins replace chlorophyll, causing the green color of the fruit to disappear and change to the ripened color. While color change accelerates due to stress factors such as cold injury, it also occurs naturally during storage (Küşüm, 2011).

Similar to L* and a* values, the effect of packaging method, temperature, and storage period on the b* value of cucumbers was also statistically significant ($P < 0.05$). A decrease in b*

value indicates a color change in the cucumber. The most significant color change in terms of b^* values occurred in the E-MAP4 and MAP4 applications. It is thought that the color change in the E-MAP4 group was due to cold injury. In the groups stored at 10°C, an increase in b^* value was observed at the end of the storage period. The initial b^* value of 18.23, was determined as 22.97, 19.16, and 27.59 in the AP10, MAP10, and E-MAP10 applications at the end of the storage, respectively. In the E-MAP10 application, the b^* value increased during storage, and the color of the product darkened which is in line with the change in a^* value. In a study by Küşümler (2011), cucumbers were stored at 5° and 10°C, and it was reported that the b^* value decreased at lower temperatures and increased at higher temperatures. The literature reports that reducing the oxygen level can delay the breakdown of chlorophyll and, consequently, the yellowing of the fruit skin (Suslow and Cantwell, 2006). In our study, it was observed that active packaging along

with active modified atmosphere packaging at 10°C delayed the color change of the cucumbers.

Texture

The effect of active packaging and storage temperature on penetration force (N) is presented in Table 2. It was determined that active packaging, storage temperature, and storage period had significant effects on the penetration force of cucumbers ($P < 0.05$). The penetration resistance of cucumbers was measured as 25.88 N at the 0th day of storage, and the tissue hardness was maintained in the E-MAP10 group throughout the storage period, with a measurement of 25.42 N on the 20th day. However, a significant decrease was observed during the storage for the products stored at 4°C ($P < 0.05$) and measured as 11.71 N and 1.51 N in MAP4 and E-MAP4 groups, respectively. This can be explained by the softening of the cucumbers due to cold injury at low temperatures. Better results were obtained in penetration force in the groups stored at 10°C.

Table 2. Effect of active packaging and storage temperature on penetration force (N) of cucumber

	Day 0	Day 5	Day 10	Day 15	Day 20
AP4	25.88±2.05 ^{Aa}	26.53±2.59 ^{ABCa}	21.59±2.91 ^{Bb}	0.61±0.35 ^{Ec}	N.A.
MAP4	25.88±2.05 ^{Aa}	25.02±2.86 ^{Ca}	19.05±2.78 ^{Cb}	19.73±3.25 ^{Cb}	11.71±4.15 ^{Cc}
E-MAP4	25.88±2.05 ^{Aa}	25.33±3.10 ^{ABCa}	22.67±1.78 ^{Bb}	5.33±1.48 ^{Dc}	1.51±1.70 ^{Dd}
AP10	25.88±2.05 ^{Ab}	25.61±2.47 ^{BCb}	25.51±2.63 ^{Ab}	29.26±3.47 ^{Aa}	19.56±2.99 ^{Bc}
MAP10	25.88±2.05 ^{Ab}	27.89±2.00 ^{Aa}	24.86±2.10 ^{Abc}	24.60±2.30 ^{Bbc}	23.88±3.37 ^{Ac}
E-MAP10	25.88±2.05 ^{Aab}	27.19±1.53 ^{ABa}	24.99±2.27 ^{Ab}	25.72±1.89 ^{Bab}	25.42±1.75 ^{Aab}

A-E: Differences between means in the same column for a given storage day are statistically significant ($P < 0.05$).

a-d: Differences between means in the same row for a given application are statistically significant ($P < 0.05$).

(AP4: at 4°C without packaging and in air atmosphere, AP10: at 10°C without packaging and in air atmosphere, MAP4: at 4°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, MAP10: at 10°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, E-MAP4: at 4°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, E-MAP10: at 10°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, N.A.: Could not be analyzed)

Significant differences were found between applications at the end of storage ($P < 0.05$), and the best results were obtained in the E-MAP10 and MAP10 groups. It was determined that temperature was a more important factor than ethylene scavenger packaging on cucumber firmness. Singh et al. (2024) stated that the firmness of cucumber is correlated with the cellulose, hemicellulose and pectin content. Also,

they were reported that at harvest, the firmness of cucumbers was 8.24 N, while, after 28 days of storage, the firmness declined by approximately 50%, reaching 4.68 N and 4.72 N for the control cucumbers stored at 10°C and 15°C, respectively. Also, they were concluded that packaged cucumbers maintained higher firmness levels compared to control. Kahramanoğlu and Usanmaz (2019) observed that cucumber

firmness decreased over a 24-day storage period, with MAP demonstrating superior preservation of firmness compared to control samples. Similarly, in the Octobus pickling cucumber variety, it was reported that storage under controlled atmosphere and passive modified atmosphere reduced firmness in all applications at the end of the 30-day storage period, but this reduction occurred most rapidly in the fruits stored under a controlled atmosphere (Akbudak et al., 2007).

pH

The effect of active packaging and storage temperature on the pH of cucumbers is presented in Table 3. It was determined that active packaging and storage period had significant effects on the pH value of cucumbers ($P < 0.05$). Generally, an increase in pH was observed during

storage in all groups. This increase can be explained by the ripening of the products as the storage period progresses. In many fruits, acidity decreases with ripening, whereas the pH value increases (Karaçalı, 2004). At the end of the 20-day storage, the pH value was the highest in the MAP4 and MAP10 groups, with values of 6.84 and 6.68, respectively, indicating that the fruit was more ripened compared to other applications. In a study investigating the effects of chitosan-limonene containing coatings on the shelf life of cucumbers stored at 4°C and 10°C for 15 days under active and passive modified atmosphere, the pH value, initially 5.82, increased to 6.40 and 6.60 at the end of storage at 4°C and 10°C, respectively. It was stated that the change in pH was related to the respiration rate and metabolic activity of the product (Maleki et al., 2018).

Table 3. Effect of active packaging and storage temperature on pH of cucumber

	Day 0	Day 5	Day 10	Day 15	Day 20
AP4	5.98±0.03 ^{Ac}	6.08±0.08 ^{BCb}	6.42±0.08 ^{ABa}	6.30±0.33 ^{Ba}	6.14±0.10 ^{Cb}
MAP4	5.98±0.03 ^{Ab}	6.11±0.13 ^{BCb}	6.27±0.55 ^{Bb}	6.65±0.07 ^{Aa}	6.68±0.07 ^{ABa}
E-MAP4	5.98±0.03 ^{Ac}	6.18±0.10 ^{Bb}	6.46±0.16 ^{ABa}	6.50±0.16 ^{ABa}	6.63±0.03 ^{Ba}
AP10	5.98±0.03 ^{Ab}	6.00±0.11 ^{Cab}	6.33±0.14 ^{Ba}	6.18±0.11 ^{Ba}	6.02±0.19 ^{CDab}
MAP10	5.98±0.03 ^{Ad}	6.41±0.07 ^{Ac}	6.72±0.09 ^{Ab}	6.73±0.07 ^{Ab}	6.84±0.04 ^{Aa}
E-MAP10	5.98±0.03 ^{Ab}	6.14±0.09 ^{Bb}	6.76±0.20 ^{Aa}	6.63±0.42 ^{Aa}	6.59±0.18 ^{Ba}

A-D: Differences between means in the same column for a given storage day are statistically significant ($P < 0.05$).

a-d: Differences between means in the same row for a given application are statistically significant ($P < 0.05$).

(AP4: at 4°C without packaging and in air atmosphere, AP10: at 10°C without packaging and in air atmosphere, MAP4: at 4°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, MAP10: at 10°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, E-MAP4: at 4°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, E-MAP10: at 10°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition)

Titration acidity (%)

The effect of active packaging and storage temperature on titration acidity is presented in Table 4. It was determined that packaging, temperature, and storage period had significant effects on the titration acidity of cucumbers ($P < 0.05$). The highest titration acidity was measured at 0.20% in the unpackaged group stored at 4°C. In a study, the titration acidity of the control group products was found to be higher than that

of the group containing ethylene scavenger, and this was explained as an indication that ripening was faster in the control group (Duman, 2011). Controlling two key factors, respiration rate and ethylene production, closely affects fundamental quality parameters such as color, acidity, and texture, which are quality indicators for fruits and vegetables (Çavuşoğlu, 2014).

Table 4. Effect of active packaging and storage temperature on titration acidity (Malic acid %) of cucumber (% Malic acid)

	Day 0	Day 5	Day 10	Day 15	Day 20
AP4	0.18±0.02 ^{Aab}	0.20±0.02 ^{Aab}	0.26±0.05 ^{Ca}	0.16±0.01 ^{Bb}	0.20±0.02 ^{Aab}
MAP4	0.18±0.02 ^{Ab}	0.18±0.01 ^{Ab}	0.21±0.02 ^{Ba}	0.16±0.01 ^{Bb}	0.17±0.01 ^{Bb}
E-MAP4	0.18±0.02 ^{Ab}	0.19±0.02 ^{Ab}	0.32±0.03 ^{ABa}	0.20±0.03 ^{ABb}	0.18±0.01 ^{Ab}
AP10	0.18±0.02 ^{Ab}	0.19±0.01 ^{Ab}	0.28±0.04 ^{BCa}	0.21±0.06 ^{Ab}	0.17±0.03 ^{Bb}
MAP10	0.18±0.02 ^{Ab}	0.18±0.01 ^{Ab}	0.21±0.02 ^{Ba}	0.16±0.01 ^{Bb}	0.18±0.01 ^{Ab}
E-MAP10	0.18±0.02 ^{Ab}	0.20±0.01 ^{Ab}	0.33±0.02 ^{Aa}	0.15±0.01 ^{Bbc}	0.16±0.01 ^{Bb}

A-C: Differences between means in the same column for a given storage day are statistically significant ($P < 0.05$).

a-c: Differences between means in the same row for a given application are statistically significant ($P < 0.05$).

(AP4: at 4°C without packaging and in air atmosphere, AP10: at 10°C without packaging and in air atmosphere, MAP4: at 4°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, MAP10: at 10°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, E-MAP4: at 4°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, E-MAP10: at 10°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition)

Soluble Solid Concentration

The effect of active packaging and storage temperature on SSC is presented in Table 5. The Initial brix value of 2.20% decreased to 1.50% at the end of storage in the unpackaged groups (AP4 and AP10), 1.60% in the scavenger-free LDPE groups (MAP4 and E-MAP10), and 1.40% in the E-MAP4 group and 1.70% in the E-MAP10 group containing ethylene scavenger. At the end

of the storage, the difference between E-MAP4 (1.40%) and E-MAP10 (1.70%) was found to be statistically significant, but the differences between other applications were not statistically significant. The decrease in % brix value during storage can be explained by the utilization of sugars in the product through respiration (Halloran et al., 1996).

Table 5. Effect of active packaging and storage temperature on brix (%) of cucumber

	Day 0	Day 5	Day 10	Day 15	Day 20
AP4	2.20±0.10 ^{Aa}	2.20±0.40 ^{Aa}	2.10±0.10 ^{Aa}	1.70±0.20 ^{Bb}	1.50±0.01 ^{ABb}
MAP4	2.20±0.10 ^{Aa}	2.00±0.30 ^{Aa}	2.10±0.10 ^{Aa}	1.80±0.10 ^{Bb}	1.60±0.20 ^{ABb}
E-MAP4	2.20±0.10 ^{Aa}	2.10±0.10 ^{Aab}	2.10±0.10 ^{Ab}	2.10±0.10 ^{Ab}	1.40±0.20 ^{Bc}
AP10	2.20±0.10 ^{Aa}	2.10±0.10 ^{Aa}	2.00±0.30 ^{ABa}	2.20±0.20 ^{Aa}	1.50±0.20 ^{ABb}
MAP10	2.20±0.10 ^{Aa}	2.10±0.10 ^{Aa}	1.70±0.20 ^{Bb}	1.80±0.10 ^{Bb}	1.60±0.10 ^{ABc}
E-MAP10	2.20±0.10 ^{Aa}	2.00±0.20 ^{Aa}	1.70±0.20 ^{Bb}	1.60±0.20 ^{Bb}	1.70±0.10 ^{Ab}

A-B: For the same analysis parameter, differences between means in the same column are statistically significant ($P < 0.05$).

a-c: For the same analysis parameter, differences between means in the same row are statistically significant ($P < 0.05$).

(AP4: at 4°C without packaging and in air atmosphere, AP10: at 10°C without packaging and in air atmosphere, MAP4: at 4°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, MAP10: at 10°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, E-MAP4: at 4°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, E-MAP10: at 10°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, N.A.: Could not be analyzed)

Sensory Evaluation

The effect of active packaging and different storage temperatures on the sensory properties of cucumbers is presented in Table 6. Photos taken at the beginning of storage (day 0), on the 5th day, on the 10th day, and on the 20th day are shown in Figures 5, 6, 7, and 8, respectively. The products were evaluated in terms of peel color, texture, flavor, and overall product acceptance. Accordingly, the acceptability of unpackaged

groups stored at 4°C and 10°C (AP4 and AP10) in terms of color values was limited to 5 days, while the acceptability of packaged groups stored at 4°C (MAP4 and E-MAP4) was limited to 10 days. The color of the LDPE-packaged group stored at 10°C (MAP10) was found to be acceptable on the 15th day. At the end of storage, only the E-MAP10 group was found to be acceptable in terms of color values.

Table 6. Effect of active packaging and storage temperature on sensorial properties of cucumber

	Day 0	Day 5	Day 10	Day 15	Day 20	
Color	AP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.80±0.08 ^{Aa}	2.00±0.36 ^{Cb}	1.00±0.31 ^{Cc}	1.00±0.21 ^{Dc}
	MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.50±0.23 ^{Aa}	3.50±0.78 ^{Bb}	2.50±0.89 ^{Bc}	2.00±0.76 ^{Cc}
	E-MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.75±0.14 ^{Aa}	3.75±0.38 ^{Bb}	2.25±0.45 ^{Bc}	2.00±0.44 ^{Cc}
Texture	AP10	5.00±0.0 ^{Aa}	5.00±0.0 ^{Aa}	2.75±1.14 ^{BCb}	1.00±0.50 ^{Cc}	1.00±0.32 ^{Dc}
	MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.75±0.13 ^{Aa}	4.50±0.28 ^{Aa}	3.50±0.34 ^{Ab}	2.50±0.36 ^{Bc}
	E-MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.50±0.33 ^{Aab}	4.75±0.24 ^{Aa}	4.00±0.67 ^{Abc}	3.50±0.45 ^{Ac}
Flavor	AP4	5.00±0.0 ^{Aa}	5.00±0.0 ^{Aa}	3.00±0.54 ^{Cb}	1.00±0.44 ^{Dc}	1.00±0.21 ^{Dc}
	MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.00±0.45 ^{Aa}	4.25±0.23 ^{ABab}	2.25±0.33 ^{Cc}	1.50±0.22 ^{CDc}
	E-MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.75±0.20 ^{Aa}	3.50±0.37 ^{ABa}	2.25±0.78 ^{Cc}	2.00±0.44 ^{BCc}
Overall	AP10	5.00±0.0 ^{Aa}	5.00±0.0 ^{Aa}	4.00±0.33 ^{ABb}	1.00±0.50 ^{Dc}	1.00±0.21 ^{Dc}
	MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	5.00±0.0 ^{Aa}	4.50±0.20 ^{Aa}	3.25±0.59 ^{Bb}	2.50±0.66 ^{Bc}
	E-MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.50±0.24 ^{Aab}	4.25±0.37 ^{ABab}	4.00±0.42 ^{Abc}	3.25±0.69 ^{Ac}
Flavor	AP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.75±0.12 ^{Aa}	2.75±1.04 ^{Bb}	N.A.	N.A.
	MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.25±0.35 ^{Ab}	4.25±0.44 ^{Ab}	2.25±1.20 ^{Ab}	1.00±0.33 ^{Cc}
	E-MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.50±0.22 ^{Aa}	3.50±0.51 ^{ABb}	2.50±0.45 ^{Ac}	2.00±0.76 ^{Bc}
Overall	AP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.75±0.16 ^{Aa}	3.75±0.13 ^{ABab}	N.A.	N.A.
	MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.25±0.41 ^{Aa}	4.25±0.22 ^{Aa}	3.00±0.55 ^{Ab}	2.00±0.45 ^{Bc}
	E-MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.00±0.55 ^{Aa}	3.80±0.45 ^{ABb}	3.00±0.78 ^{Ac}	3.00±0.43 ^{Ac}
Overall	AP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.75±0.14 ^{Aa}	2.25±1.12 ^{Cb}	1.00±0.44 ^{Dc}	1.00±0.22 ^{Dc}
	MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.25±0.33 ^{Ab}	4.25±0.36 ^{Ab}	2.25±0.58 ^{Cc}	1.50±0.56 ^{Cc}
	E-MAP4	5.00±0.0 ^{Aa}	4.75±0.22 ^{Aa}	3.25±0.63 ^{Bb}	2.25±0.54 ^{Cc}	2.00±0.63 ^{Bc}
Overall	AP10	5.00±0.0 ^{Aa}	5.00±0.0 ^{Aa}	3.25±0.77 ^{Bb}	1.00±0.62 ^{Dc}	1.00±0.34 ^{Dc}
	MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.50±0.24 ^{Aa}	4.50±0.21 ^{Aa}	3.00±0.46 ^{Bb}	2.00±0.74 ^{Bc}
	E-MAP10	5.00±0.0 ^{Aa}	4.25±0.35 ^{Aab}	4.25±0.46 ^{Aab}	4.00±0.57 ^{Ab}	3.00±0.47 ^{Ac}

A-D: For the same parameter, differences between means in the same column for a given storage day are statistically significant ($P < 0.05$).

a-c: For the same parameter, differences between means in the same row for a given application are statistically significant ($P < 0.05$).

(AP4: at 4°C without packaging and in air atmosphere, AP10: at 10°C without packaging and in air atmosphere, MAP4: at 4°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, MAP10: at 10°C in pure LDPE packaging and in MAP condition, E-MAP4: at 4°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, E-MAP10: at 10°C in LDPE packaging containing ethylene scavengers and in MAP condition, N.A.: Could not be analyzed)

Figure 5. Images of cucumbers on the 0th day of storage

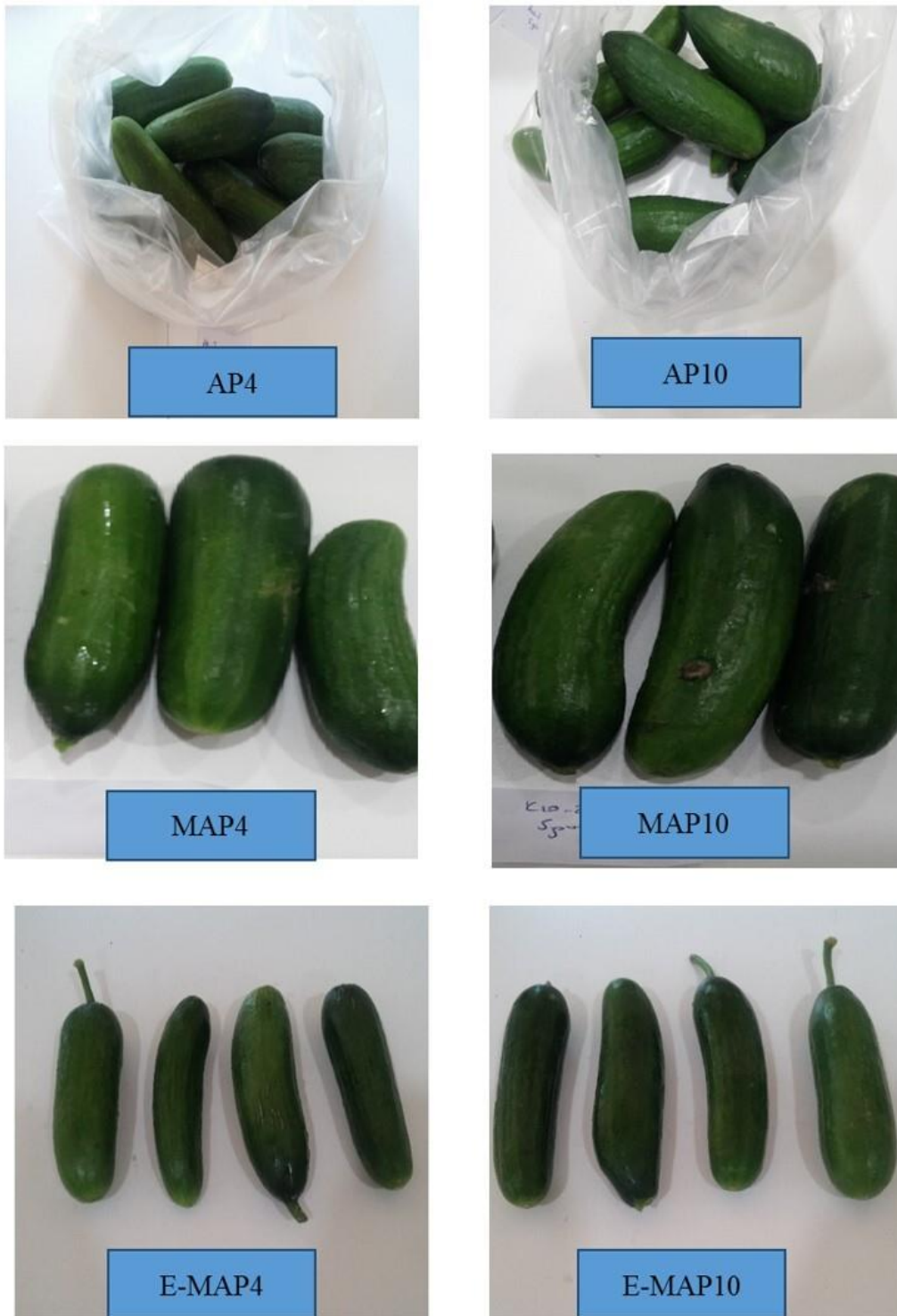


Figure 6. Images of cucumbers on the 5th day of storage

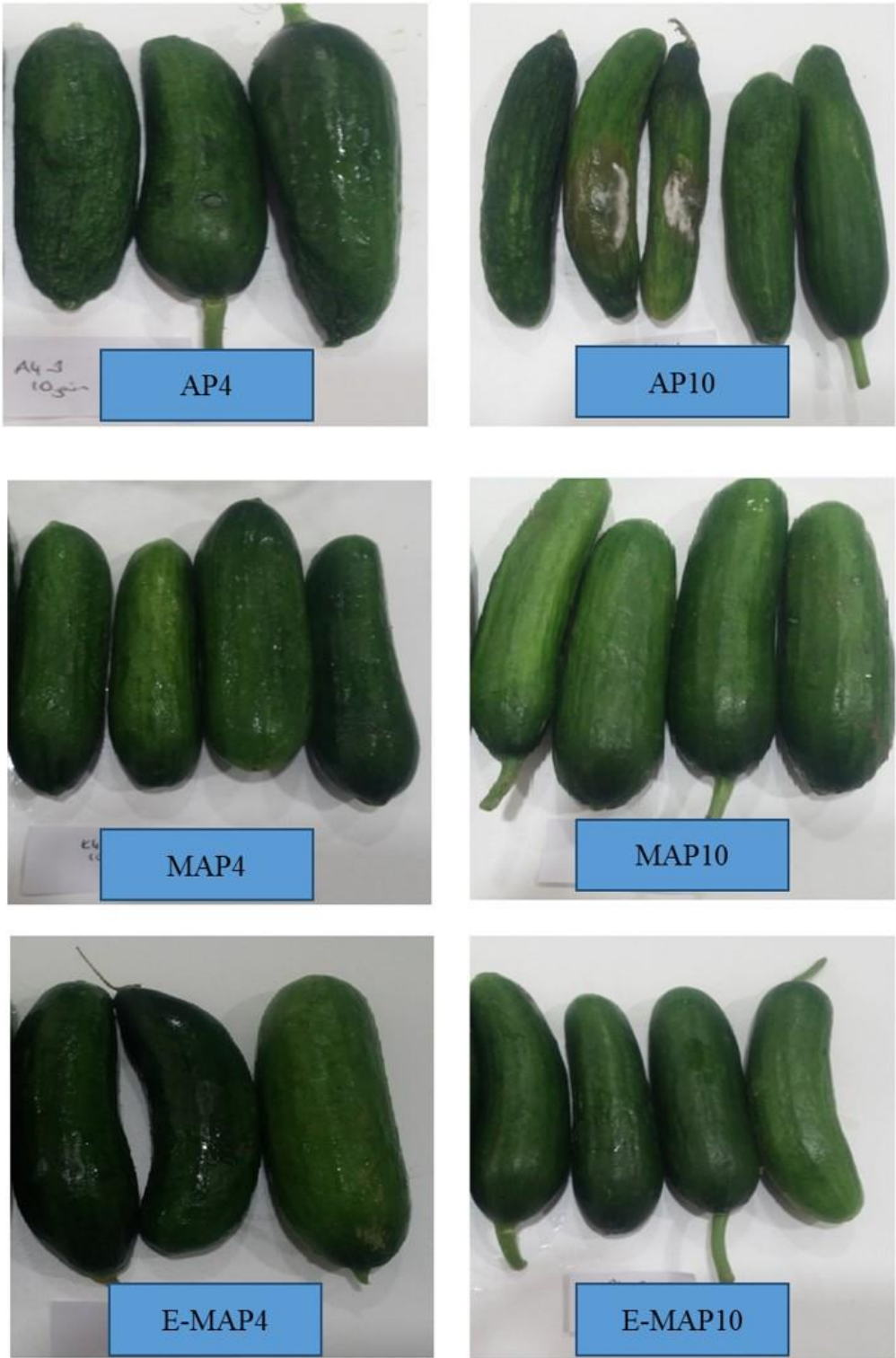


Figure 7. Images of cucumbers on the 10th day of storage

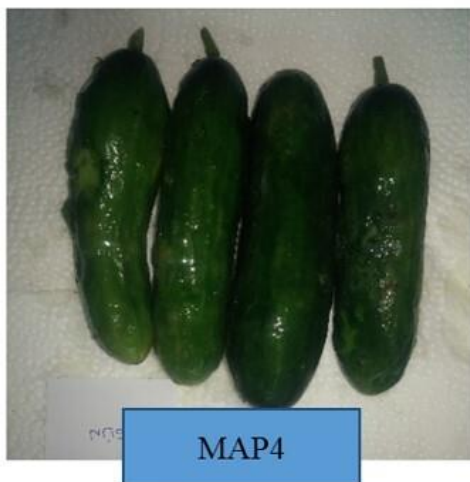


Figure 8. Images of cucumbers on the 20th day of storage

In terms of texture, the textural acceptability of unpackaged groups and packaged groups stored at 4°C was limited to 10 days, while the textural acceptability of products stored in LDPE packages without ethylene scavenger at 10°C (MAP10) was limited to 15 days. At the end of storage, only the E-MAP10 group was found to be acceptable in terms of texture. It was determined that all groups stored at 4°C experienced softening due to cold injury related to the cold storage temperature.

In terms of flavor values, the acceptability of the unpackaged AP4 group was 5 days, while the acceptability of the AP10 group was 10 days. After the 15th day, tasting could not be performed on unpackaged groups due to microbial growth on the surface. The acceptability of packaged groups stored at 4°C (MAP4 and E-MAP4) in terms of flavor was 10 days. At the end of storage, only the E-MAP10 group was acceptable in terms of flavor. It was determined that active packaging and storage temperature had a significant effect on flavor ($P < 0.05$).

When evaluating overall acceptance, the acceptability of the unpackaged (AP4) group was limited to 5 days, while the acceptability of the AP10 group was 10 days. The acceptability of packaged groups stored at 4°C was 10 days. The acceptability of products packaged in LDPE packaging without an ethylene scavenger and stored at 10°C (MAP10) was determined as 15 days. At the end of storage, only the E-MAP10 application remained above the acceptability threshold. As a result, the cucumbers in LDPE bags with an ethylene scavenger stored at 10°C were acceptable in terms of all sensory attributes and overall product acceptance.

Overall, packaging and storage temperature had a significant effect on the sensory properties of cucumber ($P < 0.05$). Among all applications, better results for all sensory attributes were obtained at 10°C compared to 4°C. Sing et al. (2024) reported that packaging under modified atmosphere conditions significantly extended the overall acceptance of cucumbers beyond 20 days when stored at 10°C (21 days) and 15°C (28 days).

Similarly, in a study investigating the quality changes of cucumbers stored at 10°C for 30 days by packaging them with modified atmosphere and shrink film, it was reported that at the end of the 30th day, products packaged with modified atmosphere received a score of 3.6 out of 5, maintaining their marketability, while those wrapped with shrink film received a score of 2.0, losing their marketability. It was stated that the presence of rot and loss of green color in products wrapped with shrink film at the end of storage resulted in a low score (Şen, 2013).

CONCLUSIONS

The effects of different packaging applications (unpackaged, MAP packaging in LDPE bags, or MAP packaging in LDPE bags with an ethylene scavenger) and different storage temperatures (4°C and 10°C) on the shelf life of cucumbers were investigated. Based on the evaluation of physiological, physical, chemical, and sensory parameters, our results indicated that the packaging of cucumbers in LDPE bags containing an ethylene scavenger and storage at 10°C is the optimal conditions for extending the shelf life of cucumbers to 20 days. In contrast, unpackaged cucumbers stored at 4°C had a shelf life of 5 days, while unpackaged cucumbers at 10°C and those packaged in LDPE at 4°C (with or without an ethylene scavenger) had shelf lives of 10 days. Cucumbers packaged in LDPE without an ethylene scavenger at 10°C (MAP10) lasted for 15 days.

This study highlights the substantial benefit of using LDPE packaging with an ethylene scavenger, demonstrating a 100% increase in shelf life compared to unpackaged cucumbers. Given the significant economic implications of packaging on the shelf life and weight loss, future research could explore cost-effective packaging solutions and evaluate their environmental impact. Additionally, studies could investigate the long-term effects of different storage temperatures on sensory attributes and nutritional quality.

CONFLICT OF INTEREST

There is no known conflict of interest among the authors.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Tuncay Tiribolulu: data collection, statistical analyses, original manuscript writing. Guliz Haskaraca: statistical analyses, original manuscript writing, writing - review and editing. Zehra Ayhan: experimental design, conceptualization, writing - review and editing, supervision, consultancy.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was produced from Tuncay Tiribolulu's master's thesis under the supervision of Prof. Dr. Zehra Ayhan.

REFERENCES

Akbudak, B., Ozer, M. H., Uylaser, V., Karaman, B. (2007). The effect of low oxygen and high carbon dioxide on storage and pickle production of pickling cucumbers cv. 'Octopus.' *Journal of Food Engineering*, 78(3): 1034–1046. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.045>

Anonymous. (2023). *World Cucumber Production by Country, Countries by Cucumber Production*. <https://www.Atlasbig.Com/En-Us/Countries-Cucumber-Production> (Accessed 01 June 2024)

Al-Juhaimi, F., Ghafoor, K., Babiker, E. E. (2012). Effect of Gum Arabic Edible Coating on Weight Loss, Firmness and Sensory Characteristics of Cucumber (*Cucumis Sativus* L.) Fruit During Storage. *Pakistan Journal of Botany*, 44(4): 1439-1444.

AOAC. (2005). Official methods of analysis. In *AOAC International press* (18th ed., pp. 2087–2417).

Badillo, G. M., Segura-Ponce, L. A. (2020). Classic and Reaction-Diffusion Models Used in Modified Atmosphere Packaging (MAP) of Fruit and Vegetables. *Food Engineering Reviews*, 12(2): 209–228. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09214-3>

Bhardwaj, A., Alam, T., Talwar, N. (2019). Recent advances in active packaging of agri-food

products: A review. *Journal of Postharvest Technology*, 7(1): 33–62.

Che, G., Zhang, X. (2019). Molecular basis of cucumber fruit domestication. *Current Opinion in Plant Biology*, 47: 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.08.006>

Çavuşoğlu, G. (2014). Farklı Doz Ozon Gazı Uygulamalarının Hasat Sonrası Soğukta Saklama Sırasında Brokoli, Hıyar ve Domates Kalitesi Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi/ Investigation of different ozone gas doses treatments on broccolies, cucumbers and tomatoes postharvest quality during cold storage. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 113s. (in Turkish).

Duman, G. (2011). Kivi (*Actinidia deliciosa*) Meyvesinde Farklı Hasat Sonrası Uygulamalar ve Farklı Ambalaj Tiplerinin Depolama Süresi ve Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri/ / Effects of different postharvest applications and packaging types on the storage and fruit quality of kiwi (*Actinidia deliciosa*). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, Türkiye, 53s. (in Turkish).

Ebrahimi, A., Zabihzadeh Khajavi, M., Ahmadi, S., Mortazavian, A. M., Abdolshahi, A., Rafiee, S., Farhoodi, M. (2022). Novel strategies to control ethylene in fruit and vegetables for extending their shelf life: A review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(5): 4599–4610. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03485-x>

Fagundes, C., Moraes, K., Pérez-Gago, M. B., Palou, L., Maraschin, M., Monteiro, A. R. (2015). Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 109: 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.05.017>

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. <https://doi.org/10.2525/ecb.52.233>

- Fan, X., Zhao, J., Rong, L., Yang, T., Wang, H., Chang, L., Huang, J. (2023). Electrospinning of Triple-Component Protein–Polysaccharide Nanofibers for Fabrication of Highly Efficient Ethylene Scavenger Films. *ACS Sustainable Chemistry Engineering*, 11(16): 6352–6361. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.3c00073>
- Farber, J. N., Harris, L. J., Parish, M. E., Beuchat, L. R., Suslow, T. V., Gorney, J. R., Garrett, E. H., Busta, F. F. (2003). Microbiological Safety of Controlled and Modified Atmosphere Packaging of Fresh and Fresh-Cut Produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(s1): 142–160. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00032.x>
- Fonseca, J. de M., Pabón, N. Y. L., Nandi, L. G., Valencia, G. A., Moreira, R. de F. P. M., Monteiro, A. R. (2021). Gelatin-TiO₂-coated expanded polyethylene foam nets as ethylene scavengers for fruit postharvest application. *Postharvest Biology and Technology*, 180, 111602. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111602>
- Guiné, R. P. F., Henriques, F., Barroca, M. J. (2014). Influence of drying treatments on the physical and chemical properties of cucumber. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 8(3): 195–206. <https://doi.org/10.1007/s11694-014-9180-9>
- Halloran, N., Çağırın, R., Kasım, M. U. (1996). Sebzelelerde Hasat Sonrası Üşüme Zararı. *Gıda*, 21(5): 359–366.
- Kahramanoğlu, İ., Usanmaz, S. (2019). Improving Postharvest Storage Quality of Cucumber Fruit by Modified Atmosphere Packaging and Biomaterials. *HortScience*, 54(11): 2005–2014. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14461-19>
- Karaçalı, I. (2004). Bahçe Ürünlerinin Muhafaza ve Pazarlanması. Ege Üniversitesi Basımevi.
- Kargwal, R., Garg, M., Kumar, S., Singh, V., Panghal, A., Gupta, R., Kumar, N., Atkan, A. (2021). Effect of film thickness on quality characteristics of cucumber during storage under modified atmosphere packaging (MAP). *The Pharma Innovation Journal*, 10(7): 227–231.
- Küşümler, A. S. (2011). Ultraviyole (UV-C) Işını Uygulamasının Patlıcan ve Hıyarlarda Soğuk Zararlanması Üzerine Etkisi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul, Türkiye, 292s.
- Li, J., Yan, 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(1): 271–277. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00773.x>
- Maleki, G., Sedaghat, N., Woltering, E. J., Farhoodi, M., Mohebbi, 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(3): 1610–1621. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9776-6>
- Manjunatha, M., Anurag, R. K. (2014). Effect of modified atmosphere packaging and storage conditions on quality characteristics of cucumber. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11): 3470–3475. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0840-7>
- Mori, T., Shigyo, T., Nomura, T., Osanai, Y., Nakajima, K., Fukuoka, A. (2022). Ethylene oxidation activity of silica-supported platinum catalysts for the preservation of perishables. *Catalysis Science & Technology*, 12, 3116–3122. <https://doi.org/10.1039/D2CY00335J>
- Oliveira, M., Abadias, M., Usall, J., Torres, R., Teixidó, N., Viñas, I. (2015). Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables – A review. *Trends in Food Science Technology*, 46(1): 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.017>
- Ozdemir, M., Floros, J. D. (2004). Active Food Packaging Technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(3): 185–193. <https://doi.org/10.1080/10408690490441578>
- Sabır, F. K., Açar, İ. T. (2008). The effects of modified atmosphere packaging on quality of cucumber cv. Çengelköy. *Alatarm*, 7(1): 29–35.

- Sandhya. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT - Food Science and Technology*, 43(3): 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.018>
- Şen, F. (2013). Farklı Ambalajlarda Muhafaza Edilen Hıyar (*Cucumis sativus L.*) Meyvelerinin Kalite Değişimleri. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(1): 60–70.
- Sezer, E., Ayhan, Z., Çelikkol, T., Güner, F. (2017). Effect of zeolite added active packaging material on the quality and shelf life of kiwifruit. *GIDA / THE JOURNAL OF FOOD*, 42(3): 277–286. <https://doi.org/10.15237/gida.GD16108>
- Singh, S., Chaurasia, S. N. S., Sharma, S., Behera, T. S. (2024). Effect of modified atmosphere packaging (MAP) on quality and shelf-life of cucumber during cold storage. *Indian Journal of Horticulture*, 81(2): 215–220. <https://doi.org/10.58993/ijh/2024.81.2.15>
- Soltani Firouz, M., Mohi-Alden, K., Omid, M. (2021). A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. *Food Research International*, 141, 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>
- Sousa, A. R., Oliveira, J. C., Sousa-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. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.026>
- Srilaong, V., Tatsumi, Y. (2003). Changes in Respiratory and Antioxidative Parameters in Cucumber Fruit (*Cucumis sativus L.*) Stored under High and Low Oxygen Concentrations. *Engei Gakkai Zasshi*, 72(6): 525–532. <https://doi.org/10.2503/jjshs.72.525>
- Suslow, T. V., Cantwell, M. (2006). *Recommendations for Maintaining Postharvest Quality-Cucumber*. Postharvest Research and Extension Center.
- Tian, S.-P., Jiang, A.-L., Xu, Y., Wang, Y.-S. (2004). Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage. *Food Chemistry*, 87(1): 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.014>
- Wang, C. Y., Qi, L. (1997). Modified atmosphere packaging alleviates chilling injury in cucumbers. *Postharvest Biology and Technology*, 10(3): 195–200. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(97\)01405-1](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(97)01405-1)
- Wang, Y., Wang, Y., Ji, K., Dai, S., Hu, Y., Sun, L., Li, Q., Chen, P., Sun, Y., Duan, C., Wu, Y., Luo, H., Zhang, D., Guo, Y., Leng, P. (2013). The role of abscisic acid in regulating cucumber fruit development and ripening and its transcriptional regulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 64: 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.12.015>
- Wills, R. B. H., Yongxin, L., Golding, J. B. (2018). Maintaining the market life of vegetables held at an ambient tropical temperature by reducing exogenous ethylene. *Tropical Agriculture*, 95(1): 31–37.
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Radusin, T., Suminska, P., Marcos, B., Coma, V. (2018). Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1): 165–199. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>



**QUALITY EVALUATION OF PINE AND BLOSSOM HONEY SAMPLES
PRODUCED IN TURKEY: CORRELATION BETWEEN PHYSICOCHEMICAL
CHARACTERISTICS**

Özlem ASLAN*, Emine Aytunga ARIK KIBAR
TÜBİTAK MAM Food Technology Research Group, Gebze Kocaeli, Türkiye

Received/Geliş: 30.03.2023; Accepted/Kabul: 17.10.2024; Published online/Online baskı: 31.10.2024

Aslan, Ö., Arık Kibar, E. A. (2024) *Quality evaluation of pine and blossom honey samples produced in Turkey: Correlation between physicochemical characteristics*. GIDA (2024) 49 (6) 1095-1108 doi: 10.15237/gida.GD23045

Aslan, Ö., Arık Kibar, E. A. (2024) Türkiye'ye özgü çam ve çiçek ballarının kalite özelliklerinin değerlendirilmesi: Fizikokimyasal özellikler arasındaki ilişki. GIDA (2024) 49 (6) 1095-1108 doi: 10.15237/gida.GD23045

ABSTRACT

This study presents physicochemical characteristics of 39 honey samples (21 blossom and 18 pine honey) collected during two years from three different geographical regions of Türkiye that differs vastly in climatic conditions and thus plant species. The samples were analysed for $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ stable carbon isotope ratios of honey ($\delta^{13}\text{C}_h$) and its protein fraction ($\delta^{13}\text{C}_p$), moisture, free acidity, proline and 5-hydroxymethyl furfural (HMF) content, diastase activity and sugar composition. The results showed that C_4 sugar content, proline content, diastase activity, acidity values of pine honeys were higher than that of blossom honeys whereas, higher moisture and HMF content were detected for blossom honeys. Besides, geographical region mainly affected the moisture and C_4 sugar contents. High correlations between HMF and $\delta^{13}\text{C}_h$ and $\delta^{13}\text{C}_p$; proline and acidity values; fructose and glucose content were determined, and this indicated the robustness of the analysis and quality evaluation among different honey types and regions.

Keywords: Honey, physicochemical characterization, geographical variability, carbon isotope ratio, hydroxymethyl furfural

**TÜRKİYE'YE ÖZGÜ ÇAM VE ÇİÇEK BALLARININ KALİTE
ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ: FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLER
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

ÖZ

Bu çalışma, Türkiye'nin iklim koşulları ve dolayısıyla bitki türleri bakımından büyük farklılıklar gösteren üç farklı coğrafi bölgeden iki yıl boyunca toplanan 39 bal örneğinin (21 çiçek ve 18 çam balı) fizikokimyasal özelliklerini ortaya koymaktadır. Örnekler, balın $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ kararlı karbon izotop oranları ($\delta^{13}\text{C}_h$) ve bunun protein fraksiyonu ($\delta^{13}\text{C}_p$), nem, serbest asitlik, prolin ve 5-hidroksimetil furfural (HMF) içeriği, diastaz aktivitesi ve şeker bileşimi açısından analiz edilmiştir. Sonuçlar, çam ballarının C_4 şeker içeriği, prolin içeriği, diastaz aktivitesi ve asitlik değerlerinin çiçek ballarından daha yüksek olduğunu, çiçek ballarında ise nem ve HMF içeriğinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca coğrafi bölge faktörü, nem ve C_4 şeker içeriklerini büyük ölçüde etkilemiştir. HMF içeriği ile

*Corresponding Author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: ozlem.aslan@tubitak.gov.tr

☎: (+90) 262 677 3254

☎: (+90) 262 641 2309

Özlem Aslan; ORCID no: 0000-0003-3051-3168

Emine Aytunga Arık Kibar; ORCID no: 0000-0001-6657-6342

$\delta^{13}\text{C}_h$ ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri arasında, prolin ve asitlik değerleri arasında ve fruktoz ve glukoz içerikleri arasında yüksek korelasyonlar tespit edilmiş ve bu durum farklı bal türleri ve farklı bölgeler arasında yapılan analiz ve kalite değerlendirmelerinin geçerliliğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Bal, fizikokimyasal karakterizasyon, coğrafi farklılıklar, karbon izotop oranı, hidroksimetil furfural

INTRODUCTION

Honey is a natural product that honeybees (*Apis mellifera*) produce by collecting and processing plant nectars (Mohammed and Babiker, 2009). It is known as a valuable substance that has high nutritional properties and therefore can be used in many medicinal practices (Hernández et al., 2005). Several factors can affect honey quality such as plant variety that bees gather their nectar needs, climatic factors of the plant area, process and storage conditions. For this reason, investigating honey quality regarding the essential properties is very important considering the health of consumer (Abdulkhalik and Swaileh, 2017).

In Türkiye, honey production is well developed and beekeeping is an important agricultural activity that has been going on for many years due to the environmental conditions that ensure a proper atmosphere for apicultural activities geographically and climatically (Kahraman et al., 2010). Türkiye is recognized as one of the biggest honey producers worldwide (Yardibi and Gumus, 2010). According to the FAO statistics (FAO, 2022), there are about more than 8 million hives in Türkiye and c.a.111.000 tons of honey have been produced by 2022 totally.

Blossom honey is produced from nectar collected directly from flowers by worker bees, and is the most popular honey type consumed and commercially available in Türkiye. In general, this honey is produced from a variety of flowers and thus called as a “poly-floral” honey that doesn't have any particularly distinct flavour. Unlike blossom honey, pine honey is actually produced from honeydew, which is a liquid secreted from a type of insect that lives on pine trees. Türkiye is the global leader in the production of pine honey, with more than 90% of the total output originating from Türkiye (Sarı, 2022).

More than two hundred components are defined in honey (Escuredo et al., 2013) and the main ones are sugars (70–80%) and water (10–20%). The remaining part is composed of free amino acids, proteins, minerals, vitamins, phenolic acids and organic acids. Honey properties and composition differ widely according to the region, season, bee species, plants variety in the region, harvesting method, and storage period in honeycomb and postharvest storage. Considering that there are many floral origin possibility, it is expected that a honey is not exactly the same as the other (Kirs et al., 2011).

The honey quality is identified relying on its unique characteristics such as physical, chemical, sensorial and microbiological properties (Finola et al., 2007). The regulations and standards regarding honey are developed to ensure standardization of the processing and clearness in the market. The necessary conditions to assess the honey for its authenticity are stated by the Codex Alimentarius, whose main purpose is to assign the significant quality limits that are important for consumption.

Honey adulteration is one of the main issues that need attention for honey manufacturers and also for the consumers. Not only it affects honey producers economically but also it has unfavourable impacts for consumer health. Honey fraud via bee feeding by a variety of sugars during honey production or manipulating honey after production by adding different sugar syrups are some of the ways for adulteration that result in change in the composition of pure honey. Starch-based sugar syrups, high fructose corn syrup, glucose syrup and sucrose syrups are some of the sugars which can be used (Tosun, 2013). Standard $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ carbon isotope ratio analysis is well recognized for the detection of fraud in honey with sugar cane or corn (C_4) sugar syrups (Elflein et al., 2008; Simsek et al., 2012; White and Winters, 1989).

Currently honey market tends to define geographical limits for production with the purpose of providing a particular standard of quality developed and marketed for a production area. One region could produce better quality honey products than others. Thus, labelling of regional honey must be supported by analysis in order to confirm its origin (Viuda-Martos et al., 2010). Numerous studies reported the physicochemical characteristics of several types of honey from various geographical regions around the world (Al-Khalifa and Al-Arif, 1999; Kahraman et al., 2010; Mendes et al., 1998; Ouchemoukh et al., 2007). However, there are limited number of studies exhibiting the chemical composition and quality parameters of Turkish commercial honeys. In particular, there is limited study in which the quality characteristics of commercial pine and blossom honey obtained from different regions of Türkiye are determined comprehensively and associated with their geographical regions. The purpose of the present

work is to exhibit the physicochemical characteristics of blossom and pine honey samples collected in two years from three different regions of Türkiye, namely, Black Sea, Central Anatolia, and Mediterranean Regions where the climatic conditions and plants varies significantly. Besides, the correlation among the quality parameters has been assessed as well as they are evaluated with regard to national and international honey standards.

MATERIAL AND METHODS

Honey samples

Commercial honey samples (21 blossom and 18 pine) were obtained from commercial producers in Black Sea (6 blossom and 5 pine honeys), Central Anatolia (5 blossom and 4 pine honeys) and Mediterranean Region (10 blossom and 9 pine honeys) in the year of 2013 and 2014. The regions where honey was collected are shown in Fig. 1. The samples were stored in a refrigerator until taken to analysis.

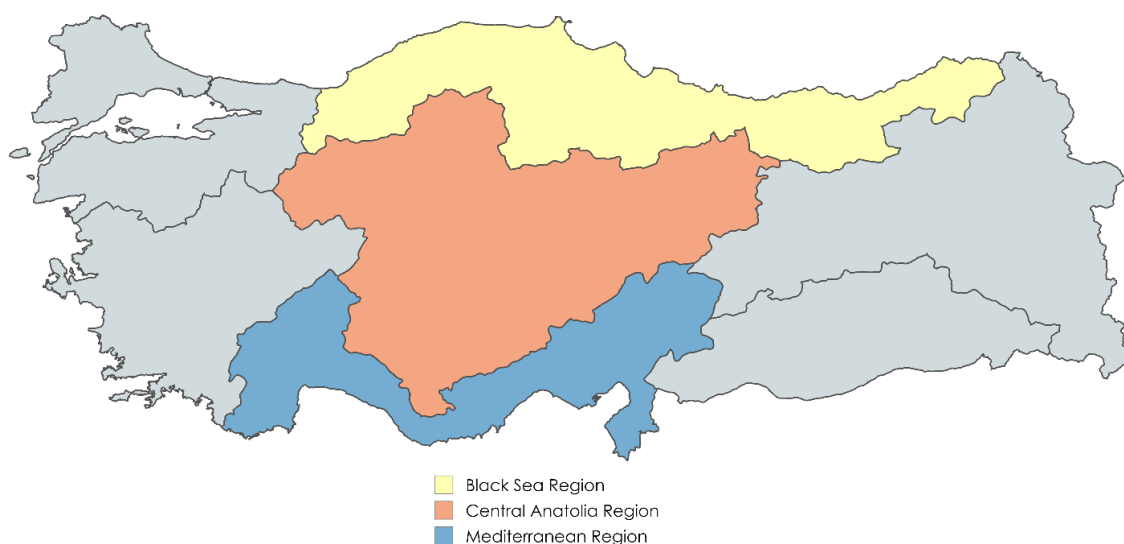


Figure 1. The regions where honey was collected in Türkiye

Moisture content

Moisture content was measured by a digital refractometer (Atago, Japan) according to AOAC 969.38 and 920.180 methods.

Acidity

Total acidity was measured with regard to the harmonized method as described by Bogdanov (2009). Briefly, 10 g of the sample were dissolved in 75 ml CO₂-free distilled water and titrated with 0.1 M NaOH until the pH reached 8.5.

Stable carbon isotope ratio

$\delta^{13}C_h$ and $\delta^{13}C_p$ was analysed by an isotope ratio mass spectrometry system coupled with an elemental analyser (EA-IRMS, Thermo Scientific, Germany) based on AOAC 998.12 method. As reference materials to draw linear calibration curve sucrose (RM-8542 from NIST, USA) and L-glutamic acid (RM8573 NIST, USA; USGS40) were used whose $\delta^{13}C$ (delta) values are $-10.47 \pm 0.13\%$ and $-26.24 \pm 0.07\%$, respectively. Graphite (RM8541, NIST, USA) was used in order to control accuracy. CO_2 with $\delta^{13}C$ (delta) values -41.04% was utilized as reference gas. Amount of C_4 sugar was calculated according to following equation (Eq.1) provided by Padovan et al., (2007), where $\delta^{13}C_s$ is accepted as -9.7 for corn sugar.

$$C_4 (\%) = [(\delta^{13}C_p - \delta^{13}C_h) / (\delta^{13}C_p - \delta^{13}C_s)] \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

5-hydroxymethyl furfural content

HMF was determined by dilution of honey with distilled water and addition of p-toluidine solution according to the method of IHC, Determination of HMF After Winkler (Bogdanov, 2009). Absorbance was determined at 550 nm using a 1 cm cell in a double beam spectrometer (Perkin Elmer, England). The content of HMF was calculated as follows:

$$\text{HMF} = \frac{192 \times A \times 10}{\text{Weight of honey in grams}} \quad (\text{Eq.2})$$

Where A is the absorbance and 192 is the factor for dilution and extinction coefficient. Results were expressed as mg/kg.

Diastase activity

The diastase activity was measured based on the method of AOAC 958.09 by using a buffer solution of soluble starch and honey which was incubated in a special glass test tube. Results were expressed as ml of 1% of starch hydrolysed by an enzyme in 1 g honey in 1 hour.

Sugar composition

The fructose, glucose and sucrose contents were determined by HPLC (Shimadzu 10-A, Japan), using a refractive index (RTP-6A) detector, on 250 x 4.6 mm x 5 micron NH_2 column. Sample preparation and chromatographic procedure were

conducted as described in DIN 10758. Briefly 1.3 ml/min of pump flow, $30 \pm 1^\circ C$ of column temperature, 10 μ l of injection volume and acetonitrile:water (80:20, v/v) mixture for mobile phase were used in the study.

Proline content

Proline content was determined by AOAC 979.20 method by the measurement of the absorbance at 510 nm of the resulting product between proline and ninhydrin in an acidic medium.

Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted by SPSS version 20.0 for Windows (IBM corp, USA). The statistical differences between the physicochemical properties of the samples were evaluated according to honey type and geographical region through two-way analysis of variance (ANOVA) followed by LSD post hoc test. Differences between mean values at the 95% ($p < 0.05$) confidence level was considered statistically significant. Correlations were obtained by Pearson's correlation coefficient (r) in bivariate linear correlations. The strength of the correlation were described using the guide that Wuensch and Evans (1996) suggested for the absolute value of r , namely, "Moderate correlation" was defined as $0.40 \leq |r| \leq 0.59$; "strong correlation" was defined as; $0.60 \leq |r| \leq 0.79$ and "very strong correlation" was defined as; $0.80 \leq |r| \leq 1.00$.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean values and standard deviations of various physicochemical parameters, as well as national limits and number of samples exceeding relative limits are given in Table 1 for blossom and pine honeys. In order to outline the general quality characteristics of the commercial honey samples in the presented study, their compliance with national and international standards was examined. Overall, 97.4% of samples were fully in the range of the quality parameter limits set on Turkish Food Codex (2020) and European Commission Regulation (European Commission, 2002). Out of 39 samples, only one sample which is a pine honey from Mediterranean Region was out of the limit values due to its sucrose content.

Table 1. The quality properties of blossom and pine honeys from three regions of Turkey

Region	Northern Anatolia		Middle Anatolia		Southern Anatolia		Limits in Turkish Food Codex
	Honey (N)	Blossom (6)	Pine (5)	Blossom (5)	Pine (4)	Blossom (10)	
$\delta^{13}C_h$ ‰	-24.45a (0.56)	-23.67b (0.55)	-24.36a (0.61)	-24.35b (0.86)	-24.78a (0.59)	-24.26b (0.35)	$\leq -23^*$ $\leq -22.5^{**}$
$\delta^{13}C_p$ ‰	-25.19a (0.70)	-24.70a (0.57)	-24.92a (0.56)	-24.83a (0.45)	-25.09a (0.58)	-24.86a (0.56)	N.A
$\delta^{13}C_p - \delta^{13}C_h$ ‰	-0.73a (0.30)	-1.03b (0.21)	-0.56a (0.24)	-0.48b (0.45)	-0.31a (0.27)	-0.60b (0.32)	$\geq -1^*$ N.A**
C_4 %	4.70a (1.89)	6.19b (0.56)	3.66a (1.59)	3.25b (3.09)	2.02a (1.72)	3.91b (2.04)	$\leq 7^*$ N.A**
Acidity (meq/kg)	23.27a (3.70)	24.41a (4.37)	21.9 a (4.21)	25.35a (4.04)	24.64a (2.78)	24.86a (4.13)	≤ 50
Moisture %	17.77a (0.88)	16.68c (0.33)	16.23a (0.15)	15.64b (0.90)	17.29a (0.40)	16.54b (0.53)	≤ 20
Diastase activity	10.02a (1.41)	12.73b (2.29)	10.49a (1.88)	10.77b (2.10)	11.62a (2.98)	14.24b (3.43)	≥ 8
HMF (mg/kg)	20.19a (10.88)	10.18a (9.94)	22.80a (14.57)	16.20a (6.47)	24.28a (10.99)	14.40a (7.42)	≤ 40
Proline (mg/kg)	492.84a (55.59)	505.61a (139.24)	463.84a (67.45)	529.95a (50.42)	503.94a (38.96)	546.45a (78.69)	≥ 300
Fructose %	38.25a (0.69)	33.77b (0.61)	36.61a (2.12)	32.87b (1.74)	35.68a (2.64)	33.16b (4.79)	N.A
Glucose %	34.01a (0.69)	28.09b (1.31)	29.53a (1.47)	27.99b (0.56)	30.93a (2.69)	28.05b (3.54)	N.A
Sucrose %	0.55a (0.19)	0.67a (0.56)	0.78a (0.44)	0.76a (0.74)	0.38a (0.34)	0.41a (0.45)	≤ 5
F+G %	72.26a (0.87)	61.87a (1.74)	66.14a (3.28)	60.86a (1.73)	66.61a (5.18)	61.21a (8.22)	$\geq 60^*$ $\geq 45^{**}$
F/G %	1.13a (0.03)	1.20b (0.05)	1.24a (0.06)	1.18b (0.07)	1.16a (0.05)	1.18b (0.06)	$(0.9-1.4)^*$ $(1.0-1.4)^{**}$

Samples for each region and honey types are analyzed with two replicates; mean values are presented and standard deviations are given in parenthesis; a-b different letters in the same line show statistically significant differences ($P < 0.05$); different colors (□, □, □, □) in the same line shows the statistically significant differences between the geographic regions in the ($P < 0.05$); F: fructose; G: glucose, N: Sample number; *: blossom honey, **: pine honey; N.A: not available

Carbon isotope ratio ($\delta^{13}C/\delta^{12}C$) and C_4 sugar amount in honey samples

Honey adulteration is one of the most challenging food quality issues in the world in terms of difficulty in detection. Adulteration is generally implemented by mixing honey with glucose and/or fructose from cheaper resources. Therefore, advanced analytical techniques are needed in order to differentiate the added sugar to honey due to its essential composition is based on glucose and fructose, already. Recently

developed carbon isotope ratio analysis, enables to monitor this type of adulteration using EA-IRMS system (Tosun, 2013). In this method, $\delta^{13}C/\delta^{12}C$ values of both honey ($\delta^{13}C_h$) and protein fraction of honey ($\delta^{13}C_p$) were analysed. The difference between them was used as an indication of adulteration both qualitatively and quantitatively (Padovan et al., 2003). When sugar from C_4 plants is added to pure honey, the $\delta^{13}C_h$ value will be altered, whereas its corresponding $\delta^{13}C_p$ value will remain constant. This is based on

the differences between the CO₂ fixing pathways of plants in photosynthesis where they are divided into three groups, accordingly: C₃, C₄ and CAM. C₃ plants (such as sugar beet, apple, grapes, etc.) fixate CO₂ into 3-carbon compound, whereas C₄ plants (such as corn and sugar cane) fixate into 4-carbon compound. Honeybees are generally use C₃ plants, and this fact affects directly the $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ ratio values of the honey. This ratio was measured as -21.9‰ to -30.4‰ and -11.8‰ to -19.0‰ for honeys generated from C₃ and C₄ plants, respectively (Martin et al., 1998). That difference is used to detect the fraud of external sugar addition to honey from C₄ plants. However, this criterion is lacking when the honeybees use C₃ plants together with C₄ ones, or if the C₄ sugar addition is in low amount to change the isotope ratio. Therefore, $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ ratio of raw honey is evaluated together with the $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ ratio value of honey's protein fraction, in order to make a concrete evaluation of honey adulteration due to its constant value, even after C₄ sugar addition to honey (Çınar et al., 2014). The difference between the $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ values of honey and its protein fractions is denoted as $\delta^{13}\text{C}_p - \delta^{13}\text{C}_h$ in Table 1. Its higher values than 1‰, is corresponding to C₄ sugar addition and considered as honey adulteration (Padovan et al., 2007; Simsek et al., 2012; Tosun, 2013; White et al., 1998).

In the presented study, the $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ values of the raw honey and its protein fraction counterparts for blossom honeys were detected in the range of -25.62‰ to -23.52 ‰ and -26.08‰ to -23.93‰, respectively whereas the pine honey samples are indicated a carbon isotope ratio from -25.04‰ to -22.90 ‰ and protein extracts from -25.94‰ to -23.95 ‰ (data not shown in Table 1). The mean values were calculated with regard to honey types and their originated region (Table 1). All those values were in accordance with the ones reported for Turkish blossom and pine honeys in literature and also with the national and international limits (Tosun, 2013). Moreover, there were statistical differences between carbon isotope ratio values with regard to type and region of the honeys. $\delta^{13}\text{C}_h$ values of blossom honeys

were slightly higher than that of pine honey samples. This may be attributed to the higher fructose and glucose composition of blossom honey samples, which may induce higher $\delta^{13}\text{C}_h$. Pine honey is a unique type of honeydew honey and 90% of world's pine honey is produced in Türkiye. Whereas, there was no significant difference between $\delta^{13}\text{C}_p$ values, which indicates the constant value of protein fraction. Interestingly, there were also significant differences among the $\delta^{13}\text{C}_p - \delta^{13}\text{C}_h$ and C₄ values between pine and blossom honeys as well as their originated region. The highest values detected in honey samples from Northern regions among others (Table 1). This can be explained by the dependency of honey quality to extrinsic factors such as climatic factors and originated plant which varies significantly among geographical regions of Türkiye. Those results were also compatible with correlation results presented in Table 2. There was a very strong correlation between $\delta^{13}\text{C}_p - \delta^{13}\text{C}_h$ and C₄ values with a correlation coefficient of 0.983 (Table 2). This indicates the consistency of interpretation of $\delta^{13}\text{C}_p - \delta^{13}\text{C}_h$ values as honey adulteration via C₄ sugar addition. Besides, the strong correlation between $\delta^{13}\text{C}_p$ and $\delta^{13}\text{C}_h$ parameters with a high coefficient value is an indirect indicator of robustness of applied method.

Acidity

Free acidity is an important property related to the deterioration of honey and it shows variability among honey types. It may be explained as an indicative parameter for fermentation of sugars into organic acids especially the gluconic acid (Al-Khalifa and Al-Arif, 1999; Kirs et al., 2011). The free acidity values of the blossom honeys in this study ranged between 17.79 and 29.93 meq/kg and of pine honeys between 17.86 and 33.96 meq/kg (data not shown in Table 1). All samples were below the limit permitted by national and international authorities (50 meq/kg), demonstrating the freshness of Turkish commercial honeys and absence of undesired fermentations. Besides, no significant difference was observed among the acidity values of blossom and pine honeys from different regions.

Table 2. Pearson correlation coefficients of the physicochemical properties.

	$\delta^{13}C_h$	$\delta^{13}C_p$	$\delta^{13}C_p$ $-\delta^{13}C_h$	C_4 sugars	Proline	Diastase	HMF	Acidity	Moisture	Fructose	Glucose	Sucrose	F+G	F/G
$\delta^{13}C_h$	1													
$\delta^{13}C_p$	0.745*	1												
$\delta^{13}C_p-\delta^{13}C_h$	-0.424	0.238	1											
C_4 sugars	-0.507*	0.156	0.983*	1										
Proline	0.252	0.431	0.161	0.125	1									
Diastase	-0.083	-0.071	0.018	0.071	0.390	1								
HMF	0.557*	0.572*	0.049	-0.030	0.247	-0.283	1							
Acidity	0.174	0.273	0.079	0.049	0.567*	-0.067	0.349	1						
Moisture	0.416	0.397	-0.074	-0.089	0.140	-0.018	0.261	0.196	1					
Fructose	0.050	-0.004	-0.046	-0.096	-0.332	-0.427	0.073	-0.243	0.143	1				
Glucose	0.173	0.023	-0.151	-0.210	-0.190	-0.338	0.153	-0.157	0.408	0.874*	1			
Sucrose	-0.173	-0.415	-0.264	-0.246	-0.261	-0.085	-0.201	0.071	-0.144	0.029	0.030	1		
F+G	0.113	0.010	-0.100	-0.156	-0.272	-0.397	0.115	-0.208	0.280	0.970*	0.966*	0.030	1	
F/G	-0.230	-0.024	0.235	0.253	-0.253	-0.165	-0.138	-0.125	-0.522	0.152	-0.344	-0.029	-0.090	1

“Strong” ($0.60 \leq |r| \leq 0.79$) and “very strong” ($0.80 \leq |r| \leq 1.00$) correlations are in bold and significant * $P < 0.01$.

In a previous study, Gürbüz et al., (2020) reported a wider range of free acidity values for blossom honey samples collected from Southeastern Türkiye, ranging from 2.00 to 44.00 meq/kg. On the other hand, Güzel and Bahçeci (2020) determined the free acidity of blossom honeys from Northern Türkiye to be between 21.10 and 47.80 meq/kg. In case of pine honeys, Uçurum et al., (2023) conducted analyses on pine honey samples from the western part of Türkiye, finding free acidity levels ranging from 8.00 to 46.89 meq/kg, with an average value of 18.57 ± 5.62 meq/kg. In a study conducted in Romania, pine honeys and polyfloral honeys exhibited free acidity levels within the range of 11.80-20.00 meq/kg and 5.20-37.10 meq/kg, respectively, signifying acceptable quality and a low degree of deterioration (Oroian et al, 2017). All these differences among regions may be attributed to variations in the flora from which bees collect nectar, as well as the sample sizes employed in each study.

Moisture content

Moisture content as a noteworthy property affects the physical quality of honey such as viscosity, crystallization, appearance, aroma, specific gravity, solubility and preservation (Escuredo et al., 2013). The maximum amount of water contained by honey is important due to the risk of fermentation and granulation during storage.

Moisture content in honeys analysed in this study ranged from 14.50% to 18.90% for blossom honeys and from 15.65% to 17.20% for pine honeys (data not shown in Table 1). All samples in the study included less than 20% water, which is the maximum limit defined by national and international regulations. In a study conducted by Güzel and Bahçeci (2020), the moisture content of blossom honeys from Northern Türkiye was determined as to be between 14.5% and 21.7%. On the other hand, Gürbüz et al., (2020) reported a range from 14.04% to 16.68% for blossom honey samples belonging Southeastern Türkiye. In another study, the moisture content ranged from 15.40% to 18.80% for blossom honeys in Central Anatolia (Özler et al., 2019). In research carried out in Romania, it was found that pine honeys had moisture levels ranging from 14.44% to 17.20%, while polyfloral honeys showed moisture content within the range of 15.43% to 19.64%, which is also similar to present study (Oroian et al., 2017). Honey’s water content varies according to several factors including the relative humidity of the region or the season (Karabağias et al., 2014). This may explain the significant difference in moisture contents of honeys from different regions (Table 1). The moisture contents of honeys from humid climate (Northern and Mediterranean Regions) were higher than arid climatic regions such as Central Anatolia of Türkiye. Moreover, due to the property of honey

as being hygroscopic and absorbing moisture from the environment, the moisture in honey can also rise depending on the process parameters and unsuitable storage conditions. Those could explain the significant difference in moisture contents of flower and pine honeys from different regions (Table 1). On the other hand, the water content in honey plays a key role in its resistance to fermentation. Honey with a higher moisture level is more prone to fermentation over time due to the growth of sugar tolerant yeasts (Singh and Singh, 2018).

Diastase activity and HMF

Diastases are classified as amylolytic enzymes that contain α - and β -amylases and constitute a small portion of the proteins present in honey naturally. Diastase activity is affiliated with many factors such as the geographical and floral origins of the honey (Ahmed et al., 2013). Besides, diastase content in honey may differ according to the age of the honeybees, the nectar collection and the colony's physiological season, the amount of nectar and its sugar composition because a high quantity of nectar results in a lower enzyme content and lower pollen consumption (P. M. Da Silva et al., 2016). Moreover, diastases are thermolabile and their amount decrease if the honey is subjected to heating or if it is stored for a long time. Consequently, diastase content is used for the evaluation of honey freshness and/or overheating (above 60°C) of the product (Ahmed et al., 2013). Therefore, diastase activity needs to be evaluated along with HMF content for detecting the freshness and/or overheating. International authorities determine the minimum value of diastase activity as 8 on Göthe's scale and maximum limit of HMF as 40 mg/kg (European Commission, 2002). Diastase activity in this study was found in the range of 8.07-17.79 for flower honeys and 8.31-20.35 for pine honeys (data not shown in Table 1). The mean values differed significantly among honey types (Table 1), pine honeys contained slightly higher amount of diastase activity than flower honeys and similar results were reported in literature (Ünal and Küplülü, 2006; Vorlová and Čelechovská, 2002). As it is seen in Table 2, a negative correlation ($r = -0.283$) was observed between diastase activity

and HMF. This result also indicated the negative correlation between the decrease in the concentration of diastase due to its sensitivity to heat treatment and the formation of HMF as a result of exposure to heat treatment. There was also moderate correlation ($r = -0.427$) between diastase activity and fructose content. Thrasyvoulou (Thrasyvoulou, 1986) found the loss of diastase activity is associated with fructose ($r = -0.67$) and glucose content ($r = -0.48$), which is in agreement with the present study.

The content of HMF in honeys ranged from 9.22 to 39.46 mg/kg and from 1.73 to 34.18 for flower honeys and pine honeys, respectively (data not shown in Table 1). The presented results demonstrated a high level of quality of all commercial honey samples in this paper in accordance with national and international regulations (Table 1). HMF as a by-product in Maillard reaction or a decomposition product of monosaccharides especially appears when honey is subjected to heating or storage for a long period. While the heat treatment intensity and the storage period of the honey increase, the HMF content also increases substantially. Tornuk et al., (2013) analysed twenty Turkish flower honeys by HPLC/DAD and the values ranged between 0 and 4.12 mg/kg, which is lower than that of found in this paper. Nevertheless, HMF alone cannot be evaluated as a parameter to detect the severity of the heat processing, because other factors such as the sugar profile, presence of organic acids, pH, and moisture content can influence the levels of HMF. That's why; the HMF value can only be an indicative parameter for overheating or improper storage. In the presented study, there was no statistical difference between HMF values of pine and flower honeys and among geographical regions, which can be attributed to the high standard deviation values of the results (Table 1). According to correlation data in Table 2, HMF content was strongly correlated with $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ ratios of honey ($r = 0.557$) and its protein fraction ($r = 0.572$). This high correlation may be due to HMF is formed from reducing sugars in honey in acidic environments when they are heated through the Maillard reaction.

Proline content

Amino acids comprises 1% (w/w) of the whole components of honey and proline is known as the most abundant amino acid in honey and pollen (P. M. Da Silva et al., 2016). Relative proportions of amino acids vary according to the origin of the honey (Hermosín et al., 2003). Proline corresponds a total of 50–85% of amino acid quantity in honey (Iglesias et al., 2006). It originates mainly from the salivary secretions of honey bees during the conversion of nectar into honey and it is used as a criterion for the evaluation of the maturation of honey, and in some cases, adulteration with sugar. Besides, the content of proline is associated with the antioxidant capacity of honey (Bentabol Manzanares et al., 2011). The minimum limit for authentic honey is determined as 300 mg/kg for proline value according to Turkish Food Codex (2020). In this study, the amount of proline in blossom honeys ranged from 389.29 to 594.64 mg/kg, while in pine honeys, it was found to be within the range of 357.83 to 638.27 mg/kg (data not shown in Table 1). Thus, in accordance with the criterion, all honeys analysed in this study were ripened and not adulterated (Table 1). In a study conducted by Özler et al., (2019), the proline content of polyfloral honeys were determined as to be between 349-908 mg/kg. On the other hand, Gürbüz et al., (2020) reported a range from 117.15-933.49 mg/kg for blossom honey samples belonging Southeastern Türkiye which indicates that proline amount of some samples was found less than 300 mg/kg, which was the legal minimum limit.

As it is expected there was positive correlation ($r = 0.431$) between $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ ratios of honey protein fraction and proline content (Table 2). Interestingly, a positive moderate correlation ($r = 0.567$) was observed between acidity and proline content (Table 2) which may be due to the acidic characteristic of proline.

Sugar content

Sugar composition depends mainly on the honey type, geographical origin, and varies according to the climatic changes, process and storage conditions (Escuredo et al., 2013; Tornuk et al., 2013). Fructose, glucose and sucrose are the

major components of honey (Kahraman et al., 2010). In this study, the predominant sugar in all analysed honey samples was fructose. As it is presented in Table 1, the mean values of fructose content were higher than the glucose content in all honey samples. Besides both fructose and glucose contents of flower honeys were significantly higher than that of pine honey samples. In many studies (Golob and Plestenjak, 1999; Mateo and Bosch-Reig, 1997) it was reported that lower glucose and fructose levels in honeydew honeys than in their blossom honey counterparts. The content of these invert sugars and the ratio between them, are important indicative parameters for honey classification. In almost all honeys, fructose is predominant sugar excluding some honeys like rape (*Brassica napus*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). In these honey types glucose content could be higher than fructose content (Escuredo et al., 2013) which often results in rapid crystallization. The fructose/glucose ratios were widely distributed, indicating the variety of plant sources that bees used for honey production (Al-Khalifa and Al-Arif, 1999). The fructose/glucose ratio which affects honey flavour and may result in crystallization was calculated for all honey samples in this study and it ranged between 1.08 and 1.29 for flower honeys and 1.07 and 1.28 for pine honeys. Sum of fructose and glucose content varied from 58.76 to 76.88 for flower honeys and from 46.10 to 74.03 % for pine honeys (data not shown in Table 1). The fructose/glucose ratio and sum of fructose and glucose values reported in Table 1 as mean values were acceptable according to the regulations which set fructose/glucose ratio as 0.9-1.4 for flower honeys and 1.0-1.4 for pine honeys and sum of fructose and glucose as minimum 60 g/100 g for flower honeys and minimum 45 g/100 g for pine honeys. As it was expected, very strong correlations were detected between glucose content, fructose content and the sum values (Table 2).

The sucrose level varies depending on the maturity level and source of the nectar used for honey (Kahraman et al., 2010). The mean values of sucrose content were given in Table 1; the overall mean values were detected as 0.57 g/100g

for flower honeys and 0.61 g/100g for pine honeys. Out of 39 samples, only one sample which is a pine honey from Mediterranean Region was out of the limit values (5 g/100 g for pine honeys) due to its sucrose content.

Comparison of characteristics of Turkish honeys with honeys from various geographical origins

The identity and quality properties of honey were analysed in different papers from several countries. The quality and authenticity of honey are recognized as essential features from the consumer and producer side worldwide. Table 3 demonstrates a collected study that combines the papers on the physicochemical characteristics of honeys from different countries and overall mean values detected in the presented study. As seen in Table 3, the honeys from different countries exhibited similar values and they meet the international regulations. The physicochemical

properties exhibited in this study were in accordance with those reported by Can et al., (2015) for Turkish honeys; except the glucose content which was detected slightly higher in our study. Proline values were only reported for Tunisian honeys and significantly lower than Turkish honeys. Diastase activity and HMF content changed in a wide range among different countries, the highest diastase activity and the lowest values of HMF were reported for Spanish and Brazilian honeys, respectively. Acidity values were similar for all countries; however, the range was noticeably large for honeys from Brazil and Portugal. Moisture contents were similar for all honeys from different countries. Sugar contents vary among the geographical origin. The lowest fructose and glucose contents were reported for honey from Brazil; whereas the highest sugar contents were reported for Egypt, Saudi and Argentina (Table 3).

Table 3. Quality parameters of Turkish honey compared to those reported from other countries.

Country / Honey	Proline (mg/kg)	Diastase activity	HMF (mg/kg)	Acidity (meq/kg)	Moisture (%)	Fructose (%)	Glucose (%)	Sucrose (%)	F+G (%)	F/G	Ref.
Turkey/ Blossom	486.87	10.71	20.22	23.28	16.90	36.85	31.49	0.57	68.34	1.18	PS
Turkey/ Pine	527.34	12.58	15.79	24.87	16.48	33.27	28.04	0.61	61.31	1.19	PS
Turkey/ Blossom	-	6.30-13.20	0-40	-	16-20	32.35 ± 5.65	25.07 ± 6.59	0.91 ± 0.16	54.84-76.18	1.16-2.44	(Can et al., 2015)
Turkey/ Blossom	-	0.10-32.20	0.30-36.50	21.10-47.80	14.50-21.70	31.50-39.10	26.00-34.30	-	57.50-73.40	1.03-1.24	(Güzel and Bahçeci, 2020)
Turkey/ Blossom	117.15-933.49	0.00-20.60	1.10-166.25	2.00-44.00	14.04-18.02	33.89-46.47	26.78-37.35	N.D.-4.10	62.55-77.25	1.03-1.67	(Gürbüz et al., 2020)
Turkey/ Blossom	349-908	10.4-34.9	-	18-29	15.40-18.80	35.51-40.19	26.47-33.70	-	1.10-1.41	-	(Özler et al., 2019)
Palestine/ Blossom	-	-	2.10-34.20	-	14.50-19.00	34.24-41.99	-	1.13-6.94	-	-	(Abdulkhaliq and Swaileh, 2015)
Egyptian	-	-	-	-	18.32 ± 0.67	43.30 ± 0.24	26.54 ± 0.31	3.31 ± 0.23	-	1.63 ± 0.05	(El Sohaimy et al., 2015)
Yemeni	-	-	-	-	16.28 ± 0.22	38.76 ± 0.20	25.45 ± 0.22	3.43 ± 0.12	-	1.52 ± 0.04	(El Sohaimy et al., 2015)
Saudi	-	-	-	-	15.64 ± 0.30	50.78 ± 0.41	21.58 ± 0.18	3.59 ± 0.20	-	2.35 ± 0.02	(El Sohaimy et al., 2015)
Portugal/ Blossom	-	3-38	1.75-32.75	17-51.5	13.52-19.7	-	-	-	-	-	(L. R. Silva et al., 2009)
Tunisia	39.62-102.60	-	12.07-27.43	7.11-27.20	-	35.78-37.84	31.07-36.58	N.D.-4.60	-	1.30-1.17	(Boussaid et al., 2018)
Spain	-	11.50-45.80	5.36-15.00	20.10-35.20	15.40-17.38	37.75-41.40	28.80-37.30	0.15-1.43	-	-	(Manzanares et al., 2014)
Morocco	-	6.05-19.10	7.16-30.43	10.69-30.74	14.64-18.59	39.44-42.42	29.25-33.08	0.47-1.86	-	-	(Chakir et al., 2011)
Argentina	-	-	4.00-26.30	9.00-36.8	14.10-18.80	67.70-73.5	-	0.40-5.6	-	-	(Isla et al., 2011)
Brazil	-	10.55-12.40	2.80-7.40	23.60-45.50	17.10-20.50	33.30-38.60	21.00-26.35	0.12-0.50	-	-	(Moreira et al., 2010)
Romania/ Pine	-	-	-	11.80-20.00	14.44-17.20	35.96-40.98	32.98-36.97	-	-	-	(Oroian et al., 2017)
Romania/ Blossom	-	-	-	5.20-37.10	15.43-19.64	33.64-37.65	32.98-36.20	-	-	-	(Oroian et al., 2017)

PS: Presented study; -: Not available data

CONCLUSIONS

The physicochemical analysis results of the honeys produced in various regions of Türkiye reveal a commendable level of quality. The $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ isotopic ratio in the majority of samples conforms to established standards, indicating their authenticity. Notably, the low levels of HMF and acidity in most samples not only meet freshness criteria but also underscore the overall quality of the honeys. Furthermore, the moisture content in all samples remains below the 20% threshold set by international regulations, affirming compliance with industry standards. In blossom honeys, glucose and fructose collectively constitute over 60% of the total weight, with only one exception at 58.76%. Pine honeys, on the other hand, exhibit a significant sugar composition, surpassing 45% of the total weight. These findings emphasize the diverse sugar profiles across different honey types. The correlations observed between various quality parameters further strengthen the reliability of the analysis. Significant relationships, such as those between HMF and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values; proline and acidity values; and sugar content values, provide robust insights into the overall quality evaluation of different honey types and their regional variations. In conclusion, this comprehensive study not only sheds light on the quality of honeys in distinct regions of Türkiye but also provides a wealth of data encompassing various parameters. The meticulous analysis and correlations between quality indicators contribute to a thorough understanding of the intricate dynamics influencing honey quality across different types and geographical locations.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Özlem Aslan: Conceptualization, supervision, methodology, investigation, formal analysis, funding acquisition, writing-review and editing. Emine Aytunga Arik Kibar: Methodology, formal analysis, writing-review and editing. All authors read and approved the final manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

We appreciate the financial support of TUBITAK Marmara Research Center. We also thank TUBITAK UME for performing the carbon isotope ratio analyses. We are grateful to Saadet Öztürk for her contribution to the manuscript.

REFERENCES

- Abdulkhalik, A., Swaileh, K. M. (2017). Physico-chemical properties of multi-floral honey from the West Bank, Palestine. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 447–454.
- Ahmed, M., Djebli, N., Aissat, S., Khiati, B., Meslem, A., Bacha, S. (2013). In vitro activity of natural honey alone and in combination with curcuma starch against *Rhodotorula mucilaginosa* in correlation with bioactive compounds and diastase activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(10), 816–821. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60161-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60161-6)
- Al-Khalifa, A. S., Al-Arif, I. A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chemistry*, 67(1), 21–25. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00096-5)
- Anonymous. (2012). *Turkish Food Codex Communiqué on Honey*.
- Bentabol Manzanares, A., García, Z. H., Galdón, B. R., Rodríguez, E. R., Romero, C. D. (2011). Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. *Food Chemistry*, 126(2), 664–672. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.003>
- Bogdanov, S. (2009). Harmonised Methods of the International IHC. *Bee Product Science*, 5, 1–62. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsi, F., Ferrari, G., Hamdi, S. (2018). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(2), 265–274.
- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical

- properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133–141.
- Cenk; Küplülü, Ü. (2006). Chemical quality of strained honey consumed in Ankara. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 50(1), 1–1. https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000000058
- Chakir, A., Romane, A., Barbagianni, N., Bartoli, D., Ferrazzi, P. (2011). Major and trace elements in different types of Moroccan honeys. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(4), 223–231.
- Çınar, S.B., Ekşi, A., Coşkun, İ. (2014). Carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of pine honey and detection of HFCS adulteration. *Food Chemistry*, 157, 10–13.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. In *Food Chemistry* (Vol. 196, pp. 309–323). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D., Shehata, M. G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 279–287.
- Elflein, L., Raezke, K.-P., Valkov, V. (2008). Authenticity Testing of Honey. In *World Honeydew Honey Symposium*. <https://doi.org/10.1023/A:1025975129938>
- Escuredo, O., Míguez, M., Fernández-González, M., Carmen Seijo, M. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138(2–3), 851–856. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.015>
- European Commission. (2002). Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. *Official Journal of the European Communities*, L10, 47–52. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv056>
- FAO. (2022). *FAOSTAT Agricultural Production Database, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*. FAO, Livestock Information and Policy Branch.
- Finola, M. S., Lasagno, M. C., Marioli, J. M. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100(4), 1649–1653. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046>
- Golob, T., Plestenjak, A. (1999). Quality of Slovene Honey. *Food Technology and Biotechnology*, 37(3), 195–201. <https://doi.org/10.1002/em.20054>
- Güney, F. (2020). Physicochemical quality characteristics of Southeastern Anatolia honey, Turkey. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2020.
- Gürbüz, S., Çakıcı, N., Mehmetoğlu, S., Atmaca, H., Demir, T., Arıgül Apan, M., Atmaca, Ö. F., Güney, F. (2020). Physicochemical quality characteristics of Southeastern Anatolia honey, Turkey. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2020(1), 8810029.
- Güzel, N., Bahçeci, K. S. (2020). Çorum Yöresi Ballarının Bazı Kimyasal Kalite Parametrelerinin Değerlendirilmesi. *Gıda*, 45(2), 230–241.
- Hermosín, I., Chicón, R. M., Cabezudo, M. D. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83(2), 263–268. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00089-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00089-X)
- Hernández, O. M., Fraga, J. M. G., Jiménez, A. I., Jiménez, F., Arias, J. J. (2005). Characterization of honey from the Canary Islands: Determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chemistry*, 93(3), 449–458. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.036>
- Iglesias, M. T., Martín-Álvarez, P. J., Polo, M. C., De Lorenzo, C., González, M., Pueyo, E. (2006). Changes in the free amino acid contents of honeys during storage at ambient temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(24), 9099–9104. <https://doi.org/10.1021/jf061712x>
- Isla, M. I., Craig, A., Ordoñez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomón, V., Maldonado, L. (2011). Physicochemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1922–1930.

- Kahraman, T., Buyukunal, S. K., Vural, A., Altunatmaz, S. S. (2010). Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. *Food Chemistry*, 123(1), 41–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.123>
- Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., Kontominas, M. G. (2014). Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry*, 146, 548–557. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.105>
- Kirs, E., Pall, R., Martverk, K., Laos, K. (2011). Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. *Procedia Food Science*, 1, 616–624. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.093>
- Manzanares, A. B., García, Z. H., Galdón, B. R., Rodríguez, E. R., Romero, C. D. (2014). Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2), 572–578.
- Martin, G. I., Macías, E. M., Sanchez, J. S., Rivera, B. G. (1998). Detection of honey adulteration with beet sugar using stable isotope methodology. *Food Chemistry*, 61, 281–286.
- Mateo, R., Bosch-Reig, F. (1997). Sugar profiles of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 60(1), 33–41. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00297-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00297-X)
- Mendes, E., Brojo Proença, E., Ferreira, I. M. P. L. V. O., Ferreira, M. A. (1998). Quality evaluation of Portuguese honey. *Carbohydrate Polymers*, 37(3), 219–223. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00063-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00063-0)
- Mohammed, S. E. A. R., Babiker, E. E. (2009). Protein Structure, Physicochemical Properties and Mineral Composition Of Apis Mellifera Honey Samples of Different Floral Origin. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3), 2477–2483.
- Moreira, R. F. A., De Maria, C. A. B., Pietrolungo, M., Trugo, L. C. (2010). Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. *Food Chemistry*, 121(3), 697–704.
- Oroian, M., Ropciuc, S., Paduret, S., Sanduleac, E. T. (2017). Authentication of Romanian honeys based on physicochemical properties, texture and chemometric. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 4240–4250.
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H., Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18(1), 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.08.007>
- Özler, H., Cınbirtoğlu, Ş., Güney, F., Çakıcı, N., Türkarslan, N. (2019). Physicochemical Analysis Of Some Honey Samples From Konya and Karaman Regions. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 11(1), 1–7.
- Padovan, G. J., De Jong, D., Rodrigues, L. P., Marchini, J. S. (2003). Detection of adulteration of commercial honey samples by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio. *Food Chemistry*, 82(4), 633–636. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00504-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00504-6)
- Padovan, G. J., Rodrigues, L. P., Leme, I. A., Jong, D. De, Marchini, J. S. (2007). Presence of C4 sugars in honey samples detected by the carbon isotope ratio measured by IRMS. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 2(3), 134–141.
- Silva, L. R., Videira, R., Monteiro, A. P., Valentão, P., Andrade, P. B. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, 93(1), 73–77.
- Simsek, A., Bilsel, M., Goren, A. C. (2012). $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS. *Food Chemistry*, 130(4), 1115–1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.017>
- Singh, I., Singh, S. (2018). Honey moisture reduction and its quality. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 3861–3871.
- Thrasylvoulou, A. T. (1986). The use of HMF and diastase as criteria of quality of Greek honey.

- Journal of Apicultural Research*, 25(3), 186–195. <https://doi.org/10.1080/00218839.1986.11100715>
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O. S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M., Kayacier, A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products*, 46, 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.042>
- Tosun, M. (2013). Analytical Methods Detection of adulteration in honey samples added various sugar syrups with 13 C/ 12 C isotope ratio analysis method. *Food Chemistry*, 138, 1629–1632. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.068>
- Uçurum, H. Ö., Tepe, Ş., Yeşil, E., Güney, F., Karakuş, S., Kolaylı, S., ... Çakici, N. (2023). Characterization of Turkish pine honey according to their geographical origin based on physicochemical parameters and chemometrics. *European Food Research and Technology*, 249(5), 1317-1327.
- Ünal, C., Küplülü, Ö., (2006). Chemical quality of strained honey consumed in Ankara. *Ankara Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg.*, 50, 1–1, [doi:10.1501/Vetfak_00000000058](https://doi.org/10.1501/Vetfak_00000000058).
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Zaldivar-Cruz, J. M., Kuri, V., Fernández-López, J., Carbonell-Barrachina, Á. A., Pérez-Álvarez, J. Á. (2010). Aroma profile and physico-chemical properties of artisanal honey from Tabasco, Mexico. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(6), 1111–1118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02243.x>
- Vorlová, L., Čelechovská, O. (2002). Activity of Enzymes and Trace Element Content in Bee Honey. *Acta Veterinaria Brno*, 71(3), 375–378. <https://doi.org/10.2754/avb200271030375>
- White, J. W., Winters, K. (1989). Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration of honey. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72(6), 907–911.
- White, J. W., Winters, K., Martin, P., Rossmann, A. (1998). Stable Carbon Isotope Ratio Analysis of Honey: Validation of Internal Standard Procedure for Worldwide Application. *Journal of AOAC International*, 81(3), 610–619.
- Wuensch, K. L., Evans, J. D. (1996). Straightforward Statistics for the Behavioral Sciences. *Journal of the American Statistical Association*, 91(436), 1750. <https://doi.org/10.2307/2291607>
- Yardibi, M. F., Gumus, T. (2010). Some physico-chemical characteristics of honeys produced from sunflower plant (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 45(4), 707–712. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02184.x>



DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE ACTIVE FOOD PACKAGING FROM AGRICULTURAL WASTES: PRODUCTION, CHARACTERIZATION, AND APPLICATION OF FILMS WITH BANANA PEEL AND OLIVE LEAF EXTRACT

Eda YILDIZ*, Nur KUS, Selen GUNER SAN, Gulum SUMNU
Middle East Technical University, Food Engineering Department, Ankara, Turkey

Received Geliş: 12.07.2024; Accepted/Kabul: 28.10.2024; Published online/Online baskı: 11.11.2024

Yildiz, E., Kus, N., San Guner, S., Sumnu, G. (2024). Development of biodegradable active food packaging from agricultural wastes: Production, characterization, and application of films with banana peel and olive leaf extract. GIDA (2024) 49 (6) 1109-1125 doi: 10.15237/ gida.GD24069

Yildiz, E., Kus, N., San Guner, S., Sumnu, G. (2024). Tarım atıklarından biyobozunur aktif gıda ambalajı geliştirilmesi: Muz kabuğu ve zeytin yaprağı ekstresi ile filmlerin üretimi, karakterizasyonu ve uygulaması. GIDA (2024) 49 (6) 1109-1125 doi: 10.15237/ gida.GD24069

ABSTRACT

The objective of this study is to produce a biodegradable active food package by using agricultural wastes; banana peel and olive leaf extract (OLE). To investigate the possible effect of plasticized starch at different concentrations (0%, 5%, 10%, and 15%), corn starch was added to the films. The films were analyzed in terms of physical characteristics (moisture content, swelling degree, water solubility, density, opacity), water vapor permeability, and mechanical properties. In addition, the phenolic content and antioxidant activity of the films were measured and antimicrobial activity of the films were tested on common food-borne pathogens. Films with better characteristics (B_S15_OLE) were selected to investigate the possible influence of the active films on shelf life of strawberries. Finally, it was shown that at the end of 10days, the films were almost completely decomposed.

Keywords: Agricultural waste, banana peel, olive leaf extract, active film

TARIM ATIKLARINDAN BİYOBOZUNUR AKTİF GIDA AMBALAJI GELİŞTİRİLMESİ: MUZ KABUĞU VE ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRESİ İLE FİMLERİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMASI

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, tarımsal atıkları; muz kabuğu ve zeytin yaprağı ekstresi (OLE) kullanılarak biyolojik olarak parçalanabilen aktif bir gıda paketi üretilmesidir. Farklı konsantrasyonlarda (0%, 5%, 10% ve 15%) plastikleştirilmiş nişastanın olası etkisini araştırmak için filmlere mısır nişastası eklenmiştir. Filmler fiziksel özellikler (nem içeriği, şişme derecesi, su çözünürlüğü, yoğunluk, opaklık), su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikler açısından analiz edilmiştir. Ayrıca, filmlerin fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi ölçülmüş ve filmlerin yaygın gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyel aktivitesi test edilmiştir. Daha iyi özelliklere sahip filmler (B_S15_OLE), aktif filmlerin çileklerin raf

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: edaberk@metu.edu.tr

☎: (+90) 312 210 5638

☎: (+90) 312 210 2767

Eda Yıldız; ORCID ID: 0000-0002-1018-9930

Nur Kus; ORCID ID: 0009-0005-6835-8927

Selen Guner San; ORCID ID: 0000-0002-3079-0555

Gulum Sumnu; ORCID ID: 0000-0002-2949-4361

ömürü üzerindeki olası etkisini araştırmak için seçilmiştir. Son olarak, 10 günün sonunda filmlerin neredeyse tamamen parçalandığı gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Tarımsal atık, muz kabuğu, zeytin yaprağı ekstresi, aktif film

INTRODUCTION

Processing of biomass for the purpose of converting energy, chemicals and materials is called biorefinery. The main purpose of the biorefinery is to maintain sustainable development with ensuring energy security, minimizing climate change and moderating requirement of chemicals and materials (De Albuquerque vd., 2019).

While producing high value-added products from low-value raw materials, readily available raw materials, low cost and high utility value are the main requirements (Lee vd., 2023).

Banana is one of the most widely cultivated fruits in the world. According to FAOSTAT, its production amount reached approximately 135 million tons in 2022. The remaining by-product of the fruit is the banana peel. The fruit and peel ratio may range between 1.4 to 4.1 depending on the ripening of the banana (Silva vd., 2024). However, the most common use of banana peel is as animal feed. Due to the high amount of water content and organic composition of the banana peel, the landfill elimination of peels is not allowed according to law currently in force (Santiago vd., 2022).

Although the composition of the banana peel changes depending on the ripeness, growing season and species, it is a good source of carbohydrate mainly cellulose, hemicellulose, pectin and lignin (Pereira vd., 2021; Chandrasekar vd., 2023). In the literature, the approximate compositional analysis of banana peel has been reported as follows: starch content 3.5-6.3%, resistant starch 2.3-2.5%, crude fat 2.4-11.6%, crude protein 5.5-7.87%, ash 9-11%, and carbohydrate 59.51-76.58% (Mohd Zaini et al., 2022).

Starch is the most abundant biopolymer in nature and composed of amylose and amylopectin units. Heating of starch with the sufficient water will cause irreversible gelatinization of starch and after

gelatinization casted starch paste will dried and promote the formation of newly formed hydrogen bonds between amylose and amylopectin molecules (Cui vd., 2021). Further, banana peel is also rich in terms of phenolic, it contains more than 40 active compounds with four main categories; (i) catecholamines, (ii) flavan-3-ols, (iii) flavonols, (iv) hydroxycinnamic acids. Moreover, the antimicrobial and antioxidant activities of these compounds have already been established (Vu vd., 2018).

The compositional variability of banana peels can pose a challenge to maintaining consistent film characteristics, and the presence of different biopolymers may introduce impurities into the film. However, given the large amount of banana peel waste, combining them with starch could provide useful insights for future applications.

Food packaging is the key element in terms of two main aspects. The first one is to provide sustainable food consumption by reducing the waste and the second one is to relieve packaging waste by more sustainable solutions (Guillard vd., 2018). Traditional plastic packages derived from petroleum-based sources decompose over a hundred years in the soil and cause migration of the micro-nano plastics or toxic compounds into the earth. On the other hand, bioplastics are produced either from the renewable sources (starch, protein, cellulose), as the name implies, or the fossil-based sources, (PBAT, PCL) and they are biodegradable (Harnkarnsujarit vd., 2021).

Similar to the pursuits in the sustainable food packaging materials, incorporation of the active agents from the agricultural waste has started gaining attention. Inevitable by-product of the olive oil industry, olive leaf, accounts for millions of tons of waste annually such that only in Spain, 1.25 million tons of leaf have been discarded which corresponds to approximately half of the overall production in the world. Further, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and

anticancer effects have already been studied (Espeso vd., 2021).

The objective of this study is to test the possibility of production of biodegradable, edible food packages from banana peel. Since banana peel is a source of multi biopolymers, to achieve the desired integrity, modify the film structure and analyze the possible effect, corn starch with various concentrations were incorporated into the banana peel film. Although banana peel includes many phenolic compounds, to improve the active film property of the films, olive leaf extract was added to the film formulation. Solubility, water permeability, mechanical properties, antioxidant activity, and total phenolic content of the films were investigated. The FTIR analysis has been carried out to examine the possible interactions and chemical bonds between banana peel, cornstarch and olive leaf extract. Further, antimicrobial activity of the films was also tested on most common food borne pathogens, *Escherichia coli* and *Staphylococcus Aureus*.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Bananas and corn starch (As Gıda Üretim ve Pazarlama A.Ş., Kocaeli, Türkiye) were purchased from a local market in Ankara. Analytical grade hydrochloric acid solution (32–36%) and sodium hydroxide pellets, glycerol (99.5% v/v), DDPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), gallic acid (MW= 170.12 g/mol), Folin–Ciocalteu reagent, sodium carbonate and ethanol were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Nutrient broth and Mueller–Hinton Agar were obtained from Condalab (Madrid, Spain). Finally, olive leaf extract was bought from Ersaç Bitkisel Sağlık Gıda Ltd Sti (Denizli, Türkiye).

Methods

Film Preparation

The banana peel and corn starch-based films were prepared with a method described by Verma vd., (2024). Banana peels (400g) were cut into small pieces with the stainless knife then immediately soaked into the acetic acid solution (2%, 500 mL) and boiled for 30 mins. To drain the excess water, it was kept at room temperature for 1h. Then, it

is transferred into a new beaker with 500 mL water and boiled for 30 min. The boiled suspension was blended (Tefal MasterBlend Activflow Pro 1000 W) for 5 min. In another beaker, corn starch solutions with 5%, 10% and 15% concentrations were prepared. Heated solutions at 85°C were kept at that temperature for 30 min at the magnetic stirrer (MaxTir 500, Daihan Scientific, Seoul, Korea), at 250 rpm. Finally, banana peel (24 mL) and cornstarch (3 mL), glycerol (2mL) were mixed at 1500 rpm in a magnetic stirrer for 15min. Finally, the film forming solutions were transferred into the petri plates and dried at 25°C, at 50% RH for 48h. To produce the olive leaf extract (OLE) added samples, OLE was incorporated into each film forming a solution 10% based on the film's solid content. Films were conditioned in the climate chamber (52%, 20°C) before analysis. The formulation and the nomenclature of the films were given in Table 1. In that table, B and S referred to banana peel and corn starch, respectively. Further, (-) and (+) signs represented absence and presence of OLE, respectively.

Table1: Nomenclature of the films

Nomenclature	Starch solution concentration	OLE
B_S0	0%	-
B_S5	5%	-
B_S10	10%	-
B_S15	10%	-
B_S0_OLE	0%	+
B_S5_OLE	5%	+
B_S10_OLE	10%	+
B_S15_OLE	15%	+

Moisture content, swelling degree, solubility and opacity of the films

Films were cut in to a square (2cm × 2cm) shape and the first weight of the samples (W_1) were measured. In that step, the thickness (χ) of the films was also measured. Then, they were placed in a hot oven (105°C) and kept until they reached a constant weight (W_2). After this step, dried films were immersed into the 25 mL of water at room temperature (25°C) overnight. After excess water was removed with a soft tissue,

the third weight of the samples (W_3) were measured. Finally, the films were put again into the hot air oven for 24h to dry out the samples, at the end of the period, the last weight of the samples (W_4) were measured. Moisture content, swelling degree, solubility, opacity of the films was calculated using the following equation (Yildiz vd., 2022).

$$\text{Moisture content (MC) (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (\text{Equation 1})$$

$$\text{Swelling degree (SD) (\%)} = \frac{W_3 - W_2}{W_3} \times 100 \quad (\text{Equation 2})$$

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{W_2 - W_4}{W_4} \times 100 \quad (\text{Equation 3})$$

$$\text{Opacity} = \frac{A_{600}}{\chi} \quad (\text{Equation 4})$$

$$\text{Density} = \frac{W_1}{\chi \times 4 \text{ cm}^2} \quad (\text{Equation 5})$$

In equation 4, A_{600} referred to the absorbance of the films at 600 nm, which was measured in a spectrophotometer (Optizen Pop Nano Bio, Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Korea).

Water vapor permeability of the films

The water vapor permeability (WVP) of the films were measured by ASTM E96 with some modifications. Cylindrical test cups with the inner diameter of 40 mm are filled with 35 mL of distilled water. Then, the thickness of the films was measured and the films were fixed between the cup and cap to ensure that there was no leakage. The initial weight of the cups was reported and they were transferred in to the desiccator with 10±2% relative humidity. The test temperature was kept at 25°C. The weight of the cups was reported in 2 h time intervals. Finally, the WVP of the films were calculated by using the following equation.

$$\text{WVP} = \frac{WVTR \times \Delta x}{S \times (R_1 - R_2)} \quad (\text{Equation 6})$$

In the given equation, WVTR represented the water vapor transmission rate and it was the slope the weight loss versus time data. Δx , S , R_1 and R_2 referred to the thickness of the film, saturated water vapor pressure inside the cup

(100%) and inside the desiccator at a given temperature, respectively.

Mechanical properties of the films

The tensile strength (TS, MPa) and elongation at break (EAB, %) values of the films were determined by the texture analyzer (Brookfield, Ametek CT3, Middleboro, MA, USA, TA-DGA tension probe) (Emir vd., 2023). The films were cut into the rectangular shape (2cm× 8cm) and their thickness were reported. The test was performed with a 0.4 N load cell at a test speed of 0.40 mm/s.

$$\text{TS (MPa)} = \frac{F_{\max}}{A} \quad (\text{Equation 7})$$

$$\text{EAB (\%)} = \frac{L}{L_0} \times 100 \quad (\text{Equation 8})$$

In given equations, F_{\max} is the maximum load (N) film could stand and A is the cross-sectional area (mm^2) which is perpendicular to the applied force. Finally, L_0 and L are the initial and final lengths of the film, respectively.

Total phenolic content (TPC) and antioxidant activity of the films

TPC of the films were measured by Folin-Ciocalteu method with slight modifications (Yildiz vd., 2021). A piece of film (~100mg) was dissolved in ethanol/water mixture (80:20 v/v). Then, it was vortexed for 2 mins and centrifuged (MIKRO 220R Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany) at 1500 rpm for 15 min. After this step, 500µL of the supernatant was mixed with 2.5 mL of 0.2N Folin-Ciocalteu reagent. The mixture was vortexed and kept in the dark for 5 min. After introducing 2 mL of 7.5% w/v sodium carbonate into the mixture, it was kept at dark for 1h. After this period of time, the absorbance of the samples was measured by the spectrophotometer at 760nm. The calibration curve of the samples was prepared by gallic acid. Different concentrations of the gallic acid (10, 20, 40, 80 and 100 mg/L) was prepared into ethanol/water mixture (80:20 v/v). The steps mentioned above were repeated for the gallic acid solutions. TPC of the samples were calculated using the equation below.

$$\text{TPC} = \frac{C \times V \times D}{W_s} \quad (\text{Equation 9})$$

In this equation, C value referred to the concentration corresponding to the absorbance value from the calibration curve (mg/L), V, D and W_s were the volume of solution in L, dilution rate and sample weight (mg), respectively.

Antioxidant activity of the samples were obtained by DPPH assay (Aydogdu vd., 2019). DPPH was dissolved in methanol and a 50 ppm DPPH solution was prepared. Then, diluted samples (0.1 μ L), which was explained in the previous part, were introduced into the prepared DPPH solution (3.9 mL). The mixtures were kept in dark at 1h and the absorbance (A_2) of the mixtures were measured by a spectrophotometer at 517 nm. Methanol used as a blank and 0.1 mL of methanol solution was mixed with 3.9 mL of DDPH solution similar to the sample, and its absorbance (A_1) value was also read at the end of the 1h. Using the DPPH calibration curve, C_1 and C_2 concentration corresponding to the A_1 and A_2 absorbances was calculated. Finally, antioxidant activity of the films was calculated using the equation below.

$$\text{AA (mg DPPH/g of sample)} = \frac{C_1 - C_2}{W_{\text{sample}}} \times V \quad (\text{Equation 10})$$

In this equation, W_{sample} and V were the weight of sample in g and volume of sample in L, respectively.

FTIR Analysis

FTIR analysis of the films was performed using an FTIR spectrophotometer (IR-Affinity1, Shimadzu, Kyoto, Japan) in attenuated total reflectance (ATR) mode with a diamond ATR crystal. The spectra were recorded with 32 scans over a wavenumber range of 600–4000 cm^{-1} (Aydogdu vd., 2019).

Antimicrobial activity of the films

To promote microbial development, 10 mL of broth were used to inoculate Gram-positive *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) and Gram-negative *Escherichia coli* (ATCC 11229) cultures. The cultures were then incubated at 37 °C for 24

hours. Using a spectrophotometer (UV 2450, Shimadzu, Columbia, USA), the bacterial culture was diluted and its absorbance was adjusted to 0.9 at 600 nm in order to get an inoculum concentration of around 10^8 CFU mL^{-1} . Cut into discs with a diameter of 1 cm, the films were then placed on agar plates that had been previously inoculated with 0.1 mL of the bacterial cultures. After that, the plates were incubated for 24 hours at 37 °C (Emir vd., 2023).

Preservation of strawberries

A batch of strawberries was purchased from a local market in Ankara. Strawberries with similar maturity, size and color were selected and they were free from any physical damages. Strawberries were placed into the active films and they were folded to cover all surfaces of the strawberries. Samples were kept in the refrigerator at 4°C and their photo was taken for 6 days. Strawberries were evaluated according to their visual appearance.

Statistical analysis

To determine if there was a significant difference among the samples, an analysis of variance (ANOVA) was conducted using MINITAB (Version 16). If a significant difference was found, a Tukey multiple comparison test was used for comparison ($P \leq 0.05$). Correlations between the results were calculated using Pearson correlation with a 95% confidence level ($\alpha = 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Physical Properties of the Films

Moisture content (MC) is a parameter that shows how much moisture is entrapped into the film matrix and therefore it influences other film characteristics like mechanical and barrier properties (Aydogdu Emir vd., 2023). As seen Table 2, MC of the films ranged from $8.43 \pm 0.20\%$ to $18.97 \pm 0.23\%$. These values were lower than sweet lime peel incorporated polyvinyl alcohol/starch-based biodegradable films (Singha vd., 2023) and starch/carboxymethyl cellulose added banana peel films (Verma vd., 2024). MC of the films in the mentioned studies were between $48.7 \pm 0.21\%$ - $31.74 \pm 0.08\%$ and $31.807 \pm 1.280\%$ - $33.241 \pm 1.158\%$, respectively.

Comparing the literature results, starch-banana peel films had a lower or similar moisture content compared to chitosan ($27.03 \pm 1.84\%$ -

$17.92 \pm 1.30\%$) and faba bean flour ($25.76 \pm 1.28\%$ - $15.11 \pm 0.26\%$) active films.

Table 2: Physical properties of the films with different starch and OLE concentrations

Sample	MC (%)	SD (%)	WS (%)	Opacity	Density (g/cm ³)
B_S0	18.97 ± 0.23^a	124.59 ± 6.73^b	44.06 ± 2.33^a	8.77 ± 0.04^a	0.86 ± 0.018^b
B_S5	12.81 ± 0.85^c	140.09 ± 6.89^{ab}	40.50 ± 1.16^{ab}	5.34 ± 0.26^{cd}	0.86 ± 0.031^b
B_S10	10.73 ± 0.85^{de}	143.13 ± 22.78^{ab}	35.82 ± 1.35^{bcd}	5.64 ± 0.02^{bc}	0.95 ± 0.046^{bc}
B_S15	9.33 ± 0.16^{ef}	161.71 ± 5.32^a	28.81 ± 0.99^e	4.21 ± 0.03^d	1.25 ± 0.01^d
B_S0_OLE	16.70 ± 0.35^b	118.71 ± 5.88^b	39.01 ± 0.40^{bc}	9.05 ± 0.68^a	0.74 ± 0.01^a
B_S5_OLE	11.27 ± 0.27^{cd}	127.68 ± 0.33^{ab}	33.45 ± 0.85^{de}	6.76 ± 0.07^b	0.82 ± 0.06^{ab}
B_S10_OLE	8.43 ± 0.20^f	132.70 ± 0.31^{ab}	34.48 ± 0.41^{cd}	6.07 ± 0.38^{bc}	0.88 ± 0.01^b
B_S15_OLE	8.44 ± 0.100^f	138.10 ± 5.18^{ab}	19.56 ± 0.72^f	5.02 ± 0.03^{cd}	1.075 ± 0.01^{cd}

Different letters in the same column show the significant difference between samples by Tukey's test ($p \leq 0.05$)

According to two-way ANOVA results, incorporation of starch significantly affected the moisture content. Although starch is a highly hydrophilic compound, addition of 5% starch decreased MC and further increasing starch concentration to 10% and 15% caused further reduction in MC (Supplementary file). However, changing starch concentration from 10% to 15% did not have an effect on the MC. Besides, the presence of an active agent (OLE) also had a role in MC of the films. OLE decreased MC of the films significantly (Supplementary file). Similar results were also observed in olive leaf and laurel leaf extract incorporated alginate films. This consequence was explained by the hydrophobic characteristics of the phenolics even though it was in low concentration (Moura-Alves vd., 2023).

According to two-way ANOVA results, incorporation of starch at increasing concentrations led to gradual increasing of SD. B_S15 samples had the highest SD ($161.71 \pm 5.32\%$) whereas B_S0 exhibited the lowest value ($124.59 \pm 6.73\%$). The main causes of high SD of the films were mainly attributed to the plasticizer (glycerol) and highly hydrophilic nature of the starch due to their free hydroxyl groups. Since glycerol amounts are the same for all films, the primary reason for the increasing SD trend was due to the increasing starch concentration. Similar outcomes were also observed in the study

of corn starch-based films (Nasir & Othman, 2021).

To investigate the effect of OLE on SD for all samples, two-way ANOVA analysis was carried out and the results showed that, regardless of the starch concentration, the incorporation of OLE resulted in significant reduction of SD. This reduction might be possible interaction between OLE-starch and components of banana peel. OLE might increase the cohesive intermolecular network and support the formation of strong hydrogen bonds between the film forming components (Yilmaz vd., 2022).

Water solubility of the films is an important phenomenon for the biodegradable and biopolymer-based films. To be biodegradable, films should be loosening their structure when interacting with water. On the other hand, they should keep their integrity when they are utilized in packaging high moist foods (Singha vd., 2023). As mentioned previously, MC has an impact upon the other film characteristics like solubility. The correlation coefficient between MC and solubility was calculated as 0.76 (Pearson correlation with Confidence Interval 95%). Therefore, there was a high correlation between these two parameters. Both starch and OLE had a similar influence on solubility. Both increasing starch concentration and the presence of OLE reduced the solubility of the films (Supplementary file). Compared to

films with similar food matrices from the literature, banana peel-starch – OLE films had an acceptable solubility. For example, the solubility of sweet lime peel incorporated polyvinyl alcohol/starch-based biodegradable films (Singha vd., 2023) ranged between $85.09 \pm 0.2\%$ and $98.63 \pm 0.25\%$ whereas that of banana peel-starch-OLE films were between $44.06 \pm 2.33\%$ and $19.56 \pm 0.72\%$. Furthermore, *Eriobotrya japonica* leaves incorporated banana peel starch films' solubility were reported as $34 \pm 2\%$ and $42 \pm 4\%$ (Medeiros Silva vd., 2020).

Opacity value of the films might change the food type that will be packaged. Lower opacity values might be preferable in packaging if consumers want to see food material in the package (Emir vd., 2024). On the other hand, films with high opacity value are more feasible if food inside the package is more susceptible to UV-light induced changes like lipid oxidation (Emir vd., 2023). The opacities of the films ranged from 4.21 ± 0.03 to 9.05 ± 0.68 . Increasing starch concentration caused gradual reduction in opacity values. The reason might be the formation of a denser film structure. Density results, as seen in Table 2, also support this hypothesis. Correlation coefficient between opacity and density was -0.76 (Pearson correlation with Confidence Interval 95%). Therefore, higher starch addition caused more dense structure and increased density and reduced the opacity value.

Further, the surface roughness of the films might also influence the opacity values. Addition of starch might decrease the surface roughness and decrease the opacity as mentioned in the other article (Medeiros Silva vd., 2020).

OLE addition to the samples caused stepwise increase in opacity. The reason for the result might be attributed to the yellowish/brownish color of the OLE extract. In that way, light might be scattered and reflected easily (Emir vd., 2023).

Mechanical Properties of the Films

Tensile strength (TS) can be defined as the maximum amount of load that the film can withstand without fracture. On the other hand,

elongation is related to the film flexibility and shows how far material can stretch before breaking (Singha vd., 2023). The mechanical properties of the films, TS and EAB were shown in Figure 1. TS of the films was measured between 3.34 ± 0.04 and 9.51 ± 0.01 MPa and these values belonged to the BS_0 and B_15_OLE, respectively. For the films without OLE, increasing starch concentration to 5%, did not significantly change TS compared to B_S0 whereas further increasing starch concentration to 10% resulted in increasing TS by approximately 65%. Furthermore, to investigate the effect of OLE on TS of the films, two-way ANOVA was carried out. The results revealed that OLE added samples had higher TS compared to the control samples (samples without OLE) (Supplementary file). Therefore, both starch concentration and OLE amount had an impact on TS of the films. Incorporation of starch improved the film integrity which was discussed previously and the results were supported by the density values. Similarly, the possible formation of more cohesive structure due to OLE was also mentioned in the previous part. Banana peel contains many polymers like starch, lignin, pectin, insoluble fibers etc., therefore, these multi component biopolymers might act as impurities and locate the stress at one point and prevent distribution to all film matrices. However, incorporation of starch and OLE contributed to the film forming solution integrity.

B_S5 and BS_15 had the lowest ($3.91 \pm 0.16\%$) and the highest ($10.44 \pm 1.24\%$) EAB values, respectively. For the control groups (films without OLE), increasing starch concentration increased EAB of the films. Similar outcomes were also reported in another study (Verma vd., 2024). For the films except B_S15 and B_S15_OLE, OLE addition increased EAB values. This result implied that OLE might also behave like a plasticizing agent and made the films more flexible.

Water Vapor Permeability of the Films

The presence of hydrophilic substances like fibers, carbohydrates, and protein and their interactions resulted in more space developing between hydrogen bonds and molecules, which

enhances the passage of water vapor through the films and increases the permeability (Verma vd., 2024).

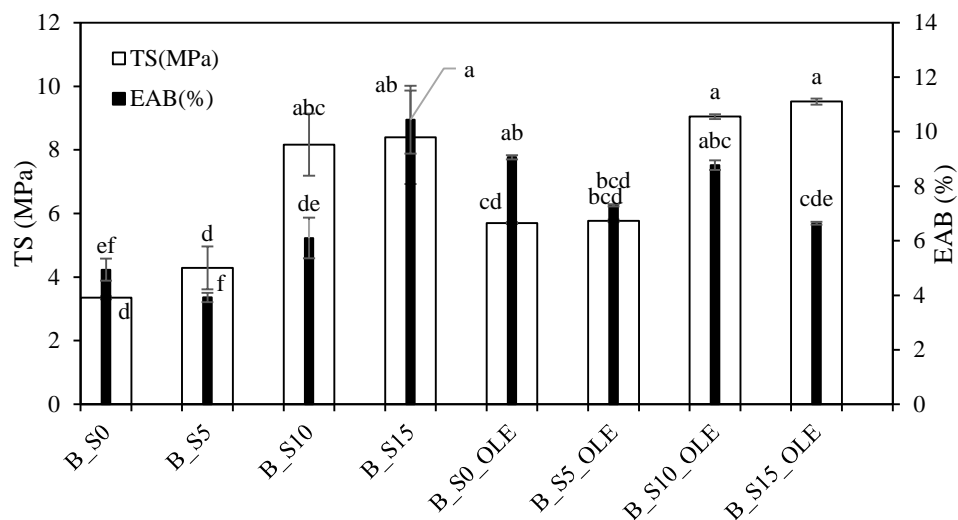


Figure 1: Mechanical properties of the films

WVP of the films was shown in Table 3. As seen, regardless of presence of OLE, 15% starch added samples (B_S15 and B_S15_OLE) had the lowest WVP. Although the common outcomes from the literature supported the idea that increasing hydrophilic compound amount in the film resulted in the increasing permeability. This expectation was caused by the idea that fibers, starch, and proteins could readily interact with the water molecules via hydrogen bonding, in that way, transferring of the vapor molecules from one side to another could be completed easily (Verma vd., 2024). However, this pattern was not observed in banana peel/starch/OLE films. Packing of the film forming components with strong intermolecular and intramolecular hydrogen bonding might obstruct the passing of the vapor molecules. This compact packaging of the film forming components was already supported by the density values of the films (Table 2). The correlation coefficient between density and WVP was found as -0.82 (Pearson correlation with Confidence Interval 95%). Therefore, it could be concluded that increasing density resulted in decreasing permeability values. In addition to that, solubility, which could be interpreted as interaction between film forming

components and water showed a parallel pattern with the permeability with the correlation coefficient 0.81. Therefore, films having the high solubility values had a tendency to show high permeability. Finally, it could be concluded that not only film forming components but also physical properties of the films had an influence on WVP.

Presence of active agent (OLE) did not have an impact on the permeability values of the films. Therefore, OLE did not change the hydrophilic/hydrophobic characteristic of the films.

FTIR

FTIR spectra of the sample with and without OLE was illustrated in Figure 2. All films exhibited a peak between 3500-3000 cm^{-1} and this was attributed to the -OH stretching of the hydrogen bonds of water and other films forming components like phenolics, proteins, starch (Medeiros Silva vd., 2020).

Peaks located around 2900 cm^{-1} were due to the C-H stretching vibrations and peaks around 1600-1700 cm^{-1} were attributed to the C=O stretching

Investigation of banana peel/corn starch/olive leaf extract active biodegradable films

of carboxyl groups (Amaregouda vd., 2022). Peaks from 800 cm^{-1} to 1200 cm^{-1} were attributed to C-O-C stretching of all saccharide molecules in the film (Ezati vd., 2022; Bigi vd., 2021) One thing should be noted that films with OLE and without

OLE had very similar FTIR spectra, which could be due to the banana peel also contained phenolic compounds and addition of OLE did not modify any different intermolecular interaction chemically.

Table 3: WVP, TPC and AA of the films

	WVP 10^{-9} (g/s.m.Pa)	TPC (mg GAE/g film)	AA (mg DPPH/ g sample)
B_S0	1.76 ± 0.06^a	-	-
B_S5	1.81 ± 0.01^a	-	-
B_S10	1.76 ± 0.01^a	-	-
B_S15	1.61 ± 0.01^b	-	-
B_S0_OLE	1.77 ± 0.02^a	7.150 ± 0.24^c	2.96 ± 0.20^a
B_S5_OLE	1.80 ± 0.01^a	6.56 ± 0.60^{bc}	2.81 ± 0.18^a
B_S10_OLE	1.74 ± 0.01^a	8.75 ± 0.60^{ab}	3.33 ± 0.27^a
B_S15_OLE	1.59 ± 0.01^b	9.07 ± 0.03^a	3.40 ± 0.12^a

Different letters in the same column show the significant difference between samples by Tukey's test ($p \leq 0.05$)

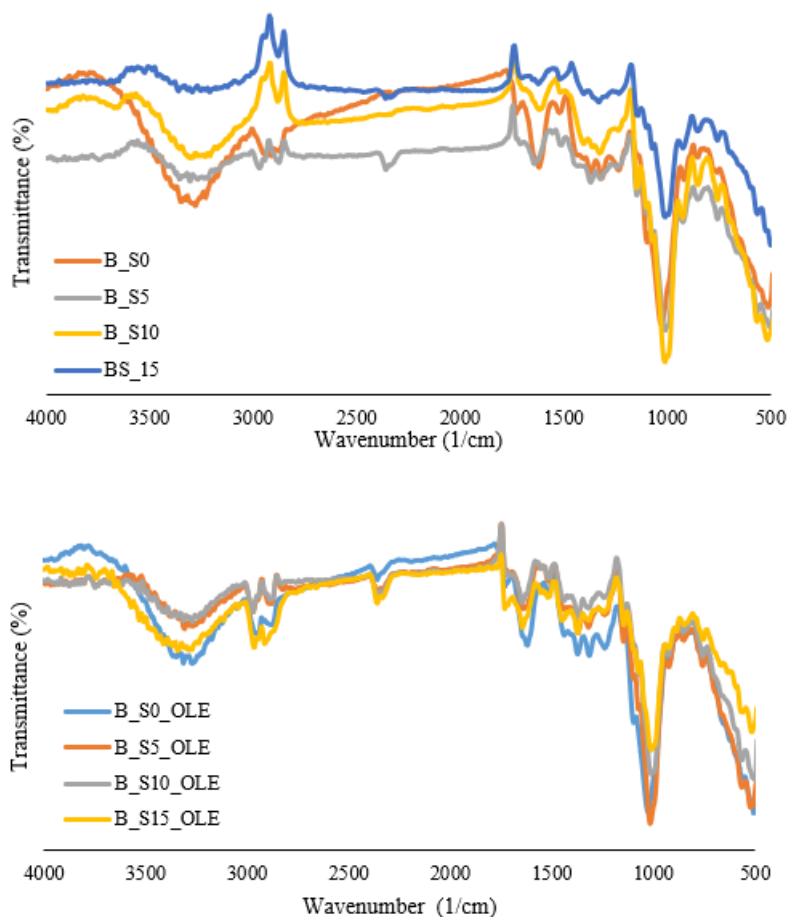


Figure 2: FTIR spectra of the films

Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, Film Application on Shelf life of Strawberry & Degradation

TPC and AA of the OLE incorporated films were shown in Table 3. As explained in the method section, OLE was added to the films based on 10% of the solids amount. In correlation with the total solid content, and OLE amount, TPC of the films showed an increasing trend. As a result, B_S15_OLE films had the highest TPC with 9.07 ± 0.03 (mg GAE/g film). It has been identified that banana peel contained more than 40 phenolics and they can be categorized in to four main groups namely; hydroxycinnamic acids, flavonols, flavan-3-ols, catecholamines (Vu vd., 2018) Besides, oleuropein, quercetin, apigenin-7-O-glucoside, luteolin-7-O-glucoside, and verbascoside were the major phenolic groups found in the OLE (Lama-Muñoz vd., 2020). Therefore, not only OLE but also banana peel contributed to the phenolic content of the films. TPC of the OLE-banana peel- starch films were similar to the chitosan-hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) films made by nettle or sage leaf extract. TPC of the chitosan-HPMC films were reported between 3.69-9.91 mg GAE/g film (Bigi vd., 2021).

Table 3 showed AA of the films and it ranged between 2.81 ± 0.18 and 3.40 ± 0.12 mg DPPH/ g sample. As known, banana peel contained many saccharides including lignin. The antioxidant activity of the lignin comes from its numerous phenolic units (Lu vd., 2022). Therefore, phenolic compounds, lignin in the banana peel and OLE contributed to overall AA. Although TPC of the films exhibited an increasing trend with an increasing solid amount, AA of all the films were statistically the same. It might be interpreted that incorporation of OLE slightly influenced AA but the natural constituents in the banana peel dominated AA of the films.

The antimicrobial activity of the films were tested on *E.coli* and *S.aureus* and the results were shown in Figure 3. Although films had a significant phenolic content and antioxidant activity, they did not show any antimicrobial activity. This consequence might be explained by the fact that the active inhibitory components in the films were not sufficient to meet minimum inhibitory concentrations (MIC) for the microorganisms. Similar outcomes were also observed in banana peel/agar films; they did not show any inhibitory effect on *L. monocytogenes* and *E. coli* (Orsuwan vd., 2016).

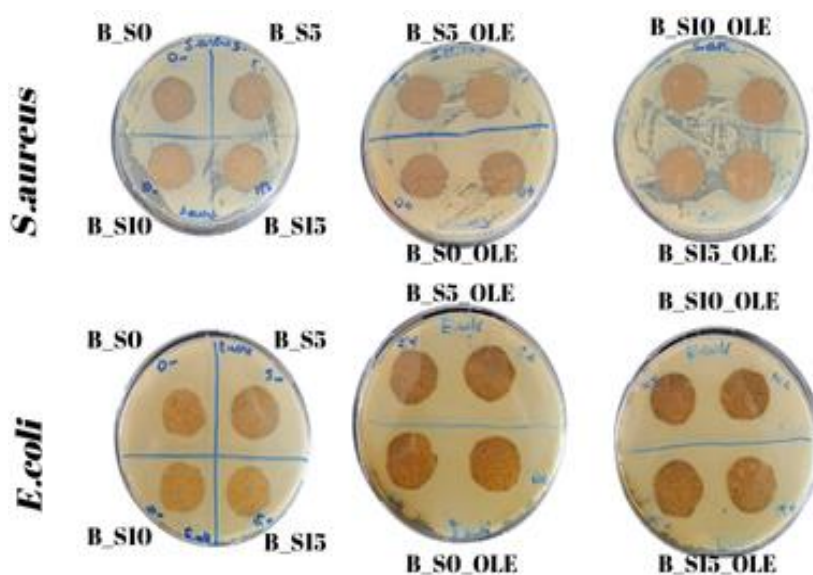


Figure 3: Antimicrobial activities of the films on *S. aureus* and *E. coli*

On the other hand, antimicrobial activity of ethanol extract of banana peel was reported, and the effect was tested on many microorganisms, namely *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. enteritidis*. Further, MIC of banana peel extract for *P. aeruginosa* was stated as 150 µg/mL (Chandrasekar vd., 2023). MIC of each microorganism is different, however, such a high amount of concentration for the mentioned microorganism supported the idea for why films failed.

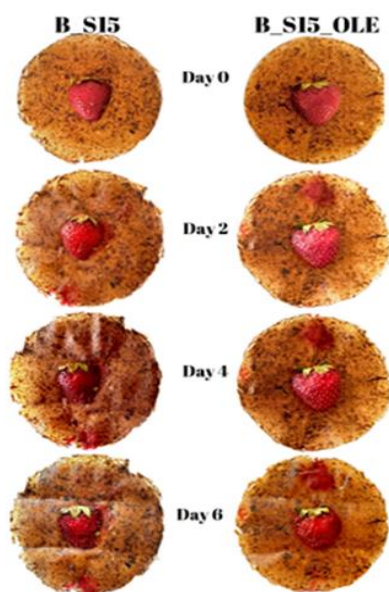


Figure 4: Packaging of strawberries with the banana-starch films for 6 days.

Although film did not exhibit an antimicrobial activity against the selected microorganisms, one of the perishable fruit, strawberry, was chosen to

see the possible influence of banana peel/starch /OLE films. For the application, B_S15_OLE film was selected by taking into the consideration of physical properties, WVP, mechanical properties and TPC values. As a control, B_S15 film was chosen. The images of the packed strawberries were shown in Figure 4. While initially both fruits were fresh, on day 4 the fruit packaged with B_S15 began to lose its physical integrity and some damages like exudate were observed. On day-6, although fruit packed with B_S15_OLE had some defects, fruits covered with B_S15 have already decayed. Even if B_S15_OLE films had no inhibitory effect on *S. aureus* and *E. coli*, B_S15_OLE might reduce the total number of microorganisms and therefore retarded the spoilage of strawberry.

Figure 5 shows the soil degradation test of the films over a 10-day period. The films were placed into the turf soil below the 5 cm surface. It was regularly sprayed with water every two days. The pots (10 cm×5 cm) kept under ambient conditions (20°C, 40%RH) (Medina-Jaramillo et al., 2017).

All films lost their integrity by the end of the test period. The results proved that banana peel-starch films, both with and without OLE, were decomposable. The addition of OLE neither sped up nor decreased the decomposition rate. These findings were very similar to the outcomes of the yerba mate extract added to cassava starch films, which also decomposed almost completely at the end of day 12 (Medina Jaramillo vd., 2016).

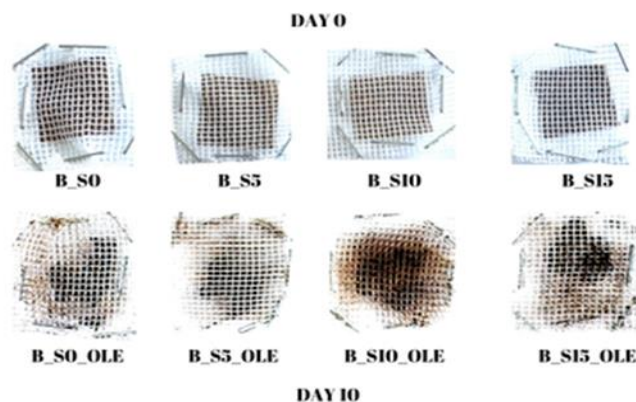


Figure 5: Soil degradation of films through 10-day period

CONCLUSION

Banana peel films with different starch concentration with and without OLE were successfully produced. WS of the films ranged between 44.06 ± 2.33 and 19.56 ± 0.72 %. Increasing starch concentration to 10%, TS increased by 65% compared to the samples without OLE. Further, OLE also enhanced TS of the films. Although films with higher density had a tendency to show low WVP, films with low solubility had higher WVP. Both OLE and the phenolics in the banana peel contributed to TPC. B_S15_OLE films helped to keep fruit integrity for 6 days compared to B_S15.

Considering the limitations, such as water vapor permeability (WVP) and water-soluble characteristics regarding practical applications, other methods, such as crosslinking strategies, may be explored in future studies. Additionally, increasing the amount of OLE in the film structure could help observe the antimicrobial activity more clearly.

CONFLICT OF INTEREST

None

AUTHORS CONTRIBUTIONS

Eda Yıldız: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Writing - Original Draft, Writing - Review & Editing, Visualization, Supervision, Project administration; Nur Kus: Conceptualization, Investigation, Resources, Visualization, Methodology; Selen Guner San: Conceptualization, Writing - Review & Editing; Gulum Sumnu: Resources, Writing - Review & Editing

ACKNOWLEDGMENT:

This study was funded by TUBITAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı (Project number:1919B01234717). Eda Yıldız and Nur Kus thank TUBITAK for the financial support.

REFERENCES

ASTME962005 Standard test method for water vapour transmission of materials

Amaregouda, Y., Kamanna, K., Gasti, T. (2022). Biodegradable Polyvinyl Alcohol/Carboxymethyl Cellulose Composite Incorporated with L-Alanine Functionalized MgO Nanoplates: Physico-chemical and Food Packaging Features. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 32(6), 2040-2055. <https://doi.org/10.1007/s10904-022-02261-9>

Aydogdu, A., Yıldız, E., Aydogdu, Y., Sumnu, G., Sahin, S., Ayhan, Z. (2019). Enhancing oxidative stability of walnuts by using gallic acid loaded lentil flour based electrospun nanofibers as active packaging material. *Food Hydrocolloids*, 95, 245-255. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.020>

Aydogdu Emir, A., Yıldız, E., Oz, E., Amarowicz, R., Proestos, C., Khan, M. R., Elobeid, T., Oz, F. (2023). Development of simultaneous antioxidant and visual pH-sensing films based on guar gum loaded with Aronia melanocarpa extract. *International Journal of Food Science and Technology*, 58(8), 4376-4385. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16542>

Bigi, F., Haghghi, H., Siesler, H. W., Licciardello, F., Pulvirenti, A. (2021). Characterization of chitosan-hydroxypropyl methylcellulose blend films enriched with nettle or sage leaf extract for active food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 120. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106979>

Chandrasekar, C. M., Krishnamachari, H., Farris, S., Romano, D. (2023). Development and characterization of starch-based bioactive thermoplastic packaging films derived from banana peels. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100328>

Cui, C., Ji, N., Wang, Y., Xiong, L., Sun, Q. (2021). Bioactive and intelligent starch-based films: A review. İçinde *Trends in Food Science and Technology* (C. 116, ss. 854-869). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.024>

de Albuquerque, T. L., Silva, J. de S., de Macedo, A. C., Gonçalves, L. R. B., Rocha, M. V. P. (2019). Biotechnological Strategies for the Lignin-Based Biorefinery Valorization. İçinde *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*.

- Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409547-2.14570-6>
- Emir, A. A., Yildiz, E., Aydogdu, Y., Sumnu, G. (2023). Active Films Based on Faba Bean (*Vicia faba* L.) Flour Incorporated with Sumac (*Rhus coriaria*): Assessment of Antioxidant and Antimicrobial Performances of Packaging for Shelf Life of Chicken Breast. *Food and Bioprocess Technology*, 16(2), 327-341. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02940-y>
- Emir, A. A., Yildiz, E., Kirtil, E. (2024). Peppermint oil-infused polylactic acid films: A novel approach for antimicrobial and biodegradable food packaging. *Polymer Engineering and Science*, 64(6), 2943-2955. <https://doi.org/10.1002/pen.26737>
- Espeso, J., Isaza, A., Lee, J. Y., Sørensen, P. M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R. de J., Olaizola, M., Arboleya, J. C. (2021). Olive Leaf Waste Management. İçinde *Frontiers in Sustainable Food Systems* (C. 5). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.660582>
- Ezati, P., Roy, S., Rhim, J. W. (2022). Pectin/gelatin-based bioactive composite films reinforced with sulfur functionalized carbon dots. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 636. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.128123>
- FAOSTAT, 2024, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, Accessed on April 10, 2024.
- Guillard, V., Gaucel, S., Fornaciari, C., Angellier-Coussy, H., Buche, P., Gontard, N. (2018). The Next Generation of Sustainable Food Packaging to Preserve Our Environment in a Circular Economy Context. İçinde *Frontiers in Nutrition* (C. 5). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00121>
- Harnkarnsujarit, N., Wongphan, P., Chatkitanan, T., Laorenza, Y., Srisa, A. (2021). Bioplastic for Sustainable Food Packaging. İçinde *Sustainable Food Processing and Engineering Challenges* (ss. 203-277). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822714-5.00007-3>
- Lama-Muñoz, A., Contreras, M. del M., Espínola, F., Moya, M., Romero, I., Castro, E. (2020). Content of phenolic compounds and mannitol in olive leaves extracts from six Spanish cultivars: Extraction with the Soxhlet method and pressurized liquids. *Food Chemistry*, 320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126626>
- Lee, H., Jung Sohn, Y., Jeon, S., Yang, H., Son, J., Jin Kim, Y., Jae Park, S. (2023). Sugarcane wastes as microbial feedstocks: A review of the biorefinery framework from resource recovery to production of value-added products. İçinde *Bioresource Technology* (C. 376). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128879>
- Lu, X., Gu, X., Shi, Y. (2022). A review on lignin antioxidants: Their sources, isolations, antioxidant activities and various applications. İçinde *International Journal of Biological Macromolecules* (C. 210, ss. 716-741). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.228>
- Medeiros Silva, V. D., Coutinho Macedo, M. C., Rodrigues, C. G., Neris dos Santos, A., de Freitas e Loyola, A. C., Fante, C. A. (2020). Biodegradable edible films of ripe banana peel and starch enriched with extract of *Eriobotrya japonica* leaves. *Food Bioscience*, 38. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100750>
- Medina Jaramillo, C., Gutiérrez, T. J., Goyanes, S., Bernal, C., Famá, L. (2016). Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, 151, 150-159. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>
- Medina-Jaramillo, C., Ochoa-Yepes, O., Bernal, C., Famá, L. (2017). Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydrate Polymers*, 176, 187-194. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.079>
- Mohd Zaini, H., Roslan, J., Saallah, S., Munsu, E., Sulaiman, N. S., Pindi, W. (2022). Banana peels as a bioactive ingredient and its potential application in the food industry. *Journal of Functional Foods*, 92(105054), 105054. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105054>
- Moura-Alves, M., Souza, V. G. L., Silva, J. A., Esteves, A., Pastrana, L. M., Saraiva, C.,

- Cerqueira, M. A. (2023). Characterization of Sodium Alginate-Based Films Blended with Olive Leaf and Laurel Leaf Extracts Obtained by Ultrasound-Assisted Technology. *Foods*, 12(22). <https://doi.org/10.3390/foods12224076>
- Nasir, N. N., Othman, S. A. (2021). The Physical and Mechanical Properties of Corn-based Bioplastic Films with Different Starch and Glycerol Content. *Journal of Physical Science*, 32(3), 89-101. <https://doi.org/10.21315/jps2021.32.3.7>
- Orsuwan, A., Shankar, S., Wang, L. F., Sothornvit, R., Rhim, J. W. (2016). Preparation of antimicrobial agar/banana powder blend films reinforced with silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 60, 476-485. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.017>
- Pereira, M. A. F., Cesca, K., Poletto, P., de Oliveira, D. (2021). New perspectives for banana peel polysaccharides and their conversion to oligosaccharides. *Food Research International*, 149. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110706>
- Santiago, B., Moreira, M. T., Feijoo, G., González-García, S. (2022). Environmental comparison of banana waste valorisation strategies under a biorefinery approach. *Waste Management*, 142, 77-87. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2022.02.005>
- Silva, R. D., Pacheco, T. F., de Santi, A. D., Manarelli, F., Bozzo, B. R., Brienza, M., Otoni, C. G., Azeredo, H. M. C. (2024). From bulk banana peels to active materials: Slipping into bioplastic films with high UV-blocking and antioxidant properties. *Journal of Cleaner Production*, 438. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.140709>
- Singha, P., Rani, R., Badwaik, L. S. (2023). Sweet lime peel-, polyvinyl alcohol- and starch-based biodegradable film: preparation and characterization. *Polymer Bulletin*, 80(1), 589-605. <https://doi.org/10.1007/s00289-021-04040-x>
- Verma, P., Rani, R., Das, D., Rai, K. K., Gogoi, P., Badwaik, L. S. (2024). Transformation of banana peel into biodegradable film added with starch and carboxymethyl cellulose and its characterization. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 37. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101356>
- Vu, H. T., Scarlett, C. J., Vuong, Q. V. (2018). Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review. İçinde *Journal of Functional Foods* (C. 40, ss. 238-248). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.006>
- Yildiz, E., Bayram, I., Sumnu, G., Sahin, S., Ibis, O. I. (2021). Development of pea flour based active films produced through different homogenization methods and their effects on lipid oxidation. *Food Hydrocolloids*, 111. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106238>
- Yildiz, E., Emir, A. A., Sumnu, G., Kahyaoglu, L. N. (2022). Citric acid cross-linked curcumin/chitosan/chickpea flour film: An active packaging for chicken breast storage. *Food Bioscience*, 50. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102121>
- Yilmaz, P., Demirhan, E., Ozbek, B. (2022). Development of Ficus carica Linn leaves extract incorporated chitosan films for active food packaging materials and investigation of their properties. *Food Bioscience*, 46. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101542>

Supplementary File

Two-way ANOVA results

Mechanical properties

Tensile strength

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

starch N Mean Grouping

15	4	8.95	A
10	4	8.60	A
5	4	5.02	B
0	4	4.52	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

ole N Mean Grouping

yes	8	7.50	A
no	8	6.04	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

starch*OLE N Mean Grouping

15	yes	2	9.51	A
10	yes	2	9.04	A
15	no	2	8.39	A B
10	no	2	8.16	A B C
5	yes	2	5.77	B C D
0	yes	2	5.69	C D
5	no	2	4.28	D
0	no	2	3.34	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Elongation at Break

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

starch N Mean Grouping

15	4	8.54	A
10	4	7.43	A B
0	4	6.99	B
5	4	5.60	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

OLE N Mean Grouping

yes	8	7.94	A
no	8	6.35	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

starch*OLE N Mean Grouping

15	no	2	10.44	A
0	yes	2	9.06	A B
10	yes	2	8.77	A B C
5	yes	2	7.29	B C D
15	yes	2	6.63	C D E
10	no	2	6.10	D E
0	no	2	4.93	E F
5	no	2	3.91	F

Means that do not share a letter are significantly different.

WVP

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

starch*OLE N Mean Grouping

5	no	2	1.81	A
5	yes	2	1.80	A
0	yes	2	1.77	A
10	no	2	1.76	A
0	no	2	1.76	A
10	yes	2	1.74	A
15	no	2	1.61	B
15	yes	2	1.59	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

OLE N Mean Grouping

no	8	1.74	A
yes	8	1.73	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

starch N Mean Grouping

5	4	1.81	A
0	4	1.76	A B
10	4	1.75	B
15	4	1.60	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Moisture content
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
starch*OLE N Mean Grouping

0 no	2	18.97	A
0 yes	2	16.70	B
5 no	2	12.81	C
5 yes	2	11.27	C D
10 no	2	10.73	D E
15 no	2	9.33	E F
15 yes	2	8.44	F
10 yes	2	8.43	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
OLE N Mean Grouping

no	8	12.96	A
yes	8	11.21	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
starch N Mean Grouping

0	4	17.83	A
5	4	12.04	B
10	4	9.58	C
15	4	8.89	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Solubility
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
starch N Mean Grouping

0	4	41.53	A
5	4	36.97	B
10	4	35.15	B
15	4	24.18	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
OLE N Mean Grouping

no	8	37.29	A
yes	8	31.62	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
starch*OLE N Mean Grouping

0 no	2	44.06	A
5 no	2	40.50	A B
0 yes	2	39.01	B C
10 no	2	35.82	B C D
10 yes	2	34.48	C D
5 yes	2	33.45	D E
15 no	2	28.81	E
15 yes	2	19.56	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Swelling Degree
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
starch N Mean Grouping

15	4	149.90	A
10	4	140.42	A B
5	4	133.887	A B
0	4	121.656	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
OLE N Mean Grouping

no	8	143.634	A
yes	8	129.302	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
starch*OLE N Mean Grouping

15 no	2	161.713	A
10 no	2	148.135	A B
5 no	2	140.093	A B
15 yes	2	138.100	A B
10 yes	2	132.708	A B
5 yes	2	127.681	A B
0 no	2	124.594	B
0 yes	2	118.718	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Opacity
Grouping Information Using the Tukey
Method and 95% Confidence

starch	N	Mean	Grouping
0	4	8.91800	A
5	4	6.05406	B
10	4	5.86259	B
15	4	4.61917	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey
Method and 95% Confidence

oli	N	Mean	Grouping
yes	8	6.73072	A
no	8	5.99619	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey
Method and 95% Confidence

starch*oli	N	Mean	Grouping
0 yes	2	9.05685	A
0 no	2	8.77914	A
5 yes	2	6.76805	B
10 yes	2	6.07764	B C
10 no	2	5.64754	B C
5 no	2	5.34008	C D
15 yes	2	5.02033	C D
15 no	2	4.21801	D

Means that do not share a letter are significantly different.



YOĞURT SUYU KULLANIMININ YAĞSIZ AYRANIN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Nazlı KANCA*

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Dışkapı, Ankara, Türkiye

Geliş/Received: 23.09.2024; Kabul /Accepted: 06.11.2024; Online baskı /Published online: 15.11.2024

Kanca, N. (2024). Yoğurt suyu kullanımının yağsız ayranın bazı özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2024) 49 (6) 1126-1137 doi: 10.15237/ gida.GD24097

Kanca, N. (2024). *Effect of yoghurt whey use on some properties of nonfat ayran. GIDA (2024) 49 (6) 1126-1137 doi: 10.15237/ gida.GD24097*

ÖZ

Bu çalışmada, süzme yoğurt üretiminden elde edilen yoğurt suyu (YS), ayran üretiminde, sütün seyreltilmesinde kullanılan içme suyunun %0, %6, %12.5 ve %25'i yerine ilave edilmiş ve ayranların 14 günlük depolama süresince bazı özellikleri incelenmiştir. YS ilavesi ile örneklerin toplam kurumadde içerikleri ve titrasyon asitliği değerleri artmış, yağ, protein, kül içerikleri ve pH değerleri ise değişmemiştir. YS'nin kıvam indeksi değerlerini artırdığı, serum ayrılması değerlerini ise azalttığı belirlenmiştir. Renk özelliklerinden a* değeri, YS ilavesi ile azalmış, L* ve b* değerlerinde ise farklılık görülmemiştir. Örneklerin tamamının depolama süresince 10⁷ kob/ml'nin üzerinde laktik asit bakteri içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre, ayranlar arasında görünüş, renk ve koku özellikleri bakımından farklılık görülmemiş, kıvam ve tat özellikleri bakımından ise en yüksek puanları en yüksek YS içeriğine sahip örnek almıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, ayran üretiminde YS kullanımının uygun olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Ayran, fermente içecek, renk, serum ayrılması, süzme yoğurt, yoğurt suyu

EFFECT OF YOGHURT WHEY USE ON SOME PROPERTIES OF NONFAT AYRAN

ABSTRACT

This study investigated the effects of incorporating yoghurt whey (YW) into the production of ayran by substituting portions of potable water with varying YW concentrations (0%, 6%, 12.5%, 25%) during milk dilution. The samples were evaluated over a 14-day storage period. The addition of YW significantly increased total dry matter and titratable acidity, while fat, protein, ash content, and pH remained unchanged. Furthermore, YW enhanced the consistency index and reduced phase separation. Color analysis revealed a decrease in the a* value, while L* and b* values remained unchanged. Microbial assessments confirmed that all samples maintained a lactic acid bacteria count exceeding 10⁷ cfu/ml throughout the storage. Sensory evaluation demonstrated no significant differences in appearance, color, or odor among the samples; however, the highest YW content was associated with superior scores in terms of consistency and taste. These findings suggest that the incorporation of YW into ayran production is feasible.

Keywords: Ayran, fermented beverage, color, phase separation, strained yoghurt, yoghurt whey

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉: nazli.turkmen@ankara.edu.tr

☎: (+90) 312 596 1346

☎: (+90) 312 318 2219

Nazlı Kanca; ORCID no: 0000-0002-4219-8903

GİRİŞ

Süzme yoğurt (Torba yoğurdu), yüksek besin içeriği, zengin tat ve aroma ile uzun raf ömrüne sahip olması gibi nedenlerle tüketiciler tarafından tercih edilen bir fermente süt ürünüdür (Bilir, 2023). Üretimi, son ürünün protein içeriği en az %8 olacak şekilde, sütün protein oranının standardize edilmesi veya yoğurdun serum kısmının uygun bir yöntemle uzaklaştırılması ile gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2022). Endüstriyel üretimde ultrafiltrasyon, ters osmoz ve mekanik santrifüj gibi yöntemler kullanılabilirken birlikte, ürünün geleneksel üretimi daha çok yoğurdun bez torbalardan süzülmesi şeklinde gerçekleştirilmektedir (Güllü vd., 2023).

Günümüzde halen çoğunlukla geleneksel üretimle elde edilen süzme yoğurdun, süzme işlemi sonunda toplam kurumadde içeriğinin yaklaşık %30'a kadar artırılmış olması tercih edilmektedir (Bilir, 2023). Dolayısıyla, yağ içeriğine göre değişimle birlikte, yaklaşık %12-16 toplam kurumadde içeriğine sahip yoğurtlardan (Özer, 2006) süzme yoğurt üretimi gerçekleştirildiğinde, dikkate değer miktarda sıvı formda bir yan ürünün açığa çıktığını belirtmek mümkündür. Yoğurt suyu (YS) olarak isimlendirilen bu süt yan ürünü, yeşilimsi-sarı renkte, asidik ve tuzlumsu tada sahiptir (Cebeci Avunca, 2022). Elde edildiği hammadde yoğurda ve ürün işleme koşullarına göre değişen oranlarda laktoz, yağ, protein ve kül içeren YS, 3.5-4.5 pH değerine ve %0.6-1.40 laktik asit içeriğine sahip bir yan üründür (Karastamatis vd., 2022).

Yüksek besin içeriğine sahip olan YS'nin, atık olarak görülerek çevre kirliliğine sebep olmak yerine, çeşitli yöntemlerle değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Geleneksel olarak evlerde çeşitli şekillerde değerlendirilen YS'nin, asidik ve tuzlumsu bir tada ve özellikle düşük pH'ya sahip olmasından dolayı endüstriyel olarak kullanımı oldukça güçtür (Demir vd., 2009; Cebeci Avunca, 2022). Bu yan ürünün, özellikle çeşitli fırıncılık ürünlerinde kullanımı ile ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (Demir vd., 2009; Flinois vd., 2019; Öztürk, 2020). Süt ürünlerinde kullanımı ile ilgili ise, bildiğimiz kadarıyla tek çalışma (Tongur,

2019) bulunmaktadır. Bahsedilen çalışmada, bu çalışmadan farklı olarak, öncelikle tam yağlı süt ile yoğurt üretimi gerçekleştirilmiş, ardından yoğurda, seyreltme suyunun %5, %10 ve %15'i YS olacak şekilde su ilavesi yapılarak %7 toplam kurumadde ve %1.6 yağ içeriğine sahip ayran elde edilmiştir. 21 günlük depolama süresi boyunca ayranların temel bileşimi, pH, titrasyon asitliği, serum ayrılması, viskozite değerleri ile maya-küf ve koliform bakteri içerikleri saptanmıştır. Çalışmada kontrol örneği bulunmadığı için, YS içeren ve içermeyen ayranların kıyaslaması yapılmamıştır. YS'nin süt ürünlerinde kullanımı ile ilgili gerçekleştirilen çalışmaların oldukça sınırlı olmasından dolayı, konu ile ilgili daha fazla araştırma gerçekleştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, YS'ye bir değerlendirme alanı yaratılabilmesinin yanı sıra, ayran üretiminde kullanılan su miktarının da azaltılmasının olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla, ayran üretiminde sütün seyreltilmesi için kullanılan içme suyu %6, %12.5 ve %25 oranında azaltılmış ve yerine YS ilavesi yapılmıştır. Ayrıca, kontrol örneği olarak YS içermeyen ayran üretimi de gerçekleştirilmiş ve ürünlerin 14 günlük depolama süresince bazı fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir. Günümüzde yağsız/ yağ içeriği azaltılmış ürünlerin tüketiciler tarafından daha fazla tercih edilmesinden dolayı, çalışmada yağsız ayran üretimi tercih edilmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Yağsız Ayran Üretimi

Ayran üretiminde, %95 kurumadde içeriğine sahip yağsız sütte (Bakkalbaşoğlu Süt Ürünleri San. ve Tic. A.Ş., Niğde, Türkiye) ve piyasadan sağlanan rafine tuz kullanılmıştır. Üretimde, çeşitli özellikleri Çizelge 1'de belirtilmiş olan, yerel bir süt işletmesinden temin edilen, süzme yoğurt üretiminden elde edilen yoğurt suyu kullanılmıştır. Starter kültür olarak ise *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerini içeren YC 380 kodlu DVS kültür (Chr. Hansen, Danimarka) tercih edilmiştir.

Çizelge 1. Kullanılan yoğurt suyunun özellikleri (n=2)

Özellik Property	$\bar{x} \pm S \bar{x}$
pH	4.24±0.010
Toplam kurumadde (%) Total solid (%)	7.52±0.080
Yağ (%) Fat (%)	0.00±0.000
Protein (%) Protein (%)	0.46±0.035
Kül (%) Ash (%)	0.82±0.001
L*	18.75±0.055
a* (-)	0.48±0.025
b* (-)	0.27±0.025

Yağsız ayran üretimi için öncelikle, yağsız süttozu kullanılarak toplam kurumadde içeriği %12 olacak şekilde rekonstitüe süt hazırlanmıştır. Hazırlanan rekonstitüe süt 4 eşit kısma ayrılmış ve bunlardan birincisine kontrol örneği (K) için, %8 toplam kurumadde içeriğine sahip olacak şekilde içme suyu ilavesi yapılmıştır. Diğer üç kısım ise, kontrol örneğine ilave edilen seyreltme suyu miktarının %6'sı (A), %12.5'i (B) ve %25'i (C) yoğurt suyu, kalan kısmı içme suyu olacak şekilde seyreltilmiştir. Elde edilen karışımlara su banyosunda (Lauda, Aqualine AL 18, Lauda-Königshofen, Almanya) 85°C'de 20 dakika süre ile ısıtma işlemi uygulanmış ve ~45°C'ye soğutulmuştur. İnkübasyon için, önceden 121°C'de 2 dk steril edilmiş %10 toplam kurumadde içeriğine sahip rekonstitüe süt içerisinde 45°C'de aktive edilmiş kültür (%3 oranında) kullanılmıştır. İnkübasyonu takiben 45°C'de inkübasyona bırakılan örnekler, ~4.6 pH'ya ulaşıldığında inkübasyon sonlandırılmış, ardından %0.5 oranında tuz ilave edilerek ve karıştırılarak 200 ml'lik kaplara doldurulmuş ve analizleri gerçekleştirilmek üzere +4°C'de saklanmıştır.

Ayran Örneklerinin Analizleri

Temel bileşim özellikleri

Örneklerin toplam kurumadde ve kül içeriklerinin belirlenmesinde gravimetrik yöntem (Hooi vd., 2004), yağ içeriklerinin belirlenmesinde ise Gerber yöntemi (Hooi vd., 2004) kullanılmıştır. Kjeldahl

yöntemi kullanılarak örneklerin toplam azot içerikleri belirlenmiş ve 6.38 faktörü ile çarpılarak örneklerin toplam protein içerikleri hesaplanmıştır.

pH ve titrasyon asitliği değerleri

Ayranların pH değerleri Mettler Toledo marka pH metre (Zürich, İsviçre) ile ölçülmüştür. Titrasyon yöntemi kullanılarak belirlenen titrasyon asitliği değerleri, % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır.

Reolojik özellikler ve serum ayrılması değeri

Ayranların reolojik özelliklerinin belirlenmesinde dinamik reometrik yöntem uygulanmıştır. 2 mm boşlukta, 0.1-300 s⁻¹ kayma hızı aralığında ve +4°C sıcaklıkta örneklerin kıvam indeksi (K) ile akış davranış indeksi (n) değerleri belirlenmiştir. Analiz Malvern Kinexus Pro+ (Worcestershire, Birleşik Krallık) marka reometre ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Power law modeli ile yorumlanmıştır (korelasyon değeri - R² ≥0.99).

Serum ayrılması değerlerinin tespiti için, ayranlar 100 ml'lik hacimlere sahip mezürlere aktarılmış ve +4°C'de bekletilmiştir. 24 saat bekleme süresinin ardından kendiliğinden ayrılmış olan serum miktarı ölçülerek kaydedilmiştir.

Renk özellikleri

Ayranların renk değerleri (L*, a*, b*), Konica Minolta marka renk ölçüm cihazı (CR-400, Tokyo, Japonya) ile ölçülmüştür.

Mikrobiyolojik özellikler

Ayranların laktik asit bakterisi içeriklerini tespit etmek için, önceden steril edilmiş 9 ml Ringer çözültüsü (Merck, Darmstadt, Almanya) bulunan tüplerde dilüsyon serileri hazırlanmış ve yüzeye yayma yöntemi kullanılarak gerekli besiyerlerine paralelli ekim yapılmıştır. *Lactobacillus* spp. tespiti için MRS agar (de Man Rogosa Sharpe Agar, HiMedia, Bombay, Hindistan), *Streptococcus* spp. tespiti için M17 agar (HiMedia, Bombay, Hindistan) kullanılmış ve petripler sırasıyla anaerobik ve aerobik şartlarda, 37°C'de 24-48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Maya-küf sayısını tespit etmek için ise, PDA (Potato Dextrose Agar, Merck, Darmstadt, Almanya) besiyeri kullanılmış ve ekim yapılan petripler aerobik şartlarda 25°C'de

3-5 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonlandırıldıktan sonra gelişen koloni sayıları tespit edilmiş ve sonuçlar log kob/ml olarak hesaplanmıştır.

Duyusal değerlendirme

Ayran örneklerinin duyu analizi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü akademik personeli ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan 10 kişilik deneyimli panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Örnekler görünüş, renk, kıvam, koku ve tat özellikleri bakımından en yüksek puan 5 olacak şekilde puanlandırılmıştır. Panelistlerden ayrıca, ayran örnekleri ile ilgili genel bir yorumda bulunmaları ve eğer varsa, algıladıkları belirgin karakteristik özellikleri belirtmeleri talep edilmiştir.

Örneklerin toplam kurumadde, yağ, toplam protein ve kül içerikleri ile renk özellikleri depolamanın 1. gününde, diğer analizler ise 1., 7. ve 14. günlerde gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Denemede çalışılan toplam kurumadde, toplam protein, kül ile renk özelliklerine (L^* , a^* , b^*) yoğurt suyu oranı faktörünün dört seviyesinin (0, 6, 12.5, 25) etkisi tesadüf parselleri deneme tertibinde varyans analizi tekniği ile değerlendirilmiştir. İncelenen diğer özelliklere yoğurt suyu oranı faktörünün dört seviyesi (0, 6,

12.5, 25), depolama faktörünün ise üç seviyesinin (1, 7, 14) birlikte etkisi faktöriyel düzende varyans analizi tekniği ile belirlenmiştir. İstatistik analizler IBM SPSS Statistics 23 paket programında yapılmıştır. Farklı grupların belirlenmesinde Duncan testi kullanılmıştır. Çalışma 2 tekrarlı yürütülmüştür.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Ayranların toplam kurumadde, yağ, protein ve kül içerikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Örnekler arasında toplam kurumadde içeriği bakımından istatistik olarak farklılık olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Ayran üretiminde sütün seyreltilmesi için kullanılan içme suyu yerine, %7.52 kurumadde içeriğine sahip YS'nin (Çizelge 1) belirli oranlarda kullanımı, beklendiği gibi örneklerin toplam kurumadde içeriklerinde artış sağlamıştır. Çizelge 2'den de görülebileceği gibi, en yüksek toplam kurumadde içeriğine sahip örnek C örneği, en düşük kurumadde içeriğine sahip örnek ise K örneği olarak tespit edilmiştir. YS ilavesinin, ayranların yağ, protein ve kül içeriklerini ise etkilemediği belirlenmiştir ($P > 0.05$). Bu durum muhtemelen, üretimde kullanılan YS'nin, %0 yağ ve %1'in altında olmak üzere oldukça düşük oranlarda protein ve kül içermesinden (Çizelge 1) ve son ürünün bileşimine etki etmeyecek oranlarda kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 2. Örneklerin kimyasal bileşimi (n=2)
Table 2. The chemical composition of the samples (n=2)

Örnekler Samples	Kurumadde (%) Total solid (%)	Yağ (%) Fat (%)	Protein (%) Protein (%)	Kül (%) Ash (%)
K	8.64±0.110 ^C	0.00±0.000	3.15±0.015	1.12±0.025
A	8.83±0.025 ^{BC}	0.00±0.000	3.18±0.010	1.15±0.040
B	9.07± 0.030 ^{AB}	0.00±0.000	3.26±0.050	1.22±0.005
C	9.29±0.040 ^A	0.00±0.000	3.34±0.050	1.26±0.025

K (kontrol): %0 YS, A: %6 YS, B: %12.5 YS, C: %25 YS

Aynı sütündeki farklı büyük harfler istatistik olarak farklılığı ifade etmektedir ($P < 0.05$).

K (control): 0% yoghurt whey (YW), A: 6% YW, B: 12.5% YW, C: 25% YW

Values with the different upper case letters within the same column indicate the statistically significant difference ($P < 0.05$).

Ayranların renk özellikleri (L^* , a^* , b^*) Çizelge 3'te gösterilmiştir. YS ilavesinin, örneklerin L^* (parlaklık) ve b^* değerleri (sarılık-mavilik) üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Kırmızılık ve yeşillik ifade eden a^* değerleri bakımından ise ayranlar arasında istatistik olarak farklılık olduğu ($P < 0.05$)

görülmektedir. YS'nin en yüksek oranda kullanıldığı B ve C örneklerinin yeşilimsi renginin, K ve A örneklerine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durum, seyreltme sıvısı olarak kullanılan YS'nin yeşilimsi renginden (Çizelge 1) kaynaklanmaktadır.

Çizelge 3. Örneklerin renk (L^* , a^* , b^*) değerleri ($n=2$)
Table 3. Color (L^* , a^* , b^*) values of the samples ($n=2$)

Örnekler Samples	L^*	a^*	b^*
K	81.04±1.670	-3.56±0.030 ^B	6.00±0.155
A	77.82±1.310	-3.63±0.045 ^B	6.30±0.125
B	73.34±2.400	-3.76±0.080 ^{AB}	6.47±0.075
C	70.09±4.030	-3.93±0.040 ^A	6.65±0.080

K (kontrol): %0 YS, A: %6 YS, B: %12.5 YS, C: %25 YS

Aynı sütündeki farklı büyük harfler istatistik olarak farklılığı ifade etmektedir ($P < 0.05$).

K (control): 0% yogurt whey (YW), A: 6% YW, B: 12.5% YW, C: 25% YW

Values with the different upper case letters within the same column indicate the statistically significant difference ($P < 0.05$).

Ayranların 14 günlük depolama süresi boyunca tespit edilen pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4'te belirtilmiştir. Gerçekleştirilen istatistik analizlere göre her iki özellik bakımından da interaksiyon olmadığı tespit edilmiştir. YS ilavesinin ayranların pH değerlerini etkilemediği belirlenmiştir ($P > 0.05$). Titrasyon asitliği bakımından ise örnek ortalamaları arasındaki farklılık önemli bulunmuş ($P < 0.05$), K örneğinin en düşük, C örneğinin en yüksek değere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durumu, ayranların toplam kurumadde içerikleri ile ilişkilendirmek mümkündür. Farklı çalışmalarda (Küçükakgöl vd., 2009; Yeniçeri vd., 2021), fermente süt ürünlerinin kurumadde içeriğinin artması ile birlikte, titrasyon asitliğinin de arttığı bildirilmiştir. Nitekim bu çalışmada da K örneği en düşük, C örneği ise en yüksek kurumadde içeriğine sahip örnekler olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Benzer şekilde, Tongur (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da en yüksek YS içeriğine sahip ayranların titrasyon asitliği değerleri daha yüksek bulunmuştur. Çizelge 4'te, depolama günlerinin ortalamaları arasındaki

farklılığın hem pH değeri hem de laktik asit içeriği bakımından istatistik açıdan önemli olarak tespit edildiği görülmektedir ($P < 0.05$). Bu çalışmada olduğu gibi, fermente süt ürünlerinin depolanması sırasında, üründe bulunan starter kültürler ve bunların ürettiği enzim aktivitelere bağlı olarak pH değerinde düşüş ile titrasyon asitliğinde artış görülmesi beklenen bir durumdur (Tamuçay Özünlü ve Koçak, 2010). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne (Anonim, 2022) göre, ayranın titrasyon asitliğinin, laktik asit cinsinden %0.5 ile %1.0 aralığında olması gerekmektedir. Dolayısıyla çalışmada belirlenen değerlere göre, örneklerin tamamı depolama süresi boyunca Tebliğ'e uygunluk göstermiştir.

14 günlük depolama süresi boyunca tespit edilen serum ayrılması, kıvam indeksi ve akış davranış indeksi değerleri Çizelge 5'te belirtilmiştir. Her üç özellik bakımından da örnek ortalamaları arasındaki fark önemli bulunurken ($P < 0.05$), depolama günleri dikkate alındığında yalnızca serum ayrılması ve kıvam indeksi değerlerinin ortalamaları arasında istatistik farklılık olduğu

tespit edilmiştir ($P<0.05$). YS içermeyen kontrol örneği, bütün örnekler içerisinde en yüksek serum ayrılması ve en düşük kıvam indeksi değerine sahip örnek olarak belirlenmiştir. Özellikle serum ayrılması değerleri incelendiğinde, en yüksek YS içeriğine sahip C örneğinin, %0.5 ile oldukça düşük serum ayrılmasına sahip olduğu görülmektedir. Bu durum muhtemelen, örneklerin özellikle toplam kurumadde içerikleri ile ilişkilidir. Özer (2006) tarafından, fermente süt ürünlerinin kurumadde içeriklerinin düşmesine bağlı olarak, proteinler arasındaki mesafenin artması ile koloidal formdaki madde miktarının azaldığı ve dolayısıyla serum ayrılması değerinin artıp, viskozitenin düştüğü belirtilmiştir. Nitekim Çizelge 2'de görüldüğü gibi, K örneği en düşük kurumadde içeriğine sahip örnektir. Benzer şekilde, Güler-Akın vd. (2016), toplam kurumadde değerindeki artışa bağlı olarak, içilebilir yoğurtların viskozite değerlerinde artış görüldüğünü bildirmiştir. Depolama günleri ortalamaları dikkate alındığında ise, depolama süresi boyunca serum ayrılması değerlerinin giderek azaldığı, kıvam indeksi değerlerinin arttığı

tespit edilmiştir. Özellikle kıvam indeksi değerlerinin depolama süresince göstermiş olduğu artışın, ayran üretiminde kullanılan laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit ve kısa zincirli yağ asitlerini sentezleme yeteneğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Yeniçeri vd., 2021; Yalçın vd., 2022). İlave olarak, muhtemelen ayranların asitliği de görülen bu değişime etki etmektedir. Farklı inkübasyon sonu asitliğinin ayranların bazı özelliklerine etkisinin incelendiği bir çalışmada (Tamuçay Özünlü ve Koçak, 2010), asitlik artışı ile birlikte örneklerin viskozite değerlerinde önemli ölçüde bir artış görüldüğü belirtilmiştir. Asit kazein jellerinde, soğuk depolama sırasında gerçekleşen pH düşüşüne bağlı olarak proteinler arası etkileşimin devam ettiği, bu durumun da depolama süresinde viskozitede artış görülmesinin sebeplerinden biri olduğu belirtilmektedir (Güler-Akın vd., 2016). Ayran ile ilgili gerçekleştirilen farklı çalışmalarda (Çelikel, 2012; Dufrene vd., 2021; Yalçın vd., 2022) da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4. Örneklerin depolama süresindeki pH ve titrasyon asitliği değerleri (n=2)

Table 4. pH and titratable acidity values of the samples during the storage period (n=2)

Özellik Property	Depolama (Gün) Storage (Day)	Örnekler Samples				Ortalama Mean
		K	A	B	C	
pH	1	4.38±0.055	4.38±0.050	4.39±0.055	4.39±0.055	4.38±0.020 ^A
	7	4.30±0.055	4.32±0.035	4.32±0.045	4.31±0.050	4.31±0.018 ^{AB}
	14	4.27±0.055	4.26±0.030	4.28±0.045	4.28±0.065	4.27±0.019 ^B
	Ortalama Mean	4.31±0.032	4.32±0.028	4.33±0.030	4.32±0.033	
Laktik asit (%) Lactic acid (%)	1	0.80±0.025	0.81±0.035	0.84±0.025	0.86±0.025	0.82±0.014 ^B
	7	0.87±0.035	0.87±0.025	0.92±0.025	0.95±0.045	0.90±0.018 ^A
	14	0.87±0.035	0.89±0.030	0.95±0.020	0.93±0.010	0.91±0.016 ^A
	Ortalama Mean	0.84±0.021 ^c	0.85±0.021 ^{bc}	0.90±0.024 ^{ab}	0.91±0.022 ^a	

K (kontrol): %0 YS, A: %6 YS, B: %12.5 YS, C: %25 YS

Aynı satırdaki farklı küçük harfler ve aynı sütündeki farklı büyük harfler istatistik olarak farklılığı ifade etmektedir ($P<0.05$).

K (control): 0% yoghurt whey (YW), A: 6% YW, B: 12.5% YW, C: 25% YW

Values with the different lower case letters within the same row and upper case letters within the same column indicate the statistically significant difference ($P<0.05$).

Çizelge 5. Örneklerin depolama süresindeki serum ayrılması, kıvam indeksi (K) ve akış davranış indeksi (n) değerleri (n=2)

Table 5. Phase separation, consistency index (K) and flow behaviour index (n) values of the samples during the storage period (n=2)

Özellik Property	Depolama (Gün) Storage (Day)	Örnekler Samples				Ortalama Mean
		K	A	B	C	
Serum ayrılması (%) Phase separation (%)	1	15.0±1.00	13.5±0.50	4.0±1.00	0.5±0.50	8.3±2.34 ^A
	7	14.5±0.50	12.0±0.00	3.5±0.50	1.0±0.00	7.8±2.14 ^{AB}
	14	12.5±0.50	10.5±0.50	3.5±0.50	0.0±0.00	6.6±1.93 ^B
	Ortalama Mean	14.0±0.58 ^a	12.0±0.58 ^b	3.7±0.33 ^c	0.5±0.22 ^d	
Kıvam indeksi (Pa·s) Consistency index (Pa·s)	1	0.45±0.050	0.68±0.030	0.90±0.035	1.02±0.060	0.76±0.084 ^C
	7	0.59±0.075	0.89±0.045	0.97±0.030	1.26±0.015	0.92±0.092 ^B
	14	0.73±0.025	1.17±0.080	1.34±0.165	1.43±0.105	1.16±0.109 ^A
	Ortalama Mean	0.59±0.056 ^c	0.91±0.093 ^b	1.07±0.097 ^{ab}	1.23±0.081 ^a	
Akış davranış indeksi Flow behaviour index	1	0.46±0.015	0.45±0.005	0.40±0.000	0.38±0.020	0.42±0.013
	7	0.47±0.025	0.41±0.005	0.42±0.005	0.37±0.005	0.41±0.014
	14	0.44±0.005	0.39±0.020	0.39±0.005	0.39±0.005	0.40±0.009
	Ortalama Mean	0.45±0.009 ^a	0.41±0.012 ^b	0.40±0.006 ^b	0.38±0.007 ^b	

K (kontrol): %0 YS, A: %6 YS, B: %12.5 YS, C: %25 YS

Aynı satırdaki farklı küçük harfler ve aynı sütundaki farklı büyük harfler istatistik olarak farklılığı ifade etmektedir (P<0.05).

K (control): 0% yoghurt whey (YW), A: 6% YW, B: 12.5% YW, C: 25% YW

Values with the different lower case letters within the same row and upper case letters within the same column indicate the statistically significant difference (P<0.05).

Akış davranış indeksi, sıvıların akış tipinin bir göstergesidir. Bu değer 1'den uzaklaşp 0'a yaklaşması, akış tipinin Newtonian olmayan akış tipine yaklaşması anlamını taşımaktadır (Berkay Karaca vd., 2009). Çizelge 5'te görüldüğü gibi, akış davranış indeksi değerlerinin tamamı 1'in altında bulunmuş, dolayısıyla örneklerin hepsi depolama süresi boyunca Newtonian olmayan akış özelliği göstermiştir. Gerçekleştirilen farklı çalışmalarda da (Erkaya vd., 2015; Beşir vd., 2022; Kocabaş vd., 2022), ayranın Newtonian olmayan akış özelliğine sahip olduğu belirtilmektedir. Ek olarak, K örneğinin akış davranış indeksi ortalamasının, 1'in altında bulunmuş olmasına rağmen, istatistik olarak diğerlerinden daha yüksek bir değere sahip olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Bu durum sıvıların kurumadde içeriğine

bağlı olarak sahip olduğu kıvam indeksi değeri ile doğrudan ilişkilidir. Benzer şekilde, Köksoy ve Kılıç (2003) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, ayranın kurumadde içeriğinin düşmesi ile akış davranış indeksi değerinin 1'e, yani Newtonian davranışa yaklaştığı tespit edilmiştir. Nitekim bu çalışmada da akış davranış indeksi en yüksek örnek olan K, aynı zamanda en düşük kurumadde içeriğine (Çizelge 2) ve kıvam indeksi değerine sahip örnektir.

Ayranların 1, 7 ve 14. günlerde belirlenen mikrobiyel içerikleri Çizelge 6'da gösterilmiştir. YS ilavesinin ayranların *Lactobacillus* spp. içeriğini etkilemediği tespit edilmiş (P >0.05), *Streptococcus* spp. sayısı ortalamaları bakımından ise en yüksek YS içeriğine sahip B ve C örneklerinin en düşük

bakteri içeriğine sahip örnekler olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Bu durumun ayranların asitliği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Nitekim, streptokok sayısı en düşük bulunan B ve C örnekleri, aynı zamanda en yüksek titrasyon asitliğine sahip örneklerdir (Çizelge 4). Laktobasillerin sayısında bir farklılık görülmemiş olmasına ise, bu bakterilerin yüksek asitliğe karşı streptokoklardan daha dirençli olmasına bağlamak mümkündür (Yerlikaya, 2014).

Depolama günleri ortalamaları dikkate alındığında, *Lactobacillus* spp. sayısının 7. günde değişmediği, ancak 14. günde azaldığı, *Streptococcus* spp. sayısının ise depolama boyunca düşüş gösterdiği kaydedilmiştir ($P<0.05$). Bu durum muhtemelen, yukarıda da bahsedildiği gibi depolama sırasında pH'da görülen düşüş ve fermantasyon sırasında yoğurt bakterileri

tarafından üretilen laktik asit ve hidrojen peroksit gibi metabolitlerin üründe birikimi ile ilişkilidir (Kocabaş vd., 2022). Benzer şekilde, ayranı gerçekleştiren farklı çalışmalarda (Çelikel, 2012; Yeniçeri vd., 2021), yoğurt bakterilerinin sayılarının ilk güne kıyasla depolama sonunda daha düşük bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmada, bakterilerin sayısında bir düşüş görülmüş olmasına karşın, depolamanın her günü için tespit edilen yoğurt bakterisi miktarı, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde (Anonim, 2022) belirtilen minimum sayı kriterini (10^6 kob/g) karşılamaktadır. Yine Tebliğ'de belirtilen şekilde, olması gerektiği gibi, depolama boyunca ayranların hiçbirinde maya-küf tespit edilmemiştir. Dolayısıyla ayran üretimi sonrası kontaminasyon olmadığını belirtmek mümkündür.

Çizelge 6. Örneklerin depolama süresindeki mikrobiyel içerikleri (n=2)

Table 6. Microbial counts of the samples during the storage period (n=2)

Microorganizma (log kob/ml) <i>Microorganism (log cfu/ml)</i>	Depolama (Gün) <i>Storage (Day)</i>	Örnekler <i>Samples</i>				Ortalama <i>Mean</i>
		K	A	B	C	
<i>Lactobacillus</i> spp.	1	8.14±0.090	8.21±0.050	8.18±0.065	8.22±0.125	8.19±0.035 ^A
	7	8.06±0.045	8.17±0.025	8.13±0.040	8.09±0.040	8.11±0.021 ^A
	14	7.79±0.080	7.79±0.065	7.74±0.125	7.78±0.110	7.77±0.038 ^B
	Ortalama <i>Mean</i>	7.80±0.075	8.05±0.088	8.01±0.096	8.03±0.093	
<i>Streptococcus</i> spp.	1	8.90±0.030	8.92±0.030	8.91±0.060	8.90±0.030	8.91±0.015 ^A
	7	8.79±0.025	8.82±0.030	8.78±0.045	8.80±0.045	8.79±0.016 ^B
	14	8.59±0.010	8.60±0.035	8.63±0.070	8.66±0.055	8.62±0.021 ^C
	Ortalama <i>Mean</i>	9.10±0.027 ^a	9.05±0.036 ^a	8.92±0.033 ^b	8.85±0.030 ^b	
Maya-küf <i>Yeast-mold</i>	1	nd	nd	nd	nd	nd
	7	nd	nd	nd	nd	nd
	14	nd	nd	nd	nd	nd

K (kontrol): %0 YS, A: %6 YS, B: %12.5 YS, C: %25 YS

Aynı satırdaki farklı küçük harfler ve aynı sütündeki farklı büyük harfler istatistik olarak farklılığı ifade etmektedir ($P<0.05$).

nd: Tespit edilmedi.

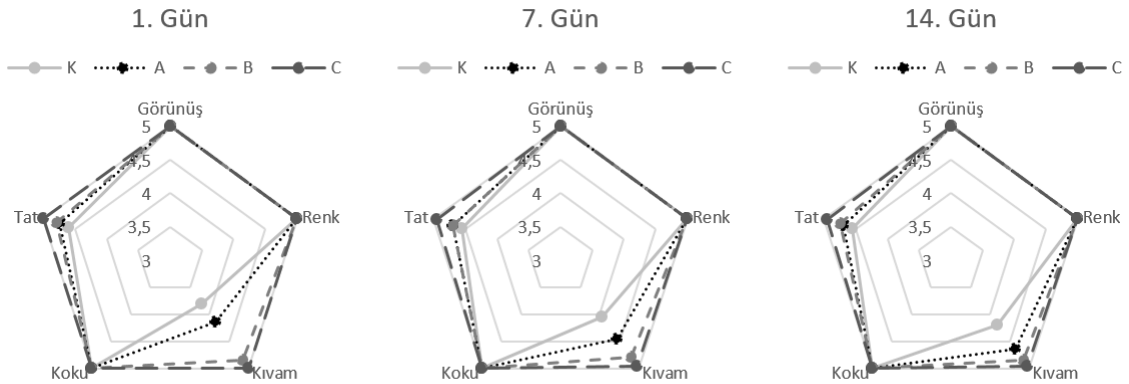
K (kontrol): 0% yoghurt whey (YW), A: 6% YW, B: 12.5% YW, C: 25% YW

Values with the different lower case letters within the same row and upper case letters within the same column indicate the statistically significant difference ($P<0.05$).

nd: Not detected.

Ayranların duyu analizi sonuçları Şekil 1’de verilmiştir. YS ilavesinin, ayranların görünüş, renk ve koku özelliklerine depolama boyunca etki etmediği görülmüş ($P > 0.05$), örneklerin tamamı bahsedilen özellikler bakımından en yüksek puanı (5 puan) almıştır. Kıvam ve tat özellikleri bakımından interaksiyon olmadığı belirlenmiş, ancak örneklerin ortalamaları arasında istatistik açıdan farklılık olduğu ($P < 0.05$) tespit edilmiştir. Kıvam özelliği bakımından ortalamalar incelendiğinde, en düşük puanı 4.02 ile kontrol örneğinin aldığı; %6, %12.5 ve %25 YS ilaveli örneklerin ise sırasıyla, 4.42, 4.83 ve 4.97 puan aldığı belirlenmiştir. Kıvam özelliği ile ilgili görülen bu farklılığı, ayranların toplam kurumadde miktarları ile ilişkilendirmek mümkündür. Nitekim çalışmada kıvam özelliği bakımından panelistlerden en düşük puanı alan K örneği, aynı zamanda kurumadde içeriği en düşük

örneklerdir. 4.97 ile en yüksek puanı alan C örneği ise, bütün örnekler içerisinde en yüksek toplam kurumadde içeriğine sahip örneklerdir (Çizelge 2). İlave olarak, Çizelge 5’te gösterilmiş olan kıvam indeksi değerleri de elde edilen duyu analizi sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Kıvam özelliğine benzer şekilde, tat özelliği bakımından da en düşük puanı 4.57 ile kontrol örneği almıştır. A, B ve C örnekleri ise sırasıyla 4.72, 4.75 ve 4.97 puan almışlardır. Panelistler ayrıca, özellikle B ve C örneklerinde fermente ve tuzlu tadın daha fazla algılandığını belirtmişlerdir. Elde edilen tat sonuçlarına göre, %12.5 ve %25 oranında kullanılan YS’nin, ayranların tadına direkt ve olumlu yönde etki ettiğini söylemek mümkündür. Bahsedilen kıvam ve tat özellikleri bakımından, depolama süresi boyunca herhangi bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$).



Şekil 1. Örneklerin depolama süresindeki duyu özellikleri (n=2)

Figure 1. Sensory of the samples during the storage period (n=2)

K (kontrol): %0 YS, A: %6 YS, B: %12.5 YS, C: %25 YS

Aynı satırdaki farklı küçük harfler ve aynı sütundaki farklı büyük harfler istatistik olarak farklılığı ifade etmektedir ($P < 0.05$).

K (control): 0% yoghurt whey (YW), A: 6% YW, B: 12.5% YW, C: 25% YW

Values with the different lower case letters within the same row and upper case letters within the same column indicate the statistically significant difference ($P < 0.05$).

SONUÇ

Bu çalışmada, genellikle atık olarak görülen YS’nin ayran üretiminde kullanım olanakları araştırılmıştır. Çalışmada belirtilen üretim yöntemi ile elde edilen ayranların, YS ilavesi ile toplam kurumadde içeriklerindeki artışa bağlı olarak, fermente süt ürünlerinde önemli kalite

parametrelerinden olan kıvam indeksinin arttığı, serum ayrılması değerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen a* değerlerine göre, YS ilavesinin ayranların yeşilimsi rengini artırdığı belirlenmiş olsa da duyu analizi sonuçları bu farklılığın panelistler tarafından fark edilemeyecek düzeyde olduğunu göstermiştir. İlave olarak,

gıdaların tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğini gösteren en önemli kriter olan duyuşal değerlendirme ile elde edilen verilere göre, en yüksek YS içeriğine sahip rnek (C) kıvam ve tat özelliği bakımından en yüksek puanı almıştır. Ayrıca panelistler, YS ilaveli ayranların daha tuzlu algılandığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla ileride gerçekleştirilecek çalışmalarla, YS kullanımı ile ayrana ilave edilen tuz miktarının azaltılmasının olanaklarını araştırmanın uygun olacağı düşünülmektedir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, ayranların tamamının, 14 günlük depolama süresince laktik asit bakterileri içeriğinin 10⁷ kob/ml'nin altına düşmediği tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar birlikte dikkate alındığında, ayran üretiminde, sütün seyreltilmesinde kullanılan suyun %25'i oranına kadar YS ilavesinin uygun olduğu sonucuna varılmıştır. YS ilavesi sayesinde, kullanılan süt miktarını artırmadan, ayranların kurumadde içeriğindeki artışa bağlı olarak, ürünün besin içeriğinin de arttığını söylemek mümkündür. Ayrıca, ayran üretimi için kullanılan içme suyunun, YS kullanımı sayesinde azaltılabilesinin, işletme giderleri bakımından da bir avantaj olduğunu belirtmek mümkündür. Basit bir hesaplama ile, 10 ton ayran üretimi gerçekleştirilen bir işletmede, sütün seyreltilmesi için ~3300 litre içme suyuna ihtiyaç duyulurken, bu suyun %25'i oranında YS kullanıldığında, ihtiyaç duyulan içme suyu miktarını ~825 litre kadar düşürmek mümkündür. İlave olarak, bu sayede, büyük ölçüde değerlendirilmeyen YS'ye de önemli bir kullanım alanı yaratılmış olacaktır. İleride gerçekleştirilecek çalışmalarla, ayranda daha yüksek oranlarda YS kullanımının uygunluğunun araştırılması sayesinde, kullanılan su miktarının daha da azaltılabilesinin ve daha fazla miktarda YS'nin değerlendirilebilesinin n açılacaktır.

ÇIKAR ATIşMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Nazlı Kanca, çalışmanın planlanması ve yürütülmesi süreci ile, gerçekleştirilen üretim ve

analizlerin tamamı ile sonuçların yorumlanması ve makalenin yazımında görev almıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın istatistiksel analizlerine katkısından dolayı Dr. Öğretim yesi Rabia Albayrak Delialioğlu'na teŐekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

Anonim. (2022). *Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt rnleri Tebliği*. 30 Kasım 2022 tarih ve 32029 sayılı Resm Gazete, Ankara. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2022/11/20221130-5.htm>

Berkay Karaca, O., Güven, M., Yaşar, K., Kaya, S., Kahyağlu, T. (2009). The functional, rheological and sensory characteristics of ice creams with various fat replacers. *International Journal of Dairy Technology* 62(1): 93-99, doi: 10.1111/j.1471-0307.2008.00456.x.

Beşir, A., Mortaş, M., Yazıcı, F. (2022). Investigation properties of Ayran (yoghurt drink) produced from different ratio of cow and hemp seed milk mixtures. *European Food Science and Engineering* 3(1): 5-10, doi: 10.55147/efse.1119044.

Bilir, F.S. (2023). Geleneksel yoğurtlar. *Geleneksel St rnleri*, Bilir, F.S. (chief ed.), Ankara Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. şti., Ankara, Türkiye, s. 149-160.

Cebeci Avunca, S. (2022). Yoğurt altı suyu ve sirke ile üretilen fermente salatalık turşularında bulunan laktik asit bakterilerinin tanımlanması. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 64 s.

Çelikel, A. (2012). Farklı oranlarda mikrobiyal transglutaminaz (MTGase) ile işlem görmüş sütlerden üretilen yarım yağlı ayranların bazı zellikleri. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, şanlıurfa, Türkiye, 60 s.

Demir, M.K., Elgün, A., Argun, M.ř. (2009). Sütçülük yan ürünlerinden peynir altı, yayık altı ve süzme yoğurt suları katkılarının bazı ekme

- özelliklerine etkileri üzerine bir araştırma. *GIDA* 34(2): 99-106.
- Dufrene, A., Park, D., Olson, D., Aryana, K. (2021). Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fruit-flavored Greek yogurt acid whey. *Food and Nutrition Sciences* 12(7): 681-692. doi: 10.4236/fns.2021.127051.
- Erkaya, T., Başlar, M., Şengül, M., Ertugay, M.F. (2015). Effect of thermosonication on physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of ayran during storage. *Ultrasonics Sonochemistry* 23: 406-412. doi: 10.1016/j.ultsonch.2014.08.009.
- Flinois, J.C., Dando, R., Padilla-Zakour, O.I. (2019). Yogurt acid whey utilization for production of baked goods: Pancakes and pizza crust. *Foods* 8(12): 615. doi: 10.3390/foods8120615.
- Güler-Akın, M., Ferliarslan, İ., Akın, M.S. (2016). Apricot probiotic drinking yoghurt supplied with inulin and oat fiber. *Advances in Microbiology* 6(14): 999-1009. doi: 10.4236/aim.2016.614094.
- Güllü, M., Beyaz, D., Demirpençe, H. (2023). Determination of chemical and microbiological quality of strained yoghurt samples marketed in Aydın province. *Animal Health, Production and Hygiene* 12(2): 13-19. doi: 10.53913/aduveterinary.1297717.
- Hooi, R., Barbano, D.M., Bradley, R.L., Budde, D., Bulthaus, M., Chettiar, M. (2004). Chemical and physical methods. In: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, Wehr, H.M., Frank, J.F. (chief ed.), American Public Health Association, the USA, pp. 363-532.
- Karastamatis, S., Zoidou, E., Moatsou, G., Moschopoulou, E. (2022). Effect of modified manufacturing conditions on the composition of Greek strained yogurt and the quantity and composition of generated acid whey. *Foods* 11(24): 3953. doi: 10.3390/foods11243953.
- Kocabaş, H., Ergin, F., Aktar, T., Küçükçetin, A. (2022). Effect of lactose hydrolysis and salt content on the physicochemical, microbiological, and sensory properties of ayran. *International Dairy Journal* 129: 105360. doi: 10.1016/j.idairyj.2022.105360.
- Köksoy, A., Kılıç, M. (2003). Effects of water and salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yoghurt drink. *International Dairy Journal* 13(10): 835-839. doi: 10.1016/S0958-6946(03)00103-1.
- Küçükakgöl, Ö., Koçak, C., Sezen, F., Yıldız, F. (2009). Yağ ikame maddesi kullanılarak (litesse® ultra™) kurumadde artırımının yağsız yoğurdun kalitesi üzerine etkisi. *GIDA* 34(5): 271-278.
- Menchik, P., Moraru, C.I. (2019). Nonthermal concentration of liquid foods by a combination of reverse osmosis and forward osmosis. Acid whey: A case study. *Journal of Food Engineering* 253: 40-48. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.02.015.
- Özer, B. (2006). *Yoğurt bilimi ve teknolojisi*. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, Türkiye, 487 s.
- Öztürk, Ö. (2020). Süzme yoğurt üretiminde ortaya çıkan atık suyun turşu üretiminde kullanılabilirliğinin incelenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 54 s.
- Tamuçay-Özönlü, B., Koçak, C. (2010). Farklı inkübasyon sonu asitliğinin ayran kalitesine etkisi. *GIDA* 35(2): 113-119.
- Tongur, A. (2019). Ayran üretiminde sütçülük yan ürünlerinin değerlendirilme imkanlarının araştırılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 54 s.
- Yalçın, H., Gün, İ., Soyuçuk, A. (2022). Psyllium, bezelye ve yulaf diyet liflerinin depolama süresi boyunca ayranın fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* 26(3): 336-348. doi: 10.29050/harranziraat.1143580.
- Yeniçeri, Ş.A., Göçer, E.M.Ç., Küçükçetin, A. (2021). Probiyotik bakteri içeren ayranın fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Akademik Gıda* 19(4): 414-423. doi: 10.24323/akademik-gida.1050733.

Yerlikaya, O. (2014). Effect of bee pollen supplement on antimicrobial, chemical, rheological, sensorial properties and probiotic viability of fermented milk beverages. *Mljekarstvo*

64(4): 268-279, doi: 10.15567/mljekarstvo.2014.0406.

FARKLI KURUTMA TEKNİKLERİNİN FINDIK OLEOZOMLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Hakan ERİNÇ*, Tuğçe ERKAYIRAN

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde, Türkiye

Geliş/Received: 26.09.2024; Kabul /Accepted: 06.11.2024; Online baskı /Published online: 15.11.2024

Erinç, H., Erkayıran, T. (2024). Farklı kurutma tekniklerinin fındık oleozomları üzerine etkilerinin belirlenmesi. GIDA (2024) 46 (6) 1138-1147 doi: 10.15237/ gida.GD24101

Erinç, H., Erkayıran, T. (2024). Determination of the effects of different drying techniques on hazelnut oleosomes. GIDA (2024) 46 (6) 1138-1147 doi: 10.15237/ gida.GD24101

ÖZ

Bu çalışmada, kavrulmamış fındıklardan elde edilen oleozomlar yağ ve protein içerikleri ile kremleşme stabilitesi (pH 2-11) açısından karakterize edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, fındıktan elde edilen oleozomların yağ içeriği 87.45 ± 0.36 ve protein içeriği 1.65 ± 0.06 olarak belirlendi. Ayrıca oleozomların pH 7'de agregasyona/kremleşmeye karşı direnç gösterdikleri ancak daha yüksek ve daha düşük pH değerlerinde kararsız oldukları tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında, oleozomlar maltodekstrin ile karıştırıldıktan sonra iki farklı yöntemle (püskürtülerek ve dondurularak) kurutulmuştur. Örnekler üzerinde yapılan sindirilebilirlik ve oksidatif stabilite analizleri, kurutulan örneklerin sindirilebilirlik açısından kontrol örneğinden daha iyi olduğunu göstermiştir. Dondurularak kurutulan oleozomlar, kontrol örneğiyle benzer oksidatif stabilite sonuçları sergilerken, püskürtülerek kurutulan örneklerin sıcaklık etkisiyle önemli ölçüde okside olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Oleozom, kremleşme, püskürtülerek kurutma, dondurularak kurutma, oksidatif stabilite, sindirilebilirlik

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT DRYING TECHNIQUES ON HAZELNUT OLEOSOMES

ABSTRACT

In this study, oleosomes obtained from raw hazelnuts were characterized for their fat-protein contents and creaming stability (pH 2-11). According to the analysis results, oleosomes obtained from hazelnuts had a fat content of $87.45\% \pm 0.36$ and a protein content of $1.65\% \pm 0.06$. On the other hand, it was found that they exhibited resistance to aggregation/creaming at pH 7, but were unstable at higher and lower pH values. In the second phase of the study, oleosomes were mixed with maltodextrin and then dried using two different methods (spray-drying and freeze-drying). Digestibility and oxidative stability analyses conducted on the samples revealed that the digestibility of the dried samples was superior to that of the control sample. Freeze-dried oleosomes exhibited oxidative stability results similar to the control sample, while it was determined that samples dried by spray-drying underwent significant oxidation due to the temperature effect.

Keywords: Oleosome, creaming, spray drying, freeze-drying, oxidative stability, digestibility

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: herinc@ohu.edu.tr

☎: (+90) 388 225 4005

☎: (+90) 388 225 0112

Hakan Erinç; ORCID no: 0000-0001-8858-4570

Tuğçe Erkayıran; ORCID no: 0000-0002-0378-4678

GİRİŞ

Memeli sütündeki yağ globülleri, omurgalıların dolaşım sistemlerindeki lipoproteinler ve bitki tohumlarındaki oleozomlar gibi yapılar, yağı su içinde küçük damlacıklar halinde dağıtmak üzere oluşmuş (Waschatko vd., 2012), mikron büyüklüğündeki lipid depolanan yapılardır. Bu yapılar aynı zamanda badem, fıstık, kabak çekirdeği, pirinç kepeği, soya fasulyesi ve fındık gibi ürünlerde de bulunur (Abdullah vd., 2020; Dave vd., 2019; Iwanaga vd., 2007).

Oleozomlar, protein ve lipid içeriği açısından zengin olmaları nedeniyle bitkisel gıda kaynakları arasında en umut verici sürdürülebilir kaynaklardan birisi olarak ortaya çıkmaktadır (Lopez vd., 2021). Küresel nüfusun artmasıyla birlikte, oleozomların gıda endüstrisindeki endüstriyel kullanımı, tüketicilerin "tamamen doğal" ürün taleplerini karşılamak amacıyla sentetik olarak tasarlanmış yağ kullanımını yavaş yavaş değiştirmektedir (Nikiforidis vd., 2014). Oleozomların yüksek emülsiyon kapasitesi, düşük toksisite potansiyeli, biyolojik uyumluluk ve maliyet etkinliği gibi dikkate değer özellikleri, onları doğal ürün eldesi bağlamında önemli bir ilgi odağı haline getirmiştir (Abdullah vd., 2020; Ntone vd., 2023). Aynı zamanda oleozomların önümüzdeki dönemde bitki bazlı gıda ürünlerinin gelişimini yönlendirmede önemli bir potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır (Kara vd., 2024).

Fosfolipitleri ve bazı proteinleri (oleozinler, kaleozinler ve steroleozinler gibi) içeren oleozomlar, triaçilgliserol (TAG) çekirdeğini çevreleyen bir protein tabakasından oluşur (Abdullah vd., 2020). Bu proteinlerin oleozom arayüzündeki düzeni, onları hidrofilik hale getirir ve bu nedenle su kullanılarak ekstrakte edilebilirler (Nikiforidis ve Kiosseoglou, 2009). Ayrıca, bu protein yapılar, oleozomları çevresel etkilerden koruyarak çeşitli gıda uygulamaları için uygun hale getirir (Nikiforidis, 2019; Abdullah vd., 2020; Pereira vd., 2022). Bu anlamda oleozomların biyoaktif bileşenleri kapsülleme, lipid oksidasyonunu inhibe etme, taklit süt ürünleri hazırlama ve yenilebilir fonksiyonel filmler üretme gibi geniş uygulama alanlarının olması (Iwanaga vd., 2007; Maurer vd., 2016; Abdullah vd., 2020)

gıda sanayi için oldukça önemlidir. Nitekim, Shakerardekani vd. (2013), fıstık oleozomlarını çeşitli süt içeceklerinin formülasyonunda kullanarak, tuzsuz bir ortamda duyuşal açıdan en yüksek puanlı antep fıstığı sütünü elde etmiştir. Başka bir çalışmada, Mantzouridou vd. (2019), oleozom eklenmiş yoğurdun fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve oksidatif özellikler açısından üstün stabilite sergilediğini belirlemiştir. Benzer şekilde, oleozomların soya sütü ve çikolata üretiminde kullanımı ile değerli besin profillerine ve yüksek stabiliteye sahip ürünler elde edilmiştir (Gallier vd., 2012; Nikiforidis vd., 2014).

Bazı koşullar altında oleozomlarda önemli ölçüde agregasyon ve flokülasyon görülebilir. Ayrıca oleozomlar, yapılarındaki çoklu doymamış yağ asitleri nedeniyle ışık, oksijen veya nemle temas ettiklerinde lipid oksidasyonuna karşı son derece duyarlı hale gelirler (Zaaboul vd., 2022). Bunu önlemek için, oleozomların mikrokapsüle edilmesi gerekmektedir (Bakry vd., 2016).

Yağın besin değerini ve oleozomların işlevini korumak için püskürtülerek kurutma yöntemiyle mikrokapsülleme umut vadeden bir tekniktir. Yapılan bir çalışmada saf oleozomların püskürtülerek kurutulmasının aşırı bileşen ayrışmasına ve dolayısıyla düşük bir kapsülleme verimliliğine neden olduğu belirlendikten sonra oleozomlara maltodekstrin (MD) eklenerek kurutulmasının yağ kapsülleme verimliliğini önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir (Maurer vd., 2016).

MD, yüksek çözünürlüğü, yüksek katı konsantrasyonunda düşük viskozitesi, düşük maliyeti ve nötr tat ve renk özellikleri nedeniyle biyoaktif maddelerin mikrokapsülasyonunda yaygın olarak kullanılır. Ambalajlama sürecinde kaplama malzemesi, mikrokapsüllerin fiziksel ve fonksiyonel özelliklerini etkiler (Loi vd., 2020). MD, çekirdek malzemeleri dış ortamdan gelebilecek hasarlardan korumak ve çekirdek malzemelerin kapsülleme verimini maksimize etmek için kullanılabilir (Korma vd., 2019). Fongin vd. (2017), kuruma ve depolama sırasında MD eklemenin çekirdek malzemenin mikrokapsülasyon verimini ve oksidasyon

stabilitesini artırabileceğini açıklamıştır. Mohona ve Pradyuman (2022), MD'nin frenk üzümü tohum yağının kapsülasyonunda bozulmayı önlemek ve biyoaktif maddelerin raf ömrünü uzatmak için etkili bir şekilde kullanıldığını ortaya koymuştur. Zhu vd. (2022), farklı hidroliz derecelerine sahip maltodekstrinler kullanarak soya fasulyesi oleozomlarının kapsüllemesinin termal ve oksidatif stabilitesini önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Li vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada, soya fasulyesi oleozomlarının maltodekstrin kullanarak kapsüllemesinin, oleozom mikrokapsüllerinin stabilitesini artırdığını ve depolama sırasında lipit oksidasyon derecesini azalttığını belirlemişlerdir. Maurer vd. (2016), maltodekstrin ekleyerek oleozomların kapsülleme verimini ve oksidatif stabilitesini artırdığını tespit etmişlerdir.

Oleozomların çeşitli uygulamaları incelenmiş olsa da, püskürterek ve dondurarak kurutma işlemine tabi tutulması ve karşılaştırılması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, çiğ fındıklardan su ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen oleozomlar, karakterize edildikten sonra maltodekstrin ile karıştırılmış ve iki farklı yöntemle (püskürterek-dondurarak) kurutulmuştur. Bu çalışmanın temel amaçları, kurutulmuş oleozomların sindirilebilirliğini ve oksidatif stabilitesini değerlendirmek ve bu şekilde oleozomların gıda olarak çok yönlü kullanımına katkıda bulunmaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada, yerel marketlerden temin edilen çiğ fındıklar kullanılmıştır. Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar Sigma Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasından temin edilmiştir.

Oleozom ekstraksiyonu

Fındıktan oleozom ekstraksiyonunda ilk olarak, 100 g fındık örneğine sodyum bi karbonat ile pH'sı 9.5'a ayarlanmış distile su (400 g) eklenerek 4 °C'de 16 saat süreyle bekletilmiş ve ardından bir 3mm delik çapına sahip kıyma makinasından geçirilmiştir. Daha sonra, saflaştırılma işlemi için 3000 g'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek üstteki oleozom tabakasının ayrılması

sağlanmıştır. Buradan izole edilen üst tabaka daha sonra sodyum bi karbonat ile pH 11'e ayarlanmış distile su ile (1:4 oranında) yeniden süspanse edilmiş ve 10.000 g'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek saflaştırılmıştır. Bu işlem oleozom saflığını artırmak için iki kez tekrarlanmıştır (Romero-Guzmán vd., 2020).

Oleozomlarda yapılan analizler

Yağ ve protein tayini

Fındık örneği ve oleozomlardaki yağ miktarı Soxhlet yöntemi ile petrol eteri kullanılarak, protein içeriği ise Kjeldahl yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 2002).

Yağ asidi kompozisyon analizi

Örneklerin yağ asidi metil esterleri, Hartman ve Lago'nun (1973) yöntemi kullanılarak hazırlanmış ve yağ asidi kompozisyonları, DB23 kapiler kolon (60 m × 0.250 mm × 0.25 µm) ve alev iyonizasyon detektörü ile donatılmış Shimadzu GC-2010plus (Shimadzu, Japonya) gaz kromatografi yardımıyla belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmış (1 mL/dakika) ve split oranı 1:80 olarak belirlenmiştir. Analiz süresince enjektör, kolon ve detektör sıcaklıkları sırasıyla 230°C, 190°C ve 240°C'de tutulmuştur.

Oleozomların kremleşmeye karşı stabiliteeleri

Bu amaçla farklı pH değerlerinde tampon çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler içerisindeki oleozomlardan 10 mL alınmış ve 20 mL hacimli mezür içerisine yerleştirilmiştir. Oda sıcaklığında 14 gün depolamanın ardından krema ve serum olarak ayrılan katmanların ölçümü gerçekleştirilmiştir (Iwanaga vd., 2007; Qi vd., 2017). Oleozom süspanسیونunun toplam yüksekliği (HT), serum tabakasının yüksekliği (HSL) ve krem tabakasının yüksekliği (HCL) üç tekrarlı olarak belirlenmiş olup kremleşme indeksi, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Serum tabakası için Kremleşme İndeksi (CISL)} = 100 \times \text{HSL} / \text{HT}$$

$$\text{Krem tabakası için Kremleşme İndeksi (CICL)} = 100 \times \text{HCL} / \text{HT}$$

Oleozomların kurutulması

Dondurarak kurutma; oleozom örnekleri 2 katı oranında maltodekstrin ile karıştırıldıktan sonra -70 °C sıcaklıkta 24 saat dondurulmuş, ardından liofilizatör yardımıyla 4 gün süresince kurutulmuştur.

Püskürtürek kurutma; oleozom örnekleri 2 katı oranında maltodekstrin ile karıştırıldıktan sonra 140°C, %100 aspiration hızında, 8 mL/dakika besleme hızında püskürtmeli kurutucuya beslenerek kurutulmuştur.

Kurutulmuş örneklerde yapılan analizler*Taramalı elektron mikroskopu görüntüleri*

Kurutma işlemi sonrası örneklerin morfolojik yapıları Zeiss/Evo 40 model taramalı elektron mikroskopu yardımıyla belirlenmiştir.

FTIR

Elde edilen ürünlerin FTIR ölçümlerinde KBr ile hazırlanan pelletler kullanılmıştır. 4000-400 cm⁻¹ dalga boyları arasında spektrum taranmıştır. Bu analiz IR Affinity-1 Spectrometer (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Sindirim uygulaması

Farklı yöntemlerle kurutulan oleozomlarda mide ve bağırsak sindirimi laboratuvar koşullarında simüle edilmiştir (Özgüven, 2014). Bu işlemde önce 37°C'de 5 dk α-amilaz sindirimi yapıldıktan sonra 37°C'de 2 saat pepsin/HCl sindirimi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında ise yine 37°C'de 2 saat safratuzu/pankreatin ile sindirim işlemine devam edilmiş olup başlangıç örneklerinde ve sindirim uygulanan örneklerde serbest yağ asidi tayini yapılarak ürünlerin sindirilme düzeyi belirlenmiştir.

Oksidasyon parametrelerinin belirlenmesi

Peroksit sayısı analizi AOCS Cd 8-53 metodu ile, malonaldehit analizi (MAD) ise 2-Tiyobarbitürik asidin (TBA) MAD ile kalorimetrik tepkimesinin ölçme esasına dayanarak AOCS Cd 19-90 metodu ile belirlenmiştir (AOCS, 1998). Şahit çözeltiye karşı örneğin 538 nm'deki absorbansı okunmuş ve MAD standart eğrisini hazırlamak üzere 1x10⁻³ M Malonaldehit bis (dietyl asetal, %97) standart

çözeltisinden farklı oranlarda seyreltmeler hazırlanmıştır. Hazırlanan seyreltik çözeltilerden elde edilen absorbanslar kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

İstatistiksel Analizler

Varyans analizi (ANOVA) SPSS yazılım paketi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu aralık testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA**Oleozomların yağ ve protein içeriği**

Kavrulmamış fındıkların yağ içeriği %47.83±1.23, oleozomların yağ içeriği ise %87.45±0.36 olarak belirlenmiştir. Kavrulmuş ve kavrulmamış fındıktan oleozom ekstraksiyonu üzerine yapılan bir çalışmada, kavrulmuş fındıktan elde edilen oleozomlardaki yağ içeriği %53.3 iken kavrulmamış fındıktan elde edilen oleozomdaki yağ içeriği %77.5 olarak bulunmuştur (Capuano vd., 2018). Yaptığımız çalışmada kavrulmamış fındık kullanılmış olup Capuano vd. (2018) tarafından belirlenen değere kıyasla oleozom içeriğindeki yağ miktarı daha yüksek bulunmuştur.

Fındıktan elde edilen oleozomların protein miktarı ise %1.65±0.06 olarak bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, soya fasulyesinin 4 °C'de 20 saat bekletmenin ardından tohum-su oranı (1:5w/v), filtreleme ardından 30 dakika boyunca 25000g'de santrifüjleme sonunda; oleozom bileşiminde bizim sonuçlarımızdan oldukça yüksek miktarda (%7.85) protein olduğu belirlenmiştir (Qi vd., 2017). Sonuçlardan anlaşıldığı oleozom kaynağı ve uygulanan ön işlemler oleozom bileşimini etkilemektedir.

Yağ asidi kompozisyonu

Fındık ve oleozom yağlarının yağ asidi kompozisyonları Çizelge 1'de detaylandırılmıştır. Beklendiği gibi, fındık ve oleozom yağı benzer yağ asidi içeriği sahip olmakla birlikte yaklaşık olarak %84 oleik asit, %7 linoleik asit ve %6 palmitik asit içerdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Fındık ve oleozom yağlarının yağ asidi kompozisyonları
 Table 1. Fatty acid compositions of hazelnut and oleosome oils

Yağ Asitleri (%) Fatty Acids (%)	Fındık Hazelnut	Oleozom Oleosome
Miristik asit <i>Myristic acid</i>	0.02±0.00	0.03±0.00
Palmitik asit <i>Palmitic acid</i>	5.77±0.12	5.74±0.10
Palmitoleik asit <i>Palmitoleic acid</i>	0.33±0.01	0.34±0.01
Stearik asit <i>Stearic acid</i>	2.48±0.13	2.42±0.11
Oleik asit <i>Oleic acid</i>	84.20±0.15	84.09±0.13
Linoleik asit <i>Linoleic acid</i>	7.17±0.20	7.29±0.15

Oleozomların kremleşme stabilitesi

Oda sıcaklığında 14 gün süresince depolanan oleozom süspansiyonlarının kararlılığı üzerinde pH'nin etkisi, süspansiyon kararlılığını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir parametre olan kremleşme indeksi ile değerlendirilmiştir. Kremleşme indeksi, oleozom süspansiyonları içindeki damlacık birikiminin derecesi hakkında bilgi vermekte olup özellikle yüksek kremleşme indeksi değerleri, daha büyük parçacık agregasyonunu gösterir (Van Aken vd., 2003).

Çizelge 2'de görüldüğü üzere, fındıktan elde edilen oleozomlar pH 3-4 aralığında tamamen iki fazlı

(krem ve serum) olarak ayrılmış ve bu, süspansiyonun bozulmasına neden olmuştur. Bu sonuç, oleozom süspansiyonlarının asidik pH seviyelerinde serum oluşturma eğilimini bildiren Qi ve diğerlerinin (2017) bulguları ile uyumludur. Oleozomlarda serum ayrışması olmaksızın sadece krem tabakası oluşumunun gözlenmesi de kararsızlığın göstergesi olarak kabul edilmiş olup sunulan bu çalışmada elde edilen oleozomlar en yüksek kararlılığı pH 7-8 aralığında sergilemiştir. Bunun aksine, pH 2, 5-6 ve pH 9-11'de oleozomlar üç ayrı faz (krem, süspansiyon ve serum) halinde ayrılmıştır.

Çizelge 2. Farklı pH değerlerindeki oleozom süspansiyonlarının kremleşme ve serum stabilitesi
 Table 2. Creaming and serum stability of oleosome suspensions at different pH values

pH	Krem Stabilitesi <i>Creaming stability</i> (%) CI _{CL}	Serum Stabilitesi (%) <i>Serum stability</i> (%) CI _{SL}
	2	6.0±0.1 ^h
3	6.7±0.1 ⁱ	93.3±0.9 ^h
4	6.7±0.1 ⁱ	93.1±0.9 ^h
5	5.7±0.1 ^f	19.7±0.2 ^f
6	5.3±0.1 ^d	12.2±0.1 ^b
7	1.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
8	3.5±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a
9	4.1±0.0 ^c	14.6±0.1 ^d
10	5.6±0.1 ^e	20.6±0.2 ^g
11	5.9±0.1 ^g	15.8±0.2 ^e

^a Farklı üst simgeler önemli farklılıkları göstermektedir ($P < 0.05$).

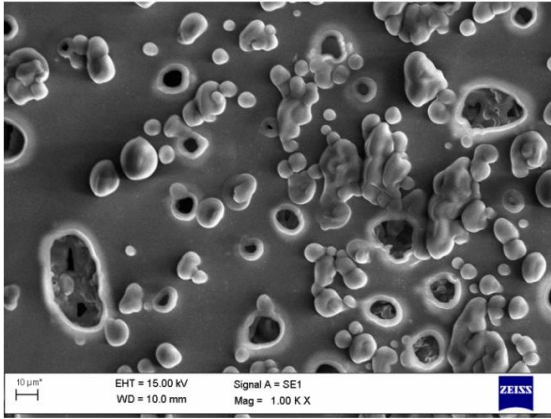
^a Different superscripts indicate significant differences ($P < 0.05$).

Bulgularımıza benzer olarak, Iwanaga vd. (2007), soya fasulyesi oleozomları için optimum kararlılığa uygun pH aralığının 7-8 olduğunu belirlemişler. Ancak Qi vd. (2017), en kararlı soya fasulyesi oleozom süspansiyonunun pH 9'da elde edildiğini bildirmiştir. Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere oleozom kaynağı fiziksel stabilite açısından da oldukça önemlidir.

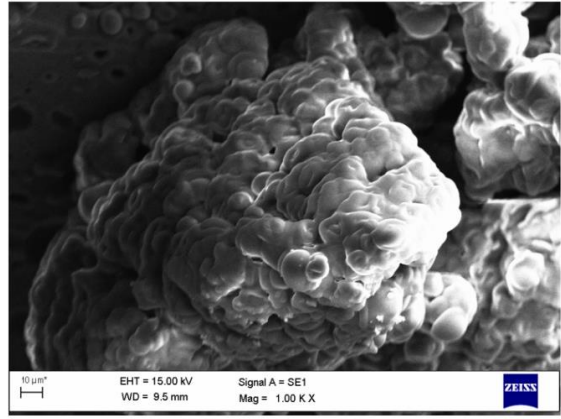
Kurutulmuş oleozomlarda yapılan analiz sonuçları

Taramalı elektron mikroskopu

Kurutulmuş oleozomların taramalı elektron mikroskopu görüntüleri Şekil 1'de verilmiş olup şekillerden görüldüğü üzere sprey kurutucu ile yapılan kurutma işlemi sonucunda maltodekstrinden kaynaklı olarak yapının aglomere olduğu gözlenmiştir. Yapıdaki bu farklılıklar son ürünün sindirilebilirliğinde önemli değişimlere neden olmuştur.



Donuk kurutulmuş, *Freeze-dried*



Püskürtülerek kurutulmuş, *Spray-dried*

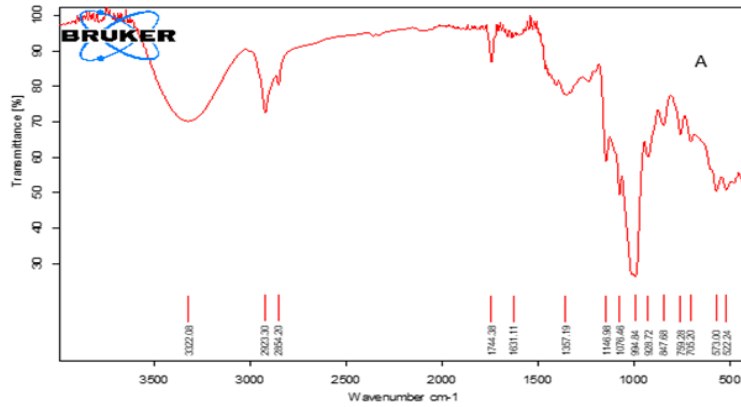
Şekil 1. Kurutulmuş oleozomların taramalı elektron mikroskopu görüntüleri

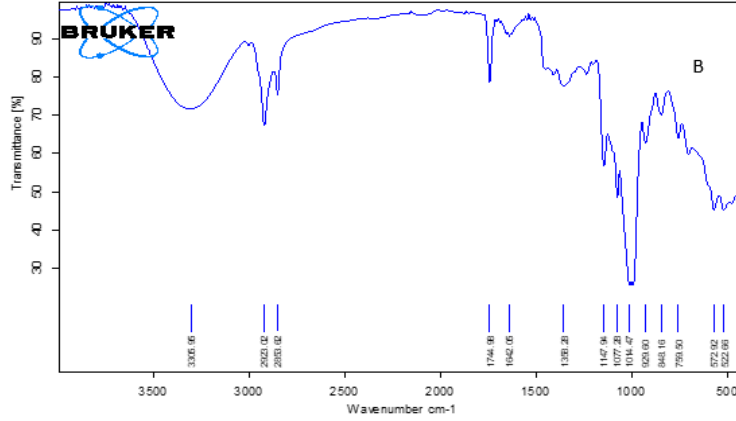
Figure 1. Scanning electron microscopy images of dried oleosomes

FT-IR

Şekil 2'de kurutulmuş fındık oleozomlarının FT-IR spektrumu verilmiş olup çeşitli karakteristik fonksiyonel grupların varlığını göstermektedir. Grafikte görülen 2923 ve 2854 cm^{-1} 'deki pikler, $-\text{CH}_2$ gruplarının gerilme titreşimlerine

atfedilebilir. Ayrıca, 1744 cm^{-1} 'deki belirgin pik, yağ bileşenindeki trigliseridlerin karbonil grubuna karşılık gelir. 1146 cm^{-1} 'deki pik ise C-O gerilme titreşimlerinden kaynaklanır (Matsakidou vd., 2019).





Şekil 2. Kurutulmuş oleozomların FT-IR spektrumları, A: Donuk kurutulmuş, B: Püskürtülerek kurutulmuş

Figure 2. FT-IR spectra of dried oleosomes, A: Freeze-dried, B: Spray dried

Sindirim analizi sonuçları

Yapılan sindirim analizleri sonuçları Çizelge 3'de verilmiş olup sonuçlardan da görüldüğü üzere kurutulmamış kontrol örneğine göre kurutma işlemi ile oleozomların sindirilebilirliği önemli düzeyde artış göstermiştir. Özellikle yüksek sıcaklık uygulanan sprey kurutma işlemi ile oleozomların %94.80 oranında sindirilebilir

olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni sprey kurutma işleminde uygulanan yüksek sıcaklık etkisi ile oleozomların yüzey proteinlerinde denatürasyonların gerçekleşmesine atfedilebilir. Dondurarak kurutma esnasında ise süblimleşen buz kristallerinin son üründe gözenekler oluşturarak sindirilebilirliğinin artmasına neden olduğu öngörülmüştür.

Çizelge 3. Kurutulmuş oleozomların sindirilebilirlik, peroksit sayısı ve TBA değerleri

Table 3. Digestibility, peroxide value, and TBA values of dried oleosomes.

Örnek Sample	Sindirilebilirlik Digestibility (%)	Peroksit sayısı Peroxide value (meq O ₂ /kg)	TBA değeri TBA value (µg MA/g)
Kontrol Control	29.66±2.34 ^a	0.31±0.05 ^a	0.37±0.30 ^a
Donuk kurutulmuş Freeze-dried	73.90±0.75 ^b	0.20±0.05 ^a	0.35±0.19 ^a
Püskürterek kurutulmuş Spray dried	94.80±0.76 ^c	0.71±0.11 ^b	0.51±0.17 ^a

^a Farklı üst simgeler önemli farklılıkları göstermektedir ($P < 0.05$).

^a Different superscripts indicate significant differences ($P < 0.05$).

Kurutulmuş oleozomların oksidasyon analizleri sonuçları

Kurutulmuş oleozomlarda gerçekleştirilen oksidasyon analizleri sonuçlarından (Çizelge 3) görüldüğü üzere püskürterek kurutma işlemindeki yüksek sıcaklık etkisinden dolayı peroksit sayısı ve TBA değerleri artarken dondurarak kurutma işlemi ile bu parametreler kontrole benzer

bulunmuştur. Ancak TBA değerlerinde istatistiki olarak farklılık bulunmamıştır. Bu sonuçlar oleozomların MD ile karıştırıldıktan sonra dondurarak ve püskürterek kurutma işlemlerine tabi tutulması sonucunda oksidasyondan çok fazla etkilenmediğini göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada, sodyum bikarbonat ile pH'sı 9.5'a ayarlanmış distile su kullanılarak fındıktan oleozomlar başarıyla elde edilmiştir. Gıda endüstrisindeki çeşitli pH koşulları göz önüne alındığında kritik bir parametre olan kremleşme stabilitesi, elde edilen oleozomlar için değerlendirilmiş olup özellikle pH 7-8 aralığında oleozomlar krema oluşumu ve agregasyona karşı güçlü bir stabilite sergilemiştir. Ek olarak, bulgularımız, oleozomların yağ fazını kimyasal veya fiziksel bozulmalara karşı etkili bir şekilde korunması ve sindirilebilirliğinin artırılması için püskürterek ve dondurarak kurutma işlemlerinin potansiyeline işaret etmektedir. Bu testlerin sonuçlarını doğrulamak için özellikle duyuşal değerlendirmeler ve ürün uygulamaları gibi daha fazla araştırmaların yapılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TGT 2020/8-BAGEP).

YAZAR KATKILARI

H.E. çalışmanın yürütülmesinden sorumluydu. H.E. ve T.E. çalışma için deneyleri gerçekleştirdi. Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulundular ve tüm yazarlar makaleyi okudu ve onayladı.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

Abdullah, Weiss, J., Zhang, H. (2020). Recent advances in the composition, extraction and food applications of plant-derived oleosomes. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 322–332. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.10.029>

AOAC. (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International. In G. W. Latimer (Ed.), AOAC International (21st ed., Issue 2019). AOAC International, Rockville, Md. <https://www.worldcat.org/title/1194484062>

AOCS. (1998). Official methods and recommended practices of the AOCS (D.

Firestone (ed.); 5th ed.). American Oil Chemists' Society.

Bakry, A.M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M.Y., Mousa, A., Liang, L. (2016). Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*. 15:143–82. doi: 10.1111/1541- 4337.12179

Capuano, E., Pellegrini, N., Ntone, E., Nikiforidis, C. V. (2018). In vitro lipid digestion in raw and roasted hazelnut particles and oil bodies. *Food and Function*, 9(4), 2508–2516. <https://doi.org/10.1039/c8fo00389k>

Dave, A. C., Ye, A., Singh, H. (2019). Structural and interfacial characteristics of oil bodies in coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Food Chemistry*, 276, 129–139. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.09.125>

Fongin, S., Kawai, K., Harnkarnsujarit, N., Hagura, Y. (2017). Effects of water and maltodextrin on the glass transition temperature of freeze-dried mango pulp and an empirical model to predict plasticizing effect of water on dried fruits. *Journal of Food Engineering*, 210:91–7. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.04.025

Gallier, S., Gordon, K. C., Singh, H. (2012). Chemical and structural characterisation of almond oil bodies and bovine milk fat globules. *Food Chemistry*, 132(4), 1996–2006. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.12.038>

Hartman, L., Lago, R. C. A. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids - PubMed. *Laboratory Practice*, 22, 475–476. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4727126/>

Iwanaga, D., Gray, D. A., Fisk, I. D., Decker, E. A., Weiss, J., McClements, D. J. (2007). Extraction and characterization of oil bodies from soy beans: A natural source of pre-emulsified soybean oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8711–8716. https://doi.org/10.1021/JF071008W/ASSET/IMAGES/LARGE/JF-2007-01008W_0007.JPEG

Kara, H.H., Araiza-Calahorra, A., Rigby, N.M., Sarkar, A. (2024). Flaxseed oleosomes:

- Responsiveness to physicochemical stresses, tribological shear and storage. *Food Chemistry*, 431, 137160. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.137160>
- Korma, S.A., Wei, W., Ali, A.H., Abed, S.M., Zheng, L., Jin Q., Wang, X. (2019). Spray-dried novel structured lipids enriched with medium-and long-chain triacylglycerols encapsulated with different wall materials: characterization and stability. *Food Research International*, 116:538–47. doi: 10.1016/j.foodres.2018.08.071
- Li, Z., Sun, B., Zhu, Y., Liu, L., Huang, Y., Lu, M., Zhu, X., Gao, Y. (2022). Effect of maltodextrin on the oxidative stability of ultrasonically induced soybean oil bodies microcapsules. *Frontiers In Nutrition*, 9:1071462. doi:10.3389/fnut.2022.1071462.
- Loi, C.C., Eyres, G.T., Silcock, P., Birch, E.J. (2020). Preparation and characterisation of a novel emulsifier system based on glycerol monooleate by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 285:110100. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110100
- Lopez, C., Novales, B., Rabesona, H., Weber, M., Chardot, T., Anton, M. (2021). Deciphering the properties of hemp seed oil bodies for food applications: Lipid composition, microstructure, surface properties and physical stability. *Food Research International*, 150, 110759. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110759>
- Mantzouridou, F.T., Naziri, E., Kyriakidou, A., Paraskevopoulou, A., Tsimidou, M.Z., Kiosseoglou, V. (2019). Oil bodies from dry maize germ as an effective replacer of cow milk fat globules in yogurt-like product formulation. *LWT*, 105, 48–56. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.01.068>
- Matsakidou, A., Tsimidou, M. Z., Kiosseoglou, V. (2019). Storage behavior of caseinate-based films incorporating maize germ oil bodies. *Food Research International*, 116, 1031–1040. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.09.042>
- Maurer, S., Ghebremedhin, M., Zielbauer, B.I., Knorr, D., Vilgis, T.A. (2016). Microencapsulation of soybean oil by spray drying using oleosomes. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 49:054001. doi: 10.1088/0022-3727/49/5/054001
- Mohona, M., Pradyuman, K. (2022). Microencapsulation of fenugreek seed oil and oil load effect on maltodextrin and fenugreek seed mucilage as wall materials by spray drying. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46:16294. doi: 10.1111/JFPP.16294
- Nikiforidis, C. V., Kiosseoglou, V. (2009). Aqueous extraction of oil bodies from maize germ (*Zea mays*) and characterization of the resulting natural oil-in-water emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(12), 5591–5596. <https://doi.org/10.1021/JF900771V>
- Nikiforidis, C.V. (2019). Structure and functions of oleosomes (oil bodies). *Advances in Colloid and Interface Science*, 274, 102039. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2019.102039>
- Nikiforidis, C.V., Matsakidou, A., Kiosseoglou, V. (2014). Composition, properties and potential food applications of natural emulsions and cream materials based on oil bodies. *RSC Advances*, 4(48), 25067–25078. <https://doi.org/10.1039/C4RA00903G>
- Ntone, E., Yang, J., Meinders, M. B. J., Bitter, J. H., Sagis, L. M. C., Nikiforidis, C. V. (2023). The emulsifying ability of oleosomes and their interfacial molecules. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 229, 113476. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2023.113476>
- Özgülven, M. (2014). Functional chocolate development: enrichment of dark chocolate with nano-liposome encapsulated antioxidants, and/or pro- and pre-biotics, bioavailability studies, Ph. D. Thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Pereira, W.F.S., de Figueiredo Furtado, G., Feltre, G., Hubinger, M.D. (2022). Oleosomes from Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.): Extraction, characterization and stability study. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 82, 103183. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2022.103183>
- Qi, B., Ding, J., Wang, Z., Li, Y., Ma, C., Chen, F., Sui, X., Jiang, L. (2017). Deciphering the

- characteristics of soybean oleosome-associated protein in maintaining the stability of oleosomes as affected by pH. *Food Research International*, 100(May), 551–557. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.053>
- Romero-Guzmán, M. J., Jung, L., Kyriakopoulou, K., Boom, R. M., Nikiforidis, C. V. (2020). Efficient single-step rapeseed oleosome extraction using twin-screw press. *Journal of Food Engineering*, 276, 109890. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2019.109890>
- Shakerardekani, A., Karim, R., Vaseli, N. (2013). The effect of processing variables on the quality and acceptability of pistachio milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(5), 541–545. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4549.2012.00676.X>
- Van Aken, G.A., Blijdenstein, T.B.J., Hotrum, N.E. (2003). Colloidal destabilisation mechanisms in protein-stabilised emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8(4–5), 371–379. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(03\)00098-0](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(03)00098-0)
- Waschatko, G., Junghans, A., Vilgis, T. A. (2012). Soy milk oleosome behaviour at the air–water interface. *Faraday Discussions*, 158(0), 157–169. <https://doi.org/10.1039/C2FD20036H>
- Zaaboul, F., Zhao, Q., Xu, Y., Liu, Y. (2022). Soybean oil bodies: a review on composition, properties, food applications, and future research aspects. *Food Hydrocolloids*, 124:107296. doi: 10.1016/j.foodhyd.2021.107296
- Zhu, Z., Hu, J., Zhong, Z. (2022). Preparation and characterization of long-term antibacterial and pH-responsive Polylactic acid/Octenyl succinic anhydridechitosan @ tea tree oil microcapsules. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220:1318–28. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.09.038



ENGINEERED CHITOSAN NANOPARTICLES FOR ENCAPSULATION OF THYMOL

Dilhun Keriman ARSERİM-UÇAR*

Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Bingöl University, Bingöl, Türkiye

Received/Geliş: 17.05.2024; Accepted/Kabul: 08.11.2024*; Published online/Online baskı: 15.11.2024

Arserim Uçar, D. K. (2024) Engineered chitosan nanoparticles for encapsulation of thymol. GIDA (2024) 49 (6) 1148-1161 doi: 10.15237/gida.GD24055

Arserim Uçar, D. K. (2024) Timol enkapsülasyonu için tasarlanmış kitosan partikülleri. GIDA (2024) 49 (6) 1148-1161 doi: 10.15237/gida.GD24055

ABSTRACT

This study successfully obtained chitosan thymol nanoparticles using an electrohydrodynamic technique, which is a simple one-step procedure. The morphological and physical characterization, antioxidant, and antimicrobial activity assessments of electrosprayed thymol-loaded chitosan nanoparticles (CTNPs) were carried out. The ABTS assay and the agar well diffusion test were used to determine the antioxidant and antimicrobial activities of the CTNP samples, respectively. The results showed that CTNPs possessed efficient antimicrobial capacity against *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, and *S. typhimurium*. CTNPs indicated a radical scavenging activity of 90% regarding the ABTS assay. CTNPs with biological activities could be an effective alternative for practical food safety and health applications. In this study, the use of electrohydrodynamic atomization technique to produce biopolymer nanoparticles present a novel approach for encapsulating thymol-like volatile active agents.

Keywords: Chitosan, thymol, electrohydrodynamic technique, nanoparticles, food safety, nutrition

TİMOL ENKAPSÜLASYONU İÇİN TASARLANMIŞ KİTOSAN NANOPARTİKÜLLER

ÖZ

Bu çalışmada, kitosan timol nanopartikülleri elektrohidrodinamik teknik kullanılarak tek adımlı, basit bir prosedür ile başarı ile elde edilmiştir. Elektrosprey timol yüklü kitosan nanopartiküllerin (KTNP'ler) morfolojik ve fiziksel karakterizasyonu, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. KTNP örneklerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için sırasıyla ABTS yöntemi ve agar well difüzyon testi kullanılmıştır. Analiz sonuçları, KTNP'lerin *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* ve *S. typhimurium*'a karşı etkili antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. KTNP'ler ABTS yöntemine göre % 90 radikal süpürme aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. Biyolojik aktiviteye sahip KTNP'lerin gıda güvenliği ve sağlık alanındaki pratik uygulamalarda etkili bir alternatif olabileceği görülmüştür. Bu çalışmada, biyopolimer nanopartiküller üretmek için elektrohidrodinamik atomizasyon tekniğinin kullanılması, timol benzeri uçucu aktif bileşenlerin enkapsülasyonu için yeni bir yaklaşım sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kitosan, timol, elektrohidrodinamik teknik, nanopartikül, gıda güvenliği, beslenme

* Corresponding author / Sorumlu Yazar

✉: ducar@bingol.edu.tr

☎ (+90) 426 216 0012

Dilhun Keriman Arserim Uçar; ORCID no: 0000-0001-8011-5059

INTRODUCTION

Thymol (2-isopropyl-5-methylphenol) is a natural monoterpene phenol and the principal component of the thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil (Pirbalouti et al., 2014; da Rosa et al., 2015; Escobar et al., 2020). Thyme oil and thymol are categorized by the U.S Food and Drug Administration as generally regarded as safe (GRAS) (Cohen et al., 2021; U.S. Food and Drug Administration, 2024). The investigations on thymol's potential as a food preservative and nutraceutical are continuously increasing due to the numerous functions of thymol, including antifungal (Zhao et al., 2023), antibacterial (Echazú et al., 2017), antioxidant (Doost et al., 2019), antiviral (Nandi and Khanna, 2022), anti-inflammatory (Sheorain et al., 2019) and anticancer (Qoorchi Moheb Seraj et al., 2022) effects. For instance, volatile organic compounds such as thymol can provide safer natural alternatives to synthetic ones to the preservation of food products (Viacava et al., 2018; Sepahvand et al., 2022). However, its hydrophobic nature, oxidation susceptibility, high volatility, poor dispersion, unpleasant smell, and insolubility of thymol restrict its ability for industrial applications (Pan et al., 2022; Sharma et al., 2023; Zhao et al., 2023). The chemical instability of thymol is the main challenge for long-term applications of it as a preservative in food systems (da Rosa et al., 2015). However, innovative encapsulation strategies may overcome these limitations. Micro-/nano- particle encapsulation is an emerging approach for protecting the various bioactive compounds from harsh environmental conditions and increasing their bioavailability (Bazana et al., 2019; Gao et al. 2021). To enhance the bioavailability and functional characteristics of thymol, it can be encapsulated within a variety of carrier matrices through different methodologies, including nanoencapsulation with sodium casein via high shear homogenization (Pan et al., 2014), cyclodextrin inclusion complex via electrospraying (Aytac et al., 2017), loading nanoparticulated form in chitosan-quinoa films (Medina et al., 2019), nanoparticle formation with ethylcellulose/methylcellulose (Wattanasatcha et al., 2012), encasing in caseinate-stabilized

nanosuspensions (Zhou et al., 2021), inclusion of γ -cyclodextrin metal-organic framework (MOF) (Pan et al., 2022), integration of starch-based inclusion complexes (Zhou and Kong, 2023), loading in nanoemulsions (Saatkamp et al., 2023), entrapment in chitosan-Aloe vera films (Sharma et al., 2023), encapsulating in zein-gum arabic stabilized Pickering emulsions (Li et al., 2018), nanoliposome and solid lipid nanoparticles (Zabihi et al., 2023), administration in nanoemulsion and nanostructured lipid carriers in alginate-based edible films (Talesh et al., 2024).

Chitosan is an abundant, commercially available, unique cationic natural linear polysaccharide obtained from the crustacean exoskeletons, insects, and algae, and it can also be extracted from the cell walls of fungi (Kumar et al., 2004; Mourya and Inamdar 2008; Aranaz et al., 2021). Chitosan is compatible with living organisms and does not cause adverse responses in human cells (Kumar et al., 2004). Chitosan is commonly used in different fields as a dietary supplement (Moraru et al., 2018), food packaging (Amaregouda et al., 2023), and biomedicine (Wang et al., 2020). The carrier matrix is essential for developing the encapsulation systems (Pan et al., 2022; Cheng et al., 2023). Previous studies have reported the effectiveness of chitosan as a carrier for thymol in different delivering systems such as thymol chitosan nanoemulsions (Liu and Liu 2020), thymol chitosan hydrogels (Echazú et al., 2017), chitosan thymol nanoparticles by ionic crosslinking method (Zhao et al. 2023), ionic gelation method (Medina et al. 2019; Çakır et al., 2020), chitosan encapsulated thymol nano gels (Piri-Gharaghie et al., 2022), thymol loaded chitosan nanoparticles by emulsification (Guo et al., 2022), formation of a chitosan-gelatin copolymer matrix for the nanoencapsulation of thymol (Ojeda-Piedra et al., 2023) and delivering of thymol in chitosan-aloe vera films (Sharma et al., 2023).

Engineered nanoparticles are targeted specific carriers for food additives without disturbing the physicochemical capabilities of delivered compounds (Arserim-Uçar, 2020; Arserim-Uçar and Çabuk, 2020; Sahani and Sharma, 2021).

Spray drying, emulsification, evaporation, and coacervation are the most common encapsulation techniques used to produce bioactive agent-loaded micro/nanoparticles. These techniques require harsh chemicals and heating that are not suitable for heat sensitive compounds. However, electrospaying technique does not require any extreme temperature, pressure, and organic solvent for manufacturing functional micro/nano particles (Niu et al. 2020).

Currently, electrohydrodynamic techniques like electrospay have become promising methods for producing micro/nanoparticles in a single step at ambient temperatures (Chakraborty et al., 2009; Gómez-Mascaraque et al., 2017; Arserim-Uçar, 2021; Arserim-Uçar, 2022). Chitosan nanoparticles fabricated through electrospaying have been reported previously. The researchers produced ampicillin-loaded chitosan micro/nanoparticles with a particle diameter of 520 nm, prepared using 90 % acetic acid (v/v) and 2% chitosan (w/v) (Arya et al., 2008). The chitosan particles varied in size, reaching approximately 124 nm when 30% acetic acid (v/v), 10% chitosan (w/v), and 30% ethanol (v/v) were used (Zhang and Kawakami 2010).

A recent study aiming to find the smallest particle size for chitosan nanoparticles used different concentrations (0.1, 0.2, and 0.35% w/v) of high molecular weight chitosan and dissolved in 50% acetic acid and resulted in desirable nanoparticles with the particle size varied from 105 to 170 nm (Abyadeh et al., 2017). Although various studies are reporting electrospay chitosan nanoparticles

carrying several ingredients, there has been a lack of research addressing the development of electrospayed chitosan nanoparticles encapsulating thymol. The present study aims to develop a green, one-step method for encapsulating thymol in chitosan polymer via electrospaying technique and subsequently characterizing the developed CTNPs. The antioxidant and antimicrobial properties of the obtained nanoparticles will be assessed to determine their potential use for nutrition, food safety, and biomedical purposes.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Low molecular weight chitosan, thymol, and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, USA). Acetic acid, ethanol, and hydrochloric acid (%37) were supplied from Isolab (Wertheim, Germany).

Preparation of Electrospaying Solution

Electrospayed chitosan nanoparticles were obtained using the slightly modified method previously reported by Zhang and Kawakami (2010) and Gómez-Mascaraque et al. (2016). Briefly, 2.5 % (w/v) chitosan was dissolved in a 30 % acetic acid solution (v/v) and stirred overnight for complete dissolution. Thymol was dissolved in ethanol and added to the chitosan solutions at the concentrations of 0.25, 0.5, and 1 % (v/w), a sample without thymol used as control (Table 1), and final ethanol concentration in all chitosan formulations was 30 % (v/v).

Table 1. Electrospayed chitosan nanoparticles

Samples	Coded
Chitosan solution with 0.25 % (v/w) thymol	CH-TH1
Chitosan solution with 0.5 % (v/w) thymol	CH-TH2
Chitosan solution with 1 % (v/w) thymol	CH-TH3
Chitosan solution without thymol	CH-C

Electrospaying

The electrospaying process was achieved with electrospinning equipment (OptoSense, Tekno-TIP, Türkiye) containing a syringe pump and a

high-voltage power supply to spray a chitosan solution for spraying through the drum collector. Based on the serial preliminary experiments, electrospaying parameters were set as follows.

The applied voltage was 18 kV, the flow rate ranged from 0.2 to 0.3 ml/h, and the distance between the syringe and the collector was 12 cm.

Characterizations of Nanoparticles

Morphology and the structure of CTNPs were investigated by scanning electron microscopy (SEM) (Fei Quanta 250 Feg, USA). Samples were placed on conductive two-sided carbon tapes and coated with gold. Thermogravimetric analysis (TGA) and differential thermal analysis (DTA) was performed using a Simultaneous Thermal Analyzer (STA 600, Perkin Elmer). Thermograms of the nanoparticles were obtained in the 30-700 °C range using a heating rate of 10 °C min⁻¹ and nitrogen gas flow rate of 20 mL min⁻¹. Fourier transform infrared (FTIR) characterization of nanoparticles was carried out with a PerkinElmer Spectrum 400 FTIR spectrometer (Waltham, Massachusetts, USA). The spectrum was recorded within the wavenumber range from 500 to 4000 cm⁻¹ with a resolution of 4 cm⁻¹ at the scan of 64.

Encapsulation Efficiency (EE%) of Nanoparticles

The encapsulation efficiency of the CTNPs was determined according to the slightly modified previous method (Çakır et al., 2020; Zhao et al., 2023). Briefly, 20 mg CTNPs were dissolved in 5 ml of HCl solution (1 M) and heated at 75 °C for 30 min. followed 1 ml ethanol added in the mixture. The mixture was centrifuged at 4500 rpm for 10 min (Hettich, UNIVERSAL 320, Germany) to obtain the CTNPs supernatant, which was then used to determine the encapsulation efficiency. To achieve this, the amount of thymol in the CTNPs was estimated by using a calibration curve of pure thymol in HCl: Ethanol mixture at a wavelength of 275 nm with R² of 0.99 ($y=0.0016x-0.052$) via the Beer-Lambert law. The encapsulation efficiency (%) was calculated from Eqs(1) (Çakır et al., 2020; Pan et al., 2022; Zhao et al., 2023).

$$EE (\%) = \frac{\text{Weight of encapsulated Thmol}}{\text{Total concentration of Thymol}} \times 100 \quad \text{Eq(1)}$$

Antioxidant Activity of Nanoparticles

ABTS (2, 2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical-scavenging activity test was employed to measure the antioxidant capacity of the obtained CTNPs. Briefly, CTNP samples (0.1 to 0.6 mg) were dissolved in HCl solution (1 M) and heated at 75 °C for 30 min. This was followed by adding ethanol to the mixture, and pH was adjusted to the range of ABTS solution. After vortexing, the mixture was centrifuged at 4500 rpm for 10 min (Hettich, UNIVERSAL 320, Germany) to obtain CTNPs supernatant which was then used for antioxidant activity. This CTNP supernatant was used for antioxidant activity. The ABTS + solution was prepared by mixing 7 mM ABTS radical solution with 2.45 mM potassium persulfate (K₂S₂O₈) for 16 h in the dark (Re et al., 1999; Ojeda-Piedra et al., 2023). Absorbance was measured at 734 nm. ABTS scavenging activities were calculated using Eq(2).

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = \frac{(A \text{ Control} - A \text{ Sample})}{A \text{ Control}} \times 100 \quad \text{Eq(2)}$$

Antibacterial Activity of Nanoparticles

The antibacterial activity of CTNPs was tested against *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 using agar well-diffusion assay, described by da Rosa et al. (2015) with slight modifications. Freshly prepared microbial culture of each bacterial strain with a load of McFarland 0.5 (approximately 10⁸ CFU/mL) was spread on the Mueller-Hinton agar (MHA) (Oxoid, UK). The solution containing 100 µL of dissolved chitosan thymol-loaded powdered nanoparticles was added into the 8 mm diameter wells. Chitosan nanoparticles without thymol were used as a control. Petris dishes were incubated at 37 °C for 24 h. The antibacterial activity was performed using three replicates by measuring the diameter of the zone of inhibition (mm) around the wells.

Statistical Analysis

The statistical analysis of this research result was conducted using a one-way analysis of variance (ANOVA) using Tukey's comparison test using the Minitab 17 software version. A significance

level of $p < 0.05$ was used. The data were presented with mean \pm standard deviation.

RESULTS AND DISCUSSION

Characterizations of Nanoparticles

Scanning Electron Microscopy Analysis

SEM was utilized to examine the morphology of developed nanoparticles using the electrospray method. SEM images provide information about the morphology, structure, and size of the obtained nanoparticles. Figure 1 illustrates the chitosan electrosprayed nanoparticles with thymol that appeared as a sphere with granular structures and smoother surfaces, although less homogeneous in size. Thymol-free chitosan nanoparticles (CH-C) exhibited a spherical shape with an average diameter of 154.88 ± 106.44 nm. Diameters of the obtained CTNPs with thymol

content of 0.25, 0.5, and 1 % (v/w) were 121.26 ± 111.07 nm, 118.54 ± 76.87 nm, and 139.66 ± 94.69 nm, respectively. A recent study presented electrosprayed thymol-loaded alginate microparticles in spherical and ellipsoidal shape with an average particle diameter of $597 \mu\text{m}$ (Ahmady et al., 2023). As reported in the study of Gómez-Mascaraque et al. (2016) (-)-epigallocatechin gallate-loaded chitosan particles were not homogeneous in size. Our results are consistent with the findings of the relevant literature. Notably, the concentration of the chitosan and operating parameters significantly affected the particle shape, size, surface characteristics of particles, encapsulation efficiency, and the release of the active agent (Zhang and Kawakami, 2010; Gómez-Mascaraque et al., 2016; Abyadeh et al., 2017) .

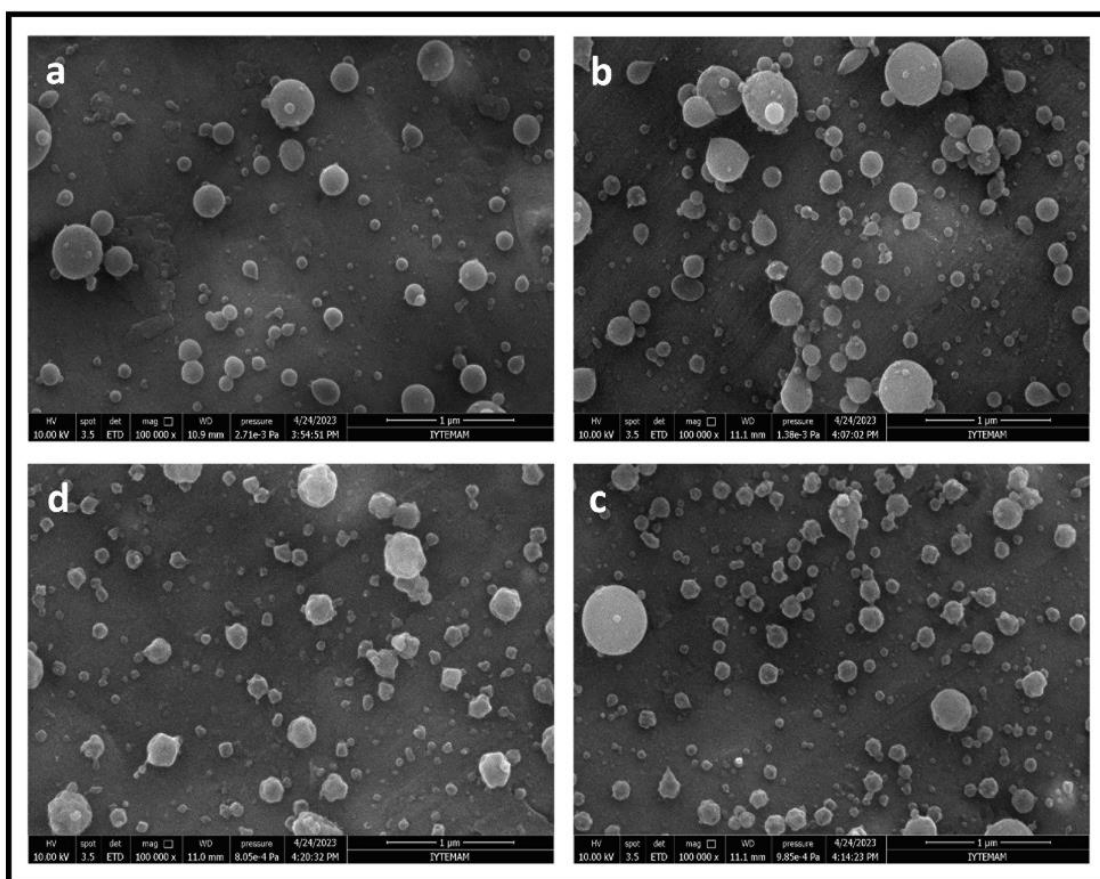


Figure 1. SEM images of (a) Thymol free chitosan nanoparticles (CH-C), thymol-loaded chitosan nanoparticles; (b) CH-TH1, (c) CH-TH2, (d) CH-TH3

Thermogravimetric Analysis (TGA)

TGA and DTA were used to determine the weight loss of CTNP samples based on temperature. TGA and DTA curves of different CTNPs, pure thymol, chitosan, and chitosan control samples, were shown in Fig.2. Pure chitosan (CH) had higher thermal stability than the electrospayed chitosan sample without thymol (CH-C). Electrospayed chitosan nanoparticles containing thymol (CH-TH1, CH-TH2, CH-TH3) exhibited a greater

decomposition temperature than chitosan samples. The thermal stability of thymol improved by encapsulating it in chitosan using the electrospaying method, as observed in the TGA/DTA analysis. TGA curves of the samples revealed the successful encapsulation of thymol into the electrospayed chitosan nanoparticles. These results are in agreement with the findings of the Wang et al. (2022) and Baldassarre et al. (2023).

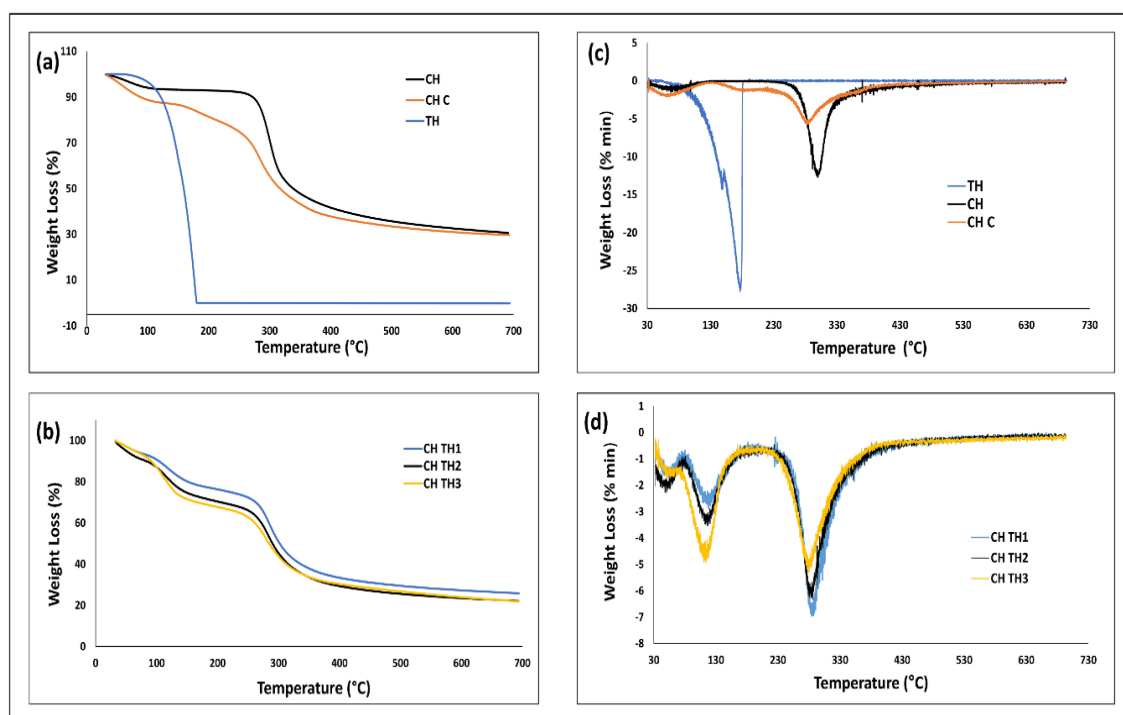


Figure 2. TGA (a) Thymol(TH) , pure chitosan(CH), chitosan nanoparticles(CH-C), (b) thymol-loaded chitosan nanoparticles(CH-TH1, CH-TH2, CH-TH3) and DTA thermograms of (c) thymol(TH), pure chitosan(CH), chitosan nanoparticles(CH-C), (d) thymol-loaded chitosan nanoparticles(CH-TH1, CH-TH2, CH-TH3)

The initial weight loss between 30 and 120 °C was the evaporation of the residual solvents, also known as the vaporization process (Zhu et al., 2024). Thymol is a volatile chemical, and pure thymol is evaporated and degraded before 200 °C (da Rosa et al., 2015; Baldassarre et al., 2023; Zhang et al., 2023). The second weight loss of approximately 30% was observed in the temperature range 225-400 °C (Fig.2) due to the thymol degradation (Xu et al., 2023) and breaking

of the molecular chain of chitosan (Gu et al., 2019; Wang et al., 2022).

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

The spectra of electrospayed thymol-loaded chitosan nanoparticles (CH-TH1, CH-TH2, CH-TH3), chitosan control nanoparticles (CH-C), pure thymol (TH) and chitosan powder (CH) are shown in Fig.3. These samples exhibited the characteristic FT-IR spectra of chitosan absorption bands at 3300 and 3400 cm^{-1} (O-H and N-H stretching), 3000 and 2800 cm^{-1} (C-H

stretching) (Sutharsan et al., 2023), 1638-1655 cm^{-1} amide I and 1542-1560 cm^{-1} (N-H bending from amide group), 1558 cm^{-1} amide II (N-H bending), 1405 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$ bending), 1378-1380 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$ symmetrical deformation), 1382 cm^{-1} amide III (C-N stretching), 1150-1040 cm^{-1} (C-O-C stretching) in glycosidic linkages and 1021-1024 cm^{-1} (skeletal vibration of C-O stretching) (Mucha and Pawlak, 2002; Lawrie et al., 2007; Songsurang et al., 2011; Leceta et al., 2013). The characteristic spectra of thymol existing in the 1250-1750 cm^{-1} region, peaks in this region attributed to the phenolic groups of thymol C=C stretching, -OH bending, and C-O stretching (Celebioglu et al.,

2018), peaks at 3080 cm^{-1} attributed to the phenolic hydroxyl, and peaks around 2800-3200 cm^{-1} represent the methyl absorption (Zhao et al., 2023). In the spectrum of the thymol, the phenol ring is responsible for the peaks within the range of 1621 and 1459 cm^{-1} (Milovanovic et al., 2016). All the electrosprayed CTNPs had the characteristic absorption peaks of chitosan and thymol (Fig. 3). FT-IR spectroscopy confirmed the interaction between the chitosan polymer and thymol. These findings revealed a successful encapsulation of thymol into chitosan electrosprayed nanoparticles.

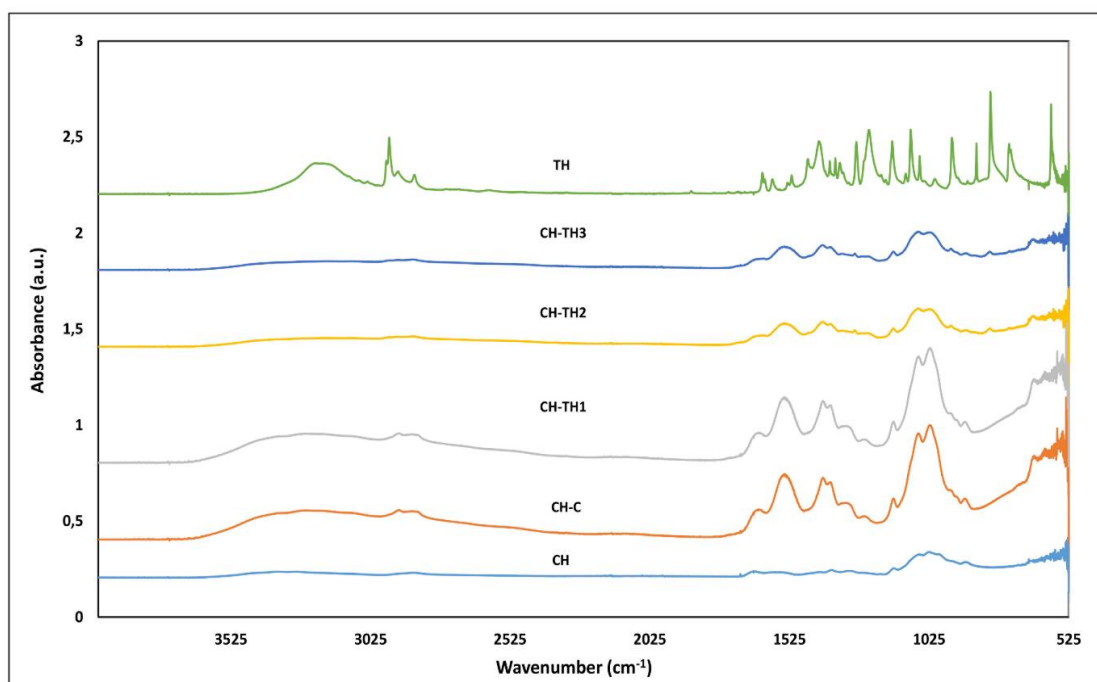


Figure 3. FTIR spectra of thymol (TH), pure chitosan (CH), chitosan nanoparticles (CH-C), and thymol-loaded chitosan nanoparticles (CH-TH1, CH-TH2, CH-TH3)

Encapsulation Efficiency of Thymol-Loaded Nanoparticles

The encapsulation efficiency (EE %) of electrosprayed thymol-loaded chitosan nanoparticles (CTNPs: CH-TH1, CH-TH2, CH-TH3) are shown in Table 2. The EE % of CTNPs ranged from 29.38 to 42.19%. These results are consistent with previous studies. As reported by Wattanasatcha et al. (2012), the loading capacity of thymol in ethylcellulose/methylcellulose

nanospheres was 43.53%. Similarly, the encapsulation efficiency was calculated at 41.92% for chitosan thymol nanoparticles produced using an ionic crosslinking approach (Zhao et al., 2023). The low encapsulation efficiency of thymol may be due to the volatile nature of the thymol, besides the presence of thymol on the outer layer of chitosan electrosprayed nanoparticles can cause the evaporation of the thymol (Liu et al. 2021). However, alginate thymol microparticles

produced by the electro spraying method achieved a high encapsulation efficiency of 88.9 % (Ahmady et al., 2023). Another study found that employing a coaxial electro spray technique within a core-shell of zein and shellac enhanced the encapsulation efficiency of thymol to 81.34%. Also, a higher concentration of thymol leads to a reduction in the homogeneity of particle size (Liu et al., 2021). Encapsulation efficiency is dependent on the physical interaction between thymol and the functional groups of the carrier polymer and the methodology used to produce nanoparticles (Sheorain et al., 2019; Niu et al. 2020; Wang et al., 2022; Ahmady et al., 2023).

Table 2. Encapsulation efficiency of electro sprayed thymol-loaded chitosan nanoparticles

CTNPs	Encapsulation Efficiency (%)
CH-TH1	29.38± 0.011 ^c
CH-TH2	41.58± 0.041 ^b
CH-TH3	42.19± 0.046 ^a

^{a,b,c}: Different letters in the same column show a statistically significant difference ($p < 0.05$). All values are means \pm SD, $n=3$

Antioxidant Activity of Nanoparticles

The results in Fig 4. illustrate the antioxidant activity of the CNTPs determined by ABTS method on the basis of the free radical scavenging activities.

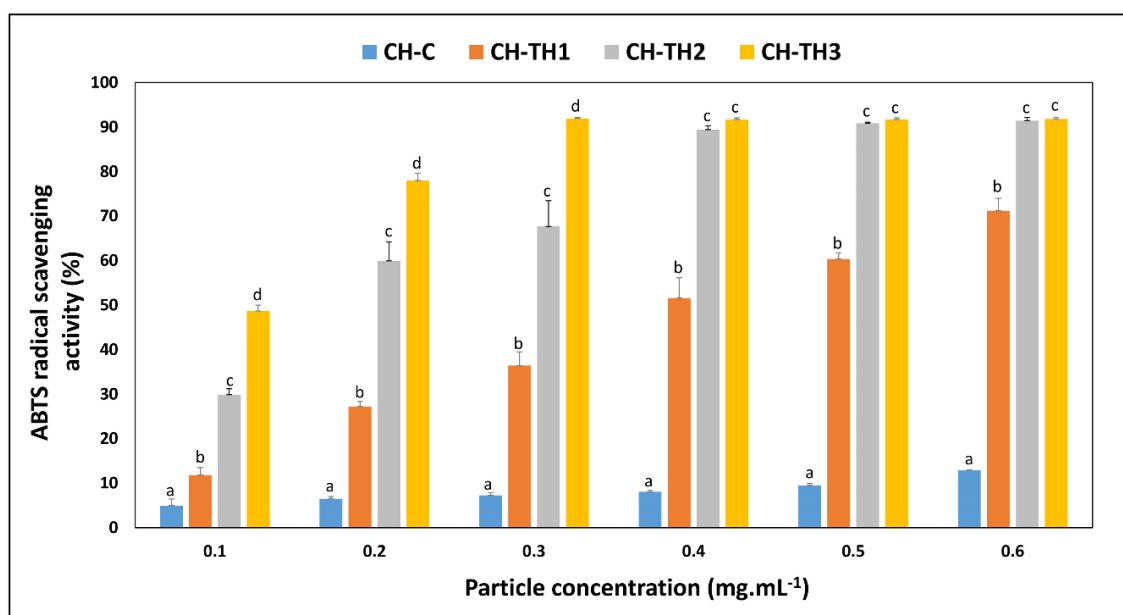


Figure 4. ABTS radical scavenging activity of chitosan nanoparticles (mg. mL^{-1})(CH-C) and thymol-loaded chitosan nanoparticles(CH-TH1, CH-TH2, CH-TH3)

The findings revealed that the CNTPs displayed a statistically significant antioxidant activity ($p < 0.05$) (Fig 4). As demonstrated by the ABTS experiment, the antioxidant activity of nanoparticles increased with an increasing thymol concentration. Thymol possesses antioxidant activity due to its phenolic structure (Sheorain et al., 2019). Also, as reported in the literature, low molecular weight chitosans (<3 kDa) have

antioxidant activity (Tomida et al., 2009). In the study of Sheorain et al. (2019), a DPPH assay was used to predict the radical scavenging activity of thymol-loaded tragacanth gum-chitosan nanoparticles, and antioxidant activity was increased with an increase in thymol content. In another study conducted by Echazú et al. (2017), radical scavenging activity determined by DPPH assay showed that chitosan hydrogels containing

1.25 and 2.5 mg/mL of thymol have antioxidant activity. In addition, in the polymeric delivery systems, thymol antioxidant capacity increased with different delivering systems, such as thymol emulsification with Quillaja Saponin (Doost et al., 2019) and thymol in Tween 80 micelles (Deng et al. 2016).

Antibacterial Activity of Nanoparticles

The antimicrobial efficacy of the electrosprayed nanoparticles against the tested microorganisms has been assessed by measuring the diameter of the inhibition zone (Table 3). The test showed that the loading of the thymol into the chitosan nanoparticles could maintain and improve its antibacterial activity. The antibacterial effectiveness was enhanced by increasing the concentration of thymol in the chitosan nanoparticles, with a statistically significant increase ($p < 0.05$). Previous studies have reported the antimicrobial activity of thymol in different delivery systems. In particular, chitosan thymol nanoparticles obtained by ionic crosslinking method exhibited higher antifungal activity against *B. cinerea* than non-encapsulated thymol

(Zhao et al., 2023). Additionally, thymol-loaded γ -cyclodextrin metal-organic framework inclusion complexes showed antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus* (Pan et al., 2022). Moreover, chitosan thymol nanoparticles produced through ionic gelation demonstrated antibacterial effects against *S. aureus*, *L. innocua*, and *S. typhimurium* (Medina et al., 2019). The study conducted by Wattanasatcha et al. (2012) found that thymol-encapsulated ethylcellulose/methylcellulose nanospheres displayed high antibacterial activity against *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*. In addition, caseinate-stabilized thymol nanosuspensions showed antibacterial activity against *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, and *S. typhimurium* (Zhou et al., 2021). Also, alginate thymol microparticles produced by the electrospraying method showed antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* (Ahmady et al., 2023). Apart from that, encapsulation systems developed with thymol are also effective in preserving food. Thymol-loaded nanoparticles improve the quality and extend the shelf life of chestnuts (Guo et al., 2022). Chitosan nanoemulsion encapsulated with thymol prolonged the shelf life of fresh pork (Liu and Liu, 2020).

Table 3. Antibacterial effect of electrosprayed chitosan nanoparticles and thymol-loaded chitosan nanoparticles on selected bacteria

Chitosan nanoparticles	Zone of growth inhibition (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
CH-C	-	-	-	-
CH-TH1	10.86±0.06 ^b	-	-	-
CH-TH2	11.00±0.10 ^b	13.68±0.11 ^b	11.63±0.14 ^b	10.74±0.20 ^b
CH-TH3	12.62±0.18 ^a	14.34±0.31 ^a	14.30±0.34 ^a	11.39±0.26 ^a
Gen(10 µg)	24.58±0.19	34.59±0.07	25.70±0.95	23.25±0.27

^{a,b}; Different letters in the same column show a statistically significant difference ($p < 0.05$). All values are means \pm SD, n=3, -: no inhibition zone.

CONCLUSION

In this study, thymol was successfully encapsulated within chitosan polymer, resulting in nanoparticles of nanoscale dimensions. Regarding the TGA/DTA analyses, chitosan nanoparticles effectively improved the thermal stability of thymol. The obtained CTNPs provide promising results with antioxidant and antimicrobial activity. SEM, FT-IR, and TGA analyses revealed

characteristic features of the generated nanoparticles, which can serve as critical knowledge during their application. CTNPs are obtained through a simple one-step procedure using the electrospray technique, providing a new strategy for encapsulating thymol-like volatile compounds. Additionally, CTNPs can be used as preservatives for food safety and nutritional purposes. This work has the potential for the

future use of thymol in food safety, nutrition, and medical field applications.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST

The author of this article declares no conflict of financial or personal interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank Izmir Institute of Technology Integrated Research Centers/Center for Material Research for SEM analysis and Bingöl University Central Laboratory Application and Research Center for characterization studies.

REFERENCES

- Abyadeh, M., Zarchi, A. A. K., Faramarzi, M. A., Amani, A. (2017). Evaluation of Factors Affecting Size and Size Distribution of Chitosan-Electrosprayed Nanoparticles. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology* 9(3): 126–32.
- Ahmady, A. R., Razmjooee, K., Nazar, V., Saber-Samandari, S. (2023). Alginate Carrier as a Controlled Thymol Delivery System: Effect of Particle Size. *Materials Chemistry and Physics*, 294: 126982. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2022.126982>
- Amaregouda, Y., Kamanna K., Kamath, A. (2023). Multifunctional Bionanocomposite Films Based on Chitosan/Polyvinyl Alcohol with ZnO NPs and Carissa Carandas Extract Anthocyanin for Smart Packaging Materials. *ACS Food Science and Technology* 3(9): 1411–22. <https://doi.org/10.1021/acscfoodscitech.3c00065>
- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras Caballero, A., Acosta, N. (2021). Chitosan: An Overview of its Properties and Applications. *Polymers*, 13(19), 3256. <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
- Arya, N., Chakraborty, S., Dube, N., Katti, D. S. (2008). Electrospraying: A Facile Technique for Synthesis of Chitosan-Based Micro/Nanospheres for Drug Delivery Applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 88B(1): 17–31. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31085>
- Arserim-Uçar, D. K. (2020). Nanocontainers for Food Safety. In: Smart Nanocontainers, Nguyen-Tri, P., Do, T., Nguyen, T. A. Elsevier, Netherlands, pp. 105-117. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816770-0.00007-1>
- Arserim-Uçar, D. K., Çabuk, B. (2020). Emerging Antibacterial and Antifungal Applications of Nanomaterials on Food Products. In Nanotoxicity, Rajendran, S., Nguyen, T. A., Shukla, R.K., Mukherjee, A., Godugu, C., Elsevier, Netherlands, pp. 415-453. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819943-5.00027-0>
- Arserim-Uçar, D. K. (2021). Electrosprayed Food Grade Particles for Food Safety Applications. *2nd International/ 12th National Food Engineering Congress*, 25-27 November, Ankara Türkiye, pp165-170.
- Arserim-Uçar, D. K. (2022). A Novel Approach to the Encapsulation of Thyme Essential Oil. Proceedings of the XIII International Scientific Agricultural Symposium "Agrosmy 2022". 06-09 October, Joharina, Bosnia and Herzegovina, pp 847-854.
- Aytac, Z., Ipek, S., Durgun, E., Tekinay, T., Uyar, T. (2017). Antibacterial Electrospun Zein Nanofibrous Web Encapsulating Thymol/Cyclodextrin-Inclusion Complex for Food Packaging. *Food Chemistry* 233: 117–24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.095>
- Baldassarre, F., Schiavi, D., Ciarroni, S., Tagliavento, V., De Stradis, A., Vergaro, V., Suranna, G. P., Balestra, G. M., Ciccarella, G. (2023). Thymol-Nanoparticles as Effective Biocides Against the Quarantine Pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nanomaterials*, 13(7), 1285. <https://doi.org/10.3390/nano13071285>
- Bazana, M. T., Codevilla, C. F., de Menezes, C. R. (2019). Nanoencapsulation of Bioactive Compounds: Challenges and Perspectives. *Current Opinion in Food Science*, 26, 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.005>
- Çakır, M. A., İcyer, N. C., Tornuk, F. (2020). Optimization of Production Parameters for Fabrication of Thymol-Loaded Chitosan Nanoparticles. *International Journal of Biological*

- Macromolecules* 151: 230–38. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.096>
- Celebioglu, A., Yildiz, Z. I., Uyar, T. (2018). Thymol/cyclodextrin Inclusion Complex Nanofibrous Webs: Enhanced Water Solubility, High Thermal Stability and Antioxidant Property of Thymol. *Food Research International*, 106, 280–290. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.062>
- Chakraborty, S., Liao, I. C., Adler, A., Leong, K. W. (2009). Electrohydrodynamics: A Facile Technique to Fabricate Drug Delivery Systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(12), 1043–1054. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.013>
- Cheng, H., Chen, W., Jiang, J., Khan, M. A., Wusigale, Liang, L. (2023). A Comprehensive Review of Protein-Based Carriers with Simple Structures for the Co-Encapsulation of Bioactive Agents. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(3), 2017–2042. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13139>
- Cohen, S. M., Eisenbrand, G., Fukushima, S., Gooderham, N. J., Guengerich, F. P., Hecht, S. S., Rietjens, I. M.C.M., Rosol, T. J., Davidsen, J. M., Harman, C. L., Lu, V., Taylor, S. V. (2021). FEMA GRAS Assessment of Natural Flavor Complexes: Origanum Oil, Thyme Oil and Related Phenol Derivative-Containing Flavoring Ingredients. *Food and Chemical Toxicology* 155: 112378. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112378>
- da Rosa, C. G., Maciel, M. V. O. B., de Carvalho, S. M., de Melo, A. P. Z., Jummes, B., da Silva, T., Martelli, S.M., Villeti, M.A., Bertoldi, F.C., Barreto, P.L.M. (2015). Characterization and Evaluation of Physicochemical and Antimicrobial Properties of zein Nanoparticles Loaded with Phenolics Monoterpenes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 481, 337–344. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.05.019>
- Deng, L. L., Taxipalati, M., Que, F., Zhang, H., 2016. Physical Characterization and Antioxidant Activity of Thymol Solubilized Tween 80 Micelles. *Scientific Reports* 6, 38160, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep38160>
- Doost, A. S., Van Camp, J., Dewettinck, K., Van der Meer, P. (2019). Production of Thymol Nanoemulsions Stabilized using Quillaja Saponin as a Biosurfactant: Antioxidant Activity Enhancement. *Food Chemistry*, 293, 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.090>
- Echazú, M. I. A., Olivetti, C. E., Anesini, C., Pérez, C. J., Alvarez, G. S., Desimone, M. F. (2017). Development and Evaluation of Thymol-chitosan Hydrogels with Antimicrobial-Antioxidant Activity for Oral Local Delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 81, 588–596. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.08.059>
- Escobar, A., Perez, M., Romanelli, G., Blustein, G. (2020). Thymol Bioactivity: A Review Focusing on Practical Applications. *Arabian Journal of Chemistry* 13: 9243–9269. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.009>
- Food and Drug Administration (FDA), (2024). <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=FoodSubstances&sort=Sortterm&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=thymol>
- Gao, Q., Bie, P., Tong, X., Zhang, B., Fu, X., Huang, Q. (2021). Complexation between High-Amylose Starch and Binary Aroma Compounds of Decanal and Thymol: Cooperativity or Competition? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 69: 1166–11675. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01585>
- Gómez-Mascaraque, L. G., Hernández-Rojas, M., Tarancón, P., Tenon, M., Feuillère, N., Ruiz, J. F. V., Fiszman, S., López-Rubio, A. (2017). Impact of Microencapsulation within Electrospayed Proteins on the Formulation of Green Tea Extract-Enriched Biscuits. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.041>
- Gómez-Mascaraque, L. G., Sanchez, G., López-Rubio, A. (2016). Impact of Molecular Weight on the Formation of Electrospayed Chitosan Microcapsules as Delivery Vehicles for Bioactive

- Compounds. *Carbohydrate Polymers*, 150: 121–130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.012>
- Gu, F., Geng, J., Li, M., Chang, J., Cui, Y. (2019) Synthesis of Chitosan-IgG-sulfonate Composite as an Adsorbent for Dyes and Metal Ions Removal from Wastewater. *ACS Omega* 4(25): 21421–21430. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03128>
- Guo, X., Chu, L., Gu, T., Purohit, S., Kou, L., Zhang, B. (2022). Long-Term Quality Retention and Decay Inhibition of Chestnut Using Thymol Loaded Chitosan Nanoparticle. *Food Chemistry* 374: 131781,1-8, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131781>
- Kumar, M. N.V.R., Muzzarelli, R. A. A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., Domb A. J. (2004). Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. *Chemical Reviews* 104(12): 6017–84. <https://doi.org/10.1021/cr030441b>
- Lawrie, G., Keen, I., Drew, B., Chandler-Temple, A., Rintoul, L., Fredericks, P., Grøndahl, L. (2007). Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*, 8(8), 2533–2541. <https://doi.org/10.1021/bm070014y>
- Leceta, I., Guerrero, P., de La Caba, K. (2013). Functional Properties of Chitosan-Based Films. *Carbohydrate Polymers* 93(1): 339–346. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.031>
- Li, J., Xu, X., Chen, Z., Wang, T., Lu, Z., Hu, W., Wang, L. (2018). Zein/gum Arabic Nanoparticle-Stabilized Pickering Emulsion with Thymol as an Antibacterial Delivery System. *Carbohydrate Polymers*, 200, 416-426. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.025>
- Liu, T., Liu L. (2020). Fabrication and Characterization of Chitosan Nanoemulsions Loading Thymol or Thyme Essential Oil for the Preservation of Refrigerated Pork. *International Journal of Biological Macromolecules* 162: 1509–1515. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.207>
- Liu, Y., Li, S., Li, H., Hossen, M. A., Sameen, D. E., Dai, J., Qin, W., Lee, K. (2021). Synthesis and Properties of Core-shell Thymol-loaded Zein/shellac Nanoparticles by Coaxial Electro spray as Edible Coatings. *Materials & Design*, 212, 110214. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.110214>
- Medina, E., Caroa, N., Abugocha, L., Gamboa, A., Díaz-Dosquec, M., Tapia, C. (2019). Chitosan Thymol Nanoparticles Improve the Antimicrobial Effect and the Water Vapour Barrier of Chitosan-Quinoa Protein Films. *Journal of Food Engineering* 240, 191–98. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.07.023>
- Milovanovic, S., Markovic, D., Aksentijevic, K., Stojanovic, D. B., Ivanovic, J., Zizovic, I. (2016). Application of Cellulose Acetate for Controlled Release of Thymol. *Carbohydrate Polymers*, 147, 344-353. [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Carbpol.2016.03.093](http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Carbpol.2016.03.093)
- Moraru, C., Mincea, M. M., Frandes, M., Timar, B., Ostafe, V. (2018). A Meta-Analysis on Randomised Controlled Clinical Trials Evaluating the Effect of the Dietary Supplement Chitosan on Weight Loss, Lipid Parameters and Blood Pressure. *Medicina*, 54(6),109, 1–15. <https://doi:10.3390/medicina54060109>
- Mourya, V. K., Inamdar, N. N. (2008). Chitosan-Modifications and Applications: Opportunities Galore. *Reactive & Functional Polymers* 68(6): 1013–51. <https://doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2008.03.002>
- Mucha, M., Pawlak, A. (2002). Complex Study on Chitosan Degradability. *Polimery*, 47(7-8), 509-516.
- Nandi, T., Khanna, M. (2022). Anti-Viral Activity of Thymol against Influenza A Virus. *EC Microbiology*, 18: 98–103.
- Niu, B., Shao, P., Luo, Y., Sun, P. (2020). Recent Advances of Electro sprayed Particles as Encapsulation Systems of Bioactives for Food Application. *Food Hydrocolloids*, 99, 105376. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105376>
- Ojeda-Piedra, S. A., Quintanar-Guerrero, D., Cornejo-Villegas, M. A., Zambrano-Zaragoza, M. L. (2023). A Green Method for Nanoencapsulation of Thymol in Chitosan-Gelatin with Antioxidant Capacity. *Food and*

- Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03240-9>
- Pan, K., Chen, H., Davidson, P. M., Zhong, Q. (2014). Thymol Nanoencapsulated by Sodium Caseinate: Physical and Antilisterial Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1649–1657. [dx.doi.org/10.1021/jf4055402](https://doi.org/10.1021/jf4055402)
- Pan, X., Junejo, S.A., Tan, C.P., Zhang, B., Fu, X., Huang, Q. (2022). Effect of Potassium Salts on the Structure of γ -Cyclodextrin MOF and the Encapsulation Properties with Thymol. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102, 6387–6396. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.12004>
- Pirbalouti, A. G., Hashemi, M., and Ghahfarokhi, F. T. (2013). Essential Oil and Chemical Compositions of Wild and Cultivated *Thymus Daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43-48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.004>
- Piri-Gharaghie, T., Beiranvand, S., Riahi, A., Shirin, N. J., Badmasti, F., Mirzaie, A., Elahianfar, Y., Ghahari, S., Ghahari, S., Pasban, K., Hajrasouliha, S. (2022). Fabrication and Characterization of Thymol-Loaded Chitosan Nanogels: Improved Antibacterial And Anti-Biofilm Activities with Negligible Cytotoxicity. *Chemistry & biodiversity*, 19(3), e202100426, <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100426>
- Qoorchi Moheb Seraj, F., Heravi-Faz, N., Soltani, A., Ahmadi, S. S., Shahbeiki, F., Talebpour, A., Afshari, A. R., Ferns, G. A., Bahrami, A. (2022). Thymol has Anticancer Effects in U-87 Human Malignant Glioblastoma Cells. *Molecular Biology Reports* 49(10): 9623–32. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07867-3>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. 51. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Sahani, S., Sharma, Y. C. (2021). Advancements in Applications of Nanotechnology in Global Food Industry. *Food Chemistry* 342: 128318,1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128318>
- Sepahvand, S., Amiri, S., Radi, M., Amiri, M. J. (2022). Effect of Thymol and Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) Incorporated with Thymol as Antimicrobial Agents in Sausage. *Sustainability*. 14,1973, 1-12. <https://doi.org/10.3390/su14041973>
- Sharma, K., Munjal, M., Sharma, R. K., Sharma, M. (2023). Thymol Encapsulated Chitosan-Aloe Vera Films for Antimicrobial Infection. *International Journal of Biological Macromolecules* 235, 123897. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123897>
- Sheorain, J., Mehra, M., Thakur, R., Grewal, S., Kumari, S. (2019). In Vitro Anti-Inflammatory and Antioxidant Potential of Thymol Loaded Bipolymeric (tragacanth gum/chitosan) Nanocarrier. *International Journal of Biological Macromolecules*. 125: 1069–1074. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.095>
- Saatkamp, R. H., Sanches, M. P., Gambin, J. P. D., Amaral, B. R., de Farias, N. S., Caon, T., Müller, C.M.O., Parize, A. L. (2023). Development of Thymol Nanoemulsions with Potential Application in Oral Infections. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 87, 104855. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104855>
- Songsurang, K., Praphairaksit, N., Siraleartmukul, K., Muangsin, N. (2011). Electrospray Fabrication of Doxorubicin-Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles for Delivery of Doxorubicin. *Archives of Pharmacal Research*, 34, 583-592. <https://doi.org/10.1007/s12272-011-0408-5>
- Sutharsan, J., Boyer, C. A., Zhao, J. (2023). Effect of Molecular Weight and Drying Temperature on the Physicochemical Properties of Chitosan Edible Film. *JSA Reports*, 3:387–396. <https://doi.org/10.1002/jsf2.142>
- Talesh, A. A., Amiri, S., Radi, M., Hosseinfarahi, M. (2024). Effect of Nanocomposite Alginate-Based Edible Coatings Containing Thymol-Nanoemulsion and/or Thymol-Loaded Nanostructured Lipid Carriers on the Microbial

- and Physicochemical Properties of Carrot. *International Journal of Biological Macromolecules*: 129196. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.129196>
- Tomida, H., Fujii, T., Furutani, N., Michihara, A., Yasufuku, T., Akasaki, K., Maruyama, T., Otagiri, M., Gebicki, J. M., Anraku, M. (2009). Antioxidant Properties of Some Different Molecular Weight Chitosans. *Carbohydrate Research*, 344(13), 1690-1696. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.05.006>
- Viacava, G. E., Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Ansorena, M. R. (2018). Effect of Free and Microencapsulated Thyme Essential Oil on Quality Attributes of Minimally Processed Lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 145, 125-133. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.004>
- Wang, W., Meng, Q., Li, Q., Liu, J., Zhou, M., Jin, Z., Zhao, K. (2020). Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 487,1-26. <https://doi.org/10.3390/ijms21020487>
- Wang, X., Hu, Y., Zhang, Z., Zhang, B. (2022). The Application of Thymol-Loaded Chitosan Nanoparticles to Control the Biodeterioration of Cultural Heritage Sites. *Journal of Cultural Heritage* 53: 206–11. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2021.12.002>
- Wattanasatcha, A., Rengpipat, S., Wanichwecharungruang, S. (2012). Thymol Nanospheres as an Effective Anti-Bacterial Agent. *International Journal of Pharmaceutics* 434, 360–365. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.017>
- Xu, Y., Chen, L., Zhang, Y., Huang, Y., Cao, J., Jiang, W. (2023). Antimicrobial and Controlled Release Properties of Nanocomposite Film Containing Thymol and Carvacrol Loaded UiO-66-NH₂ for Active Food Packaging. *Food Chemistry*, 404, Part A, 134427,1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134427>
- Zabihi, M., Shafaei, M., Ramezani, V., Dara, T., Mirzaie, F. (2023). Preparation of Thymol Nanoliposome and Solid Lipid Nanoparticle and Evaluation of Their Inhibitory Effects on *Leishmania Major* Promastigotes. *Advances in Pharmacology and Therapeutics Journal*, 3(1): 49–60. <https://doi.org/10.18502/aptj.v3i1.12501>
- Zhang, S., Kawakami, K. (2010). One-Step Preparation of Chitosan Solid Nanoparticles by Electrospray Deposition. *International Journal of Pharmaceutics* 397(1–2): 211–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.07.007>
- Zhang, Y., Tan, Y., OuYang, Q., Duan, B., Wang, Z., Meng, K., Tan, X., Tao, N. (2023). γ -Cyclodextrin Encapsulated Thymol for Citrus Preservation and Its Possible Mechanism against *Penicillium Digitatum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 194: 105501,1-11. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105501>
- Zhao, X., Zhang, Y., Chen, L., Ma, Z., Zhang, B. (2023). Chitosan-Thymol Nanoparticle with pH Responsiveness as a Potential Intelligent Botanical Fungicide Against *Botrytis cinerea*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 195: 105571. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105571>
- Zhou, J., Kong, L. (2023). Encapsulation and Retention Profile of Thymol in the Preformed “empty” V-type Starch Inclusion Complex. *Food Frontiers*, 4, 902-910. <https://doi.org/10.1002/fft2.222>
- Zhou, W., Zhang, Y., Li, R., Peng, S., Ruan, R., Li, J., Liu, W. (2021). Fabrication of Caseinate Stabilized Thymol Nanosuspensions via the pH-Driven Method: Enhancement in Water Solubility of Thymol. (2021). *Foods*, 10(5),1074,1-13. <https://doi.org/10.3390/foods10051074>
- Zhu, Z., Yu, M., Ren, R., Wang, H., Kong, B. (2024). Thymol Incorporation within Chitosan/Polyethylene Oxide Nanofibers by Concurrent Coaxial Electrospinning and in-Situ Crosslinking from Core-out for Active Antibacterial Packaging. *Carbohydrate Polymers* 323: 121381. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121381>

FARKLI ÇÖZÜCÜ VE ULTRASONİKASYON UYGULAMALARININ MAYA HÜCRELERİ İLE B-KAROTEN ENKAPSÜLASYONUNDA ETKİSİ

İnci CERİT*, Rabia GÜNEŞ, Goncagül ÇELİK

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

Geliş/Received: 05.09.2024; Kabul /Accepted: 19.11.2024; Online baskı /Published online: 25.11.2024

Cerit, İ., Güneş, R., Çelik, G. (2024). Farklı çözücü ve ultrasonikasyon uygulamalarının maya hücreleri ile β -karoten enkapsülasyonunda etkisi. GIDA (2024) 49 (6) 1162-1174 doi: 10.15237/gida.GD24091

Cerit, İ., Güneş, R., Çelik, G. (2024). The effect of different solvents and ultrasonication applications on β -carotene encapsulation with yeast cells. GIDA (2024) 49 (6) 1162-1174 doi: 10.15237/gida.GD24091

ÖZ

Karotenoid grubunun üyesi olan β -karoten, içerdiği çift bağlardan dolayı ışık, ısı ve oksijen gibi etmenlerin varlığında kolaylıkla bozulabilen bir moleküldür. β -karotenin bu çevresel faktörlerden korunması amacıyla maya hücreleri (*Saccharomyces cerevisiae*) ile enkapsüle edilmesi bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Ayrıca, farklı çözücü (etil alkol ve etil asetat) ve ultrasonikasyon (5, 10, 20, 30 dk) uygulamalarının kapsülleme verimi üzerine etkisinin belirlenmesi çalışmanın diğer amaçlarıdır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, en yüksek verim etil asetatın çözücü olarak kullanıldığı kapsüllerde (151.97 $\mu\text{g/g}$ maya) elde edilirken ultrasonikasyon uygulaması ile verimin azaldığı tespit edilmiştir. Etil alkol kullanılan kapsüllerde verim 34.86 $\mu\text{g/g}$ maya olarak belirlenmiş, 30 dk ultrasonikasyon ile 58.35 $\mu\text{g/g}$ 'a ulaşmıştır. Enkapsülasyon sonrası β -karotenin yapısında bir değişiklik olmadığı HPLC spektrumu ile doğrulanmıştır. FT-IR spektrumu ve SEM analizi görüntülerinde mikrokapsüller arasında fark görülmemiş ancak ultrasonikasyon işleminin maya çeperine zarar verdiği belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, düşük maliyeti ve güvenilirliği ile dikkat çeken maya hücreleri, β -karotenin kapsüllemesinde potansiyel taşıyan özellikler sunmuştur.

Anahtar kelimeler: Enkapsülasyon, maya, β -karoten, ultrasonikasyon

THE EFFECT OF DIFFERENT SOLVENTS AND ULTRASONICATION APPLICATIONS ON B-CAROTENE ENCAPSULATION WITH YEAST CELLS

ABSTRACT

β -carotene, a member of the carotenoid group, is a molecule that can be easily degraded in the presence of factors such as light, heat and oxygen due to the double bonds it contains. This study aimed to encapsulate β -carotene with yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) to protect it from these environmental factors. Moreover, the effects of different solvents (ethyl alcohol, ethyl acetate) and ultrasonication durations (5–30 minutes) on encapsulation efficiency were evaluated. The highest yield (151.97 $\mu\text{g/g}$ yeast) was achieved using ethyl acetate, while ultrasonication reduced efficiency. With ethyl alcohol, yield was 34.86 $\mu\text{g/g}$ yeast, increasing to 58.35 $\mu\text{g/g}$ after 30 minutes of ultrasonication. HPLC confirmed no structural changes in β -carotene after encapsulation. FT-IR spectra and SEM analysis showed no significant differences between microcapsules, although

* Sorumlu yazar /corresponding author:

✉:incicantik@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5847

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

Rabia Güneş; ORCID no: 0009-0009-3568-6376

Goncagül Çelik; ORCID no: 0009-0005-6841-3957

ultrasonication damaged yeast cell walls. These findings suggest that yeast cells, due to their low cost and safety, are a promising option for β -carotene encapsulation

Keywords: Encapsulation, yeast, β -carotene, ultrasonication

GİRİŞ

Karotenoidler, insan ve hayvanlar tarafından sentezlenmeyen ancak bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından üretilen hidrofobik bileşiklerdir (Mussagy vd., 2019). Yapısında karbon atomu bulunduyorsa karoten, oksijen atomu bulunduyorsa ksantofil olarak adlandırılmaktadır (Maslova vd., 2021). Karotenoidlerin doğada 1000'den fazla bileşiği bulunduğu bilinmektedir. Bu bileşiklerin büyük kısmını α -karoten, β -karoten, likopen, lutein ve zeaksantin oluşturur (Fernandes vd., 2018). β -karoten, karotenoidlerin doğada en yaygın bulunan pigmentidir. β -karotenin diğer karotenoidlerden farklı olmasının nedeni, zincir yapısının her iki ucunda da β -iyonon halkasının bulunmasıdır. β -karoten, suda çözünmezken yağda ise az çözünmektedir (Gul vd., 2015). Sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan bitkilere rengini veren kırmızı-turuncu renk pigmentidir. Tatlı patates, kırmızıbiber, balkabağı, ıspanak, marul gibi sebzeler ile kayısı ve mango gibi meyvelerde oldukça fazla bulunmaktadır (Durante vd., 2014; Sing ve Sambyal, 2022). İnsanlar, β -karoteni meyve ve sebzeler yoluyla vücuda almaktadır ve alınan β -karoten zamanla A vitamini dönüşmektedir (Wang vd., 2022). Karotenoid çeşitleri arasında β -karotenin en yüksek provitamin A aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca, sahip olduğu antioksidan özelliği ile birlikte bazı kanser türleri ve kalp hastalıklarını önlemede etkili olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmektedir (Chen vd., 2021). Margarin, fırıncılık yağları ve içeceklerde doğal renk verici madde olarak kullanımı oldukça yaygın olmakla birlikte içerdiği çift bağlardan dolayı ışık, ısı ve oksijen gibi etmenlerin varlığında çok kolay bozulabildiğinden β -karotenin gıda endüstrisinde uygulamaları sınırlıdır (Bilek ve Özkan, 2012). Bu sebepten dolayı, β -karoten biyoaktivitesinde değişim olmaması için enkapsülasyon gibi teknolojik bir süreç uygulanabilmektedir.

Enkapsülasyon; katı, sıvı veya gaz halindeki bileşiklerin bir taşıyıcı materyal ile koruma altına alınması şeklinde tanımlanmaktadır. Koruma

altına alınacak bileşik aktif bileşen olarak isimlendirilirken esas amaç bu bileşiğin korunması ve kontrollü salınımının gerçekleştirilebilmesidir. İşlem sırasında uygulanacak teknik ve kullanılacak malzeme, enkapsülasyon işleminde önem taşımaktadır (Aydın ve Ünlüel, 2021). Amaçlanan fonksiyonel özelliğin kazandırılması için kapsül oluşumunda püskürterek kurutma, dondurarak kurutma, koaservasyon ve akışkan yatak kaplaması gibi yöntemler kullanılmaktadır (Ayyaril vd., 2023). Bu yöntemler arasında ısıya duyarlı maddelerin enkapsülasyonunda dondurarak kurutma ön plana çıkmaktadır. Enkapsülasyon işleminde önemli parametrelerden bir diğeri taşıyıcı materyalin seçimidir. Kullanılacak materyal toksik olmamalı, gıda matrisine uygun olmalı ve aktif bileşeni koruyucu özelliğe sahip olmalıdır (Ozkan vd., 2019). Maltodekstrin, gum arabik gibi polisakkaritler, peynir altı suyu, kazein ve jelatin gibi proteinler en çok kullanılan kaplama maddeleridir (Jia vd., 2016; Sarabandi vd., 2019). Bahsi geçen kaplama materyallerine ek olarak son yıllarda maya hücrelerinin de taşıyıcı olarak kullanılması ön plana çıkmaktadır. Maya hücrelerinin kaplama materyali olarak kullanıldığı enkapsülasyon işleminin maliyeti oldukça düşüktür ve prosesi basittir. Maya hücreleri etkin salınım ve hücrenin içine geçiş sağlamasından dolayı hidrofilik ve hidrofobik karaktere sahip moleküllerin enkapsülasyonunda kullanılabileceği bilinmektedir (Dadkhodazade, 2018; Nguyen vd., 2018; Rubio vd., 2022).

Mikrokapsülasyon sırasında seçilecek yöntem ve kaplama materyali dışında verimi arttırmak için ultrasonikasyon işlemi de uygulanabilmektedir (de Andrade vd., 2022; Rubio vd., 2022). Ultrasonikasyonun yarattığı kaviteasyon ve mikroskobik türbülans maya yüzeyine çarpmakta, gözenek oluşturmakta ve daha fazla bağlanma yerinin ortaya çıkarılmasını sağlayarak adsorpsiyonu kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, ultrasonikasyon tekniği membranda geçici delikler oluşturarak hücre zarı geçirgenliğini arttırmak ve moleküllerin hücre içine geçişini sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır (Pham-Hoang vd.,

2018). Bu çalışmada, farklı sürelerde ultrasonikasyon uygulanmış maya hücreleri ile ticari β -karotenin enkapsüle edilmesi hedeflenmiştir. Ek olarak, farklı çözücü kullanımının enkapsülasyon verimi üzerine etkisi de incelenmiştir. Enkapsülasyon işlemi uygulanmasının ardından mikrokapsüllerdeki β -karotenin HPLC-Diot Dizisi Dedektörü (DAD) ile tespit edilmesi ve yapısal özelliklerinin belirlenmesi çalışmanın diğer amaçlarını oluşturmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, Sakarya'da yerel bir marketten satın alınan ekmek mayası, *Saccharomyces cerevisiae*, (Dr. Oetker, Almanya) kullanılmıştır. β -karoten kaynağı olarak ise 7 mg kapsül (Solgar, ABD) temin edilmiştir. Yağda çözülmüş β -karoten, kapsüllerden kayıpsız çıkarılmış ve enkapsülasyon işleminde kullanılmıştır.

Enkapsülasyon için kullanılan maya, öncelikle fosfat tamponu ile yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Bunun için 50 g maya alınarak 500 ml fosfat tamponu (pH 6.8) ile manyetik karıştırıcıda homojen şekilde dağılına kadar 30-40 dk karıştırılmıştır. Falkon deney tüplerine eşit şekilde bölüştürülmüş ve 10 dk santrifüj (15°C, 9000 rpm) uygulanmıştır. Çöken maya tampondan ayrılmış ve saf su ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi tamamlanmış olan mayalar cam petri kaplarına alınarak dondurarak kurutulmuştur (Dadkhodazade vd., 2018). Kurutma işlemi için liyofilizatör (Labconco, ABD) -50°C'de 48 saat çalıştırılmıştır. Liyofilizatörden alınan kurutulmuş mayalar havan yardımı ile öğütülmüş ve 40 mesh boyutunda elekten geçirilerek homojen toz maya elde edilmiştir.

Ultrasonikasyon işlemi

Bu çalışmanın amacı hem ultrasonikasyon hem de farklı çözücü kullanımının mayaların β -karoten yükleme kapasitesi üzerine etkilerini belirlemektir. Bu amaçla, 1 g maya 10 mL su ile oda sıcaklığında 10 dakika karıştırılmış ve sonrasında ultrasonikasyon işlemi uygulanmıştır. Çalışmada, farklı sürelerde ultrasonikasyon işlemi

uygulanmasının etkisi belirlendiğinden her bir süre parametresi (5, 10, 20, 30 dk) için ayrı maya çözeltisi hazırlanmıştır. Prob, maya çözeltisinin yüzeyinden 1.5 cm derinliğinde daldırılmıştır. Ultrasonikasyon işlemi $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve 120 W sabit güçte gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığı sabit tutmak için maya çözeltisi karışımı bir behere konulmuş ve beher buz banyosuna yerleştirilmiştir. Kullanılan ultrasonik cihaz (Bandelin HD2200, Almanya) 200 W, 24 kHz gücünde olup 4.5 mm çapında ve 130 mm uzunluğunda TS 104 proba sahiptir.

Enkapsülasyon İşlemi

Enkapsülasyon işlemi için Pham-Hoang vd. (2018) kullandığı yöntem modifiye edilmiştir. Öncelikle, her bir tüpe 7 mg β -karoten ve 2 ml çözücü (etil asetat veya etil alkol) ilave edilmiş ve vorteks işlemi uygulanmıştır. Maya çözeltileri 10 mL alınarak β -karoten çözeltisine eklenmiş ve 2 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra 150 rpm, 27°C'de 3 saat çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. Çalkalamalı inkübatörden alınan örnekler saf su ile 5 kez yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işlemi tamamlanmış olan mayalar cam petri kaplarına alınarak dondurarak kurutulmuş ve enkapsülasyon işlemi tamamlanmıştır. Çalışmada elde edilen mikrokapsüller ve kodları Çizelge 1'de verilmiştir.

HPLC ile β -karoten miktarının belirlenmesi

Maya mikrokapsüllerindeki β -karoten miktarını belirlemek için 0.1 g maya örneği tartılmış ve üzerine 1 ml etil asetat ilave edilmiştir. 2 dk vortekslelendikten sonra 15 dk boyunca ultrasonik su banyosunda bekletilmiştir. Üst faz santrifüjleme işlemi ile ayrılmış ve geriye kalan alt faza 1 ml etil asetat ilave edilerek aynı işlemler tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar toplanarak bir şırınga yardımıyla 0.45 mikron filtreden geçirilip süzülerek şişelere aktarılmış ve HPLC cihazına enjekte edilmiştir (Xu vd., 2021). Dolgu maddesinin çapı 3 μm , iç çapı 4.6 mm ve uzunluğu 150 mm olan kolon (GL Sciences Inertsil ODS-3, Japonya) kullanılmıştır. Örneklerin karotenoid içeriklerini belirlemede kullanılan HPLC sistemi (Hitachi, Japonya) L-2130 pompa, L-2300 fırın, L-2200 otomatik örnekleme sistemi ve L-2455 PDA (Photo Diode Array) dedektör içermektedir.

Dedektörün dalga boyu 450 nm olarak ayarlanmıştır. Kullanılan mobil faz metanol: tetrahidrofuran (95:5) izokratik çözeltilisidir ve akış hızı 1 ml/dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Analizler 450 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir (Cerit vd., 2023). Kalibrasyon

eğrileri için 0-25 mg/L standart β-karoten (saflık>0.98), (Sigma, ABD) çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir ($R^2=0.9938$). Her bir örnek ikişer defa analiz edilmiş ve ortalama değerler kullanılmıştır.

Çizelge 1. Örnek grupları ve kodları

Table 1. Sample groups and codes

Örnek Kodu <i>Sample code</i>	Örnek Grubu <i>Sample groups</i>
AL-0 <i>AL-0</i>	Ultrasonikasyon: 0 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 0 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-5 <i>AL-5</i>	Ultrasonikasyon: 5 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 5 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-10 <i>AL-10</i>	Ultrasonikasyon: 10 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 10 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-20 <i>AL-20</i>	Ultrasonikasyon: 20 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 20 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-30 <i>AL-30</i>	Ultrasonikasyon: 30 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 30 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AS-0 <i>AC-0</i>	Ultrasonikasyon: 0 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 0 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-5 <i>AC-5</i>	Ultrasonikasyon: 5 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 5 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-10 <i>AC-10</i>	Ultrasonikasyon: 10 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 10 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-20 <i>AC-20</i>	Ultrasonikasyon: 20 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 20 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-30 <i>AC-30</i>	Ultrasonikasyon: 30 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 30 min, Solvent: Ethyl acetate</i>

Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ile yapısal karakterizasyon

Hem mikrokapsüllerin hem de boş maya hücrelerinin mikro yapısını incelemek için taramalı elektron mikroskop sistemi (Tescan Vega II, Çek Cumhuriyeti) kullanılmıştır. Mayalar iletken bir tabaka (Au/Pd) ile kaplanmış ve vakum altında kurutulduktan sonra görüntüleme işlemi yapılmıştır. Örnekler 2500x ve 5000x büyütme oranlarıyla analiz edilmiştir (Fu vd., 2021).

Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ile konformasyonel karakterizasyon

Hem boş hem de yüklü maya hücrelerinin yapılarındaki değişikliklerin incelenmesi için Perkin Elmer Spectrum Two Model (ABD) cihazıyla 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında

spektrumlar elde edilmiştir. Veriler Spectrum Software aracılığı ile analiz edilmiştir (Cerit vd., 2024).

İstatistiksel analiz

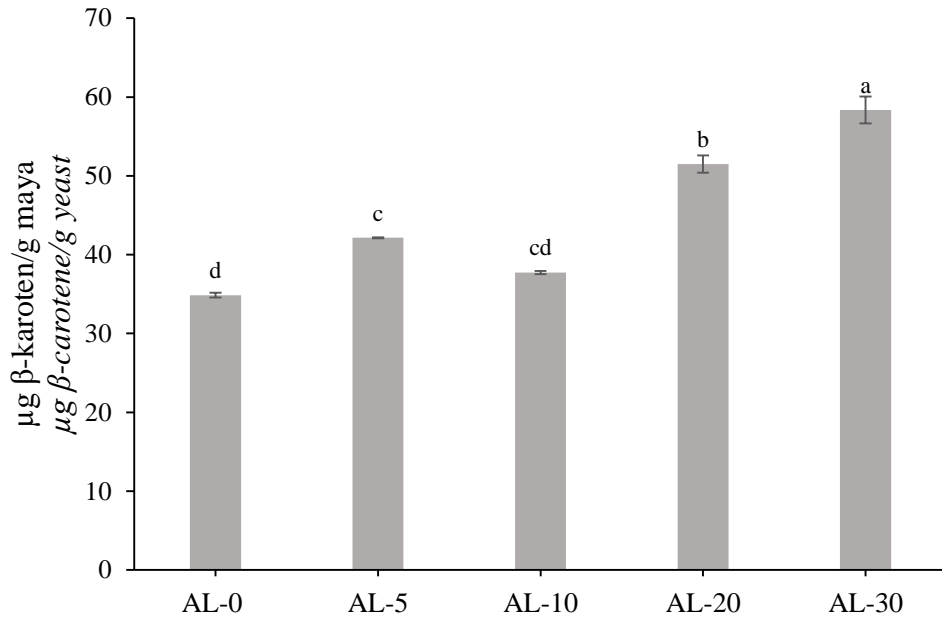
Kapsüllerin β-karoten içeriğine ait veriler, SPSS (versiyon 11.5, SPSS Inc., ABD) kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Örnekler arasındaki farklılıkları belirlemek için Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır ($P<0.05$).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, maya hücreleri ile β-karoten enkapsülasyonunda farklı çözücülerin ve ultrasonikasyon işleminin verime etkisi incelenmiştir. Çözücü olarak etil asetat ve etil alkol

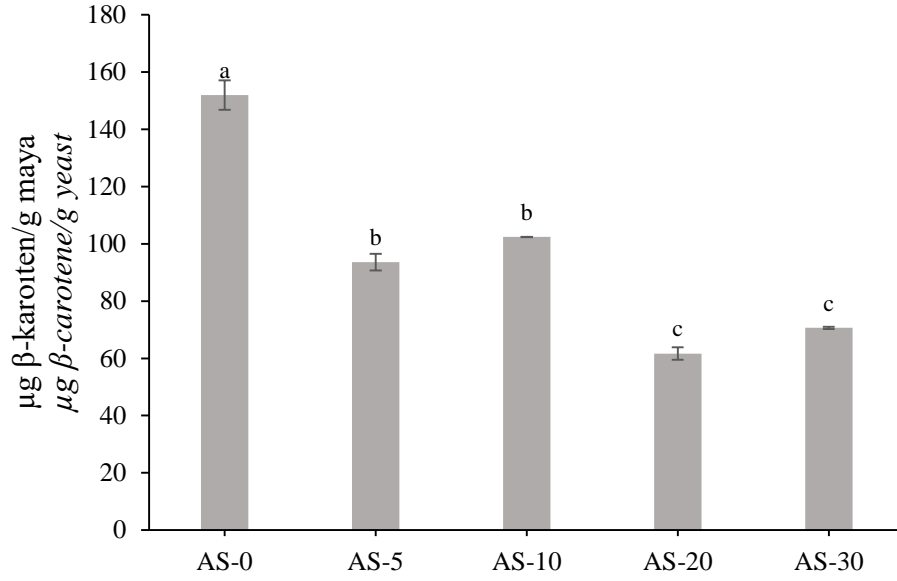
kullanılan maya kapsüllerinin β -karoten konsantrasyonları HPLC ile analiz edilmiş ve veriler Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çözücü olarak etil asetat kullanıldığında β -karoten miktarı 151.97 $\mu\text{g/g}$ maya olurken etil alkol grubunda 34.86 $\mu\text{g/g}$ maya olarak tespit edilmiştir. Etil asetatın yükleme kapasitesini etil alkole göre 4 kattan fazla arttırdığı belirlenmiştir. Etil asetat, higroskopik olmayan ve yüksek karoten çözünürlüğüne sahip bir bileşik iken etil alkol, hücrelere zarar veren fakat karoten çözünürlüğü zayıf olan bir çözücü olarak bilinmektedir (Williams, 2006; Hladnik vd., 2024). Pham-Hong vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *Yarrowia lipolytica* hücrelerinde karotenin kapsüllenme etkinliğini arttırmak için farklı çözücüler kullanılmıştır. Benzer olarak etil alkol kullanımının verimi arttırmadığı ancak kloroformun hem hücre duvarına zarar vererek

karoten girişini kolaylaştırdığı hem de karoteni tamamen çözerek agregasyonu önlediği bildirilmiştir. Bahsi geçen çalışmada enkapsülasyon veriminin kloroform kullanımı sonucunda 220 $\mu\text{g/g}$ yaş maya olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada kabak kabuk kısmından elde edilen karotenoid ekstraktı, gum arabik ile karıştırılmış ve Ultra-Turrax (UT) ve Ultra-Turrax ile yüksek basınçlı bir arada kullanımı (UTHP) yoluyla üretilen emülsiyonlar püskürtülerek kurutulmuştur. Parçacıkların karotenoid konsantrasyonları, UT ve UTHP yoluyla üretilen örnekler için sırasıyla 159.1 ile 304.6 $\mu\text{g/g}$ ve 104.3 ile 346.2 $\mu\text{g/g}$ arasında değiştiği rapor edilmiştir (Lima vd., 2021). Bu sonuçlar, çalışmamızdaki verim değerleri ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 1. Etil alkol kullanılan kapsüllerin β -karoten içerikleri. Farklı harflerle gösterilen değerler, gruplar arasında önemli fark olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Figure 1. β -carotene contents of capsules using ethyl alcohol. Values represented by different letters indicate a significant difference between the groups ($P<0.05$).



Şekil 2. Etil asetat kullanılan kapsüllerin β-karoten içerikleri. Farklı harflerle gösterilen değerler, gruplar arasında önemli fark olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Figure 2. β-carotene contents of capsules using ethyl acetate. Values represented by different letters indicate a significant difference between the groups ($P<0.05$).

Ultrasonikasyon işleminin etkisini belirlemek için hazırlanan maya çözeltileri, enkapsülasyon işlemi öncesinde, 0, 5, 10, 20 ve 30 dk sabit sıcaklıkta (20°C) ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında ise enkapsülasyon işlemi aynı prosedürle gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarından elde edilen grafikler Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. Sonuçlar, çözücü olarak etil asetat kullanımıyla yükleme kapasitesinin anlamlı düzeyde arttığını, ancak ultrasonikasyon uygulaması sonrası verimde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğunu ($P<0.05$) göstermiştir. Çözücü olarak etil alkol kullanılan örneklerde, kontrol grubundaki yükleme kapasitesi değeri 34.86 µg/g iken ultrasonikasyon uygulaması ile bu değer 58.35 µg/g'a anlamlı şekilde yükseldiği gözlenmiştir ($P<0.05$). Lieu vd. (2020) çalışmalarında, *Hibiscus sabdariffa* L. bitkisinden antosiyanin ekstraksiyonu yapmış ve daha sonra maya hücreleri ile enkapsülasyon gerçekleştirmiştir. Enkapsülasyon işleminde etil alkol ve ultrasonikasyon kullanımının etkilerini hem ayrı ayrı hem de kombine olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, maya hücrelerine sadece ultrasonikasyon uygulandığında bir değişiklik tespit edilmezken bu

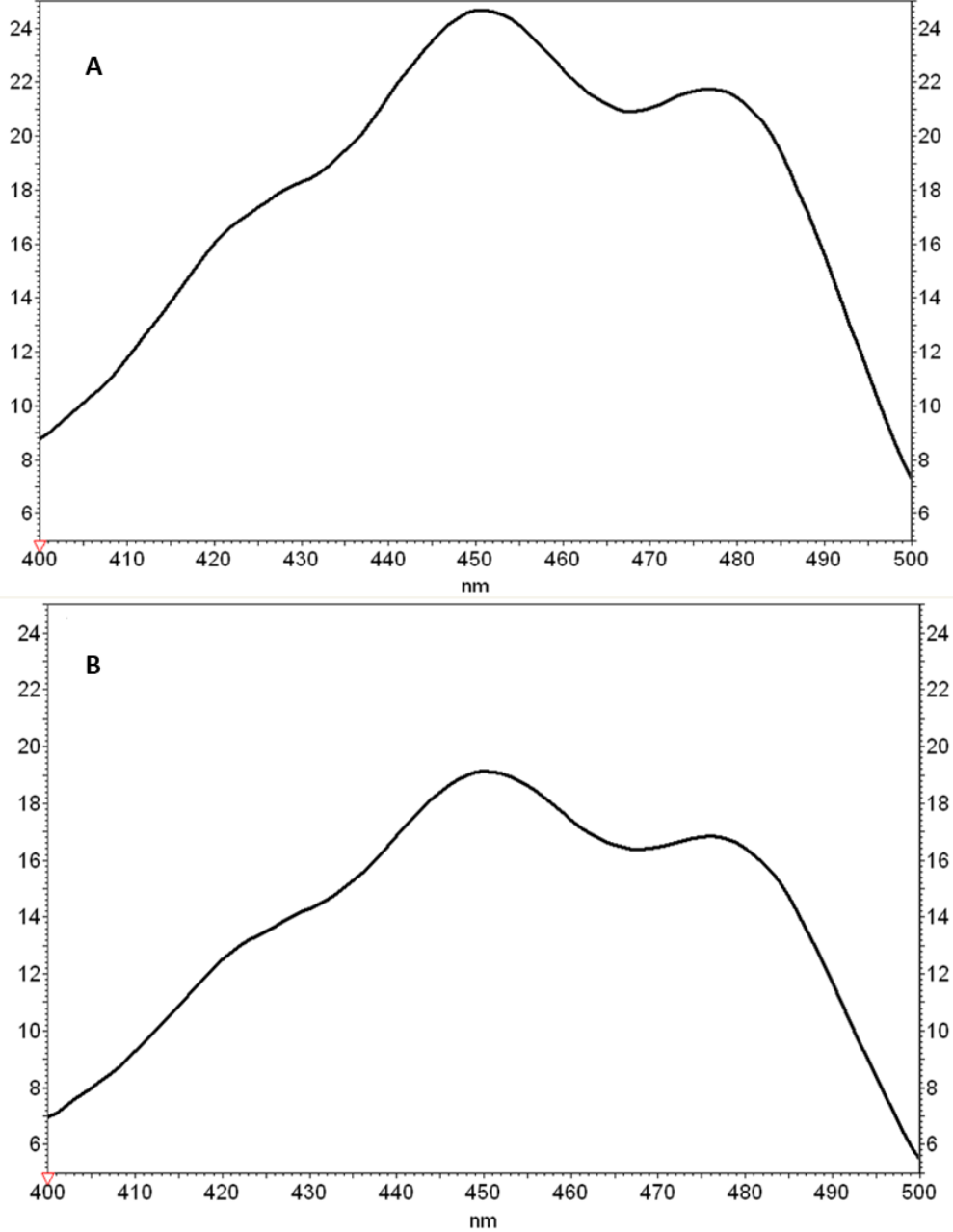
çalışmaya benzer olarak kombine uygulama ile verimin arttığı belirlenmiştir.

Yine yazar tarafından yapılan güncel bir çalışmada, karotenoid grubundan olan likopen, maya hücresi ile enkapsüle edilmiş ve ultrasonikasyonun verim üzerine etkisi belirlenmiştir. 20 dakika ultrasonikasyon uygulaması ile verim 324.95 µg/g'a yükselmiş, 40 ve 60 dakika uygulama sonunda ise verimin azaldığı tespit edilmiştir (Cerit, 2024). Ancak, çalışmamızda etil asetat kullanıldığında ultrasonikasyon ile verimin düşmesi beklenmeyen bir sonuçtur. β-karoten ve likopen aynı karotenoid grubun üyeleri olmalarına karşın β-karoten zincir yapısının her iki ucunda da β-iyonon halkası bulundurmaktadır (Genç vd., 2020). Bahsi geçen çalışmada farklı sonuçlar elde edilmesi, yapıdaki bu farklılıktan kaynaklandığını düşündürmektedir. En yüksek β-karoten içeriğine sahip kapsüller, etil alkol grubu için AL-30 ve etil asetat grubu için ise AS-0 olduğundan çalışmanın devamındaki analizlerde bu iki örnek kullanılmıştır.

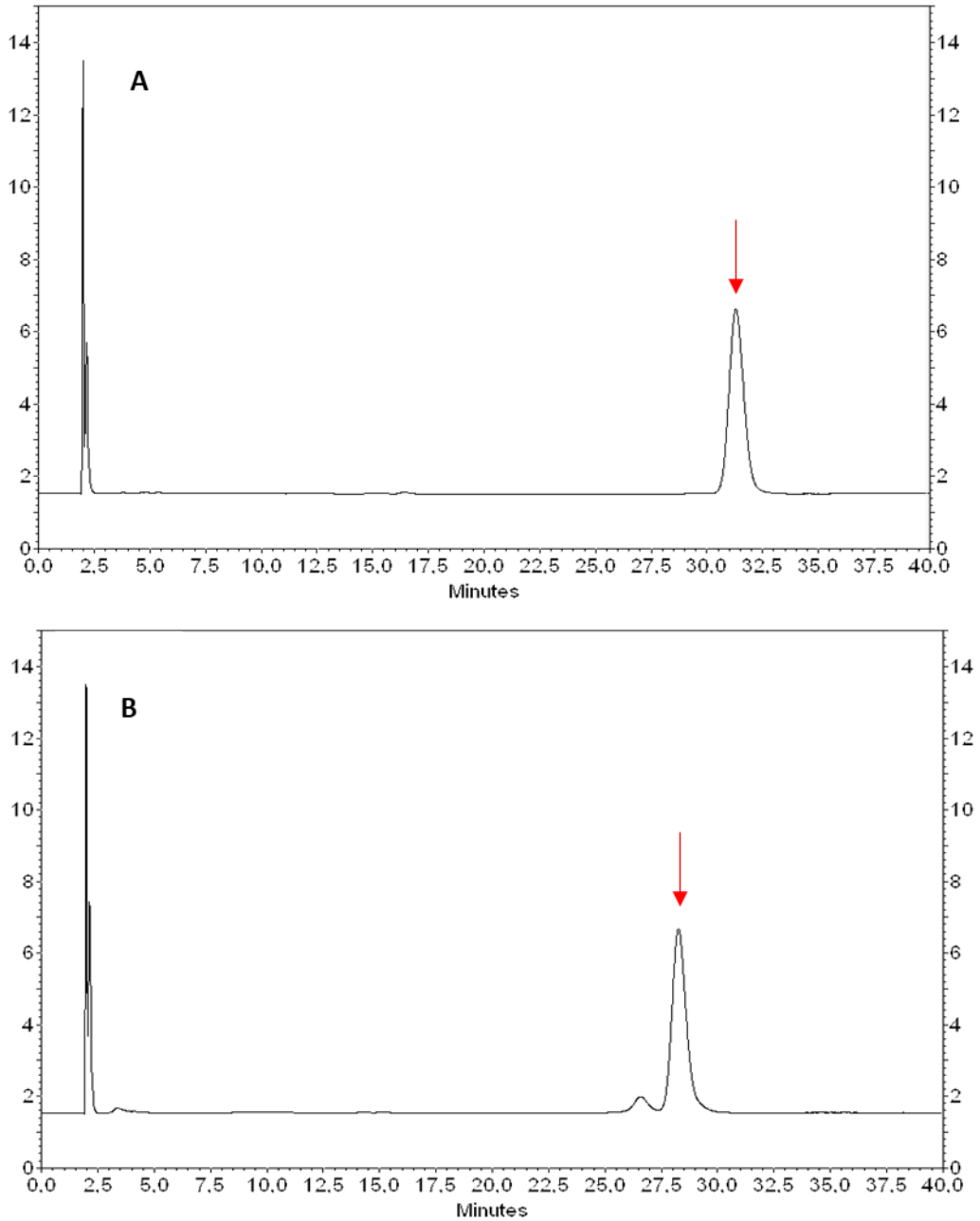
Maya mikrokapsüllerindeki β-karoten ile standart β-karotenin 450 nm dalga boyundaki spektrumları

Şekil 3'te, kromatogramları ise Şekil 4'te gösterilmektedir. Maya hücrelerinin β -karoten spektrumu ile standart β -karoten spektrumunun aynı olduğu tespit edilmiştir. Spektrumların benzerliğinden yola çıkarak reaksiyon sonrasında β -karoten yapısında herhangi bir değişiklik olmadığı yorumu yapılabilmektedir. β -karoten, 425 nm, 450 nm ve 477 nm dalga boylarında üç

tepe spektrumu sergilediği bilinmektedir (Rodriguez-Amaya, 2001). Enkapsülasyon sonrasında spektrumlarda herhangi bir kayma olmamasının kapsülleme işleminin yapıda değişikliğe sebep olmadığını bir göstergesi olduğu rapor edilmiştir (Pham-Hoang vd., 2018).



Şekil 3. Standart β -karoten (A) ve enkapsüle β -karoten (B) spektrumları
Figure 3. Spectrums of standard (A) and encapsulated β -carotene (B)



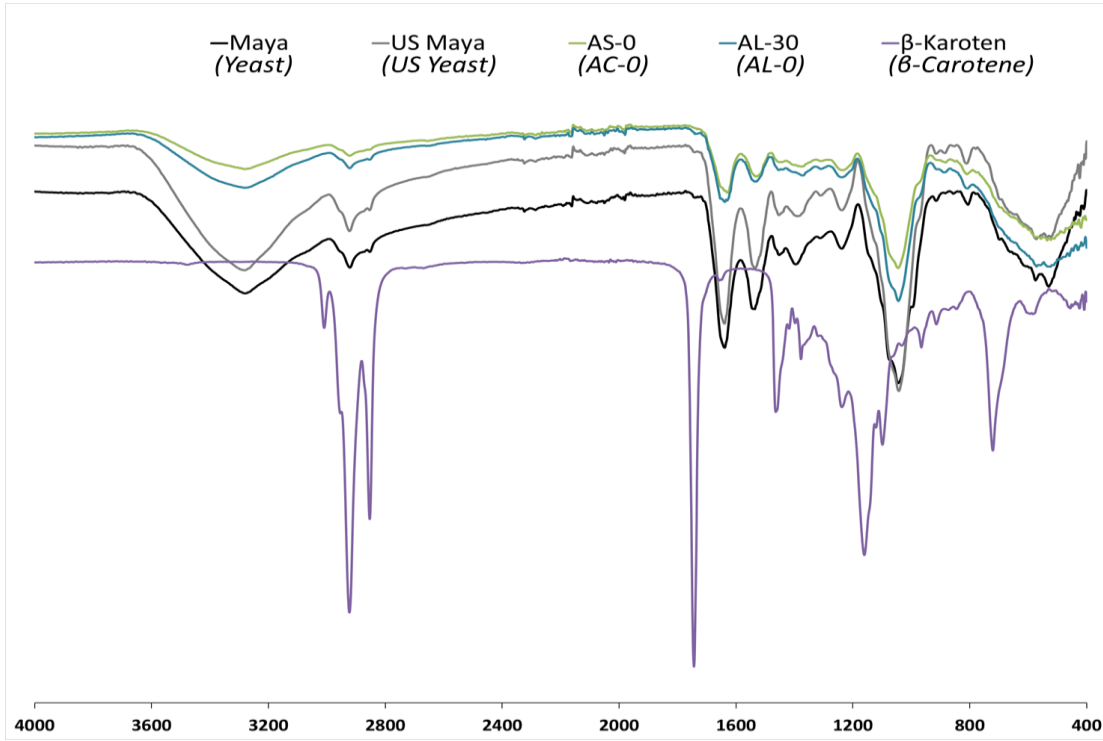
Şekil 4. Standart β -karoten (A) ve enkapsüle β -karoten (B) kromatogramları
Figure 4. Chromatograms of standard (A) and encapsulated β -carotene (B)

Maya hücrelerinde ultrasonikasyon ve enkapsülasyon işlemleri sonrasında oluşan değişimleri gözlemlmek için maya örnekleri ve standart β -karotenin Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi gerçekleştirilmiştir. Şekil 5'te tüm örneklerin 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları gösterilmektedir. Yüklü olmayan

maya hücrelerine ait spektrumlarında (maya ve US-maya) 3266 cm^{-1} dalga sayısında polisakaritlerin OH vibrasyon piki, 2921 cm^{-1} dalga sayısında lipidlerin asimetrik gerilme piki, 1638 ve 1531 cm^{-1} 'de proteinlerin amid 1 ve amid 2 piki, 1038 cm^{-1} β -glucan kaynaklı baskın bir pik görülmektedir. Benzer sonuçlar literatürdeki

diğer çalışmalarda da yer almaktadır (Liu vd., 2021; Pérez-Bassart vd., 2023). İşlem görmemiş maya hücresinde bulunan 530 cm^{-1} dalga sayısındaki baskın pikin ultrasonikasyon işlemi ile birlikte kaybolduğu tespit edilmiştir. Bahsi geçen pikin α -glukana ait olduğu tahmin edildiğinden ultrasonikasyon işleminin mayanın hücre duvarına zarar verdiği sonucu çıkarılabilmektedir (Zhbakov vd., 1997). Standart β -karotenin 2923 cm^{-1} ve 2854 cm^{-1} dalga sayısında C-H gerilme titreşimleri, 1744 cm^{-1} dalga sayısında C=C ve/veya C=O konjuge çift bağ gerilme titreşimleri, 1464 cm^{-1} dalga sayısında C-H makaslama titreşimleri veya CH_3 gruplarının antisimetrik deformasyonu, 1377 cm^{-1} dalga sayısında C-H metil titreşimleri, 1097 cm^{-1} dalga

sayısında C-H ve/veya C-O'ya karşılık gelen bükülmeler ve 965 cm^{-1} dalga sayısında ise C-H bükülme titreşimlerine ait karakteristik pikler olduğu bilinmektedir (Gurkok, 2022). Ayrıca 915 cm^{-1} dalga sayısında işlem görmemiş maya, US-maya ve β -karotende görülen pikler AL-30 ve AS-0 mikrokapsüllerinde belirlenememiştir. Bu pikin kapsülleme sonrasında kaybolmasının β -karoten ve maya hücreleri arasında bir etkileşim olduğuna işaret ettiği düşünülmektedir. Mikrokapsüllerin spektrumlarının (AL-30 ve AS-0) benzerlik göstermesi ise kullanılan çözücülerin enkapsülasyon işleminde yapısal bir farklılığa sebep olmadığını göstermektedir.



Şekil 5. Örneklerin FT-IR spektrumları

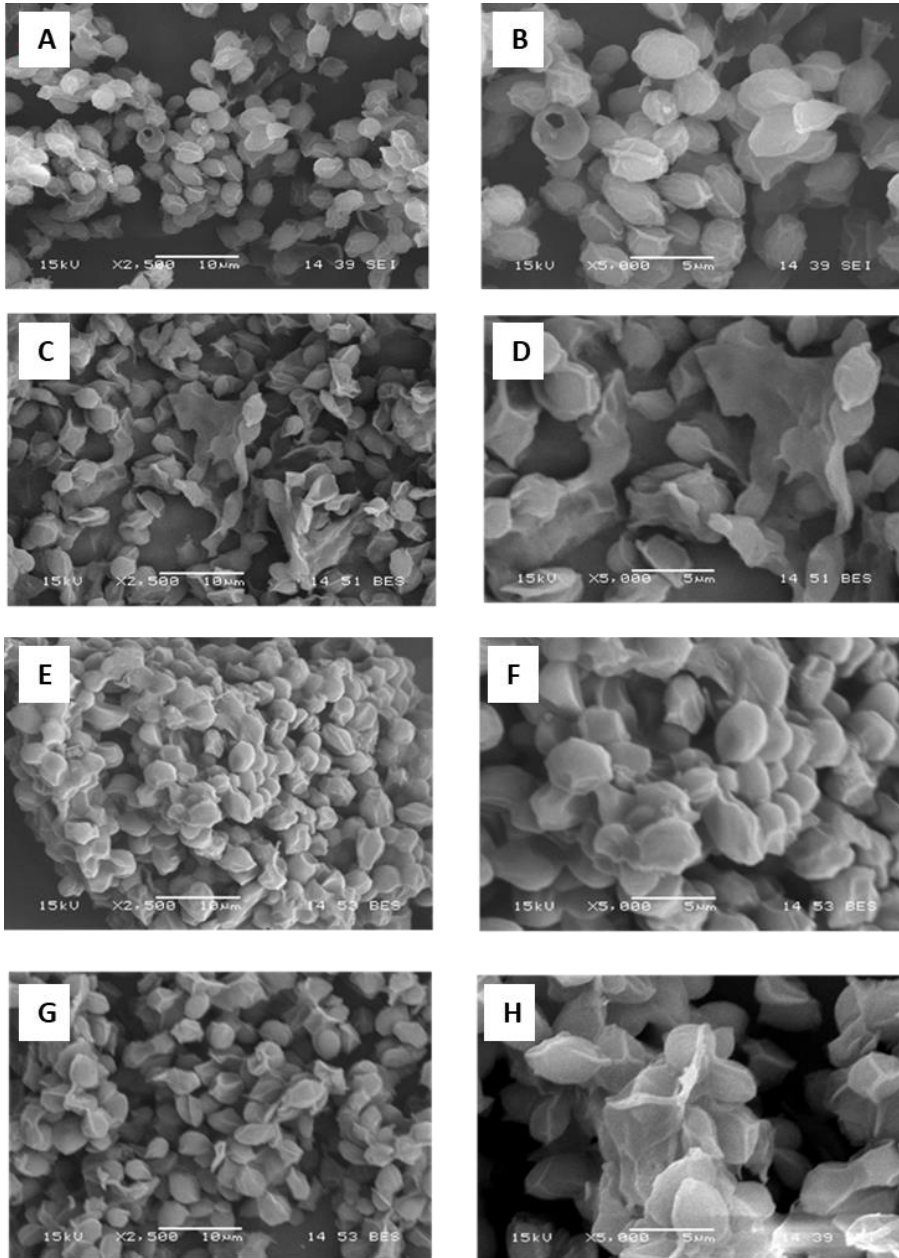
Figure 5. FT-IR spectrum of samples

AS-0 ve AL-30 kapsülleri ile yüklenmemiş ve ultrasonikasyon uygulanmış maya (US maya) hücrelerinin SEM görüntüleri, 2.5K ve 5K yakınlaştırma ile Şekil 6'da verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında yüklenmemiş maya hücreleri karakteristik yuvarlak ve düzgün şekilli iken ultrasonikasyon uygulaması ile maya hücrelerinin

zarar gördüğü ve şekillerinin bozulduğu tespit edilmiştir. Benzer bozulmalar ultrasonikasyon işleminin uygulandığı AL-30 kapsüllerinde de görülmektedir. Ultrasonikasyon uygulanmamış olan AS-0 kapsüllerinde ise oluşan değişimin daha az olduğu dikkat çekmektedir. AL-30 ve AS-0 spektrumlarındaki benzerlik de göz önüne

alındığında bu durumun, FT-IR analizi sonucunda ortaya konulan mayanın hücre duvarına çözücülerden ziyade ultrasonikasyon işleminin zarar verdiği sonuçlarını doğrulamaktadır. Ayrıca, tüm maya örneklerinde hücre aglomerasyonunun belirgin olduğu söylenebilir. Dondurarak kurutma

işleminde uygulanan düşük çalışma sıcaklığı, geri dönüştürülemez şekilde oluşan aglomerasyonu kolaylaştırmakta ve daha büyük parçacık boyutlarının oluşmasına neden olmaktadır (Adetoro vd., 2020).



Şekil 6. SEM analiz görüntüleri (A: AS-0 x2.5K, B: AS-0 x5K, C: AL-30 x2.5K, D: AL-30 x5K, E: Maya hücresi x2.5K, F: Maya hücresi x5K, G: US Maya x2.5K, H: US Maya x5K)
Figure 6. SEM images (A: AS-0 x2.5K, B: AS-0 x5K, C: AL-30 x2.5K, D: AL-30 x5K, E: Yeast cell x2.5K, F: Yeast cell x5K, G: US Yeast x2.5K, H: US Yeast x5K)

SONUÇ

Bu çalışmada, ultrasonikasyon yöntemi ve farklı çözücülerin kullanılmalarının maya hücreleri ile β -karotenin enkapsülasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Analizler sonucunda, etil asetat çözücüsünün kullanıldığı örnekte en yüksek enkapsülasyon verimi elde edilmiştir. Ultrasonikasyon uygulaması, etil alkol kullanılan grupta enkapsülasyon verimini artırırken, etil asetat kullanılan grupta verimi düşürmüştür. HPLC-DAD spektrum analizleri, enkapsüle edilen β -karotenin spektrumlarının, standart β -karoten ile örtüşüğünü, dolayısıyla β -karotenin kimyasal yapısında herhangi bir değişiklik meydana gelmediğini göstermiştir. Ayrıca, FT-IR analizinde β -karotenin başarılı bir şekilde enkapsüle edildiğine dair kanıtlar elde edilmiş olup, farklı çözücülerin kullanıldığı kapsüller arasında bir fark tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, maya hücrelerinin β -karoten enkapsülasyonunda kullanılması umut verici olurken ultrasonikasyon uygulaması çözücü olarak etil asetat kullanımında verim üzerine negatif etki, etil alkol kullanımında ise pozitif etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

Maya hücreleri kullanılarak enkapsüle edilen β -karotenin, gıda endüstrisinde özellikle ısı işlem gerektiren uygulamalarda işlevsel bir bileşen olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Maya hücreleri, güçlü hücre duvarları sayesinde çekirdek bileşenlerin korunmasını ve kontrollü salınımını sağlayabilmektedir. Bu hücre yapısı, mikrokapsüllerin termal stabilitesini artırmakta ve ısı işlem sırasında bileşiğin etkinliğini korumasına olanak tanımaktadır. Ayrıca, maya hücreleri, enkapsüle edilen bileşiğin lezzetini maskeleyebilme özelliğine de sahiptir. Bu özellikler göz önüne alındığında, gelecek çalışmalarda β -karoten kapsüllerinin kurabiye, ekmek gibi ısı işleme tabi tutulan gıdalarda uygulanabilmesi hedeflenmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

İnci Cerit: Çalışmanın planlanması ve yürütülmesi, laboratuvar analizleri, sonuçların analizi ve

yorumlanması, makalenin yazımı. Rabia Güneş: Laboratuvar analizleri. Goncağül Çelik: Laboratuvar analizleri.

KAYNAKLAR

Adetoro, A. O., Opara, U. L., Fawole, O. A. (2020). Effect of carrier agents on the physicochemical and technofunctional properties and antioxidant capacity of freeze-dried pomegranate juice (*Punica granatum*) powder. *Foods*, 9(10): 1388. <https://doi.org/10.3390/foods9101388>

Aydın, Ö., Ünlüel, İ. (2021). Enkapsülasyon teknikleri ve kontrollü salım. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (32): 640-648. <https://doi.org/10.31590/ejosat.1039736>

Ayyarıl, S. S., Shanableh, A., Bhattacharjee, S., Rawas-Qalaji, M., Cagliani, R., Shabib, A. G. (2023). Recent progress in micro and nano-encapsulation techniques for environmental applications: A review. *Results in Engineering*, 18: 101094. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101094>

Bilek, S. E., Özkan, G. (2012). Gıda işleme ve depolamanın karotenoidler üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 10(2): 84-88.

Cerit, İ. (2024). Evaluation of the Effects of Plasmolysis, Solvent, and Ultrasonication on Encapsulation of Lycopene in *Saccharomyces cerevisiae* Cells. *Food and Bioprocess Technology*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03611-w>

Cerit, I., Erdem, E. N., Yildirim, M., Dursun, M. E., Tekgöl, S., Kaya, Z., Demirkol, O. (2023). Optimization of carotenoid extraction from industrial tomato waste by response surface methodology. *GIDA*, 48(2): 459 - 470 <https://doi.org/10.15237/gida.GD23012>

Cerit, I., Mehdizade, K., Avcı, A., Demirkol, O. (2024). Production of low-protein cocoa powder with enzyme-assisted hydrolysis. *Food Science & Nutrition*, 12: 3309-3321. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3997>

Chen, Q. H., Wu, B. K., Pan, D., Sang, L. X., Chang, B. (2021). Beta-carotene and its protective effect on gastric cancer. *World Journal of Clinical*

- Cases, 9(23), 6591. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i23.6591>
- Dadkhodazade, E., Mohammadi, A., Shojae-Aliabadi, S. (2018). Yeast cell microcapsules as a novel carrier for cholecalciferol encapsulation: Development, characterization and release properties. *Food Biophysics*, 13: 404–411 <https://doi.org/10.1007/s11483-018-9546-3>
- de Andrade, E. W. V., Hoskin, R. T., da Silva Pedrini, M. R. (2022). Ultrasound-assisted encapsulation of curcumin and fisetin into *Saccharomyces cerevisiae* cells: a multistage batch process protocol. *Letters in Applied Microbiology*, 75(6): 1538-1548. <https://doi.org/10.1111/lam.13820>
- Durante, M., Lenucci, M. S., D'Amico, L., Piro, G., Mita, G. (2014). Effect of drying and co-matrix addition on the yield and quality of supercritical CO₂ extracted pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) oil. *Food Chemistry*, 148: 314-320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.051>
- Fernandes, A. S., do Nascimento, T. C., Jacob-Lopes, E., De Rosso, V. V., Zepka, L. Q. (2018). Carotenoids: A brief overview on its structure, biosynthesis, synthesis, and applications. In: *Progress in Carotenoid Research*, Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, De Rosso, V. V. (chief ed.), InTech Open, the UK, pp. 1-17.
- Fu, J., Song, L., Guan, J., Sun, C., Zhou, D., Zhu, B. (2021). Encapsulation of Antarctic krill oil in yeast cell microcarriers: Evaluation of oxidative stability and in vitro release. *Food Chemistry*, 338: 128089. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128089>
- Genç, Y., Bardakci, H., Yücel, Ç., Karatoprak, G. Ş., Küpeli Akkol, E., Hakan Barak, T., Sobarzo-Sánchez, E. (2020). Oxidative stress and marine carotenoids: Application by using nanoformulations. *Marine Drugs*, 18(8): 423. <https://doi.org/10.3390/md18080423>
- Gul, K., Tak, A., Singh, A. K., Singh, P., Yousuf, B., Wani, A. A. (2015). Chemistry, encapsulation, and health benefits of β-carotene-A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1): 1018696. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1018696>
- Gurkok, S. (2022). A novel carotenoid from *Metabacillus idriensis* LipT27: production, extraction, partial characterization, biological activities and use in textile dyeing. *Archives of Microbiology*, 204(6): 296. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02922-w>
- Hladnik, L., Vicente, F. A., Grilc, M., Likozar, B. (2024). β-Carotene production and extraction: A case study of olive mill wastewater bioremediation by *Rhodotorula glutinis* with simultaneous carotenoid production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(7): 8459-8467. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03081-0>
- Jia, Z., Dumont, M. J., Orsat, V. (2016). Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. *Food Bioscience*, 15: 87-104. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.05.007>
- Lieu, M. D., Hoang, T. T. H., Nguyen, H. N. T., Dang, T. K. T. (2020). Evaluation of anthocyanin encapsulation efficiency into yeast cell by plasmolysis, ethanol, and ultrasound treatments using alone or in combination. *Food Research*, 4(2), 557-562. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(2\).283](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(2).283)
- Lima, P. M., Dacanal, G. C., Pinho, L. S., Perez-Cordoba, L. J., Thomazini, M., Moraes, I. C. F., Favaro-Trindade, C. S. (2021). Production of a rich-carotenoid colorant from pumpkin peels using oil-in-water emulsion followed by spray drying. *Food Research International*, 148, 110627. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110627>
- Liu, S., Tao, M., Huang, K. (2021). Encapsulation of mānuka essential oil in yeast microcarriers for enhanced thermal stability and antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 14: 2195-2206. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02714-y>
- Maslova, T. G., Markovskaya, E. F., Slemnev, N. N. (2021). Functions of carotenoids in leaves of higher plants. *Biology Bulletin Reviews*, 11: 476-487. <https://doi.org/10.1134/S2079086421050078>

- Mussagy, C. U., Winterburn, J., Santos-Ebinuma, V. C., Pereira, J. F. B. (2019). Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103: 1095-1114. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9557-5>
- Nguyen, T. T., Phan-Thi, H., Pham-Hoang, B. N., Ho, P. T., Tran, T. T. T., Waché, Y. (2018). Encapsulation of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins as natural colours in yeast. *Food Research International*, 107: 275-280. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.044>
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272: 494-506.
- Pérez-Bassart, Z., Fabra, M. J., Martínez-Abad, A., López-Rubio, A. (2023). Compositional differences of β -glucan-rich extracts from three relevant mushrooms obtained through a sequential extraction protocol. *Food Chemistry*, 402: 134207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134207>
- Pham-Hoang, B. N., Romero-Guido, C., Phan-Thi, H., Waché, Y. (2018). Strategies to improve carotene entry into cells of *Yarrowia lipolytica* in a goal of encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 224, 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.029>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). Some physicochemical properties of carotenoids. In: *A guide to carotenoid analysis in foods*, Volume 71, ILSI press, USA, pp. 14-22.
- Rubio, F. T. V., Haminiuk, C. W. I., de Freitas Santos, P. D., Martelli-Tosi, M., Thomazini, M., de Carvalho Balieiro, J. C., Fávoro-Trindade, C. S. (2022). Investigation on brewer's spent yeast as a bio-vehicle for encapsulation of natural colorants from pumpkin (*Cucurbita moschata*) peels. *Food & Function*, 13(19): 10096-10109. <https://doi.org/10.1039/D2FO00759B>
- Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., Mohammadi, A. (2019). Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140; 59-68. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.133>
- Singh, R. V., Sambyal, K. (2022). An overview of β -carotene production: Current status and future prospects. *Food Bioscience*, 47: 101717. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101717>
- Wang, J., Hu, X., Chen, J., Wang, T., Huang, X., Chen, G. (2022). The extraction of β -carotene from microalgae for testing their health benefits. *Foods*, 11(4); 502. <https://doi.org/10.3390/foods11040502>
- Williams, M., 2006. The Merck Index: an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. *Drug Development Research*, 67 (11): 870. <https://doi.org/10.1002/ddr.20159>
- Xu, X., Liu, J., Lu, Y., Lan, H., Tian, L., Zhang, Z., Jiang, L. (2021). Pathway engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for efficient lycopene production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44, 1033-1047. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02503-5>
- Zhbankov, R. G., Andrianov, V. M., Marchewka, M. K. (1997). Fourier transform IR and Raman spectroscopy and structure of carbohydrates. *Journal of Molecular Structure*, 436: 637-654. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(97\)00141-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(97)00141-5)

ALTERNATİF PROTEİN KAYNAĞI OLARAK MAKROALGLER VE MAKROALGAL PROTEİNLERİN EKSTRAKSİYONU: BİR DERLEME ÇALIŞMASI

Eda ŞENSU^{1,2*}, Aysun YÜCETEPE³, Beraat ÖZÇELİK¹

¹ İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Mühendisliği Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Gelişim Üniversitesi, İstanbul Gelişim Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, İstanbul, Türkiye

³ Aksaray Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aksaray, Türkiye

Geliş/Received: 09.09.2024; Kabul /Accepted: 29.11.2024; Online baskı /Published online: 02.12.2024

Şensu, E., Yücepe, A., Özçelik, B. (2024). Alternatif protein kaynağı olarak makroalgler ve makroalg al proteinlerin ekstraksiyonu: Bir derleme çalışması. GIDA (2024) 49 (6) 1175-1189 doi: 10.15237/gida.GD24093

Şensu, E., Yücepe, A., Özçelik, B. (2024). Macroalgae as alternative protein sources and extraction of macroalgal protein: A review study. GIDA (2024) 49 (6) 1175-1189 doi: 10.15237/gida.GD24093

ÖZ

Nüfus artışı, ekilebilir arazi ve su kaynaklarının giderek azalması ve hayvancılığın olumsuz çevresel etkisi alternatif protein kaynaklarını bulma konusunda araştırma yapmayı gerekli kılmaktadır. Biyoaktif bileşenler açısından zengin olan makroalgler potansiyel sağlık yararları nedeni ile ilgi çekmektedir. Makroalgler, ekilebilir araziye ihtiyaç duymadan yetiştirilebilmeleri nedeni ile karasal bitkilere göre önemli bir avantaja sahiptir. Ayrıca, makroalgler diğer bitkisel ve hayvansal kaynaklı proteinlere kıyasla protein ve amino asit içeriği açısından önemli ölçüde zengindir. Ancak, makroalglerden protein ekstraksiyonu için kullanılan geleneksel yöntemler yüksek enerji ve su tüketiminin yanı sıra düşük ekstraksiyon verimi nedeniyle dezavantajlar sunmaktadır ve bu da makroalg al proteinlerin kullanılabilirliğini sınırlamaktadır. Bu noktada, makroalglerden proteinlerin ekstraksiyonu için düşük maliyetli, yeni ve sürdürülebilir teknolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu derleme çalışmasında, öncelikle makroalglerin özellikleri, protein kalitesi, amino asit bileşimi ve sindirilebilirliğine dayalı olarak kullanım potansiyelleri açıklanmıştır. Ayrıca, makroalglerden proteinlerin ekstraksiyonu için enzimatik, darbeli elektrik alan, ultrases, mikrodalga, yüksek basınç ve sub-kritik akışkan ekstraksiyon gibi yeni yöntemler tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Makroalg, deniz yosunu, protein, ekstraksiyon, yeni teknolojiler

MACROALGAE AS ALTERNATIVE PROTEIN SOURCES AND EXTRACTION OF MACROALGAL PROTEIN: A REVIEW STUDY

ABSTRACT

Increased population, decrease in arable land and water supplies, and the detrimental environmental impact of husbandry have prompted research into alternate protein sources. Macroalgae, rich in bioactive chemicals, are gaining popularity due to their potential health advantages. Macroalgae have a significant advantage over terrestrial plants in that they can be cultivated without needing arable

* Sorumlu Yazar / Corresponding author

✉: esensu@gelisim.edu.tr/sensueda34@gmail.com

☎: (+90) 545 688 2026

Eda Şensu; ORCID no: 0000-0002-6240-8381

Aysun Yücepe; ORCID no: 0000-0002-3800-4774

Beraat Özçelik; ORCID no: 0000-0002-1810-8154

land. In addition, macroalgae are significantly rich in protein and amino acid content compared to other plant and animal proteins. However, traditional methods used for protein extraction from macroalgae present disadvantages due to high energy and water consumption and low extraction efficiency, which limits the usability of macroalgal proteins. At this point, protein extraction from macroalgae requires low-cost, innovative, and sustainable technology. This review indicates the properties of macroalgae and their potential for use based on their protein quality, amino acid composition and digestibility. Also, new methods such as enzymatic, pulsed electric field, ultrasound, high pressure, and sub-critic water extraction for extracting proteins from macroalgae were discussed.

Keywords: Macroalgae, seaweed, protein, extraction, novel technologies

GİRİŞ

Dünya nüfusunun 2050 yılına kadar yaklaşık 10 milyara ulaşacağı, bunun da gıda talebinde yaklaşık %70 oranında bir artışa neden olacağı tahmin edilmektedir (Dopelt vd., 2019; Nadathur vd., 2024). Gelecekte ortaya çıkması muhtemel olan gıda taleplerini karşılamak amacıyla tarım arazisi ve su temini ihtiyacında %14'lük bir artışla birlikte gıda üretiminin en yüksek kapasitesine ulaşması beklenmektedir. Hayvansal ve bitkisel kaynaklar en yaygın iki protein kaynağı olduğundan, gelecekte protein arzında ciddi bir eksiklik yaşanma potansiyeli bulunmaktadır. Bu nedenle, geleneksel bitkisel ve hayvansal gıdalar ile aynı veya daha iyi besin içeriğine sahip alternatif protein kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut protein talebinin karşılanabilmesi amacıyla makroalgler, mikroalgler, böcekler ve mikrobiyal proteinler alternatif protein kaynağı olarak düşünülmektedir (Fasolin vd., 2019; Kazir vd., 2019).

Makroalgler veya deniz yosunları makroskobik, ökaryotik ve fotosentetik deniz ürünleridir. Makroalgler insanlar tarafından yüzlerce yıldır gıda, yem, ilaç ve gübre olarak kullanılmaktadır. Antik kayıtlar, makroalglerin insan yiyeceği olarak M.Ö. 500'lerde Çin'de ve bin yıl sonra Avrupa'da toplandığını göstermektedir (Pereira, 2021a). Makroalgler renk pigmentlerine göre üç gruba ayrılmaktadır. Yeşil makroalgler yapısında klorofil a, c ve ksantofil bulundurmaktadır. Kırmızı makroalgler klorofilin yanı sıra, kırmızı rengi veren fikobilinlere ve bazı karotenoidlere sahiptirler. Kahverengi makroalgler ise klorofil ve karotenidleri içerirken, asıl kahverengi renkten sorumlu baskın pigment olarak fukoksantin içermektedirler (Pereira, 2021b). Makroalgler karbonhidratlar, proteinler, lipitler, fenolik bileşikler, pigmentler, mineraller ve vitaminler

açısından zengindir (Gomez-Zavaglia vd., 2019; Peñalver vd., 2020). Makroalgler kuru ağırlıklarının %8 ila %47'si arasında olduğu bildirilen protein içeriğine sahiptir ve en yüksek protein içeriği kırmızı ve yeşil alg türlerinde bulunmaktadır (Biris-Dorhoi vd., 2020).

Protein ekstraksiyonu, algal proteinlerden elde edilen biyoaktif peptitlerin keşfinde önemli bir süreci oluşturmaktadır. Makroalgal hücre duvarının karmaşıklığı ve sertliğinin yanı sıra polisakkaritlerin ve polifenollerin varlığından dolayı ekstraksiyon süreci zorlaşabilmektedir (Harnedy ve FitzGerald, 2013). Makroalglerden protein ekstraksiyonu için genellikle hücre duvarının parçalanması gerekmektedir. Hücre duvarının parçalanmasında ve elde edilen protein veriminin artırılmasında enzimatik yöntemler, darbeli elektrik alan işlemleri, ultrases ve sub-kritik su ekstraksiyonu gibi yeni ve çevre dostu yöntemler uygulanmaktadır (Bleakley ve Hayes, 2017; Cermeño vd., 2020; de Souza Celente vd., 2023; Gordalina vd., 2021).

Bu derleme çalışmasında makroalglerin alternatif protein kaynağı olarak kullanılabilirlikleri ile ilişkili olarak makroalglerin özellikleri, protein kalitesi, amino asit kompozisyonu ve sindirilebilirliği hakkında bilgi verilmiştir. Ayrıca, makroalgal protein ekstraksiyonunda yeni ve çevre dostu yeşil teknolojilerin kullanılabilirliği tartışılmıştır.

MAKROALGLER

Makroalgler suda veya nemli yerlerde yaşayan tek veya çok hücreli organizmalardır. Güneş ışığını emerek kimyasal enerjiye dönüştüren klorofile sahip olmaları aynı zamanda karbondioksiti yakalayarak oksijen üretmelerini sağlamaktadır. Bu özelliklerinden dolayı "dünyanın akciğerleri" olarak kabul edilmektedirler (Gaspar vd., 2020;

Pereira, 2021b). Bir makroalgin rengi, hücrelerinde bulunan farklı fotosentetik pigmentlerin kombinasyonu ile oluşmaktadır. Makroalglerin hepsinde klorofil bulunmasına rağmen renkleri oldukça çeşitlidir ve pigmentasyonlarına göre temelde 3 gruba ayrılmaktadırlar: Kırmızı makroalgler, yeşil makroalgler ve kahverengi makroalgler.

Kırmızı makroalgler

Kırmızı makroalgler, tek hücreliden çok hücreliye kadar suda yaşayan fotoototrofik bitkilerin yaygın bir grubunu oluşturmaktadır. Şu ana kadar tespit edilen yaklaşık 6500 türle en çeşitli taksonomik gruba sahiptirler (Nan vd., 2017). Kırmızı makroalg tarımı açık denizde, özellikle kıyı şeridinde yapılmaktadır. Lezzetli bir gıda olarak kabul edilen ve çeşitli yemeklerde kullanılan kırmızı makroalglerin tarımı, öncelikli olarak Asya ülkelerinde yapılmaktadır (Titlyanov ve Titlyanova, 2010). Bunlar arasında, Nori olarak bilinen *Porphyra* popülerdir ve esas olarak suşi sosu, atıştırma ve çorbalarda kullanılmaktadır. *Palmaria palmata* veya *P. dulce* giderek atıştırma ve çorbalarda bir bileşen haline gelirken, *Gracilaria* ve *Kappaphycus/Eucheuma* genellikle salata ve turşu olarak tüketilmektedir. Doğrudan tüketilmenin yanı sıra, karragenanlar (*Kappaphycus/Eucheuma*) ve agarların (*Gracilaria* spp. ve *Gelidium* spp.) üretiminde kullanılmaktadır (Cai vd., 2021).

Yeşil makroalgler

Yeşil makroalgler yüksek büyüme oranına sahiptir ve dünya çapında kıyı bölgelerinde kolaylıkla yetişebilmektedir. Karasal kaynaklarla karşılaştırıldığında yeşil makroalglerin büyümesi daha hızlıdır, tarımsal araziye/girdilere (gübre, pestisit ve su) ihtiyaç duymaz ve büyük ölçekli potansiyel üretim olanağına sahiptir (Lakshmi vd., 2020).

Yeşil alglerin en çok tüketilen türleri *Ulva lactuca* (deniz marulu), *U. intestinalis* ve *U. compressa* dahil *Ulva* spp. türleridir (Bleakley ve Hayes, 2017). Yetiştirilen yeşil makroalgler, salata ve diğer yemeklerin hazırlanmasında deniz sebzeleri olarak kullanılabilir. Deniz üzümü veya yeşil havyar olarak da bilinen *Caulerpa lentillifera* yaygın

adından da anlaşılacağı üzere lezzet bileşeni olarak kabul edilmektedir (Ferdouse vd., 2018).

Yeşil makroalglerde rapor edilen çeşitli biyoaktif ve besleyici bileşikler vardır. Bunlar; doğal pigmentler, çoklu doymamış yağ asitleri, lipitler, proteinler ve polisakkaritler olarak sıralanabilir. Sahip oldukları bu biyoaktif bileşiklerin, nutrasötik ve kozmetik endüstrilerinde kullanılacak birçok sağlık potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir (Ruslan vd., 2021).

Kahverengi makroalgler

Kahverengi makroalgler yalnızca çok hücreli formda buldukları için algler arasında benzersizdir ve 2000'den fazla tür içeren önemli bir topluluktur. Kahverengi algler, tür ve morfolojik yapı açısından en büyük çeşitliliği sergiledikleri ılıman ve kutup altı bölgelerde gelişmektedirler (Bringloe vd., 2020).

Macrocystis pyrifera (dev yosun) gibi bazı türler, 20 m'ye kadar büyüüp su altı yosun ormanları oluşturarak ekosistemde önemli bir rol oynamaktadır. *Laminaria digitata* (kürek otu), *Ascophyllum nodosum* (kaya otu) ve *Fucus vesiculosus* (mesane otu) gibi kahverengi alg türleri hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, *Undaria pinnatifida* (wakame), *Hizikia fusiformis* (hijiki) ve *Laminaria japonica* (kombu) başta olmak üzere insan tüketimi için kullanılan birçok tür de mevcuttur (Bleakley ve Hayes, 2017).

Kahverengi makroalgler, çeşitli fitokimyasalları yüksek oranda içermektedir ve önemli terapötik özelliklere sahip oldukları kanıtlanmıştır. Bu nedenle, kahverengi makroalgler, fonksiyonel gıda pazarı dahil olmak üzere birçok endüstride biyoaktif ajan olarak kullanım potansiyeline sahiptir (Bringloe vd., 2020).

MAKROALGLERİN KİMYASAL KOMPOZİSYONU

Makroalgler, esas olarak diyet lifleri gibi nişasta olmayan polisakkaritler ve potasyum, kalsiyum gibi temel mineraller açısından zengindirler (Circuncisão vd., 2018). Makroalgal proteinler, yüksek miktarda içerdikleri esansiyel amino asitler nedeniyle yüksek biyolojik değere sahiptirler. Makroalglerin lipit içeriği genellikle düşüktür,

ancak yüksek düzeyde fonksiyonel omega-3, eikosapentaenoik asit (EPA), omega-6 ve araşidonik asit yağ asitlerini içermektedirler. Ek olarak, yenilebilir makroalglerin çeşitli fitokimyasallar açısından zengin olması insan beslenmesi için değerini ortaya koymaktadır (Xie vd., 2024). Bu nedenle, makroalgler biyolojik

olarak aktif ve yenileyici özellikleri nedeniyle nutrasötik, farmasötik, kimya, gıda ve kozmetik endüstrilerinde potansiyel uygulamaları olan değerli bileşiklerin uygulanabilir ve ekonomik bir biyokütle kaynağıdır (Garcia-Vaquero vd., 2020). Makroalglerin kimyasal kompozisyonları Çizelge 1'de gösterilmektedir.

Çizelge 1: Makroalglerin kimyasal kompozisyonları

	Protein (%)	Yağ (%)	Karbonhidrat (%)	Mineral (%)	Referans
Kırmızı makroalgler	5.5-42.4	0.3-7.1	18.7-78.7	7.4-53.4	(Rawiwan vd., 2022)
Yeşil makroalgler	7.0-33.0	0.2-4.1	29.8-58.1	11.0-73.0	(Salehi vd., 2019)
Kahverengi makroalgler	4.3-24.0	0.3-4.5	12.2-56.4	17.0-44.0	(Meng vd., 2022)

MAKROALGAL PROTEİNLER

Makroalglerin protein içeriği oldukça değişkenlik göstermektedir. Kırmızı makroalglerin kuru ağırlığının %10 ile %47 arasında değişen ve diğer makroalglerle kıyasla daha yüksek protein içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Naseri vd., 2020). Yeşil makroalglerin protein içeriği kuru ağırlıklarının %9 ila %26'sı arasında değişmektedir (Pliego-Cortés vd., 2020). Kahverengi makroalglerin protein içeriği ise kırmızı veya yeşilden daha azdır ve genellikle kuru ağırlığının %3 ila %15'i arasında olduğu bildirilmiştir (Praveen vd., 2019). *Palmaria palmata* (dulce) ve *Porphyra tenera* (nori) gibi bazı kırmızı makroalglerde protein seviyeleri sırasıyla %35 ve %47 gibi yüksek değerler olabilmektedir. Yeşil makroalg olan *Ulva* sp. %7-%33 aralığında protein içerdiği ve çoğu kahverengi makroalg ise %15 protein içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Harnedy ve FitzGerald, 2011). Ayrıca, makroalglerin bileşimi coğrafi kökenlerinden ve büyüme mevsiminden önemli ölçüde etkilenmektedir. Sıcaklık, ışık ve suyun tuzluluğundaki değişiklikler besin içeriğini ve nitrojen mevcudiyetini, bu da protein ve amino asit içeriğini etkileyebilmektedir (Pliego-Cortés vd., 2020). Makroalglerde aktif olarak fonksiyonel olan proteinler, fikobiliproteinler ve lektinler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Echave vd., 2022).

Fikobiliprotein

Fikobiliproteinler, siyanobakteriler (Cyanophyta), kırmızı makroalgler ve kriptomonadlarda (Cryptophyta) bulunan fotosentezde önemli role sahip parlak renkli ve yüksek derecede floresan özelliği olan suda çözünür proteinlerdir (Echave vd., 2022). Fikobiliproteinler renk ve emilim özelliklerine göre dört gruba ayrılmaktadır. Bunlar; fikoeritrin, fikosiyanın, allofikosiyanın ve fikoeritrosiyandır (Puzorjov ve McCormick, 2020). Fikobiliproteinler, gıda ve kozmetik uygulamalarında doğal renklendirici olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamaların dışında fikobiliproteinler göstermiş oldukları antioksidan, antienflamatuar, nöroprotektif, hipokolesterolemik, hepatoprotektif, antiviral, antitümör aktiviteleri sayesinde terapötik alanlarda da tercih edilmektedir (Ji vd., 2023).

Lektin

Lektinler düşük moleküler ağırlığa sahip, mikropların, mayaların, tümör hücrelerinin aglütine olmalarını sağlayan karbonhidratlara yüksek spesifiklikle bağlanmaları ile bilinen glikoproteinlerdir (Thiviya vd., 2022). Makroalgal lektinler tarafından sergilenen biyoaktif özellikler arasında antibiyotik, mitojenik, sitotoksik, antinosiseptif, antienflamatuar, antiadezyon ve antiviral aktiviteleri yer almaktadır (Pliego-Cortés vd., 2020). Lektinler sahip oldukları antimikrobiyal, antitümör ve antiviral aktiviteleri

nedeniyle tarımsal ve tıbbi uygulamaların yanı sıra immünolojik ve histokimyasal çalışmalar açısından oldukça ilgi çekmektedirler (Agrawal vd., 2020; Ahmed vd., 2022).

MAKROALGAL PROTEİNLERİN BESİNSEL KALİTESİ

Amino asit kompozisyonu

Algler genellikle Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) gerekliliklerini karşılayan esansiyel amino asit bileşimi ile geçerli bir protein kaynağı olarak kabul edilmektedir (Fao, 2018). Makroalglerden elde edilen proteinler, yüksek oranda glisin, alanin, arjinin, prolin, glutamik ve aspartik asitler olmak üzere tüm amino asitleri içermektedir (Corino vd., 2019; Cotas vd., 2020). Treonin, lizin, triptofan, kükürt amino asitleri sistein, metiyonin ve histidin, çoğu makroalg proteininde düşük seviyelerde bulunmaktadır (O' Connor vd., 2020). Makroalglerde bulunan treonin, lizin, triptofan, sistein, metiyonin ve histidin gibi esansiyel amino asitlerin (EAA) miktarı karasal bitkilerde bulunanlardan daha yüksektir (Pimentel vd., 2019). Ayrıca, makroalgal amino asit profilleri, ovalbümin (%52.4 EAA) ve baklagil bitkilerinin (%41.62 EAA) profillerine benzer özellik göstermektedir (Paiva vd., 2014). Aspartik asit ve glutamik asit, birçok makroalg türünde toplam amino asitlerin nispeten büyük bir kısmını oluşturarak, makroalglerle ilişkilendirilen ayırt edici "umami" tada büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, makroalgler bir dizi biyoaktif amino asit ve peptit (örneğin taurin, karnosin ve glutatyon) içermektedir (Machado vd., 2020).

Makroalglerin sahip olduğu amino asit profillerinin protein seviyesindeki değişime benzer olarak cins ve mevsime göre değişiklik gösterebileceği rapor edilmiştir. Konstantin vd. (2023), kahverengi makroalglerdeki EAA içeriğinin soğuk mevsimde en düşük (%33), ilkbahar ve yaz mevsiminde ise en yüksek (%52) düzeyde olduğunu bildirmiştir. Bu değişimin, besin temini ve özellikle azot bulunabilirliği gibi çevresel faktörlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir; bu faktörlerin su sıcaklığı, tuzluluk, ışık şiddeti ve dalga kuvveti gibi

etmenlerden etkilenebileceği öne sürülmektedir (Kamal vd., 2023).

Protein sindirilebilirliği

Protein sindirimi, kompleks protein moleküllerinin daha küçük peptit parçalarına parçalanması sürecidir. Bu süreç, sindirim için çeşitli enzimlerin ve hormonların kullanımını gerektirmektedir. Sindirim, gıdanın yemek borusu yoluyla gastrointestinal sisteme girmesiyle başlamaktadır ve midede pepsinojen enzimi hidroklorik asit ile etkileşime girerek pepsine dönüşmektedir. Pepsin enzimi proteinlerin polipeptitlere parçalanmasını sağlamaktadır. Gıda bağırsağa ilerledikçe, enterokinaz enzimi aktive olmakta ve tripsini salgılatarak serbest amino asitleri ve peptit parçalarını oluşturmaktadır. Oluşan peptit parçaları, membrana bağlı peptidazlarla etkileşime girerek dipeptitlere veya tripeptitlere parçalanmaktadır. Bu parçalanma işlemi, enterositlerin içine girerek sitozolik peptidazların aktivitesiyle serbest amino asitlerin oluşmasına yol açmaktadır. Oluşan amino asitler bazolateral membrandan kan dolaşımına geçerek vücutta biyoaktivitelerini gerçekleştirebilir hale gelmektedirler (O' Brien vd., 2022).

Makroalglerin sindirilebilirliği ile ilişkili olarak yapılan pek çok çalışmada makroalglerin yapılarında yer alan fenolik bileşiklerin ve polisakkaritlerin protein sindirilebilirliğini zorlaştırdığı öne sürülmektedir. Kahverengi makroalglerle (%78.7-%82.0) kıyasla kırmızı makroalgal proteinlerin (%83.0-%87.0) önemli ölçüde daha yüksek *in vitro* sindirilebilirliği olduğu rapor edilmiştir (Tibbetts vd., 2016). Bu sonuçlar, makroalgal proteinlerin, tahıllar (%69.0-%84.0), baklagiller (%72.0-%92.0), meyveler (%72.0-%92.0) ve sebzeler (%68.0-%80.0) dahil olmak üzere yaygın olarak tüketilen diğer bitkilerle karşılaştırıldığında benzer ya da daha yüksek *in vitro* sindirilebilirliğe sahip olduğunu göstermektedir (Tibbetts vd., 2016).

MAKROALGAL PROTEİNLERİN EKSTRAKSİYONU

Makroalglerin kimyasal kompozisyonu türe ve mevsime göre değişkenlik gösterirken, sahip olduğu hücre duvarından ve uygulanan

ekstraksiyon yönteminden de etkilenmektedir (Magpusao vd., 2021). Makroalg hücreleri, zorlu çevre koşullarına uyum sağlayan, protein ve diğer biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu zorlaştıran, dinamik ve karmaşık karbonhidratlar bakımından zengin hücre duvarı ile çevrelenmektedir (Domozych, 2019). Bu sebeple, makroalg hücre duvarlarının yapısal çeşitliliğinin ve sertliğinin etkisi, ekstraksiyon sürecinde kritik öneme sahiptir (Gordalina vd., 2021). Ekstraksiyon, farklı türdeki biyoaktif bileşiklerin materyallerden izole edilmesinde en önemli adımdır. Makroalglerden aktif bileşenlerin ekstraksiyon verimliliği, kahverengi makroalglerdeki aljinatlar ve kırmızı makroalglerdeki karragenanlar gibi yüksek viskoziteli ve anyonik hücre duvarı polisakaritleri nedeniyle azalabilmektedir. Bu nedenle, biyoaktif

bileşiklerin ekstraksiyon verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (O' Connor vd., 2020). Ek olarak, herhangi bir bitki materyalinden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon verimliliği, ekstraksiyon solventi, partikül boyutu, sıcaklık, zaman, pH gibi bir dizi faktörden etkilenebilmektedir (Bhadange vd., 2024). Hücre parçalama teknikleriyle uygulanan yöntemler, sert alg hücre duvarının parçalanmasına yardımcı olarak proteinlerin kullanılabilirliğini artırmaktadır. Yeni protein ekstraksiyon yöntemleri arasında enzim destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alan, yüksek hidrostatik basınç ve sub-kritik su ekstraksiyon yöntemleri yer almaktadır (Gordalina vd., 2021) (Çizelge 2).

Çizelge 2: Farklı makroalgere uygulanan protein ekstraksiyon yöntemleri ve protein verimleri

Ekstraksiyon yöntemi	Makroalg	Proses koşulları	Protein verimi (%)	Referans
Enzim destekli ekstraksiyon	<i>Palmaria palmata</i>	Alkalaz enzimi (Enzim/substrat %0.2 ve %0.4 g/g)	80.0	(Naseri vd., 2020)
	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Selülaz (Enzim/substrat 1/10 h/a)	74.6	(Vásquez vd., 2019)
	<i>Chondracanthus chamissoi</i>	Selülaz (Enzim/substrat 1/10 h/a)	36.1	(Vásquez vd., 2019)
	<i>Palmaria palmata</i>	Shearzyme ve selülaz (Enzim/substrat 48.0×10 ³ birim/100 g)	7.84	(Harnedy ve FitzGerald, 2013)
Ultrases destekli ekstraksiyon	<i>Porphyra yezoensis</i>	15 ve 20 kHz	50.0	(Qu evd., 2013)
	<i>Ulva sp.</i>	-	70.0	(Kazir vd., 2019)
	<i>Gracilaria sp.</i>	-	86.0	(Kazir vd., 2019)
	<i>Gracilaria pusillum</i>	Ultrases genlik düzeyi (60, 90, 120 µm); Ultrases uygulama süresi (1, 2, 4, 6, 8 ve 10 dk)	77.0- 93.0	(Mittal vd., 2017)
Sub-kritik su ekstraksiyonu	<i>Hypnea musciformis</i>	210 °C, 10 dk	80.0	(Pangestuti vd, 2019)
Darbeli elektrik alan	<i>Ulva sp.</i>	Darbe; 0-75, voltaj; 12 -26 kV, alan şiddeti; 1.56-7.26 kV/cm	5.4	(Polikovskiy vd., 2019)
	<i>Ulva ohio</i>	Darbe; 1 Hz, voltaj; 1 kV, akım; 160 A.	14.9	(Prabhu vd., 2019)
	<i>Ulva lactula</i>	Darbe süresi; 0.05 ms, voltaj; 4 kV; alan şiddeti; 7.5 kV/cm	15.1	(Postma vd., 2018)
Yüksek hidrostatik basınç	<i>Fucus vesiculosus</i>	600 MPa, 4 dk	23.7	(O'Connor vd., 2022)
	<i>Alaria esculenta</i>	600 MPa, 4 dk	15.0	(O'Connor vd., 2022)
	<i>P. palmata</i>	600 MPa, 4 dk	14.9	(O'Connor vd., 2022)
	<i>Chondrus crispus</i>	600 MPa, 4 dk	16.1	(O'Connor vd., 2022)

Enzim destekli ekstraksiyon

Enzim destekli ekstraksiyon (EDE), hücre duvarı yapısını bozmak ve gömülü proteinleri/peptitleri serbest bırakmak için enzimin hidrolitik etkisini içermektedir (Bleakley ve Hayes, 2017). EDE yöntemlerinin protein verimini artırdığı kadar biyoaktif bileşenleri ve metabolitleri de koruduğu bildirilmektedir (Harnedy ve FitzGerald, 2013). EDE'de, spesifik polimer bağların parçalanması yoluyla hücre duvarını bozan ve yaygın olarak polisakkarit bileşenlerini parçalayan selülozlar, ksilanazlar ve alkalazlar gibi polisakkaridaz enzimleri kullanılmaktadır (Pliego-Cortés vd., 2020; Vásquez vd., 2019). Yüksek ekstraksiyon verimi elde edebilmek için uygun hidrolitik enzimin veya optimal enzim karışımının seçilmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca ekstraksiyon sırasında uygulanan zaman-sıcaklık aralığı, optimum sıcaklık, pH ve hidroliz sırasında uygulanan çalkalama şiddeti dahil olmak üzere enzimlerin aktivitesini ve ekstraksiyon verimini etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır (Bashir vd., 2020). Enzim destekli ekstraksiyon, organik solvent kullanımını azaltarak gıda sınıfı bir yaklaşım sunmaktadır. EDE ile ekstrakte edilen biyoaktif bileşenlerin antiviral, antioksidan ve antikanser gibi çeşitli biyolojik aktivitelerde üstün özellik gösterdiği bildirilmiştir. Ancak, enzim preparatlarının pahalı olması, uzun ekstraksiyon süreleri ve enzimin çalışma koşullarının ayarlanması (sıcaklık, pH) yöntemin dezavantajlarından biridir (Kadam vd., 2015).

Naseri vd. (2020), *Palmaria palmata*'dan protein ekstraksiyonunda alkalaz enzimi kullanarak %80 oranında ekstraksiyon verimi elde etmiştir. Vásquez vd. (2019), bir karbohidraz enzim olan selülozın, kahverengi makroalg *Macrocystis pyrifera* ve kırmızı makroalg *Chondracanthus chamissoi*'den protein ekstraksiyon verimini enzimatik olmayan ekstraksiyon yöntemine kıyasla sırasıyla 4.7 ve 1.5 kat arttığını rapor etmiştir. Harnedy ve FitzGerald (2013), *Palmaria palmata*'dan ticari glukanaaz kokteyllerini (Shearzyme ve selüloz) kullanarak yüksek verim ile protein ekstrakte etmiştir.

Ultrases destekli ekstraksiyon

Ultrases destekli ekstraksiyon (UDE), süspansiyon içindeki moleküllerin hücre duvarı

bütünlüğünün bozulması ve parçalanması için yüksek frekanslı ses dalgaları kullanımını içeren bir ekstraksiyon yöntemidir. Ultrases destekli ekstraksiyonda çözücü boyunca ilerleyen ve kavitasyon kabarcıkları üreten 20 kHz ila 100 kHz aralığındaki ses dalgaları kullanılmaktadır. Karmaşık örnek matrisinin yüzeyinde kavitasyon kabarcıkları patladığında, bir şok dalgası örnek hücre duvarında hasara neden olmaktadır ve yüksek değerli biyoaktif bileşiklerin hücresel membranlar boyunca çözeltiye kütle transferini artırmaktadır (Christou vd., 2021). UDE tekniği, ekstraksiyon işlemi sırasındaki sıcaklık nispeten düşük olduğundan ve ekstrakte edilen bileşiklerin stabilitesini etkilemediğinden, soğuk ekstraksiyon tekniği olarak kabul edilmektedir. UDE, toksik kimyasal solventlerin kullanımını azaltma veya ortadan kaldırma potansiyeli gibi çeşitli avantajlara sahiptir ve daha ekonomik bir süreç sunmaktadır. Ayrıca, UDE kullanılarak, ekstraksiyon işlemleri yüksek tekrarlanabilirlik ile birkaç dakika içinde tamamlanabilmekte ve nihai ürüne daha yüksek bir saflık kazandırılabilir (Pan-Utai vd., 2022; Vásquez-Rodríguez vd., 2020). Bununla birlikte, protein ekstraksiyon yöntemi olarak ultrases, çok az miktarda protein geri kazanımı ile sınırlı parçalama verimliliği göstermektedir ve bu nedenle sıklıkla diğer ekstraksiyon teknikleriyle birlikte kullanılmaktadır. Ancak, sıvı ekstraksiyon yöntemine kıyasla yüksek maliyet ve kontrolsüz ultrasonikasyon diğer hücresel bileşenlerin bozulmasına yol açabilme olasılığı, ultrason teknolojisinin kullanım alanını sınırlamaktadır (Samarathunga vd., 2022).

Literatürde, makroalglerden protein ekstraksiyonu için UDE'nin kullanıldığı pek çok çalışma mevcuttur. Örneğin, *Porphyra yezoensis*'te 15 ve 20 kHz'lik ultrases uygulanması sonucunda ekstraksiyon veriminde %50 artış olduğu ve ekstraksiyon süresinde %18 azalma olduğu rapor edilmiştir (Qu vd., 2013). Başka bir çalışmada, UDE ile *Ulva* sp. ve *Gracilaria* sp. makroalglerinden protein ekstraksiyon veriminin sırasıyla %70.0 ve %86.0 olduğu bildirilmiştir (Kazir vd., 2019). Benzer şekilde, Mittal vd. (2017), UDE kullanarak kırmızı makroalglerden fikoeritrin ve fikosiyanın gibi spesifik proteinleri ekstrakte etmiş ve *Gracilaria pusillum*'dan elde

edilen en yüksek fikoeritrin ve fikosiyanın verimini sırasıyla %77.0 ve %93.0 olarak bulmuştur. Ayrıca, Yücepe vd. (2024) enzim desteği ile birlikte uyguladıkları ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon ile *Halopteris scoparia* makroalginden %94.5 verimle protein elde etmiştir.

Sub-kritik su ekstraksiyonu

Sub-kritik su ekstraksiyon (SKSE) tekniği, suyun kısa bir süre (5-10 dakika) kaynama noktasının üzerindeki sıcaklıklarda (100-374 °C) yüksek basınç altında (10-60 bar) sıvı halde tutulmasını gerektirmektedir (Cheng vd., 2021). Bu koşullar altında su benzersiz özellikler göstermektedir; viskozitesi ve yoğunluğu azalırken, çözünürlük ve kütle aktarım hızı artmaktadır. Ayrıca, dielektrik sabiti azalmakta ve hidrojen bağ yapısı zayıflamaktadır. Bu durum, apolar bileşenlerin çözünmesini kolaylaştırmaktadır (Zainan vd., 2022). SKSE’de, çözücü olarak organik çözücü yerine su kullanıldığı için çevre dostu bir ekstraksiyon yöntemi olarak kabul edilmektedir (Bhadange vd., 2024). Atmosfer koşullarındaki çalışmayla karşılaştırıldığında, sub-kritik su ekstraksiyonu ekstraksiyon ve depolimerizasyon için daha hızlı ve daha verimli bir yöntemdir. Sub-kritik ekstraksiyon kimyasal çözücülere ihtiyaç duymadan, kısa sürede, yüksek kalitede ekstrakt elde edilmesini sağlayan bir yeşil teknoloji olmasına rağmen, büyük ölçekte uygulamalarının sınırlı olması ve ısı bozulmaya neden olabilme olasılığından dolayı makroalg protein ekstraksiyonunda kullanımı sınırlıdır (Di Domenico Ziero vd., 2020).

Literatürde makroalglerden protein ekstraksiyonu için SKSE yönteminin kullanıldığı çalışmalar sınırlıdır. Proteinler termal bozunmaya karşı hassas olduğundan SKSE için 130-160 °C’lik bir sıcaklık önerilmektedir (Ho vd., 2007). Pangestuti vd. (2019) kırmızı bir makroalg olan *Hypnea musciformis*’den SKSE yöntemi ile protein ekstrakte etmiş ve yaklaşık 210 °C’lik sıcaklıkta uygulanan işlemin %80.0 oranında protein eldesi sağladığını rapor etmiştir. Literatür incelendiğinde, SKSE uygulanan makroalgler için yapılan çalışmalarda çoğunlukla ekstrakte edilen

bileşiklerin biyoaktif özelliklerine odaklanıldığı görülmektedir (Plaza vd., 2010).

Darbeli elektrik alan

Darbeli elektrik alan (DEA) uygulaması, hücreden biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu kolaylaştıran ve solvent kullanımını azaltan çevre dostu bir teknolojidir (Cermeño vd., 2020; Pliego-Cortés vd., 2020). DEA, mikro ve milisaniyeler arasında değişen sürelerle bir elektrik alanından yüksek voltajlı (kV) elektrik akımları üreterek bir hücre duvarının veya hücre zarının degradasyonunu sağlamaktadır. DEA, dışarıdan gelen elektrik darbelerinin yoğunluğuna, genliğine, süresine, sayısına ve tekrarlanma sıklığına bağlı olarak hücre zarında geri dönüşlü ya da geri dönüşsüz elektroporasyon meydana getirmektedir. Ancak iletkenlik ve elektrot boşluğu, bu teknolojinin ölçeklendirilmesini sınırlayabilecek faktörlerdendir (Okolie vd., 2019). Doğal ürünlerin ekstraksiyonu için genellikle 0.7 ila 3 kV/cm elektrik alan kuvveti, 1 ila 20 kJ/kg spesifik enerji, birkaç yüz darbe ve toplam süre 1 saniyeden kısa olan işlemler kullanılmaktadır (Grosso vd., 2015). DEA, hücre içi içeriklerin (biyoaktif bileşenlerin) salınımını desteklemek için hızlı ve yeşil bir teknoloji olmasına rağmen iletkenlik ve elektrot boşluğu, bu teknolojinin ölçeklendirmesini sınırlayabilecek faktörlerdir (Corrales vd., 2008; Joannes vd., 2015).

DEA, özellikle yeşil makroalglerden protein ekstraksiyonunu geliştirmek için yaygın olarak uygulanmıştır. Polikovskiy vd. (2019), DEA ile birleştirilmiş osmotik şok ve ardından hidrolik pres işlemi kullanarak, *Ulva* sp.’den protein ekstraksiyonunu gerçekleştirmiş ve elde edilen protein miktarının %2.2’den %5.4’e yükseldiğini rapor etmiştir. Başka bir çalışmada da, *Ulva ohnoii*’den protein ekstraksiyonu için DEA uygulanmıştır ve DEA uygulandıktan sonra elde edilen protein verimi %3.2’den %14.9’a çıkarılmıştır (Prabhu vd., 2019). Robin vd. (2018), *Ulva* sp.’den protein ekstraksiyonu için mekanik presleme ile birleştirilmiş DEA kullanmıştır ve ozmotik şok kullanılarak elde edilen bir ekstrakt ile karşılaştırıldığında protein veriminde (ekstrede ~%20.0 protein) yedi kat artış meydana geldiğini

rapor etmiştir. Ancak, Postma vd. (2018), *U. lactuca*'dan DEA (2 darbe, 3 kV) kullanarak yalnızca %15.1 protein verimi elde ederken, osmotik şok kullanarak %20.0 protein elde etmiştir. Ayrıca, bu çalışmada 3 ve 5 kV/cm elektrik alanı kuvvetlerinde ve kısa atım süresinde (0.05 ms), 7.5 kV/cm elektrik kuvveti alanına ve daha uzun atım süresine (0.5 ve 5 ms) kıyasla daha yüksek protein verimi sağlandığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak, DEA potansiyel olarak, makroalglerden protein ekstraksiyonuna yardımcı olmaktadır, ancak optimize edilmiş hücre degradasyonunu kolaylaştırmak ve ekstraksiyon verimini artırmak için farklı operasyonel parametrelerin optimize edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle DEA biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon verimini artırmak için bir ön işlem olarak kullanılmaktadır (de Souza Celente vd., 2023; Prabhu vd., 2019).

Yüksek hidrostatik basınç

Yüksek hidrostatik basınç (YHB), biyolojik dokuların degradasyonuna neden olan sıvı basınçlandırmasının (1000 bar'a kadar) bir sonucu olarak ekstraksiyon verimliliğini artırmaktadır (Silva vd., 2020). YHB işlemi sırasında ekstraksiyon verimini etkileyen faktörler arasında sıvı/çözücü sisteminin seçimi ile birlikte çalışma basıncı, sıcaklık ve süre sayılabilmektedir (Xi, 2017). YHB, nispeten kısa işlem süresi, ılımlı çalışma sıcaklığı ve yüksek geri kazanım verimleri nedeniyle etkili bir çevre dostu ekstraksiyon teknolojisi olarak kabul edilmektedir (Echave vd., 2021). Ancak, pahalı bir yöntem olmasından dolayı makroalglerden protein ekstraksiyonunda kullanımı sınırlıdır (Postma vd., 2018).

Literatürde YHB destekli ekstraksiyonun, proteinlerde basınca bağlı konformasyonel değişim/denatürasyon meydana getirmesi nedeniyle sınırlı olduğu görülmektedir. Örneğin, O' Connor vd. (2020), YHB ön işlemi (600 MPa, 4 dk) kullanılarak *Fucus vesiculosus* (%23.7), *Alaria esculenta* (%15.0), *P. palmata* (%14.9) ve *Chondrus crispus*'tan (%16.1) protein ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir ve YHB'nin geleneksel yöntemlere (otoklav veya osmotik şok+sonikasyon+dondurma+çözdürme+tuzlam a) kıyasla ekstrakte edilen protein miktarını

artırmadığını rapor etmiştir. Protein ekstraksiyonunda geleneksel yöntemle karşılaştırıldığında, YHB'nin ekstraksiyon veriminin daha düşük olması, hücre duvarı degradasyonunu artırması için daha fazla basamak içermesine atfedilebilmektedir (Cermeño vd., 2020).

YHB'nin diğer ekstraksiyon teknikleriyle, özellikle de YHB destekli enzimatik ekstraksiyon ile kombinasyonu da araştırılmıştır. *P. palmata*'dan protein ekstraksiyonunu için tek başına YHB uygulaması (20 dakika boyunca 400 MPa) ekstraksiyon verimini artırmazken, selülaz ve hemiselülaz ile YHB destekli ekstraksiyon önemli ölçüde verim artışı sağlamıştır (Suwal vd., 2019).

SONUÇ VE GELECEK TRENDLER

Makroalgler, protein, vitamin ve mineraller açısından zengin olmaları nedeniyle alternatif ve sürdürülebilir bir gıda kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Özellikle protein içeriği bakımından, hayvansal ve bitkisel kaynaklarla karşılaştırıldığında, kırmızı makroalgler %10 ile %47 arasında yüksek protein oranları sunmaktadır. Makroalglerin protein içeriği; toplandıkları mevsim, yetiştikleri coğrafi bölge ve iklim koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Bu bağlamda, kırmızı bir makroalg türü olan *Porphyra tenera* (nori), kuru ağırlık bazında %47'ye ulaşan protein içeriği ile en yüksek protein oranına sahip makroalglerden biri olarak kabul edilmektedir. Protein sindirilebilirliği açısından da kırmızı makroalglerin daha yüksek sindirilebilirlik sunduğu, özellikle *Hypnea* türlerinin %88.7-88.9 oranında sindirilebilirliğe sahip olduğu bilinmektedir. Makroalgal proteinlerin sindirilebilirliği bitkisel proteinlere benzerlik gösterse de, bu proteinlerin *in vivo* biyoyararlanımı hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Makroalgal proteinlerin farmasötik, nutrasötik, kozmetik veya gıda-yem uygulamalarında kullanılabilmesi için uygun ekstraksiyon işlemlerinin kullanılarak yüksek verimde elde edilmeleri gerekmektedir. Bununla birlikte, makroalglerin polisakkarit açısından zengin hücre duvarları, protein ekstraksiyonunu zorlaştıran başlıca etkenlerden biridir. Hücre duvarı parçalama tekniklerinin kullanılması,

makroalgal proteinlerin başarılı bir şekilde ekstrakte edilmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Geleneksel hücre parçalama tekniklerinin yüksek enerji ve çözücü gereksinimleri ile zaman alıcı olmaları, yeni ekstraksiyon tekniklerine olan ihtiyacı artırmıştır. DEA, YHB, SKSE, UDE ve EDE gibi çeşitli yöntemler makroalgal protein ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Yapılan incelemelerde, enzim destekli ve ultrases destekli makroalgal protein ekstraksiyonunda elde edilen verimin, diğer yöntemlere göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan parametrelerin optimizasyonu, verimi etkileyen diğer bir önemli faktör olarak öne çıkmaktadır.

Bu derleme çalışmasında, makroalgal proteinlerin gıda kaynağı olarak kullanım potansiyeli tartışılmıştır. Ayrıca, farklı protein ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması yoluyla yüksek verimle elde edilebilirliklerine dair önemli veriler sunulmuştur. Ancak, makroalgal proteinlerin ticari protein pazarına girebilmesi için yasal düzenlemeler ve tüketici kabulü konularının ele alınması gerekmektedir. Ek olarak, makroalgal protein ekstraksiyon çalışmaları çoğunlukla laboratuvar ölçeğinde gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle, gelecekte yapılacak çalışmaların endüstriyel ölçekte üretim sağlamak amacıyla ölçek büyütme çalışmalarına odaklanması önem arz etmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

YAZARLARIN KATKISI

Tüm yazarlar makalenin hazırlanması, yazımı ve yayınlanmasına katkıda bulunmuşlardır.

KAYNAKÇA

Agrawal, S. B., Gupta, N., Bhagyawant, S. S., Gaikwad, S. M. (2020). Anticancer Activity of Lectins from Bauhinia purpurea and Wisteria floribunda on Breast Cancer MCF-7 Cell Lines. *Protein and Peptide Letters*, 27(9), 870–877. <https://doi.org/10.2174/0929866527666200408143614>

Ahmed, M. N., Jahan, R., Nissapatorn, V., Wilairatana, P., Rahmatullah, M. (2022). Plant lectins as prospective antiviral biomolecules in the search for COVID-19 eradication strategies. *Biomedecine & Pharmacotherapie*, 146(112507), 112507. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112507>

Bashir, N., Sood, M., Bandral, J. D. (2020). Enzyme immobilization and its applications in food processing: A review. *Int. J. Chem. Stud*, 8(2), 254–261. <https://www.academia.edu/download/83065850/8-1-503-295.pdf>

Bhadange, Y. A., Carpenter, J., Saharan, V. K. (2024). A comprehensive review on advanced extraction techniques for retrieving bioactive components from natural sources. *ACS Omega*, 9(29), 31274–31297. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c02718>

Biris-Dorhoi, E.-S., Michiu, D., Pop, C. R., Rotar, A. M., Tofana, M., Pop, O. L., Socaci, S. A., Farcas, A. C. (2020). Macroalgae-A sustainable source of chemical compounds with biological activities. *Nutrients*, 12(10), 3085. <https://doi.org/10.3390/nu12103085>

Bleakley, S., Hayes, M. (2017). Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. *Foods (Basel, Switzerland)*, 6(5). <https://doi.org/10.3390/foods6050033>

Bringloe, T. T., Starko, S., Wade, R. M., Vieira, C., Kawai, H., De Clerck, O., Cock, J. M., Coelho, S. M., Destombe, C., Valero, M., Neiva, J., Pearson, G. A., Faugeron, S., Serrão, E. A., Verbruggen, H. (2020). Phylogeny and evolution of the brown algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(4), 281–321. <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1787679>

Cai, J., Lovatelli, A., Aguilar-Manjarrez, J., Cornish, L., Dabbadie, L., Desrochers, A., Diffey, S., Garrido Gamarro, E., Geehan, J., Hurtado, A., Lucente, D., Mair, G., Miao, W., Potin, P., Przybyla, C., Reantaso, M., Roubach, R., Tauati, M., Yuan, X. (2021). *Seaweeds and microalgae: An overview for unlocking their potential in global aquaculture development* (Food and Agriculture Organization, Ed.). Food & Agriculture Organization of the UN. <https://doi.org/10.4060/cb5670en>

- Cermeño, M., Kleekayai, T., Amigo-Benavent, M., Harnedy-Rothwell, P., FitzGerald, R. J. (2020). Current knowledge on the extraction, purification, identification, and validation of bioactive peptides from seaweed. *Electrophoresis*, 41(20), 1694–1717. <https://doi.org/10.1002/elps.202000153>
- Cheng, Y., Xue, F., Yu, S., Du, S., Yang, Y. (2021). Subcritical Water Extraction of Natural Products. *Molecules*, 26(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26134004>
- Christou, A., Stavrou, I. J., Kapnissi-Christodoulou, C. P. (2021). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extraction of carob's antioxidants: Processing parameters optimization and identification of polyphenolic composition. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76(105630), 105630. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105630>
- Circuncisão, A. R., Catarino, M. D., Cardoso, S. M., Silva, A. M. S. (2018). Minerals from Macroalgae Origin: Health Benefits and Risks for Consumers. *Marine Drugs*, 16(11). <https://doi.org/10.3390/md16110400>
- Corino, C., Modina, S. C., Di Giancamillo, A., Chiapparini, S., Rossi, R. (2019). Seaweeds in pig nutrition. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 9(12), 1126. <https://doi.org/10.3390/ani9121126>
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies: IFSET: The Official Scientific Journal of the European Federation of Food Science and Technology*, 9(1), 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.002>
- Cotas, J., Leandro, A., Pacheco, D., Gonçalves, A. M. M., Pereira, L. (2020). A comprehensive review of the nutraceutical and therapeutic applications of red seaweeds (Rhodophyta). *Life (Basel, Switzerland)*, 10(3), 19. <https://doi.org/10.3390/life10030019>
- de Souza Celente, G., Sui, Y., Acharya, P. (2023). Seaweed as an alternative protein source: Prospective protein extraction technologies. *Innovative Food Science & Emerging Technologies: IFSET: The Official Scientific Journal of the European Federation of Food Science and Technology*, 86(103374), 103374. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103374>
- Di Domenico Ziero, H., Buller, L. S., Mudhoo, A., Ampese, L. C., Mussatto, S. I., Carneiro, T. F. (2020). An overview of subcritical and supercritical water treatment of different biomasses for protein and amino acids production and recovery. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 104406. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104406>
- Domozych, D. (2019). Algal Cell Walls. In *eLS* (pp. 1–11). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000315.pub4>
- Dopelt, K., Radon, P., Davidovitch, N. (2019). Environmental Effects of the Livestock Industry: The Relationship between Knowledge, Attitudes, and Behavior among Students in Israel. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/ijerph16081359>
- Echave, J., Fraga-Corral, M., Garcia-Perez, P., Popović-Djordjević, J., H Avdović, E., Radulović, M., Xiao, J., A Prieto, M., Simal-Gandara, J. (2021). Seaweed Protein Hydrolysates and Bioactive Peptides: Extraction, Purification, and Applications. *Marine Drugs*, 19(9). <https://doi.org/10.3390/md19090500>
- Echave, J., Otero, P., Garcia-Oliveira, P., Munekata, P. E. S., Pateiro, M., Lorenzo, J. M., Simal-Gandara, J., Prieto, M. A. (2022). Seaweed-derived proteins and peptides: Promising marine bioactives. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(1), 176. <https://doi.org/10.3390/antiox11010176>
- Fao, F. (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fasolin, L. H., Pereira, R. N., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Andrade, C. C. P., Ramos, O. L., Vicente, A. A. (2019). Emergent food proteins - Towards sustainability, health and innovation.

- Food Research International*, 125(108586), 108586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108586>
- Ferdouse, F., Løvstad Holdt, S., Smith, R., Murúa, P., Yang, L. (2018). *The global status of seaweed production, trade and utilization. Globefish Research Programme Volume 124*. <https://policycommons.net/artifacts/2242866/the-global-status-of-seaweed-production-trade-and-utilization/3000967/>
- Garcia-Vaquero, M., Ummat, V., Tiwari, B., Rajauria, G. (2020). Exploring Ultrasound, Microwave and Ultrasound–Microwave Assisted Extraction Technologies to Increase the Extraction of Bioactive Compounds and Antioxidants from Brown Macroalgae. *Marine Drugs*, 18(3), 172. <https://doi.org/10.3390/md18030172>
- Gaspar, R., Fonseca, R., Pereira, L. (2020). Illustrated Guide to the Macroalgae of Buarcos Bay, Figueira da Foz, Portugal. *MARE UC, DCV, FCT*.
- Gomez-Zavaglia, A., Prieto Lage, M. A., Jimenez-Lopez, C., Mejuto, J. C., Simal-Gandara, J. (2019). The Potential of Seaweeds as a Source of Functional Ingredients of Prebiotic and Antioxidant Value. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(9). <https://doi.org/10.3390/antiox8090406>
- Gordalina, M., Pinheiro, H. M., Mateus, M., da Fonseca, M. M. R., Cesário, M. T. (2021). Macroalgae as protein sources—A review on protein bioactivity, extraction, purification and characterization. *Applied Sciences (Basel, Switzerland)*, 11(17), 7969. <https://doi.org/10.3390/app11177969>
- Grosso, C., Valentão, P., Ferreres, F., Andrade, P. B. (2015). Alternative and efficient extraction methods for marine-derived compounds. *Marine Drugs*, 13(5), 3182–3230. <https://doi.org/10.3390/md13053182>
- Harnedy, P. A., FitzGerald, R. J. (2011). Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae(1). *Journal of Phycology*, 47(2), 218–232. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00969.x>
- Harnedy, P. A., FitzGerald, R. J. (2013). Extraction of protein from the macroalga *Palmaria palmata*. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.023>
- Ho, C. H. L., Cacace, J. E., Mazza, G. (2007). Extraction of lignans, proteins and carbohydrates from flaxseed meal with pressurized low polarity water. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), 1637–1647. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.12.003>
- Ji, L., Qiu, S., Wang, Z., Zhao, C., Tang, B., Gao, Z., Fan, J. (2023). Phycobiliproteins from algae: Current updates in sustainable production and applications in food and health. *Food Research International*, 167, 112737. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112737>
- Joannes, C., Sipaut, C. S., Dayou, J., Mansa, R. F. (2015). The potential of using pulsed electric field (PEF) technology as the cell disruption method to extract lipid from microalgae for biodiesel production. *International Journal of Renewable Energy Research*, 5(2), 598–621. <https://dergipark.org.tr/en/pub/ijrer/issue/16071/167979>
- Kadam, S., Álvarez, C., Tiwari, B., O'Donnell, C. (2015). Extraction of biomolecules from seaweeds. *Seaweed Sustainability*, 243–269. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418697-2.00009-X>
- Kamal, M., Abdel-Raouf, N., Alwutayd, K., AbdElgawad, H., Abdelhameed, M. S., Hammouda, O., Elsayed, K. N. M. (2023). Seasonal changes in the biochemical composition of dominant macroalgal species along the Egyptian Red Sea shore. *Biology*, 12(3), 411. <https://doi.org/10.3390/biology12030411>
- Kazir, M., Abuhassira, Y., Robin, A., Nahor, O., Luo, J., Israel, A., Golberg, A., Livney, Y. D. (2019). Extraction of proteins from two marine macroalgae, *Ulva* sp. and *Gracilaria* sp., for food application, and evaluating digestibility, amino acid composition and antioxidant properties of the protein concentrates. *Food Hydrocolloids*, 87, 194–203.
- Konstantin, B., Anastasia, P., Nikolay, I., Daria, P. (2023). Seasonal variations in the chemical composition of Arctic brown macroalgae. *Algal*

- Research*, 72(103112), 103112. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103112>
- Lakshmi, D. S., Sankaranarayanan, S., Gajaria, T. K., Li, G., Kujawski, W., Kujawa, J., Navia, R. (2020). A Short Review on the Valorization of Green Seaweeds and Ulvan: FEEDSTOCK for Chemicals and Biomaterials. *Biomolecules*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/biom10070991>
- Machado, M., Machado, S., Pimentel, F. B., Freitas, V., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P. (2020). Amino acid profile and protein quality assessment of macroalgae produced in an integrated multi-trophic aquaculture system. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(10), 1382. <https://doi.org/10.3390/foods9101382>
- Magpusao, J., Oey, I., Kebede, B. (2021). *Opportunities and challenges of algal protein extraction and production*.
- Meng, W., Mu, T., Sun, H., Garcia-Vaquero, M. (2022). Evaluation of the chemical composition and nutritional potential of brown macroalgae commercialised in China. *Algal Research*, 64, 102683. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102683>
- Mittal, R., Tavanandi, H. A., Mantri, V. A., Raghavarao, K. S. M. S. (2017). Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phycobiliproteins from marine macro-algae, *Gelidium pusillum* (Rhodophyta). *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 92–103. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.02.030>
- Nadathur, S., Wanasundara, J. P. D., Scanlin, L. (2024). Feeding the globe nutritious food in 2050: Obligations and ethical choices. In S. Nadathur, J. P. D. Wanasundara, & L. Scanlin (Eds.), *Sustainable Protein Sources* (pp. 649–668). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91652-3.00032-0>
- Nan, F., Feng, J., Lv, J., Liu, Q., Fang, K., Gong, C., Xie, S. (2017). Origin and evolutionary history of freshwater Rhodophyta: further insights based on phylogenomic evidence. *Scientific Reports*, 7(1), 2934. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03235-5>
- Naseri, A., Marinho, G. S., Holdt, S. L., Bartela, J. M., Jacobsen, C. (2020). Enzyme-assisted extraction and characterization of protein from red seaweed *Palmaria palmata*. *Algal Research*, 47, 101849. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101849>
- O' Brien, R., Hayes, M., Sheldrake, G., Tiwari, B., Walsh, P. (2022). Macroalgal Proteins: A Review. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/foods11040571>
- O' Connor, J., Meaney, S., Williams, G. A., Hayes, M. (2020). Extraction of protein from four different seaweeds using three different physical pre-treatment strategies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(8), 2005. <https://doi.org/10.3390/molecules25082005>
- O'Connor, J., Garcia-Vaquero, M., Meaney, S., Tiwari, B. K. (2022). Bioactive Peptides from Algae: Traditional and Novel Generation Strategies, Structure-Function Relationships, and Bioinformatics as Predictive Tools for Bioactivity. *Marine Drugs*, 20(5). <https://doi.org/10.3390/md20050317>
- Okolie, C. L., Akanbi, T. O., Mason, B., Udenigwe, C. C., Aryee, A. N. A. (2019). Influence of conventional and recent extraction technologies on physicochemical properties of bioactive macromolecules from natural sources: A review. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 116, 827–839. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.018>
- Paiva, L., Lima, E., Patarra, R. F., Neto, A. I., Baptista, J. (2014). Edible Azorean macroalgae as source of rich nutrients with impact on human health. *Food Chemistry*, 164, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.119>
- Pangestuti, R., Getachew, A. T., Siahaan, E. A., Chun, B.-S. (2019). Characterization of functional materials derived from tropical red seaweed *Hypnea musciformis* produced by subcritical water extraction systems. *Journal of Applied Phycology*, 31(4), 2517–2528. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-1754-9>
- Pan-Utai, W., Pantoa, T., Roytrakul, S., Praiboon, J., Kosawatpat, P., Tamtin, M., Thongdang, B. (2022). Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant potential of valuable protein from

- Ulva rigida macroalgae. *Life (Basel, Switzerland)*, 13(1), 86. <https://doi.org/10.3390/life13010086>
- Peñalver, R., Lorenzo, J. M., Ros, G., Amarowicz, R., Pateiro, M., Nieto, G. (2020). Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. *Marine Drugs*, 18(6), 301. <https://doi.org/10.3390/md18060301>
- Pereira, L. (2021a). *Edible seaweeds of the world*. CRC Press.
- Pereira, L. (2021b). Macroalgae. *Encyclopedia*, 1(1), 177–188. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia1010017>
- Pimentel, F. B., Alves, R. C., Harnedy, P. A., FitzGerald, R. J., Oliveira, M. B. P. P. (2019). Macroalgal-derived protein hydrolysates and bioactive peptides: Enzymatic release and potential health enhancing properties. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 106–124. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.006>
- Plaza, M., Amigo-Benavent, M., del Castillo, M. D., Ibáñez, E., Herrero, M. (2010). Facts about the formation of new antioxidants in natural samples after subcritical water extraction. *Food Research International*, 43(10), 2341–2348. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.036>
- Pliego-Cortés, H., Wijesekara, I., Lang, M., Bourougnon, N., Bedoux, G. (2020). Chapter Nine - Current knowledge and challenges in extraction, characterization and bioactivity of seaweed protein and seaweed-derived proteins. In N. Bourougnon (Ed.), *Advances in Botanical Research* (Vol. 95, pp. 289–326). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.11.008>
- Polikovskiy, M., Fernand, F., Sack, M., Frey, W., Müller, G., Golberg, A. (2019). In silico food allergenic risk evaluation of proteins extracted from macroalgae Ulva sp. with pulsed electric fields. *Food Chemistry*, 276, 735–744. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.134>
- Postma, P. R., Cerezo-Chinarro, O., Akkerman, R. J., Olivieri, G., Wijffels, R. H., Brandenburg, W. A., Eppink, M. H. M. (2018). Biorefinery of the macroalgae Ulva lactuca: extraction of proteins and carbohydrates by mild disintegration. *Journal of Applied Phycology*, 30(2), 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1319-8>
- Prabhu, M. S., Levkov, K., Livney, Y. D., Israel, A., Golberg, A. (2019). High-voltage pulsed electric field preprocessing enhances extraction of starch, proteins, and ash from marine macroalgae Ulva obnoi. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(20), 17453–17463. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b04669>
- Praveen, M. A., Parvathy, K. R. K., Balasubramanian, P., Jayabalan, R. (2019). An overview of extraction and purification techniques of seaweed dietary fibers for immunomodulation on gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*, 92, 46–64. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.011>
- Puzorjov, A., McCormick, A. J. (2020). Phycobiliproteins from extreme environments and their potential applications. *Journal of Experimental Botany*, 71(13), 3827–3842. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa139>
- Qu, W., Ma, H., Wang, T., Zheng, H. (2013). Alternating two-frequency countercurrent ultrasonic-assisted extraction of protein and polysaccharide from Porphyra yezoensis. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering/Nongye Gongcheng Xuebao*, 29(1), 285–292.
- Rawiwan, P., Peng, Y., Paramayuda, I. G. P. B., Quek, S. Y. (2022). Red seaweed: A promising alternative protein source for global food sustainability. *Trends in Food Science & Technology*, 123, 37–56. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.003>
- Robin, A., Kazir, M., Sack, M., Israel, A., Frey, W., Mueller, G., Livney, Y. D., Golberg, A. (2018). Functional protein concentrates extracted from the Green marine macroalga Ulva sp., by high voltage pulsed electric fields and mechanical press. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(11), 13696–13705. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b01089>
- Ruslan, F. S., Susanti, D., Mohammad Noor, N., Aminudin, N. I. (2021). Bioactive Compounds, Cosmeceutical And Nutraceutical Applications of Green Seaweed Species (Chlorophyta).

- SQUALEN Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 16(1), 41–55. <https://doi.org/10.15578/squaleen.514>
- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Seca, A. M. L., Pinto, D. C. G. A., Michalak, I., Trincone, A., Mishra, A. P., Nigam, M., Zam, W., Martins, N. (2019). Current Trends on Seaweeds: Looking at Chemical Composition, Phytopharmacology, and Cosmetic Applications. *Molecules*, 24(22). <https://doi.org/10.3390/molecules24224182>
- Samarathunga, J., Wijesekara, I., Jayasinghe, M. (2022). Seaweed proteins as a novel protein alternative: Types, extractions, and functional food applications. *Food Reviews International*, 1–26. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2023564>
- Silva, A., Silva, S. A., Lourenço-Lopes, C., Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Gullón, P., Fraga-Corral, M., Domingues, V. F., Barroso, M. F., Simal-Gandara, J., Prieto, M. A. (2020). Antibacterial use of macroalgae compounds against foodborne pathogens. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(10), 712. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100712>
- Suwal, S., Perreault, V., Marciniak, A., Tamigneaux, É., Deslandes, É., Bazinet, L., Jacques, H., Beaulieu, L., Doyen, A. (2019). Effects of high hydrostatic pressure and polysaccharidases on the extraction of antioxidant compounds from red macroalgae, *Palmaria palmata* and *Solieria chordalis*. *Journal of Food Engineering*, 252, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.014>
- Thiviya, P., Gamage, A., Gama-Arachchige, N. S., Merah, O., Madhujith, T. (2022). Seaweeds as a source of functional proteins. *Phycology*, 2(2), 216–243. <https://doi.org/10.3390/phycolgy2020012>
- Tibbetts, S. M., Milley, J. E., Lall, S. P. (2016). Nutritional quality of some wild and cultivated seaweeds: Nutrient composition, total phenolic content and in vitro digestibility. *Journal of Applied Phycology*, 28(6), 3575–3585. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0863-y>
- Titlyanov, E. A., Titlyanova, T. V. (2010). Seaweed cultivation: Methods and problems. *Russian Journal of Marine Biology*, 36(4), 227–242. <https://doi.org/10.1134/S1063074010040012>
- Vásquez, V., Martínez, R., Bernal, C. (2019). Enzyme-assisted extraction of proteins from the seaweeds *Macrocystis pyrifera* and *Chondracanthus chamissoi*: characterization of the extracts and their bioactive potential. *Journal of Applied Phycology*, 31(3), 1999–2010. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1712-y>
- Vázquez-Rodríguez, B., Gutiérrez-Urbe, J. A., Antunes-Ricardo, M., Santos-Zea, L., Cruz-Suárez, L. E. (2020). Ultrasound-assisted extraction of phlorotannins and polysaccharides from *Silvetia compressa* (Phaeophyceae). *Journal of Applied Phycology*, 32(2), 1441–1453. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-02013-2>
- Xi, J. (2017). Ultrahigh pressure extraction of bioactive compounds from plants-A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1097–1106. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.874327>
- Xie, C., Lee, Z. J., Ye, S., Barrow, C. J., Dunshea, F. R., Suleria, H. A. R. (2024). A review on seaweeds and seaweed-derived polysaccharides: Nutrition, chemistry, bioactivities, and applications. *Food Reviews International*, 40(5), 1312–1347. <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2212055>
- Yüce-tepe, A., Aydar, E. F., Dogu-Baykut, E., Dinç, H., Onat, İ. A., Demircan, E., Şensu, E., Okudan, E. Ş., Özçelik, B. (2024). Optimization of protein extraction from *Halopteris scoparia* macroalgae by ultrasonic-assisted enzymatic extraction (UAEE): Bioactive, chemical, and technological properties. *ACS Food Science & Technology*, 4(6), 1375–1387. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.4c00032>
- Zainan, N. H., Sapardi, M. A. M., Ho, B. C. H., Siajam, S. I., Kamal, S. M. M., Danquah, M. K., Harun, R. (2022). Kinetic and thermodynamic characterization of amino acids generation via subcritical water reaction of microalgae *Nannochloropsis* sp. biomass. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(6), 2001–2014. <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00538-7>



GÖLEVEZ (*COLOCASIA ESCULENTA (L.) SCHOTT*): BESLENME VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ

Suhide Bilge HORZUM^{1*}, Ebru BAYRAK²

¹ Konya Selçuklu İlçe Sağlık Müdürlüğü, Konya, Türkiye

² Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik bölümü, Beslenme ve Diyetetik Programı, Konya, Türkiye

Geliş/Received: 11.09.2024; Kabul /Accepted: 29.11.2024; Online baskı /Published online: 02.12.2024

Horzum, B. S., Bayrak, E. (2024). Gölevez (*Colocasia esculenta (L.) schott*): Beslenme ve sağlık üzerine etkisi. GIDA (2024) 49 (6) 1190-1205 doi: 10.15237/ gida.GD24095

Horzum, B. S., Bayrak, E. (2024). Taro (*Colocasia esculenta (l.) schott*): Effects on nutrition and health. GIDA (2024) 49 (6) 1190-1205 doi: 10.15237/ gida.GD24095

ÖZ

Gölevez (*Colocasia Esculenta (L.) Schott*), yenilebilir soğanları ve yaprakları için yetiştirilen en eski kültür bitkilerinden birisidir. Gölevez; kalo, kolakas, dasheen, eddoe, malanga, cocoyam, fil kulağı, taro olarak da bilinmektedir. Sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum, fosfor, demir, çinko, bakır minerallerine ilaveten B₁, B₂, B₆ ve C vitamininin önemli bitkisel kaynağı olduğu belirtilmektedir. Yüksek oranda nişasta içeren tropikal bir yumru mahsul olan gölevezde bulunan nişasta granüllerinin küçük boyutu gölevezin sindirilebilirliğini artırmaktadır. Gölevez; aynı zamanda ikincil metabolitler olan flavonoid, kampesterol, stigmasterol, β-sitosterol gibi biyoaktif bileşenlerden de zengindir. Bu sebeple antioksidan, antitümöral, antimetastatik, antimutajenik, antihiperglisemik ve antihiperkolesterolemik biyoaktiviteler göstermektedir. Gölevezin makro ve mikro besin ögesi kompozisyonu, beslenme ve sağlık üzerindeki rolü bu makalede derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Gölevez, beslenme, sağlık

TARO (*COLOCASIA ESCULENTA (L.) SCHOTT*): EFFECTS ON NUTRITON AND HEALTH

ABSTRACT

Taro (*Colocasia Esculenta (L.) Schott*) is one of the oldest cultivated plants grown for its edible bulbs and leaves. Taro is also known as kalo, kolakas, dasheen, eddoe, malanga, cocoyam and elephant ear. It is stated that it is an important herbal source of vitamins B₁, B₂, B₆ and C in addition to the minerals sodium, potassium, magnesium, calcium, phosphorus, iron, zinc and copper. The small size of the starch granules in taro, a tropical tuber crop containing high amounts of starch, increases digestibility. Taro; it is also rich in bioactive components such as flavonoids, campesterol, stigmasterol and β-sitosterol, which are secondary metabolites. For this reason, it shows bioactivities antioxidant, antitumor, antimetastatic, antimutagenic, antihyperglycemic and anti-hypercholesterolemic. The nutrient composition of kelp and its role in nutrition and health are compiled in this article.

Keywords: Taro, nutrition, health

* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: sbilgedeniz@gmail.com

☎: (+90) 332 310 4864

Suhide Bilge Horzum; ORCID no: 0000-0003-0735-6010

Ebru Bayrak; ORCID no: 0000-0001-7279-3255

GİRİŞ

Biyosferde yenilebilir olduğu düşünülen 30.000'den fazla bitki türü bulunmaktadır (Fufa vd., 2022). Değişen iklim, artan dünya nüfusu ve gıda üretimine ayrılan ekilebilir arazilerin azalması, gıda güvenliğinin karşı karşıya olduğu sorunlar olarak görülmektedir. Bölgenin iklim ve toprak yetiştirme koşullarında ürün verebilecek mahsullerin geliştirilmesi, bu sorunların azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Mısır, pirinç, buğday gibi başlıca mahsullerin küresel gıda üretiminin büyük bir kısmından sorumlu olduğu bilinmektedir. Ancak börülce, gölevez [*Colocasia esculenta* var. *esculenta* (L.) Schott] gibi üzerinde yeterince çalışılmamış pek çok mahsul "yetim ürün" veya "geleceğin mahsulleri" olarak tanımlanmaktadır (Tadele, 2018). Yetim ürün tipik olarak uluslararası ticareti yapılmayan ancak bölgesel gıda güvenliğinde önemli rol oynayabilen anlamı taşımaktadır (Matthews ve Ghanem 2020). Afrika Yetim Mahsulleri Konsorsiyumu (AOCC), gölevez yerel beslenme açısından önemli kabul edilen 101 geleneksel yetim ürün arasında listelemektedir (African Orphan Crops Consortium, 2023). Gölevezin; glutensiz yetim gıdaların geliştirilmesi, pazara farklı glutensiz ürünlerin sürülmesi, protein kaynağı ve yüksek lif içeriği sunması sebebiyle iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Gelecekteki araştırmalar; bitkisel kaynaklardan yüksek proteinli gıdalar elde edilmesini sağlayacak olan gölevez unundan gıdalar formüle edebilir (Cadena vd., 2023).

Gölevez, dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yetişen dik, yumrulu, çok yıllık bir bitkidir ve gölevezin çok uzun bir geçmişi olduğu bilinmektedir. Çin kitaplarında M.Ö. 100 gibi erken bir tarihte göleveze ait bilgilerin yer aldığı tespit edilmiştir (Sharma vd., 2020). Asya ve Afrika'da yaygın olarak yetiştirilmekte olan gölevez; kalo, kolakas, dasheen, fil kulağı, taro olarak da bilinmektedir (Donkor vd., 2023). *Araceae* familyasının *Colocasia* cinsine ait çok yıllık bir bitki olan gölevez birçok küçük ölçekli çiftçi için önemli bir tarım ürünüdür ve genellikle nişastalı soğanı için tüketilmektedir. Dünyanın bazı bölgelerinde gölevezin soğanları

karbonhidrat kaynağı, yaprakları ise sebze olarak tüketilmektedir (Oladimeji vd., 2022).

Genetik evrimi hala belirsiz olan gölevezin antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik, antidiyabetik, antikarsinojenik, hepatoprotektif, immün koruyucu ve antimikrobiyal etkiler gösterdiği çalışmalarla ortaya konmuştur (Devi vd., 2022, Baro vd., 2023; Cahyani vd., 2023; Patel vd., 2023). Gölevezin içerdiği ikincil metabolitler sayesinde sergilediği antitümöral, antimetastatik, antifungal, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler; hem gıda hem de ilaç endüstrisi tarafından tercih edilmesini sağlamıştır (Elmosallamy vd., 2021; Baltazar-Bernal vd., 2022). Bu derlemede, gölevezin makro ve mikro besin ögesi kompozisyonu, beslenme ve sağlık üzerindeki rolünü değerlendirmek ve vurgulamak amaçlanmaktadır.

GÖLEVEZİN TAKSONOMİSİ VE ÜRETİMİ

En az 100 cins ve 1500'den fazla türden oluşan *Araceae* familyasının bir üyesi olarak bilinen gölevez; Karayipler ve Batı Afrika'da taro, dasheen, eddoe, malanga ve cocoyam olarak bilinmektedir. Dünya çapında *Colocasia esculenta* var. *esculenta* (Dashen tipi) ve *Colocasia esculenta* var. *antiquorum* (Eddoe tipi) olmak üzere iki gölevez türü yetiştirilmektedir (Mandal vd., 2013). Dashen tipi vantuzlu büyük merkezi soğanlara sahipken Eddoe tipi gölevezlerin küçük merkezi bir soğanı ve çok sayıda küçük soğanları bulunmaktadır. Gölevezin dış derisi kahverengi, iç kısmı ise küçük mor lekelerden oluşan beyaz renkli tropikal bir mahsuldür. Pişirildiğinde hafif tatlı bir tada sahip olup patates benzeri bir kıvamı olduğu belirtilmektedir (Otekurin vd., 2021). Gölevez 1-2 metre yüksekliğe kadar büyüeyebilen çok yıllık tek çenekli bir bitkidir ancak 5-12 aylık büyümeden sonra hasat edilebilmektedir. Kalp şeklinde yeşil yapraklar, uzun saplar, lifli kökler içermektedir (Rashmi vd., 2018).

Afrika, Amerika, Asya ve Okyanusya'da bulunan 47 büyük ülkede gölevez üretimi gerçekleştirilmektedir. Nijerya'nın, 2019 yılında yaklaşık 2.86 milyon ton ve dünyada toplam üretiminin %27.14'lük payı ile küresel olarak en

büyük gölevez üreticisi olduğu bildirilirken Maldivler'in 8 tonla en az üretim seviyesine sahip olduğu belirtilmiştir. Küresel olarak, hasat edilen toplam alan açısından gölevez üretimi 2000'de 1.4 milyon tondan 2019'da 1.96 milyon tona çıkmıştır. 2019 yılında en yüksek ortalama gölevez verimi; Asya'da Filistin'den, Afrika'da Madagaskar'dan, Amerika'da St. Lucia'da, Okyanusya'da ise Kiribati'den elde edilmiştir. Gıda ve Tarım Örgütü'nün Birleşmiş Milletler Kurumsal İstatistik Veritabanı (FAOSTAT) 2021 raporuna göre ise, küresel gölevez üretimi 2000 yılında 9.76 milyon ton iken 2019'da 10.54 milyon tona ulaşmış olup üretimde ilk dört sırada Nijerya, Kamerun, Çin ve Gana yer almıştır (FAOSTAT, 2021).

Diğer birçok kök ve yumru bitkisi gibi gölevez de vejetatif olarak çoğaltılmaktadır (Mandal vd., 2013; Legesse vd., 2021). Ekim, vejetatif dönem, olgunlaşma başlangıcı, olgunluk yoluyla hacim kazanma gibi ana büyüme aşamalarına sahiptir ve 9-10 aylık bir sürede hasat edilebilir hale gelmektedir. Çoğunlukla ovalık bölgelerde eylül ayından ocak ayına kadar, yüksek kesimlerde ise kasım ayından nisan ayına kadar hasat edilmektedir (Aditika vd., 2022). Gölevez, yüksek sıcaklık ve yüksek nemli ortamlara uyum sağlamaktadır. Fakat soğuğa karşı dayanıklı olmadığı belirtilmektedir (Zhang vd., 1990). Çimlenme için optimum sıcaklığın 12-15°C, büyüme için optimum sıcaklığın ise 25-30°C olduğu bildirilmektedir. Derin bir toprak tabakasına sahip gevşek ve verimli toprakların yanı sıra uygun sulama ve drenaj, gölevezin büyümesine ve soğanlarının genişlemesine yardımcı olmaktadır. Gölevezin büyümesi için toprağın optimum pH'nın 5.5-7.0 arasında olması gerektiği belirtilmektedir. Fazla asidik veya alkali toprağın, gölevezin büyümesi ve gelişmesi için elverişli olmadığı bildirilmektedir (Zhang vd., 2023).

GÖLEVEZİN MAKRO VE MİKRO BESİN ÖGELERİ BİLEŞİMİ

ABD Tarım Bakanlığı (USDA) veri tabanına göre; çiğ ve pişmiş gölevezin 100 gram kuru ağırlık üzerinden besin ögesi içeriği Çizelge 1'de yer almaktadır (USDA, 2019). Çizelge 1'de çiğ ve

pişmiş gölevezin ısıl işlem etkisiyle kalsiyum, protein içerikleri dışında diğer besin ögesi bileşiminin benzer olduğu görülmektedir.

Gölevezdeki kül oranının %3.54-7.78 arasında değiştiği bildirilmiştir (Temesgen vd., 2015). Potasyum, sodyum, magnezyum, kalsiyum, fosfor, demir, çinko, bakırın önemli bir bitkisel kaynağı olduğu belirtilmektedir (Otekurin vd., 2021). Yapılan bir çalışmada; fosfor, magnezyum, çinko, demir, manganez, bakır ve kadmiyumun esas olarak gölevez yumrusunun üst kısmında bulunduğu, orta kısımda ise potasyum, fosfor, magnezyum, çinko, demir, manganez, bakır ve kadmiyumun konsantrasyonu olduğu ve kalsiyumun yumrunun alt ve kenar kısımlarında yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Üst, orta ve kenar kısımlardaki çinko konsantrasyonları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Besleyicilik açısından orta kısmın her zaman en önemli kısım olduğu belirtilmiştir (Mergedus vd., 2015).

Gölevezin yaprakları ve sapları ise sebze olarak kullanılmaktadır. Tiamin, riboflavin, demir, fosfor, çinko, B₆ vitamini, C vitamini, niasin, kalsiyum, fosfor, çinko, potasyum, bakır ve manganez açısından oldukça zengin olduğu bildirilmiştir (Mandal vd., 2013; Temesgen vd., 2015). Gölevez soğanlarının büyük, orta ve küçük ebatlarda olma durumlarına göre gölevez ununun kompozisyon ve fonksiyonel özelliklerine göre etkisinin araştırıldığı çalışmada ise gölevez unularının temel kimyasal bileşimi; demir ve çinko haricinde soğan boyutundaki farklılıklardan etkilenmemiştir. Büyük gölevez soğanından elde edilen gölevez ununun; küçük soğanlardan 4 ve orta soğanlardan 8 kat daha fazla çinko içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Büyük ve küçük soğanların demir içeriğinin ise orta ebattaki gölevez soğanlarının demir içeriğinden yaklaşık 3 kat fazla olduğu tespit edilmiştir (Oyeyinka vd., 2020). Günümüzde çinko eksikliği dünya çapında toplumların sağlık ve refahını etkileyen önemli bir halk sağlığı problemi olarak bilinmektedir. Gölevezin de hayvansal olmayan çinkonun sınırlı sayıdaki kaynaklarından olması sebebiyle çinko eksikliğinin hafifletilmesi üzerindeki rolü araştırılmalıdır (Temesgen vd., 2015).

Çizelge 1. Çiğ ve pişmiş gölevezin makro ve mikro besin ögesi bileşimi (100g/kuru madde) (USDA, 2019).

Besin Ögesi	Çiğ Gölevez	Pişmiş Gölevez
Su	70.64 g	63.8 g
Enerji	112 kalori	142 kalori
Karbonhidrat	26.46 g	34.6 g
Protein	1.5 g	0.52 g
Toplam Yağ	0.20 g	0.11 g
Kolesterol	0 mg	0 mg
Diyet Lifli	4.1 g	5.1 g
Vitaminler		
Folat	0.022 mg	0.019 mg
Niasin	0.6 mg	0.51 mg
Pantotenik asit	0.303 mg	0.336 mg
Pridoksin	0.283 mg	0
Riboflavin	0.025 mg	0.028 mg
Tiamin	0.095 mg	0.107 mg
A vitamini	0.004 mg	0.004 mg
C vitamini	4.5 mg	5 mg
E vitamini	2.38 mg	2.93 mg
K vitamini	0.001 mg	0.0012 mg
Elektrolitler		
Sodyum	11 mg	15 mg
Potasyum	591 mg	484 mg
Mineraller		
Kalsiyum	43 mg	18 mg
Bakır	0.172 mg	0.201 mg
Demir	0.55 mg	0.720 mg
Magnezyum	33 mg	30 mg
Selenyum	0.0007 mg	0.0009 mg
Çinko	0.230 mg	0.270 mg
Nişasta		
Toplam nişasta	18.8 g	14.2 g
Dirençli nişasta	5.2 g	2.1 g
SDS	SDS+ RDS	2.5 g
RDS	13.6 g	9.6 g
Glisemik İndeks	Uygulanmadı	Orta

RDS: Hızlı Sindirilebilir Nişasta, SDS: Yavaş Sindirilebilir Nişasta

Gölevezdeki en önemli şeker sakkarozdur ancak fruktoz, maltoz, glikoz ve rafinoz da içermektedir. Malik asit ise en önemli organik asittir (%60) onu sırayla sitrik asit (%25) ve oksalik asit (%15) takip etmektedir (Rashmi vd., 2018).

Doğal nişasta granülleri suda çözünmez, inerttir, enzimler tarafından kolayca hidrolize edilmez, sinerez ile retrogradlanır ve sıcaklık, pH gibi değişikliklere dayanamaz. Bu nedenle endüstriyel

uygulamalarda sınırlı kullanım alanına sahip olduğu görülmektedir. Bu durum gıda üreticilerini doğal nişastalarla rekabet edecek şekilde geliştirilmiş davranışsal özelliklere sahip nişastalar aramaya yöneltmiştir. Gölevez nişastasındaki düşük amiloz içeriği, yüksek şişme kabiliyeti, iyi su ve yağ tutma stabilitesi ve diğer fonksiyonel özellikleri, onu gıda işleme sektöründe tavsiye edilen popüler bir ürün haline getirmektedir (Singla vd., 2020). Gölevez, %70-80 oranında

nişasta içermektedir ve nişasta granüllerinin küçük boyutundan dolayı %98'lik bir oranda yüksek sindirilebilirliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Kaushal vd., 2015; Juang vd., 2021). Nişasta tanelerinin boyutu çeşide bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte boyutu 1.5-6.6 µm arasında değişmektedir. Tanelerin şeklinin ise çokgen olduğu görülmektedir (Temesgen vd., 2015). Küçük boyutu sayesinde de Hawaii ve diğer Pasifik adalarında bebek maması hazırlanmasında kullanılmaktadır. Aynı zamanda bu küçük boyutu; endüstriyel uygulamalarda, yüz pudrası gibi kozmetik formülasyonlarda ve aerosol dağıtım sistemlerinde kullanan toz preparatlarında da tercih edilmesini sağlamıştır (Brown ve Valiere 2004; Otekunrin vd., 2021). Bu nedenle gölevez nişastası farmasötik araştırma alanında da dikkatleri üzerine çekmektedir (Otekunrin vd., 2021). Gölevez nişastası, fonksiyonel özellikleri nedeniyle de müsülaj ve toz olarak gıda sanayinde kullanılmaktadır. Kıvam arttırıcı ve jelleştirici madde olarak davranabilme yeteneği sayesinde pişmiş gıdalara, macunlara ve içeceklere dahil edilmektedir (Calle vd., 2021).

Gölevezden nişasta elde edilme aşamaları; gölevez soğanları soyulur, daha küçük parçalara dilimlenir ve bir karıştırıcıda homojen hale getirilmektedir. Oluşan nişasta bulamacı, santrifüjleme veya çökeltme öncesinde yabancı maddeleri ortadan kaldırmak için tülbent veya ağ ile filtrelenmektedir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra çökelti tekrar su içerisinde süspanse edilmektedir. Bu yıkama işlemine temiz nişasta elde edilene kadar devam edilmekte ve elde edilen nişasta kurutulup toz haline getirilmektedir (Nagar vd., 2021).

Gölevez nişastası, diğer türlerle karşılaştırıldığında yaklaşık %50 daha az amiloz içermektedir. Amiloz/amilopektin oranı 1/7'dir. Gölevez nişastası, patates nişastası gibi berrak ve yumuşak bir macun oluşturmaktadır. Nişastanın jelatinleşme sıcaklığı, hasat sırasındaki gölevez çeşidine ve olgunluğuna bağlı olup 63-73 °C arasında değişmektedir (Temesgen vd., 2015). Lipu'da yetişen gölevez nişastasının, manyok nişastasının ve buğday nişastasının fizikokimyasal özelliklerinin analiz

edildiği çalışmada gölevez nişastasının (%15.93) manyok nişastası (%26.62) ve buğday nişastasına (%33.53) kıyasla önemli ölçüde daha düşük amiloz içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Gölevez nişastasından elde edilen jelin mekanik mukavemetinin (sertlik, yaylanma, yapışkanlık ve çignenebilirlik), manyok ve buğday nişastasından elde edilen nişastalara kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Huang vd., 2023).

Nişasta; düşük maliyeti, bolluğu, çevre dostu ve yenilenebilir özelliklerinin yanı sıra iyi film oluşturma kapasitesinin yüksek olması nedeniyle biyoplastik üretimi için en güçlü hammadde adaylarından biri olarak kabul edilmektedir. Nişasta bazı filmler patates, pirinç, mısır, gölevez ve diğer kök yumru nişastaları gibi gıda malzemelerinden geliştirilmektedir ve biyolojik olarak parçalanabilen plastiklerin yaklaşık %50'si nişastadan üretilmektedir. Nişasta bazı biyoplastiklerin üretimi basittir ve paketlenme uygulamalarında gıda, ilaç, tekstil ve kâğıt gibi birçok endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır (Carrion vd., 2023). Bidari ve ark. tarafından yapılan çalışmada, plastik benzeri niteliklere sahip biyolojik olarak parçalanabilen filmler üretmek için petrol bazlı bileşenlerin yerine nişastanın kullanılması gerektiği bildirilmiştir. Bu çalışma ile, gölevez nişastasının döküm tekniği kullanılarak biyofilm üretilmesindeki yenilik ilk kez rapor edilmiştir. Gölevez nişastasının potansiyel olarak düşük maliyetli ve yenilenebilir bir polimer olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışma ışığında gölevez nişastası, gıda ve ambalaj endüstrilerinde daha geniş uygulama alanına sahip ambalaj ürünleri tasarlamak ve geliştirmek için araştırılacaktır (Bidari vd., 2023).

Gölevez yumrusu, kuru ağırlığına göre yaklaşık %11 protein içermektedir. Bu oranın tatlı patatesin, manyoğın veya patatesin protein içeriğinden daha fazla olduğu bildirilmiştir (FAO, 1999). Gölevezin diğer kök bitkilerinden daha yüksek protein içeriğine sahip olmasının nedeni simbiyotik mikroorganizmaları daha fazla içermesidir dolayısıyla bu bakteriler yaprak ve soğandaki nitrojen seviyelerini yükseltmektedir (Zubair vd., 2023). Protein fraksiyonu incelendiğinde; histidin ve lizin dışındaki treonin, lösin, arginin, valin, metiyonin, sistin ve

fenilalanin gibi esansiyel amino asitler açısından zengin olduğu bildirilirken yaprakların yumrularından daha fazla esansiyel aminoasit içerdiği tespit edilmiştir. Protein içeriğinin de yumrunun çevresinde merkezine göre daha yüksek miktarda olduğu görülmüştür. Bu, yumruların çok ince soyulması gerektiğini aksi takdirde soyma sırasında önemli miktarda protein kaybı yaşanabileceğini düşündürmektedir. Gölevez yaprakları ise kuru ağırlığına göre yaklaşık %23 protein içermektedir (FAO, 1999; Ferdous vd., 2023). Protein içeriği açısından iki önemli protein tipi olan G1'i (mannoz bağlayıcı lektin) ve G2'yi (tripsin inhibitörü) barındırması sebebiyle de diğer kök bitkilerinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Çevresel faktörler (sıcaklık ve nem), yetiştirme uygulamaları (gübreleme ve sulama) ve işleme (depolama) gibi durumlar gölevezin protein içeriğini etkilemektedir (Ferdous vd., 2023).

Gölevezdeki yağ içeriği çok düşüktür ve esas olarak hücre zarı lipidlerinden oluşmaktadır. Genel olarak gölevez yumrularının yağ içeriğinin %0.16-0.36 arasında değiştiği bildirilmiştir (FAO, 1999). Farklı pişirme yöntemlerinin (kaynatma, buharda pişirme, fırında pişirme, mikrodalgada pişirme ve kızartma) gölevez soğanlarının kimyasal bileşimleri, nişasta sindirilebilirliği ve antioksidan aktiviteleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada, ham gölevez ile karşılaştırıldığında kaynatma ve kızartma; gölevezin protein ve kül içeriğini azaltmıştır. Kızartma işlemi, gölevezin yağ içeriğini önemli ölçüde artırmış fakat karbonhidrat içeriğini azaltmıştır (Kapcum vd., 2022).

Gölevezin nem içeriği yüksektir (%63.6-72.4) ve bu durum raf ömrünün kısa olmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda yüksek nem içeriği kök ve yumru bitkilerde bakteri, küf ve mantarların büyümesi için uygun koşullar yaratmaktadır (Molla vd., 2022). Lelmen ve Makatiani tarafından yapılan çalışmada, gölevezin en uygun depolama yönteminin 0-2°C sıcaklıkta yaklaşık 8 hafta olduğu bildirilmiştir. Gölevezin oda sıcaklığında hızlı bir şekilde çürümeye veya filizlenmeye başlaması sebebiyle de en geç iki gün içerisinde tüketilmesi önerilmektedir (Lelmen ve Makatiani

2023). Tatlı patates, patates ve manyok gibi diğer kök ve yumrulu bitkilerle karşılaştırıldığında gölevez için hasat sonrası teknoloji ve tekniklerin sınırlı olduğu bilinmektedir. Geleneksel olarak, gölevez yumruları ya hemen tüketilmek üzere hasat edilir ya da ihtiyaç duyulana kadar bir depolama yöntemi olarak çiftlikte gömülü olarak bırakılmaktadır. Fakat tarlada gömülü olarak depolama yalnızca yeni bir ürün için kullanılacak araziye bağlamakla kalmaz aynı zamanda yumru köklerin kalitesini de etkilemektedir. Dolayısıyla gölevez yumrularının korunmasına yönelik son çalışmalar gölevezin kurutma tekniğine yönelmiştir (Ndisya vd., 2022).

GÖLEVEZİN BESLENME VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Gölevez sağlık yararları doğrulanmış flavonoid, steroid, β -sitosterol gibi biyoaktif bileşiklerin varlığı sebebiyle; antioksidan, immünomodülatör, antitümör, antimetastatik, antitümör, antihiperglisemik ve antihiperkolesterolemik biyoaktiviteler göstermektedir (Sharma vd., 2020; Pereira vd., 2021). Gölevezde bulunan yüksek diyet lifi; bağırsak metabolizmasının düzenlenmesi ve dışkı kıvamında aktif rol oynaması nedeniyle konstipasyon tedavisinde önem arz etmektedir. Gölevez aynı zamanda glutensiz olması sebebiyle de çölyakta tercih edilmektedir. Nişasta granüllerinin kolay sindirilebilir olması; peptik ülser, pankreas hastalığı, karaciğer hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve safra kesesi rahatsızlığı olan bireylerin de gölevezin kullanımını kolaylaştırmaktadır (Otekinrin vd., 2021). Ayrıca Okyanusya'da bulunan bir ada ülkesi olan Fiji'de mide ağrısını tedavi etmek için kullanılan dört şifalı bitkiden birinin gölevez olduğu bildirilmiştir (Miyamoto vd., 2021).

Tahıl alerjisi olan bireyler için özel bir alternatif olarak kabul edilen ve süte karşı hassasiyeti olan çocuklar tarafından da tüketilebilen gölevezin ayrıca diş çürümesine karşı etkili olduğu ve diş etindeki akut veya subakut enfeksiyon vakalarını azalttığı kanıtlanmıştır (Ubalua vd., 2016). Hawai'de 1950'lerin başında bebeklerde alerji ve gelişme geriliği tedavisindeki olumlu etkileri sebebiyle birçok hastane tarafından düzenli olarak

gölevez soğanlarından yapılan nişastalı bir macun olan Poi kullanılmıştır. Poi'nin; gastroenterit, irritabl bağırsak sendromu, inflamatuvar bağırsak hastalığı, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, kanser, azalmış bağışıklık fonksiyonu ve yetersiz laktaz sindirimi gibi fermente süt ürünlerinin kullanımıyla iyileşme kaydeden hastalıklar üzerinde de etkili bir role sahip olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak Poi kolay sindirilebilirliği sayesinde kanser kaşeksisi, AIDS, kistik fibröz ve pankreatitte ağırlık artışı teşvik etmek için de kullanılmaktadır (Brown ve Valiere, 2004). Poi'nin doğal fermantasyonu, gölevez

bitkisinin yüzeyinde bulunan maya ve laktik asit bakterileri süreci başlattığında ortaya çıkmakta ve keskin bir tat vermektedir (Saranraj vd., 2019). *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc lactis*, *Tetragenococcus halophilus* ve *Weissella confusa*'yı içeren laktik asit bakterileri; ürünün tadını, aromasını ve raf ömrünü artırarak bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Brown ve Valiere, 2004; Brown vd., 2005). Gölevezin beslenme ve sağlık üzerine yapılmış çalışmalarını Çizelge 2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2. Gölevezin beslenme ve sağlık üzerine yapılmış çalışmalar

Biyoaktif etki	Kaynaklar
Bebeklerde alerji ve gelişme geriliği tedavisi	Brown ve Valiere, 2004
Diş çürümeye karşı etkili olma, diş etindeki akut veya subakut enfeksiyon vakalarını azaltma	Ubalua vd., 2016
Antikanserojenik	Pereira vd., 2015; Merida vd., 2018; Pereira vd., 2018; Correa vd., 2019; Eleazu vd., 2021; Pereira vd., 2021; Tusubira vd., 2023
Antioksidatif ve antienflamatuvar	Kaushal vd., 2015; Sharma vd., 2020; Shehata vd., 2023
Hipolipidemik	Sakano vd., 2005; Boban vd., 2006; Lad vd., 2023
İmmünomodülatör	Zhang vd., 2022
Antidiyabetik	Eleazu vd., 2014; Li vd., 2014; Eleazu vd., 2016; Islam vd., 2018; Caleb vd., 2020; Pereira vd., 2020; Sulistiani vd., 2020; Afifah vd., 2023a; Afifah vd., 2023b
Kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) üretiminde artış ile mikrobiyotada olumlu etki	Surono ve Venema, 2020
Antiülser	Miyamoto vd., 2021
Antiinflamatuvar	Elmosallamy vd., 2021; Baro vd., 2023; Cahyani vd., 2023
Antifungal	Baltazar-Bernal vd., 2022; Patel vd., 2023

Antikanserojenik Etki

Kanser; dünya çapında ikinci önde gelen ölüm nedeni olarak bilinmektedir (WHO, 2023). Gölevezde bulunan biyoaktif moleküller olan tarin, taro-4-1 polisakkarit, TPS-1/TPS-2 (taro polisakkarit 1/2), A-1/B-2 alfa-amilaz inhibitörleri, MGDG (monogalaktosildiasilgliserol) ve DGDG

(digalaktosildiasilgliserol) antikanserojenik etki göstermektedir (Pereira vd., 2021).

Hayvanlarda, bitkilerde, mantarlarda, likenlerde ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan bir protein sınıfı olan lektin, spesifik olarak karbonhidratlara bağlanma yeteneğiyle bilinmektedir. Tarin kaynağı olarak bilinen gölevezin; lektin olan *Galanthus nivalis* aglütinden

(GNA) zengin olduğu tespit edilmiştir. Tarin %2-3 karbonhidrat içeriğine sahip en az 10 izoformdan oluşan bir glikoprotein olup yapısı stabildir, farklı sıcaklık ve pH değerlerinde yapılan işlemler sonrasında fonksiyonel yapısını korumaktadır. Tarin, mannoz ve kompleks N-glikanlara yüksek afiniteyle bağlanarak karmaşık bir karbonhidrat spesifikliği göstermektedir (Pereira vd., 2015). Virüslere ve böceklerle karşı tanınmış biyosit aktiviteleri sergiler, antitümoral özelliklere sahiptir ve immünomodülatör molekül adayı olarak bilinmektedir. Tarinin anti-kanserojenik etkisi, hücre zarı üzerindeki glikanlara bağlanma spesifikliğinin bir sonucu olabilir; özellikle insan kanser dokusunda yaygın olarak bulunan ancak sağlıklı olanlarda bulunmayan lösemide eksprese edilen glikan 358'de mevcut olan H2 antijenine, yumurtalık kanseri hücrelerinde CA-125 antijenine, kanser hücresinde mannoz N-glikan 49'a bağlanmaktadır (Pereira vd., 2018). Tarinin lipozomal nanokapsüllerinin üretildiği, immünomodülatör ve antitümoral potansiyellerinin değerlendirildiği çalışmada; lipozomal tarin nanokapsülleri, sağlıklı farelerin kemik iliğine ve L929 hücrelerine karşı hiçbir toksisite sergilememiş olup meme adenokarsinomunun (MDA-MB-231) ve glioblastoma hücrelerinin (U-87 MG) çoğalmasını inhibe etmiştir. Kapsüllenmiş tarinin etkinliği, geleneksel kemoterapi ilaçlarına benzer bulunmuştur. Tarinin lipozomal nanokapsülleri, potansiyel bir kemoterapi adjuvanı olarak serbest tarine kıyasla üstün farmakolojik aktivite sergilemiştir (Correa vd., 2019).

Saflaştırılmış tarin; splenositler, kemik iliği hücreleri özellikle de B-lenfositler üzerinde mitojenik aktivite sergilemektedir bu durum da tarinin belirli kanser türlerinde immünosupresyonun hafifletilmesinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Granülosit kaybı, özellikle de nötrofil kaybı, kemoterapinin neden olduğu immünosupresyonun karakteristiğidir ve yüksek enfeksiyon duyarlılığının ana faktörü olarak bilinmektedir. Bağışıklığı baskılanmış fareler üzerinde tarinin immünomodülatör bir ajan olarak kullanıldığı çalışmada; tarin, granülositlerin azalmasını hafifletmiş, lökopeniyi en aza indirmiş, periferik

lökositlerin daha hızlı iyileşmesini teşvik etmiş ve kemik iliği hücrelerini doza bağlı bir şekilde sitotoksiteden korumuştur (Merida vd., 2018).

Gölevez ayrıca bağırsak geçişini optimize eden ve kolorektal kanser riskini azaltan önemli miktarda çözünür ve çözünmeyen diyet lifi kaynağı olarak bilinmektedir (Pereira vd., 2018). Hawaiiiler'de kolorektal kanser görülme insidanslarının daha düşük olması; diyetteki etnik farklılıklardan ve özellikle de Poi tüketiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farelerde gölevez ekstraktının kolon kanserine karşı antiproliferatif etkisinin değerlendirildiği çalışmada, %25 gölevez ikamesi eklenen grupta kanser hücresinin büyümesinin baskılandığı tespit edilmiştir. Bitki ekstraktı 2 gün sonra kanser hücrelerine inkübe edildiğinde kanser hücrelerinde apoptotik değişiklikler meydana gelmiştir. Gölevez ilavesi sağlıklı farelerde splenosit hücrelerinin çoğalmasını arttırmıştır, bu da gölevez ekstraktının tüm hücreler için toksik olmadığını hatta immün sistemini uyarıcı role sahip olduğunu ortaya koymuştur. Gölevez ekstraktının kolon kanseri hücrelerinde apoptozu indükleyerek, kanserli hücreleri parçalayabilen lenfositleri aktive ederek antikanserojenik etki gösterdiği belirtilmiştir (Brown vd., 2005).

Benign prostat hiperplazisi (BPH) erkeklerde alt üriner sistem semptomlarının en yaygın etiyolojik faktörüdür. BPH yaşla birlikte önemli ölçüde artmakta ve 81-90 yaş arası erkeklerde %90'a ulaşmaktadır (Launer vd., 2021). BPH'ta tamamlayıcı tedavi olarak umut verici potansiyeli olan gölevez yumru ekstraktının kullanıldığı çalışmada, tedaviye ek olarak gölevez ekstraktı alan grubun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında serum Prostat spesifik antijen (PSA) düzeyinin anlamlı düzeyde düşük olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma, gölevez yumru ekstraktlarının BPH tedavisinde uygulandığında potansiyel olarak güvenli nutrasötik olduğunu göstermektedir (Tusubira vd., 2023). Gölevez yumru ekstraktının BPH tedavisindeki etkisini araştıran başka bir çalışmada da tedaviye ek olarak 100, 200 ve 400 mg/kg gölevez ekstraktı alan grupların sadece testosteron propiyonat alan gruba göre PSA konsantrasyonu

anlamli düzeyde daha düşük bulunmuştur (Eleazu vd., 2021).

Antioksidan Etki

Gölevezin en fazla flavonoid çeşitliliğine sahip tropikal bitki türü olduğu bilinmektedir (Pereira vd., 2020). Gölevezde bulunan toplam fenolik asit ve flavonoid içeriğinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemiyle değerlendirildiği çalışmada toplam fenolik asit miktarı $4.37 \pm 0.02-115.21 \pm 8.24$ mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g, flavonoid miktarı $0.25 \pm 0-1.47 \pm 0.07$ mg kuersetin eşdeğeri (QE)/100 g olarak bulunmuştur. Sonuçlar gölevez soğanlarının iyi bir biyoaktif bileşik kaynağı olduğunu doğrulamaktadır (Quedraogo vd., 2023). Genel antioksidan kapasitesine katkıda bulunan flavonoidlere ek olarak tanenler, saponin, β -sitosterol, alkaloid, karotenoidler, fenoller, vitaminler ve yağ asitleri bulunmaktadır (Pereira vd., 2020; Pereira vd., 2021). Siyanidin-3-glukozit, pelargonidin-3-glukozit ve siyanidin-3-kemnosid, siyanidin-3-ramnosid gibi antioksidatif ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu bildirilen antosiyaninleri de içermektedir (Kaushal vd., 2015; Sharma vd., 2020). Gölevez yaprağı ayrıca antrakınon, apigenin, kateşin, sinamik asit türevleri gibi aktif kimyasal bileşikler barındırmaktadır (Gupta vd., 2019). Yakın zamanda yapılan çalışmada gölevezin etanol ekstraktında biyoaktif bileşiklerin varlığı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle incelenmiştir. Çalışmanın sonunda 6,2,4-trimetoksiflavanon, benzoik asit, gallik asit, luteolin-6,8-C-diglukozit, kateşin, klorojenik asit, astilbin, kuersetin, kampferol olmak üzere 13 bileşiğin varlığı tespit edilmiştir. Yüksek absorpsiyon konsantrasyonuna sahip başlıca bileşenler ise rutin, vitexin, ellagik asit ve kafeik asit olarak bildirilmiştir (Elmosallamy vd., 2021).

Biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak meyveler, meyvelerin yan ürünleri ve bunların ekstrakte formlarının laktik asit bakterileri ile birleştirilmesi; fonksiyonel içecek pazarını genişletmek için umut verici bir biyoteknolojik strateji olarak göze çarpmaktadır (Rodríguez vd., 2021). Fonksiyonel yiyecek ve içeceklerin besin değerini arttırmanın en yaygın yolu; probiyotik özelliklere sahip olan

bileşiklerin veya mikroorganizmaların besinlere eklenmesiyle gerçekleşmektedir (Szydłowska vd., 2023). Pastörize inek sütüne başlatıcı kültürlerle (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus paracasei* KC39 suşu) 250 mg/L ve 500 mg/L oranında gölevez yaprak ekstraktının eklendiği çalışmada, takviye edilen içeceklerin sindirim süreçleri ve içeceklerde artan polifenol konsantrasyonu sayesinde probiyotiklerin stabil kalmasıyla antioksidan potansiyeli artmıştır. Aynı zamanda duyuşal değerlendirmede de ekstretilave edilen fermente süt ürününün kabul edildiği bildirilmiştir. Özetle, fermente içeceklerde gölevez ekstraktı ile probiyotiklerin birleştirilmesi sağlık açısından birçok faydası olan ve fonksiyonel olarak geliştirilmiş bir gıda ürününü ortaya çıkarmaktadır (Shehata vd., 2023). Bu çalışma fonksiyonel gıda alanına önemli bir katkı sağlamak ve gölevez yapraklarının gıda ürünlerine dahil edilmesinin potansiyel sağlık yararlarını vurgulamaktadır.

Hipolipidemik Etki

Hiperlipidemi; kolesterol, trigliseritler, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) gibi plazma lipoproteinleri dahil olmak üzere plazma lipitlerinden en az birinde genişlemenin yanı sıra yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeylerinde azalma ile karakterize edilen bir hastalıktır. Genetik ve çevresel faktörler, hiperlipidemi ve kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskine katkıda bulunmaktadır (Lad ve Kolhe, 2023). Ratlarda hiperlipidemik aktiviteyi indüklemek için Poloksamer-407 (P-407) ve D-fruktoz'un kullanıldığı çalışmada; gölevez ekstraktı, P-407 ve D-fruktozun neden olduğu yüksek LDL ve VLDL seviyelerini anlamlı düzeyde düşürmüştür (Lad vd., 2023).

Gölevezdeki önemli aktif bileşen olan gölevez polisakaritleri esas olarak glikoz, galaktoz, arabinoz, mannoz vb. gibi monosakarit birimlerinden oluşmaktadır. Gölevez polisakaritlerinin antioksidan, lipit düşürücü ve immünomodülatör etkileri bulunmaktadır (Zhang vd., 2022). Farklı lif sınıfları lipit seviyelerini düşürme potansiyelleri açısından farklılık

göstermektedir. Kimyasal olarak çeşitli liflerin hipolipidemik aktivitelerinde nasıl farklılık gösterdiğini incelemek için gölevez, çemen otu ve tatlı patatesten izole edilen müsilaajlar deney hayvanlarına uygulanmış ve hem lipit hem de lipoproteinlerin metabolizması incelenmiştir. Çemen otu tohumlarında galaktomannan, tatlı patates yumrularında glikomannan ve gölevez yumrularında arabinogalaktan bulunmaktadır. Müsilaajlarla 8 hafta boyunca beslenen ratların kolesterol ve triaçilgliserol seviyeleri anlamlı düzeyde düşmüştür. Bu müsilaajlar arasında en fazla hipolipidemik etkiyi glikomannan göstermiştir, bunu galaktomannan ve arabinogalaktan takip etmiştir. Müsilaajla beslenen ratlardan izole edilen hepatositlerin VLDL sentezindeki azalmalar, kontrol grubuna göre anlamlı düzeydedir (Boban vd., 2006). Sakano ve ark. tarafından yapılan gölevez dahil 130 sebzenin etanol ekstraktının kolesterol biyosentezini baskılayan örneklerini bulmak amacıyla planladığı çalışmada, on iki sebze de anlamlı inhibisyon görülürken en yüksek inhibisyon 300 mg/ml'de %55 inhibisyon ile gölevezde bulunmuştur (Sakano vd., 2005).

Antidiyabetik Etki

Gölevezin içerdiği biyoaktif bileşenler, obezite ve tip II diyabet gibi fizyopatolojik durumlarda da önemli rol oynamaktadır (Pereira vd., 2020). Gölevezin antidiyabetik etkisini araştıran bir çalışmada gölevez unuyla beslenen diyabetik ratların açlık kan şekeri %233.42 oranında azalmıştır. Araştırmacılar gölevezin antidiyabetik etkisinin, nişastanın glikoza hidrolize edilme hızının gecikmesinden kaynaklandığını düşünmektedir (Eleazu vd., 2014). Gölevez ve olgunlaşmamış muzun kurutulup un haline getirilerek kullanıldığı başka bir çalışmada; gölevez ile beslenen diyabetik ratlar, olgunlaşmamış muz ile beslenen diyabetik ratlar ve bunların kombinasyonu ile beslenen diyabetik ratların serum glikoz seviyeleri, diyabetik ratlara kıyasla anlamlı düzeyde daha düşüktür. Fakat gölevez ile beslenen diyabetik ratlar, olgunlaşmamış muz ile beslenen diyabetik ratlar ve diyabetik olmayan ratların serum glikoz seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Eleazu vd., 2016).

Gölevez soğanlarının metanol ekstraktının antihiperглиsemik etkilerinin ratlarda oral glukoz tolerans testi (OGTT) yoluyla belirlendiği çalışmada gölevezin metanol ekstraktının 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 400 mg/kg'lık dozlarda ratlara oral olarak uygulanması, kan şekeri seviyelerini doza bağlı olarak sırayla kontrol grubuna göre %15.1, %24.4, %32.1, %35.8 oranında azaltmıştır. Standart bir antihiperглиsemik ilaç olan glibenklamidin 10 mg/kg'lık dozda uygulanması, kan şekeri seviyesini %41.8 oranında düşürmüştür. Dolayısıyla test edilen en yüksek dozda gölevezin metanol ekstraktının kan şekerini düşürme etkisinin glibenklamid ile neredeyse karşılaştırılabilir düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Islam vd., 2018). Gölevezin sulu kök ekstraktının antihiperглиsemik etkisi üzerine yapılan başka bir çalışmada ratlar; sağlıklı kontrol, diyabetik kontrol grubu (negatif kontrol), diyabetik ve "Glucinorm-M80" (pozitif kontrol) kullanan grup, diyabetik ve 200 mg/kg gölevez ekstraktı kullanan grup, diyabetik ve 400 mg/kg gölevez ekstraktı kullanan grup, diyabetik ve 600 mg/kg gölevez ekstraktı kullanan grup olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda gölevez ekstraktı ile beslenen ratlar ve pozitif kontrol grubunun kan glukozu ve HbA_{1c} seviyesi, negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde düşüktür. Sonuç olarak gölevez ekstraktının diyabetik ratlarda kan glukozu ve HbA_{1c} seviyesi üzerinde iyileştirici bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Caleb vd., 2020).

Diyabet, hemoglobin üretiminde eritropoetin oluşumunun bozulmasına neden olabilir ve bu durum anemiye sebebiyet verebilmektedir (Sulistiani vd., 2020). Aldoz redüktaz (AR); katarakt oluşumunda, nöropati, nefropati ve retinopati gibi diyabetik komplikasyonların patogenezinde önemli rol oynayan poliol yolundaki anahtar bir enzim olarak işlev görmektedir. AR, NADPH'ye bağımlı bir oksidoredüktazdır, glikozun sorbitol'e indirgenmesini katalize eden ve sorbitol dehidrojenaz tarafından fruktoza metabolize edilen poliol yolunda önemli rolü bulunmaktadır. Dolayısıyla AR inhibisyonu, uzun vadeli diyabetik komplikasyonların önlenmesinde

kilit nokta olarak görülmektedir (Li vd., 2014). Gölevez yaprağının, aldoz redüktaz aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi olan sebzelerinden biri olduğu tespit edilmiştir. Ratların K (kontrol grubu), P1 (200 mg/kg gölevez yaprağı ekstresi) ve P2 (400 mg/kg gölevez yaprağı ekstresi) olmak üzere 3 gruba ayrıldığı çalışmada, ratlar 4 hafta boyunca yüksek yağlı şükroz diyeti ile obez olmaya teşvik edilip ardından 3 hafta boyunca gölevez yaprağı ekstratı verilmiştir. Gölevez yaprağı ekstratının hemoglobini artırma yönünde anlamlı bir etkisi bulunmuştur fakat aldoz redüktaz aktivitesini inhibe etme etkisi anlamlı düzeyde bulunmamıştır. Tedavi grubunun aldoz redüktaz aktivitesinin ortalaması kontrol grubuna göre daha düşüktür fakat gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Sulistiani vd., 2020).

Gölevez yapraklarının 90-100°C'de kaynatılıp daha sonra kurutulularak beyaz ekmeğe %5, %10 ve %15'lik oranlarda eklendiği çalışmada; %15 gölevez yaprağı eklenen beyaz ekmekte en yüksek karbonhidrat (%52.46) oranı, gölevez yaprağı eklenmemiş beyaz ekmekte en yüksek yağ (%7.71) oranı, %10 gölevez yaprağı eklenen beyaz ekmekte en yüksek su (%36.52) oranı, gölevez yaprağı eklenmemiş beyaz ekmekte en yüksek kül (%1.56) oranı ve %10 gölevez yaprağı eklenen beyaz ekmekte en yüksek antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Gölevez yaprağı eklenmemiş beyaz ekmeğe kıyasla %10 gölevez yaprağı eklenen beyaz ekmekte kan şekeri tepkisinde azalma olduğu görülmüştür (Afifah vd., 2023a). Erişteye gölevez unu (%0, %40 ve %100) ve gölevez yaprağı ekstratı (%0 ve %100) ilavesinin glisemik indeks üzerine etkisini araştıran başka bir çalışmada da, gölevez unu ve yaprak konsantrasyonları ilavesi sırayla D0 (%0:%0), D1 (%40:%0), D2 (%40:%100), D3 (%100:%0), D4 (%100:%100) ve D5 (%0:%100) olacak şekildedir. En düşük glisemik indeks ve yükün D2 grubunda, en yüksek ise D0 grubunda olduğu bildirilmiştir (Afifah vd., 2023b).

Gölevez ununun ratlarda bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini araştırmak için yapılan çalışmada, mısır nişastası ve gölevez unu ile beslenen ratlardan dışkı numuneleri başlangıçta ve 4 hafta sonra toplanmış olup kısa zincirli yağ

asitleri (SCFA) iyon kromatografisi kullanılarak ölçülmüştür. Gölevez unu ile beslenen ratların dışkı konsantrasyonunda asetat, propiyonat ve bütirat seviyeleri anlamlı düzeyde artmıştır. Gölevez unu mısır unuyla karşılaştırıldığında, SCFA üretiminde artışla birlikte bağırsak mikrobiyota bileşiminde de olumlu değişiklikler meydana gelmiştir. Bu nedenle gölevezin buğday bazlı gıda ürünlerine iyi bir alternatif olabileceği belirtilmiştir. SCFA'ların obezite ve prediyabet üzerinde olumlu etkileri, bu endemik küresel sorunun daha da artmasını önleyecektir (Surono ve Venema, 2020).

SONUÇ

Tıbbi bitkiler küresel miraslardandır. Küresel miraslardan olan gölevez flavonoid, steroller, glikozitler gibi biyoaktif bileşenleri barındırması sebebiyle antiinflamatuvar, antioksidan ve hipolipidemik aktiviteler göstermektedir. Aynı zamanda gölevezdeki nişasta partiküllerinin küçük olması, dirençli nişastanın daha fazla olması, hipoalerjenik olması gibi özellikleri gölevez gelecekte önemli yerlere getirecektir. Bu bitkinin tıbbi ve farmasötik alanda maksimum potansiyelinden faydalanılması gerekmektedir. Mevcut çalışmalar sonucunda gölevezin antikanserojenik ve antidiyabetik etki gösterdiği bilinmektedir fakat uzun süreli müdahale çalışmaları yetersizdir. Gelecekteki araştırmalar gölevezin fitokimyasına, klinik deneylerine ve farmakokinetiğine odaklanmalıdır. Özellikle tarin içeriği ile göze çarpan gölevez, kötü huylu hücrelerin çoğalmasını engellemek için kanser hücreleriyle doğrudan etkileşime girebilmesi sebebiyle gelecekteki kanser tedavilerinin bir parçası olabilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okuyarak onaylamıştır.

KAYNAKÇA

Aditika, Kapoor, B., Singh, S., Kumar, P. (2022). Taro (*Colocasia esculenta*); Zero wastage orphan

- food crop for food and nutritional security, *South African Journal of Botany*, 145, 157-169. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.08.014>
- Afifah, D.N., Madani, P.S., Mahda, A., Nindita, Y., Syaury, A., Pratiwi, S. N. (2023a). Characteristics related to the nutrient composition of white bread with the addition of taro leaves (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) as antidiabetic food, *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 23(8), 24157-76. <https://doi.org/10.18697/ajfand.123.22570>
- Afifah, D.N., Imanianti, A., Rachmawati, T., Nindita, Y., Anjani, G., Syaury, A., Pratiwi, S.N. (2023b). The characteristics of noodles produced from tuber and leaf of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott), *Food Research*, 7(2), 154-63. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(2\).807](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(2).807)
- African Orphan Crops Consortium (2023). Erişim tarihi: 27.10.2023. Erişim adresi: <http://africanorphanecrops.org/meet-the-crops/>
- Baltazar-Bernal, O., Spinoso-Castillo, J.L., Mancilla-Alvarez, E., Bello-Bello, J.J. (2022). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Induce Tolerance to Salinity Stress in Taro Plantlets (*Colocasia esculenta* L. Schott) during Acclimatization, *Plants (Basel)*, 11(13), 1780. <https://doi.org/10.3390/plants11131780>
- Baro, M.R., Das, M., Kalita, A., Das, B., Sarma, K. (2023). Exploring the anti-inflammatory potential of *Colocasia esculenta* root extract in in-vitro and in-vivo models of inflammation, *Journal of Ethnopharmacology*, 303, 116021. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.116021>
- Bidari, R., Abdillah, A.A., Ponce, R.A.B., Charles, A.L. (2023). Characterization of Biodegradable Films Made from Taro Peel (*Colocasia esculenta*) Starch. *Polymers (Basel)*, 15(2), 338. <https://doi.org/10.3390/polym15020338>
- Boban, P.T., Nambisan, B., Sudhakaran, P.R. (2006). Hypolipidaemic effect of chemically different mucilages in rats: A comparative study, *British Journal Nutrition*, 96(6), 1021-9. <https://doi.org/10.1017/bjn20061944>
- Brown, A.C., Reitzenstein, J.E., Liu, J., Jadus, M.R. (2005). The anti-Cancer effects of poi (*Colocasia esculenta*) on colonic adenocarcinoma cells In Vitro, *Phytotherapy Research*, 19(9), 767-71. <https://doi.org/10.1002/ptr.1712>
- Brown, A.C., Valiere, M.S. (2004). The medicinal uses of poi, *Nutrition and Clinical Care*, 7(2), 69-74.
- Cadena, R.A.N., Zambrano, A.P.S., Gomez, J.E.B., Pabon, K.S.M., Roa-Acosta, D.F. (2023). Characterization of sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) and taro (*Colocasia esculenta*) flours with potential application in the preparation of both gluten-free and high protein foods. *F1000Research*, 12, 378.
- Cahyani, A.N., Susanto, A., Khumaeni, E.H., Miranti, I.P., Citraeni, F., Widiyanti, R. (2023). Anti-inflammatory Activity of Taro Stem Ethanol Extract (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) In Vitro. *Journal EduHealth*, 14, 2.
- Caleb, N.J., Uhegbu, F., Okereke, S.C., Nosiri, C., Amaka, E.N., Nwamaka, I.J. (2020). Hematological changes and antidiabetic activities of *Colocasia esculenta* (L.) schott stem tuber aqueous extract in alloxan induced diabetic rats, *Journal of Pharmaceutical Research and Innovation*, 32(10), 1-9. <https://doi.org/10.9734/JPRI/2020/v32i1030486>
- Calle, J., Gasparre, N., Benavent-Gil, Y., Rosell, C.M. (2021). Aroids as underexplored tubers with potential health benefits. *Advances in Food and Nutrition Research*, 97, 319-59. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.02.018>
- Carrion, M.G., Corripio, M.A.R., Contreras, J.V.H., Marron, M.R., Olan, G.M., Cazares, A.S.H. (2023). Optimization and characterization of taro starch, nisin, and sodium alginate-based biodegradable films: antimicrobial effect in chicken meat. *Poultry Science*, 102(12), 103100. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103100>
- Correa, A., Vericimo, M.A., Dashevskiy, A., Pereira, P.R., Paschoalin, V. (2019). Liposomal taro lectin nanocapsules control human glioblastoma and mammary adenocarcinoma cell proliferation, *Molecules*, 24(3), 471. <https://doi.org/10.3390/molecules24030471>
- Devi, M.P., Dasgupta, M., Mohanty, S., Sharma, S.K., Hegde, V., Roy, S.S., Renadevan, R., Kumar,

- K.B., Patel, H.K., Sahoo, M.R. (2022). DNA Barcoding and ITS2 Secondary Structure Predictions in Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) from the North Eastern Hill Region of India, *Genes (Basel)*, 13(12), 2294. <https://doi.org/10.3390/genes13122294>
- Donkor, E.F., Nyadanu, D., Akromah, R., Osei, K. (2023). Genotype by Phytophthora colocasiae isolate interaction in breeding for resistance to taro [*Colocasia esculenta* var *esculenta* (L.) Schott] leaf blight disease in Ghana, *Heliyon*, 9(6), e16350. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16350>
- Eleazu, C.O., Eleazu, K.C., Iroaganachi, M.A. (2016). Effect of cocoyam (*Colocasia esculenta*), unripe plantain (*Musa paradisiaca*) or their combination on glycated hemoglobin, lipogenic enzymes, and lipid metabolism of streptozotocin-induced diabetic rats, *Pharmaceutical Biology*, 54(1), 91-7. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015>
- Eleazu, C.O., Okafor, P.N., Ifeoma, I. (2014). Biochemical basis of the use of cocoyam (*Colocasia esculenta* L.) in the dietary management of diabetes and its complications in streptozotocin induced diabetes in rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), 705-11. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60711-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60711-8)
- Eleazu, K., Aja, P.M., Eleazu, C.O. (2021). Cocoyam (*Colocasia esculenta*) modulates some parameters of testosterone propionate-induced rat model of benign prostatic hyperplasia, *Drug and Chemical Toxicology*, 45(5), 1923-33. <https://doi.org/10.1080/01480545.2021.1892956>
- Elmosallamy, A., Eltawil, N., Ibrahim, S., Hussein, S.A.A. (2021). Phenolic Profile: Antimicrobial Activity and Antioxidant Capacity of *Colocasia esculenta* (L.) Schott. *Egyptian journal of chemistry*, 64(4), 2165-72. <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2021.56495.3213>
- FAO, (1999). Growing Taro in Asia and the Pacific; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Rome, Italy, p19, Erişim adresi: <https://www.fao.org/3/ac450e/ac450e.pdf>. Erişim tarihi: 22.10.2023.
- FAOSTAT, (2021). Food and Agriculture Organisation of the United Nations Statistical Database; Statistical Division; FAO: Rome, Italy. Erişim tarihi: 20.09.2024. Erişim adresi: <http://www.fao.org/statistics/en/>
- Ferdaus, M.J., Chukwu-Munsen, E., Foguel, A., Silva, R.C. (2023). Taro Roots: An Underexploited Root Crop, *Nutrients*, 15(15), 3337. <https://doi.org/10.3390/nu15153337>
- Fufa, T.W., Abteu, W.G., Amadi, C.O., Oselebe, H.O. (2022). DArTSeq SNP-based genetic diversity and population structure studies among taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] accessions sourced from Nigeria and Vanuatu, *PLoS One*, 17(11), e0269302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269302>
- Gupta, K., Kumar, A., Tomer, V., Kumar, V., Saini, M. (2019). Potential of *Colocasia* leaves in human nutrition: Review on nutritional and phytochemical properties, *Journal of Food Biochemistry*, 43(7), e12878. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12878>
- Huang, G., Wang, F., Yang, R., Wang, Z., Fang, Z., Lin, Y., Zhu, Y., Bai, L. (2023). Characterization of the physicochemical properties of Lipu *Colocasia esculenta* (L.) Schott starch: A potential new food ingredient. *International Journal of Biological Macromolecules*, 127803. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127803>
- Islam, M.H., Mostafa, M.N., Rahmatullah, M. (2018). Antihyperglycemic activity of methanolic extracts of corms of *Colocasia esculenta* var *esculenta*, *European Journal Pharmaceutical and Medical Research*, 5, 129-32. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269302>
- Juang, K., Lin, M., Hou, C. (2021). Influences of water management combined with organic mulching on taro plant growth and corm nutrition, *Plant Production Science*, 24(2), 152-169. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2020.1820877>
- Kaushal, P., Kumar, V., Sharma, H. (2015). Utilization of taro (*Colocasia esculenta*): A review, *Journal of Food Science and Technology*, 52, 27-40. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0933-y>

- Kapcum, C., Pasada, K., Kantiwong, P., Sroysang, B., Phiwtawee, J., Suphantharika, M., Belur, P.D., Agoon, E.M.G., Janairo, J.I.B., Wongsagonsup, R. (2022). Effects of different cooking methods on chemical compositions, in vitro starch digestibility and antioxidant activity of taro (*Colocasia esculenta*) corms, *International Journal of Food Science Technology*, 57(8), 5144-54.
- Lad, S., Kolhe, S.U. (2023). Evaluation of antihyperlipidemic potential of aqueous corm extract of *Colocasia esculenta* in experimental model of rats, *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 9, 100307. <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2023.100307>
- Lad, S.S., Kolhe, S.U., Devade, O.A., Patil, C.N., Nalawade, R.D., Mansabdar, A.P. (2023). Hyperlipidaemia: a review of literature, *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics*, 15(3), 127-132. <https://doi.org/10.52711/2321-5836.2023.00023>
- Launer, B.M., McVary, K.T., Ricke, W.A., Lloyd, G.L. (2021). The rising worldwide impact of benign prostatic hyperplasia, *BJU International*, 127(6), 722-28. <https://doi.org/10.1111/bju.15286>
- Legesse, T., Bekele, T. (2021). Evaluation of improved taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genotypes on growth and yield performance in North-Bench woreda of Bench-Sheko zone, South-Western Ethiopia. *Heliyon*, 7(12), e08630. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08630>
- Lelmen, E.K., Makatiani, J.K. (2023). Phytochemical Changes in Root Vegetables during Postharvest Storage, *In Advances in Root Vegetables Research*, Chapter 116. <https://doi.org/10.5772/intechopen.106554>
- Li, H., Hwang, S., Kang, B., Hong, J., Lim, S. (2014). Inhibitory effects of colocasia esculenta (L.) schott constituents on aldose reductase, *Molecules*, 19(9), 13212-24. <https://doi.org/10.3390/molecules190913212>
- Mandal, R., Mukherjee, A., Mandal, N., Tarafdar, J., Mukherjee, A. (2013). Assessment of genetic diversity in Taro using morphometrics, *Current Agriculture Research Journal*, 1, 79-85. <https://doi.org/10.12944/CARJ.1.2.02>
- Matthews, P.J., Ghanem, M.E. (2020). Perception gaps that may explain the status of taro (*Colocasia esculenta*) as an “orphan crop”, *Plants People Planet*, 3, 99-112. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10155>
- Mergedus, A., Kristl, J., Ivancic, A., Sober, A., Sustar, V., Krizan, T., Lebot, V. (2015). Variation of mineral composition in different parts of taro (*Colocasia esculenta*) corms, *Food Chemistry*, 170, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.025>
- Merida, L.A., Mattos, E.B., Corrêa, A.C., Pereira, P.R., Paschoalin, V.M., Pinho, M.F., Vericimo, M.A. (2018). Taro stimulates granulocyte growth in bone marrow cell cultures and minimizes immunosuppression by cyclo-phosphamide in mice, *PLoS ONE*, 13(11), e0206240. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206240>
- Miyamoto, K., Ehara, H., Thaman, R., Veitayaki, J., Yoshida, T., Kobayashi, H., (2021). Traditional knowledge of medicinal plants on Gau Island, Fiji: differences between sixteen villages with unique characteristics of cultural value. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 17, 58. <https://doi.org/10.1186/s13002-021-00481-w>
- Molla, E.T., Teka, T.A., Taye, A.H. (2022). Effects of solar tunnel drying zones and slice thickness on the drying characteristics of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) slice, *Food Science & Nutrition*, 11(3), 1178-86. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3175>
- Nagar, C.K., Dash, S.K., Rayaguru, K., Pal, U.S., Nedunchezhiyan, M. (2021). Isolation, characterization, modification and uses of taro starch: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, 574-589. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.041>
- Ndisya, J., Gitau, A., Roman, F., Mbugue, D., Sturm, B., Hensel, O. (2022). Simulation of transient heat transfer during forced convection cooling of cocoyam (*Colocasia Esculenta* (L.) Schott) tubers, *Heliyon*, 8(12), e12360. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12360>
- Oladimeji, J.J., Kumar, P.L., Abe, A., Vetukuri, R.R., Bhattacharjee, R. (2022). Taro in West Africa: Status, Challenges, and Opportunities,

- Agronomy*, 12(9), 2094. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092094>
- Otekunrin, O.A., Sawicka, B., Adeyonu, A.G., Otekunrin, O.A., Rachon, L. (2021). Cocoyam [*Colocasia esculenta* (L.) Schott]: Exploring the Production, Health and Trade Potentials in Sub-Saharan Africa, *Sustainability*, 13(8), 4483. <https://doi.org/10.3390/su13084483>
- Oyeyinka, S.A., Amonsou, E.O. (2020). Composition, pasting and thermal properties of flour and starch derived from amadumbe with different corm sizes, *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3688-95. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04401-w>
- Patel, A., Singh J. (2023). Taro (*Colocasia esculenta* L): Review on its botany, morphology, ethno medical uses, phytochemistry and pharmacological activities, *The Pharma Innovation Journal*, 12(2), 5-14. <https://doi.org/10.22271/tpi.2023.v12.i3a.18908>
- Pereira, P.R., Mattos, E.B.D., Correa, A.C., Vericimo, M. (2020). Anticancer and Immunomodulatory Benefits of Taro (*Colocasia esculenta*) Corms, an Underexploited Tuber Crop, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 265. <https://doi.org/10.3390%2Fijms22010265>
- Pereira, P.R, Correa, A.C.N.T.F., Vericimo, M.A., Paschoalin, V.M.F. (2018). Tarin, a potential immunomodulator and COX-inhibitor lectin found in taro (*Colocasia esculenta*), *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 878-91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12358>
- Pereira, P.R., Mattos, E.B.A., Corrêa, A.C.N.T.F., Vericimo, V.A., Paschoalin, V.M.F. (2021). Anticancer and Immunomodulatory Benefits of Taro (*Colocasia esculenta*) Corms, an Underexploited Tuber Crop, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 265. <https://doi.org/10.3390%2Fijms22010265>
- Pereira, P.R., Winter, H.C., Vericimo, M.A., Meagher, J.L., Stuckey, J.A., Goldstein, I.J., Paschoalin, V.M., Silva, J.T. (2015). Structural analysis and binding properties of isoforms of tarin, the GNA-related lectin from *Colocasia esculenta*, *BBA Proteins Proteom*, 1854(1), 20-30. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2014.10.013>
- Quedraogo, N., Sombie, P.A.E.D., Traore, R.E., Sama, H., Bationo/Kando, P., Sawadogo, M., Lebot, V. (2023). Nutritional and phytochemical characterization of taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] germplasm from Burkina Faso, *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 15(1), 32-41.
- Rashmi, D.R., Raghu, N., Gopenath, T.S., Palanisamy, P., Bakthavatchalam, P., Karthikeyan, M., Basalingappa, K.M. (2018). Taro (*Colocasia esculenta*): an overview. *Academia, Journal of Agricultural Research*, 6(4), 156-61.
- Rodríguez, L.G.R., Gasga, V.M.Z., Pescuma, M., Nieuwenhove, C.V., Mozzi, F., Burgos, J.A.S. (2021). Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages, *Food Research International*, 140, 109854. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109854>
- Sakano, Y., Mutsuga, M., Tanaka, R., Suganuma, H., Inakuma, T., Toyoda, M., Goda, Y., Shibuya, M., Ebizuka, Y. (2005). Inhibition of Human Lanosterol Synthase by the Constituents of *Colocasia esculenta* (Taro), *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(2), 299-304. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.299>
- Saranraj, P., Behera, S.S., Ray, R.C. (2019). Traditional Foods From Tropical Root and Tuber Crops. In *Innovations in Traditional Foods*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Chapter 7, 159-91. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814887-7.00007-1>
- Sharma, S., Jan, R., Kaur, R., Riar, C.S. (2020). Taro (*Colocasia esculenta*), Antioxidants in Vegetables and Nuts, *Properties and Health Benefits*, 341-53. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-15-7470-2_18
- Shehata, M.G., El-Aziz, N.M.A., Mehany, T., Simal- Gandara, J. (2023). Taro leaves extract and probiotic lactic acid bacteria: A synergistic approach to improve antioxidant capacity and bioaccessibility in fermented milk beverages, *LWT- Food Science and Technology*, 187, 115280. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115280>
- Singla, D., Singh, A., Dhull, S.B., Kumar, P., Malik, T., Kumar, P. (2020). Taro starch:

- Isolation, morphology, modification and novel applications concern-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1283-90. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.093>
- Sulistiani, R.P., Afifah D.N., Pemayun T.G.D., Widyastiti N.S., Anjani G., Kurniawati D.M.A. (2020). The effects of Colocasia esculenta leaf extract in inhibition of erythrocyte aldose reductase activity and increase of Haemoglobin in experimental rats, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 66, (Supplement), S320-23. <https://doi.org/10.3177/jnsv.66.s320>
- Surono, I.S., Venema, K. (2020). Modulation of Gut Microbiota Profile and Short-Chain Fatty Acids of Rats Fed with Taro Flour or Taro Starch. *International Journal of Microbiology*, 2020, 8893283. <https://doi.org/10.1155/2020/8893283>
- Szydłowska, A., Sionek, B. (2023). Probiotics and Postbiotics as the Functional Food Components Affecting the Immune Response, *Microorganisms*, 11(1), 104. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010104>
- Tadele, Z. (2018). African orphan crops under abiotic stresses: challenges and opportunities, *Scientifica*, 1451894. <https://doi.org/10.1155/2018/1451894>
- Temesgen, M., Ratta, M. (2015). Nutritional potential, Health and Food Security Benefits of Taro Colocasia esculenta (L.): A Review, *The Open Food Science Journal*, 36.
- Tusubira, D., Aja, P.M., Munezero, J., Ssedyabane, F., Namale, N., Ifie, J.E., Agu, P.C., Ajayi, C.O., Okoboi, J. (2023). Safety profile of colocasia esculenta tuber extracts in benign prostate hyperplasia, *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23, 187. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-04018-4>
- Ubalua, A.O., Ewa, F., Okeagu, O.D. (2016). Potentials and challenges of sustainable taro (*Colocasia esculenta*) production in Nigeria, *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 4(1), 053-059. <https://doi.org/10.7324/JABB.2016.40110>
- USDA, (2019). Food Data Central. <https://fdc.nal.usda.gov/>. Erişim Tarihi:13.10.2023.
- World Health Organisation, (2023). <https://www.who.int/health-topics/cancer>. Erişim Tarihi:21.11.2023.
- Zhang, E., Shen, W., Jiang, W., Li, W., Wan, X., Yu, X., Xiong, F. (2023). Research progress on the bulb expansion and starch enrichment in taro (*Colocasia esculenta* (L. Schott)), *PeerJ*, 11, e15400. <https://doi.org/10.7717/peerj.15400>
- Zhang, W., Huang, G. (2022). Preparation, structural characteristics, and application of taro polysaccharides in food, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102, 14, 6193-6201. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12058>
- Zhang, G.M., Zhang, D.X. (1990). The relationship between geographic distribution and ploidy level of taro, *Euphytica* 47, 25-7.
- Zubair, M.W., Imran, A., Islam, F., Afzaal, M., Saeed, F., Zahra, S.M., Akhtar, M.N., Noman, M., Ateeq, H., Aslam, M.A., Mehta, S., Shah, M.A., Awuchi, C.G. (2023). Functional profile and encapsulating properties of Colocasia esculenta (Taro), *Food Science & Nutrition*, 11(6), 2440-9. <https://doi.org/10.1002/fsn.33357>



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

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

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

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

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

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

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

ÖZ

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

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

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

ABSTRACT

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

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: skamiloglu@uludag.edu.tr

☎: (+90) 224 275 5447

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

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

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

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

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

GİRİŞ

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

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

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

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

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

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

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

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

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

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

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

Duyusal Analiz

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

Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

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

In Vitro Sindirim

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

Toplam Fenolik Madde Tayini

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

Toplam Antioksidan Kapasite Tayini

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

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

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

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

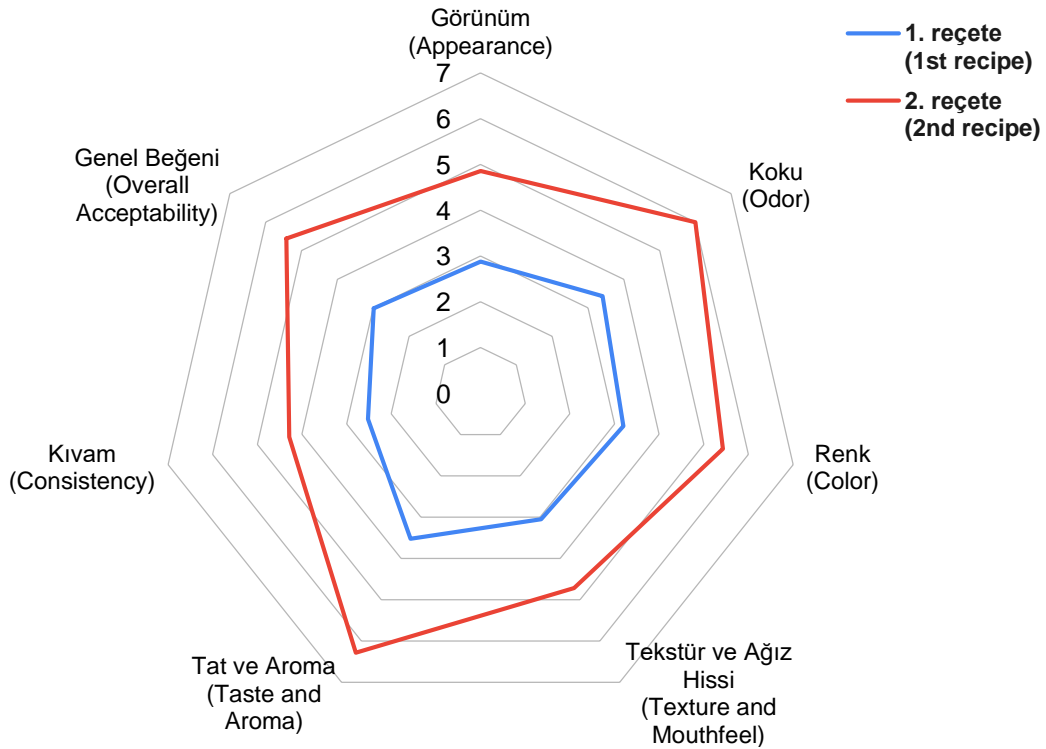
İstatistiksel Analiz

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

BULGULAR VE TARTIŞMA

Duyusal Değerlendirme

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



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

Toplam Fenolik Madde

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

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

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

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

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

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

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

Toplam Antioksidan Kapasite

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

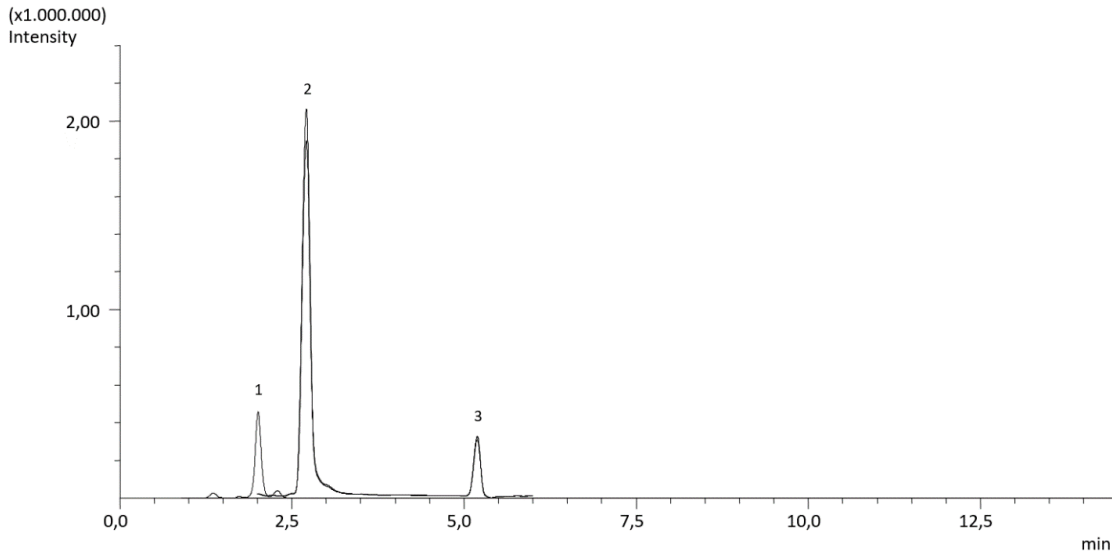
In vitro sindirim sırasında marmelatların toplam antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Gastrik sindirim sonrasında elde edilen bulgular tutarlı olmamakla birlikte, intestinal sindirim sonucunda her iki formülasyonla hazırlanan marmelatlarda da toplam antioksidan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

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

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

Bireysel Fenolik Bileşikler

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SONUÇ

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

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

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

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

TEŞEKKÜR

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

KAYNAKLAR

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

- pollen polyphenols by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 249(10): 2529-2542, doi: 10.1007/s00217-023-04316-8.
- Ansary, J., Regolo, L., Machi, M., Salinari, A., Cianciosi, D. (2022). Evaluation of the in vitro bioaccessibility of phenolic compounds of black cumin (BARI-1cumin) methanolic extract. *eFood*, 3(3): e15, doi: 10.1002/efd2.15.
- Apak, R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981, doi: 10.1021/jf048741x.
- BM (2020). Erişim tarihi: Ağustos, 2024. <https://www.un-page.org/page-and-sustainable-development-goals>.
- Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Demirci Cekic, S., Sozgen Baskan, K., Avan, A. N., Uzunboy, S., Apak, R. (2022). Antioxidant activity and capacity measurement. In: *Plant Antioxidants and Health*, Ekiert, H.M., Ramawat, K.G., Arora, J. (Eds.), Springer, pp. 709-773, doi: 10.1007/978-3-030-45299-5_22-1.
- Gueffai, A., Gonzalez-Serrano, D.J., Christodoulou, M.C., Orellana-Palacios, J.C., Ortega, M. L.S., Ouldoumna, A., Kiari, F.Z., Ioannou, G.D., Kapnissi-Christodoulou, C.P., Moreno, A., Hadidi, M. (2022). Phenolics from defatted black cumin seeds (*Nigella sativa* L.): ultrasound-assisted extraction optimization, comparison, and antioxidant activity. *Biomolecules*, 12(9): 1311, doi: 10.3390/biom12091311.
- Hadidi, M., Ibarz, A., Pouramin, S. (2021). Optimization of extraction and deamidation of edible protein from evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oil processing by-products and its effect on structural and techno-functional properties. *Food Chemistry*, 334, 127613, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127613.
- Hameed, S., Imran, A., Nisa, M.U., Arshad, M.S., Saeed, F., Arshad, M.U., Asif Khan, M. (2019). Characterization of extracted phenolics from black cumin (*Nigella sativa* linn), coriander seed (*Coriandrum sativum* L.), and fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum*). *International Journal of Food Properties*, 22(1): 714-726, doi: 10.1080/10942912.2019.1599390.
- Hannan, M.A., Rahman, M.A., Sohag, A.A.M., Uddin, M.J., Dash, R., Sikder, M.H., Rahman, M.S., Timalsina, B., Munni, Y.A., Sarker, P.P., Alam, M., Mohibullah, M., Haque, M.N., Jahan, I., Hossain, M.T., Afrin, T., Rahman, M.M., Tahjib-Ul-Arif, M., Mitra, S., Oktaviani, D.F., Khan, M.K., Choi, H.J., Soo Moon, I.S., Kim, B. (2021). Black cumin (*Nigella sativa* L.): A comprehensive review on phytochemistry, health benefits, molecular pharmacology, and safety. *Nutrients*, 13(6), 1784, doi: 10.3390/nu13061784.
- Howard, L.R., Castrodale, C., Brownmiller, C., Mauromoustakos, A. (2010). Jam processing and storage effects on blueberry polyphenolics and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4022–4029, doi: 10.1021/jf902850h.
- Kamiloglu, S. (2019). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA*, 44(3): 409-418, doi: 10.15237/gida.gd19026.
- Kamiloglu, S., Ozkan, G., Isik, H., Horoz, O., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2017). Black carrot pomace as a source of polyphenols for enhancing the nutritional value of cake: An in vitro digestion study with a standardized static model. *LWT*, 77, 475-481, doi: 10.1016/j.lwt.2016.12.002.
- Kamiloglu, S., Pasli, A.A., Ozcelik, B., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2015). Influence of different processing and storage conditions on in vitro bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades. *Food Chemistry*, 186, 74-82, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.046.
- Krawęcka, A., Sobota, A., Ivanišová, E., Harangozo, L., Valková, V., Zielińska, E., Blicharz-Kania, A., Zdybel, B., Mildner-Szkudlarz, S. (2022). Effect of black cumin cake addition on the chemical composition, glycemic index, antioxidant activity, and cooking quality of

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

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

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

Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., Matwijczuk, A. (2020). Influence of in vitro digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols—A non-systematic review. *Nutrients*, 12(5): 1401, doi: 10.3390/nu12051401.

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

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

Yimer, E.M., Tuem, K.B., Karim, A., Ur-Rehman, N., Anwar, F. (2019). *Nigella sativa* L. (black cumin): A promising natural remedy for wide range of illnesses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019(1): 1528635, doi: 10.1155/2019/1528635.



MODELING OF DYNAMIC OSCILLATION AND CREEP-RECOVERY DATA OF GLUTEN-FREE BISCUIT DOUGH CONTAINING TIGER-NUT FLOUR

Azra Tuğçe ÇİNAR, Elif TURABİ YOLAÇANER*

Department of Food Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey

Received/Geliş: 28.10.2024; Accepted/Kabul: 01.12.2024; Published online/Online baskı: 05.12.2024

Çinar, A. T., Turabi Yolaçaner, E. (2024). Modeling of dynamic oscillation and creep-recovery data of gluten-free biscuit dough containing tiger-nut flour. GIDA (2024) 49 (6) 1218-1227 doi: 10.15237/gida.GD24108

Çinar, A. T., Turabi Yolaçaner, E. (2024). Yer bademi unu içeren glutensiz bisküvi hamurunun dinamik salınım ve sünme-iyileşme verilerinin modellenmesi. GIDA (2024) 49 (6) 1218-1227 doi: 10.15237/gida.GD24108

ABSTRACT

This study investigates the impact of tiger nut flour (TNF) on the rheological properties of gluten-free biscuit dough, focusing on creep-recovery behavior. TNF is a rich source of dietary fiber and essential nutrients, making it a promising ingredient in gluten-free products. The dough samples, with varying TNF percentages (10%, 20%, 30%, 40%, and 50%), were analyzed for their thermal and rheological properties. Results show that as TNF content increases, the dough becomes more deformable, reflected in higher creep compliance and lower viscosity. However, the dough retained sufficient elastic recovery, making it suitable for applications requiring structural integrity and extensibility. The reduction in gelatinization enthalpy suggests that TNF enhances processing efficiency by lowering energy requirements for starch gelatinization. This study fills a gap in the literature on TNF's role in gluten-free dough systems, offering insights for future applications in gluten-free product development.

Keywords: Gluten-free biscuit, dynamic rheology, creep-recovery, thermal properties

YER BADEMİ UNU İÇEREN GLUTENSİZ BİSKÜVİ HAMURUNUN DİNAMİK SALINIM VE SÜNME-İYİLEŞME VERİLERİNİN MODELLENMESİ

ÖZ

Bu çalışma, yer bademi ununun (YBU) glutensiz bisküvi hamurunun reolojik özelliklerine, özellikle sünme-iyileşme davranışına olan etkisini araştırmaktadır. YBU, diyet lifi ve temel besinler açısından zengin olup, glutensiz ürünlerde umut verici bir bileşendir. Farklı YBU yüzdeleri (%10, %20, %30, %40 ve %50) içeren hamur örnekleri, termal ve reolojik özellikler açısından analiz edilmiştir. Sonuçlar, YBU içeriği arttıkça hamurun daha fazla deforme olduğunu, bunun daha yüksek sünme uyumu ve daha düşük viskozite ile yansıtıldığını göstermektedir. Ancak hamur yeterli elastik iyileşme kabiliyetini koruyarak hem yapısal bütünlük hem de uzayabilirlik gerektiren uygulamalar için uygun hale gelmiştir. Jelatinizasyon entalpisi azalması, YBU'nun nişasta jelatinizasyonu için enerji gereksinimlerini azaltarak işlem verimliliğini artırdığını göstermektedir. Bu çalışma, YBU'nun glutensiz hamur sistemlerindeki rolü üzerine literatürdeki bir boşluğu doldurarak, gelecekteki glutensiz ürün geliştirme uygulamaları için önemli bilgiler sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Glutensiz bisküvi, dinamik reoloji, sünme-iyileşme, termal özellikler

*Corresponding author/ Sorumlu yazar

✉: eyolacaner@hacettepe.edu.tr

☎: (+90) 312 297 7105

Azra Tuğçe Çinar; Orcid no: 0009-0004-6766-8934

Elif Turabi Yolaçaner; Orcid no: 0000-0001-6300-8921

INTRODUCTION

Tiger nut is a herbaceous, tuberous plant grown in Africa, Southern Europe, and America, though its consumption is not widespread (Adejuyitan et al., 2018; Bamishaiye and Bamishaiye, 2011). This tuber, known by its original names chufa, tiger nut, or earth almond, can be prepared and consumed raw, roasted, dried, baked, or as a vegan beverage (horchata de chufa) (Maduka and Ire, 2018). Tiger nut tubers are rich in energy (starch, fat, sugar, and protein), minerals (calcium, potassium, phosphorus, magnesium), and vitamins (C and E). Various studies have explored the use of tiger nut flour (TNF) in gluten-free bakery products, highlighting its nutritional benefits and its potential as a valuable ingredient in biscuits, bread, and snacks (Aguilar et al., 2015; Ahmed and Hussein, 2014; Gasparre et al., 2020; Ejiofor and Deedam, 2015; Çınar et al., 2023).

In recent years, gluten-free products have gained significant attention due to the growing number of people with celiac disease and gluten intolerance. However, many gluten-free products lack the fiber and nutritional value found in wheat-based products, which has led to efforts to improve these attributes. Ingredients like tiger nut flour, which are rich in dietary fiber, vitamins, and minerals, offer a promising solution to enhance the nutritional profile of gluten-free baked goods (Pellegrini and Agostoni, 2015; Theethira and Dennis, 2015; Rybicka, 2018; Niro et al., 2019). Tiger nut flour's high fiber content contributes to better digestive health and adds valuable nutrients, making it an attractive alternative for gluten-free formulations (Rybicka and Gliszczyńska-Świągło, 2017).

The rheological and thermal properties of dough are crucial for determining the final product quality of bakery goods such as bread, cakes, and biscuits. Understanding the dynamic rheology and the thermal behavior of gluten-free doughs is essential for optimizing texture, structure, and mouthfeel (Horstmann et al., 2017; Mariotti et al., 2009; Megušar et al., 2022). These properties, particularly storage and loss moduli, provide insight into the dough's elasticity and viscosity, which are critical for achieving desirable textural

properties in the final baked product (Larrosa et al., 2013; Ren et al., 2020).

This study focuses on the dynamic rheological modeling of gluten-free biscuit doughs containing tiger nut flour, specifically through creep recovery measurements. Currently, there are limited studies on the rheological behavior of TNF in gluten-free dough systems, particularly with respect to creep-recovery behavior. This research aims to fill a critical gap in the literature by providing insights into how TNF impacts the design and quality characteristics of gluten-free baked products (Aguilar et al., 2015; Ahmed and Hussein, 2014; Gasparre et al., 2020; Ejiofor and Deedam, 2015; Çınar et al., 2023).

MATERIALS AND METHODS

Materials

The rice flour used in the formulation of biscuit samples was obtained from Selva Gıda San. A.Ş. (Konya, Turkey). Tiger nut tubers (*Cyperus esculentus*, cv. Balyumru and Sarışeker) were kindly supplied by Eastern Mediterranean Agricultural Research Institute (Adana, Turkey) and they were ground into flour using a laboratory mill (Foss Tecator, 1095 Knifetec, Hoganas, Sweden). The flour sample was sieved using 0.5 mm sieve. Table salt, ammonium bicarbonate, sodium bicarbonate, powdered sugar (Dr. Oetker, İzmir, Turkey), skimmed milk powder (Pınar A.Ş., İzmir, Turkey), and vegetable margarine (Unipro, İstanbul, Turkey) were purchased from local markets. High-fructose corn syrup (HFCS) was supplied by Cargill (Bursa, Turkey), and xanthan gum by Sigma Aldrich (Steinheim, Germany).

Preparation of biscuit dough

The biscuit dough samples were prepared following the AACC 10-54.01 method (AACC, 1990), with some modifications (Table 1). The biscuit formulation was based on 40 g of flour, and to investigate the effect of tiger nut flour, mixtures of rice flour and tiger nut flour in varying proportions (10, 20, 30, 40, and 50%) were used. Additionally, a control dough containing 100% rice flour was prepared (Table 1).

Table 1. Biscuit dough formulation

Ingredients	Amount
Rice flour (g)	40.0
Shortening (g)	8.0
Powdered sugar (g)	16.8
Corn syrup (g)	0.6
Skim milk powder (g)	0.4
Water (ml)	8.8
NH ₄ HCO ₃ (g)	0.2
NaHCO ₃ (g)	0.4
NaCl (g)	0.4
Xanthan gum (g)	0.5

In dough preparation, powdered sugar, sodium bicarbonate, salt, skimmed milk powder, and vegetable margarine were mixed using a household mixer (Kitchen Aid, 5K45SS, Elk Grove Village, USA) at 135 rpm for 3 minutes, with 1-minute intervals until a creamy texture was obtained. Subsequently, a pre-prepared mixture of ammonium bicarbonate, water, and HFCS was added to the dough and mixed for 1 minute, with 14-second intervals, at 135 rpm. In the final step, the pre-prepared flour mixtures and xanthan gum were added and mixed at 95 rpm for 30 seconds, with 10-second intervals, until a homogeneous dough structure was achieved.

Differential scanning calorimeter (DSC)

A differential scanning calorimeter (DSC Q20, TA Instruments, USA) was used to analyze the thermal properties of tiger nut flour, rice flour, and biscuit dough samples. First, the dough samples were frozen at -80°C and then freeze-dried in a lyophilizer (Christ2B, Osterode am Harz, Germany). 4 mg flour or dried biscuit sample was placed in hermetically sealed aluminum pans, to which three times the amount of pure water was added. During the measurement of starch gelatinization enthalpy values, the temperature was increased from 25°C to 130°C at a rate of 10°C/min. The onset (T_o), peak (T_p), and conclusion (T_c) temperatures were obtained from the resulting thermogram. The results were reported as the average of two replicates.

Dynamic oscillatory measurement and modelling

A parallel plate rheometer (AR 2000ex, Sussex, UK) was used for rheological measurements. Approximately 2 g of biscuit dough sample was placed between plates with a 3 mm gap and a 20 mm diameter. The excess dough that overflowed from the plates was scraped off with a spatula, and the sample was allowed to rest under a protective cover for 10 minutes. All measurements were conducted at 25°C. Before dynamic oscillatory measurements, the linear viscoelastic region was determined for the control biscuit dough and the dough samples containing various proportions of tiger nut flour by measuring at a frequency of 1 Hz and a strain range of 0.1% to 100%. Based on these data, a strain value of 0.5% was found to be within the linear region for each dough formulation, and the experiments were conducted at this constant value.

Dynamic oscillatory measurements were carried out in the frequency range of 10 Hz to 0.1 Hz at a constant strain of 0.5%. As a result, storage modulus (G') and loss modulus (G'') values were obtained. The experiments were performed in duplicate, and the results were averaged. The frequency dependence (ω) of these values was modeled using the power law model. The power law models for G' and G'' are presented in the following equations.

$$G' = K' \cdot \omega^{n'} \quad (1)$$

$$G'' = K'' \cdot \omega^{n''} \quad (2)$$

The K' and K'' values in Equations 1 and 2 represent the storage and loss modulus values at a frequency of 1 Hz, respectively. The n' and n'' values indicate the indices of the power law models and correspond to the slope values of the graphs plotted on a log-log scale (Taracon et al., 2015).

Creep and Recovery measurements and modelling

A parallel plate rheometer, which was used in oscillatory measurements, was employed for creep and recovery measurements. Approximately 2 g of biscuit dough sample was placed between plates with a 3 mm gap and a 20

mm diameter. The excess dough that overflowed between the plates was scraped off, and the sample was allowed to rest under a protective cover for 10 minutes. All measurements were conducted at 25°C. In preliminary trials, the measurement parameters were determined as a total measurement time of 1200 seconds (600 s for creep and 600 s for recovery) and a stress application of 30 Pa, which indicated steady viscous flow behavior in the biscuit dough. The measurements were performed in duplicate, and the results were reported as creep compliance (Pa⁻¹) corresponding to unit stress. Deformation is represented by the following equation (Equation 3).

$$J(t) = \frac{\gamma(t)}{\sigma_0} \quad (3)$$

The Burger model was used to model the creep portion of the data obtained from creep and recovery measurements (Equation 4).

$$J(t) = J_0 + J_1 \cdot (1 - \exp(-t/\lambda)) + t / \eta_0 \quad (4)$$

In this equation, J_0 represents instantaneous deformation, J_1 represents retarded deformation, t is time, λ is the mean retardation time, and η_0 represents Newtonian viscosity. The Levenberg-Marquardt algorithm, a mathematical model (KaleidaGraph 4.0, Synergy Software), was used for solving this non-linear equation (Laguna et al., 2013). In this iterative and non-linear method, an initial value was provided for each parameter. As

the iterations continued, the model progressively improved until a predetermined magnitude order was achieved.

Statistical analysis

A one-way ANOVA was performed using the MINITAB statistical analysis program (Minitab 18, State College, Pennsylvania, USA) to determine whether the data obtained from the analyses differed significantly from each other ($P < 0.05$). Tukey's multiple comparison test was also applied when significant differences were found.

RESULTS AND DISCUSSION

Thermal properties of flour and biscuit dough samples

In the differential scanning calorimetry (DSC) analyses, the onset temperature (T_o), peak temperature (T_p), and conclusion temperature (T_c) of starch gelatinization, expressed in degrees Celsius (°C), and the starch gelatinization enthalpy (ΔH) (J/g sample) based on dry sample weight were recorded. The T_o and T_c values indicate the temperatures at which gelatinization starts and finishes, respectively, while the T_p represents the temperature at which the starch gelatinization transformation occurs. The enthalpy value (ΔH) indicates the energy required for the completion of gelatinization. The results of the analyses performed on TNF and RF are presented in Figure 1.

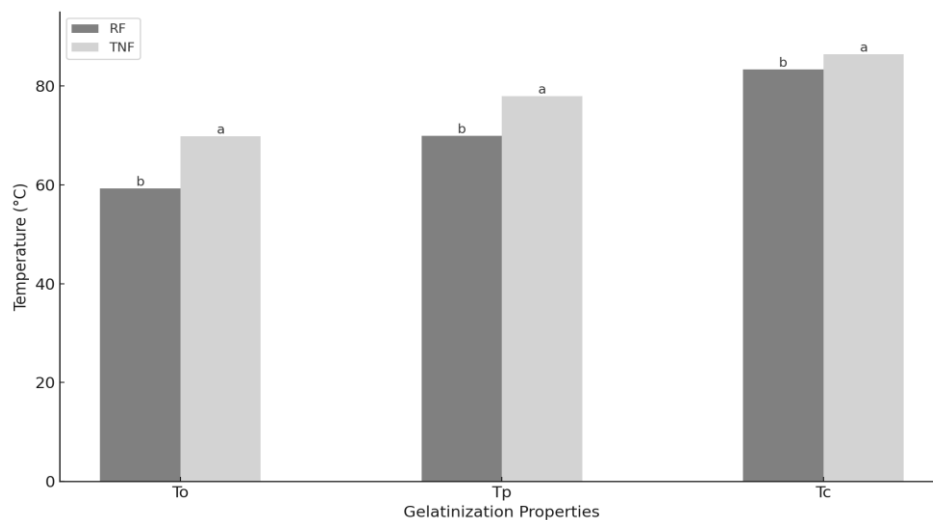


Figure 1. Onset (T_o), peak (T_p), and conclusion (T_c) temperatures of TNF and RF samples

For TNF, the T_o , T_p , and T_c temperatures were higher than those of rice flour, while the enthalpy required for gelatinization completion was significantly lower compared to rice flour ($P < 0.05$). Specifically, the gelatinization enthalpy for TNF was 2.989 J/g, whereas for RF it was 7.986 J/g (Figure 1). In the study conducted by Demirkesen et al. on TNF and RF-containing bread dough samples, the T_o , T_p , and T_c values were found to be higher for TNF, while the enthalpy value was lower (Demirkesen et al., 2013). The reason for this result is that the starch content in TNF is lower than in rice flour, which allows the complete gelatinization of all the starch in the structure to be achieved with less energy. In

the previous study by Çınar et al., the starch contents of TNF and RF were reported as 24.89% and 81.99%, respectively (Çınar et al., 2023).

The gelatinization values of gluten-free biscuit doughs containing different proportions of TNF are presented in Table 2. It was observed that there was no significant difference in the onset (T_o), peak (T_p), and conclusion (T_c) temperatures with increasing amounts of TNF in the dough formulations. However, the starch gelatinization enthalpy (J/g sample) showed a significant difference between the control group (0% TNF) and the formulations containing 30%, 40%, and 50% TNF ($P < 0.05$).

Table 2. Gelatinization values of biscuit dough samples containing different proportions of tiger nut flour

% TNF	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	Enthalpy (J/g _{dry solid})
0	68.49 ± 0.41 ^{a*}	74.90 ± 0.45 ^a	84.55 ± 1.39 ^a	4.95 ± 0.00 ^a
10	68.14 ± 0.04 ^a	74.46 ± 0.27 ^a	86.50 ± 1.17 ^a	4.52 ± 0.42 ^{ab}
20	67.87 ± 0.60 ^a	74.74 ± 0.35 ^a	87.21 ± 1.19 ^a	4.31 ± 0.33 ^{ab}
30	69.10 ± 0.20 ^a	75.03 ± 0.26 ^a	87.49 ± 0.79 ^a	3.74 ± 0.15 ^{bc}
40	69.26 ± 0.47 ^a	75.70 ± 0.20 ^a	88.56 ± 1.62 ^a	3.11 ± 0.18 ^{cd}
50	69.38 ± 0.88 ^a	75.37 ± 0.63 ^a	87.72 ± 2.90 ^a	2.41 ± 0.21 ^d

*The results are presented as mean values and standard deviation from two replicates. Values in each column having different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

As the proportion of TNF in the dough increased, the enthalpy value per gram of dry sample decreased. This reduction in enthalpy is attributed to the decrease in starch content in the structure with increasing TNF proportion, which results in less energy required for the complete gelatinization of all the starch in the structure (Çınar et al., 2023). A similar finding was reported in a study by Laguna et al. (2011), where the performance of a resistant starch-rich ingredient in short-dough biscuits showed that increasing resistant starch content decreased gelatinization enthalpy in dough formulations.

Modelling of dynamic oscillatory measurements of biscuit dough

Rheology of dough is crucial for determining the final product quality, particularly in bakery products such as bread, cakes, and biscuits, making its characterization essential. In biscuit

doughs containing different proportions of TNF, changes in the rheological properties of the dough samples were observed based on varying TNF percentages. In our previous study (Çınar et al., 2023), graphical representations of the G' (storage modulus) and G'' (loss modulus) values obtained from dynamic oscillatory measurements were presented. According to these results, the G' values were higher than the G'' values, indicating that the dough samples exhibited elastic behavior. Similar elastic behavior has also been observed in the literature for dough samples of biscuits and cakes (Gao et al., 2017; Moiraghi et al., 2010; Zannini et al., 2012). On the other hand, besides obtaining the G' and G'' values, representing these values with different models is also important for evaluating the data.

When observing the rheological behavior of biscuit dough samples containing various

proportions of TNF, the Power law model parameters describing the dependence of storage modulus (G') and loss modulus (G'') on angular velocity provide critical insight. According to Table 3, the control sample exhibited the highest K' value, indicating the greatest capacity for elastic energy storage. As the TNF content increased, the K' value progressively decreased, with the 50% TNF dough sample showing the lowest K' value. Statistical analysis using Tukey's test indicated that the K' value for the 50% TNF sample was significantly lower than the control ($P < 0.05$), highlighting a significant reduction in the dough's ability to store energy as TNF content increases. This trend is consistent with findings by Xu et al.

(2017), where the incorporation of potato granules into wheat flour dough also led to reduced storage moduli, as the gluten network weakens with the inclusion of alternative ingredients such as dietary fiber. Tiger nut flour contains higher dietary fiber content than rice flour and it is widely known that incorporating fiber-rich ingredients into gluten-free dough network generally weakens the structure, which can result in a decrease in G' . Another study on gluten-free dough enriched with *Plantago* seeds also demonstrated that fiber-rich additives weaken the dough structure and reduce its resistance to deformation, further supporting the decrease in storage modulus (Pejcz and Buresova, 2022).

Table 3. Parameters of Power law functions describing dependence of storage (G') and loss moduli (G'') on angular velocity

Sample	$G' = K'w^{n'}$			$G'' = K''w^{n''}$		
	K' (Pa.s ^{n'})	n'	R^2	K'' (Pa.s ^{n''})	n''	R^2
control	123205.92 ^a	0.094 ^a	0.971	62054.00 ^a	0.214 ^a	0.979
10%	131425.65 ^a	0.013 ^b	0.829	63766.43 ^a	0.130 ^b	0.951
20%	119695.89 ^a	0.031 ^{ab}	0.937	60826.22 ^a	0.103 ^b	0.936
30%	111378.56 ^{ab}	0.013 ^b	0.958	51535.80 ^{ab}	0.144 ^{ab}	0.956
40%	100312.61 ^{ab}	0.064 ^{ab}	0.970	52164.19 ^{ab}	0.170 ^{ab}	0.971
50%	79395.74 ^b	0.065 ^{ab}	0.963	42150.51 ^b	0.152 ^{ab}	0.960

*The results are presented as mean values from three replicates. Values in each column having different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

In terms of the loss modulus (G''), the control dough sample showed the highest K'' value, reflecting the greatest capacity for viscous energy dissipation. As the TNF content increased, the K'' values progressively decreased, indicating that the dough's ability to dissipate energy was reduced with higher TNF proportions. This trend is consistent with the findings of Moreira et al. (2013), who applied the Power Law model to gluten-free doughs made from chestnut and rice flour blends. Their study demonstrated that as the proportion of chestnut flour increased, G'' values decreased, showing the reduction in viscous properties seen in our TNF dough samples. Similarly, Tsatsaragkou et al. (2014) found that in gluten-free bread doughs containing carob flour, higher fiber content resulted in increased G''

values, highlighting the influence of fiber on the viscous behavior of doughs. However, in this study, the replacement of rice flour with TNF did not increase fiber content enough to strengthen the viscous properties, hence the lower G'' values with increasing TNF content. Furthermore, the study by Rezaei et al. (2017) on soy yogurt mixes reinforced that adding resistant starch and β -glucan could enhance G'' values, signifying a stronger viscous component in fiber-rich systems. In contrast, the results in this work suggest that TNF's lower starch and gluten content contributed to reduced viscous behavior, as indicated by the significant differences in K'' values compared to the control dough.

Creep and recovery measurements of biscuit dough

The creep-recovery behavior of biscuit doughs was analyzed to assess how increasing TNF content affects their viscoelastic properties. Figure 2 presents the shear compliance ($J(t)$) over time for various TNF-containing doughs, while Table 4 summarizes the parameters derived from the Burger model, including instantaneous compliance (J_0), retarded compliance (J_1), retardation time (λ_{ret}), and zero-shear viscosity (η_0) (Laguna et al., 2013).

From the creep curves in Figure 2, it is clearly seen that as the TNF content increases, the creep

compliance values also rise, indicating that doughs with higher TNF levels undergo greater deformation under applied stress. The control sample exhibited the lowest creep compliance, showing its resistance to deformation, whereas the 50% TNF dough showed the highest compliance. This suggests that increasing TNF content weakens the dough structure, making it more susceptible to flow under stress. These findings are consistent with those from Moreira et al. (2013), who observed similar trends in gluten-free doughs containing chestnut flour, where increasing fiber content led to greater deformation during creep.

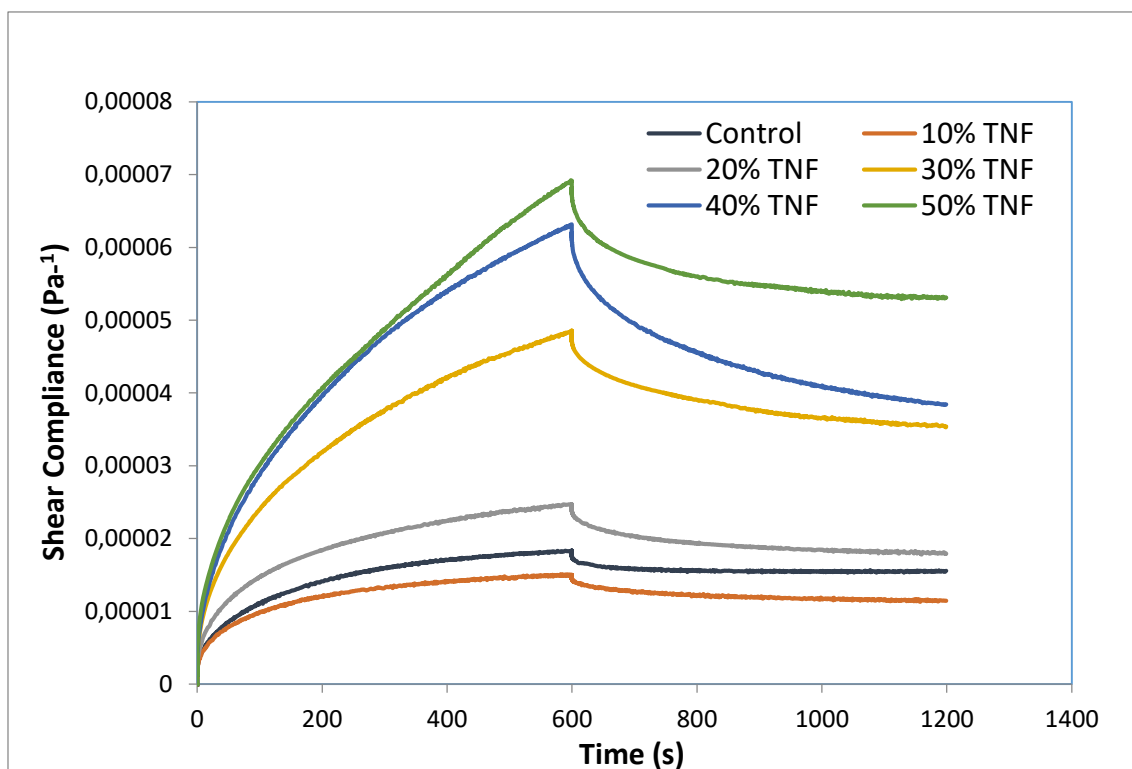


Figure 2. Shear compliance values (Pa^{-1}) of biscuit dough samples containing different proportions of tiger nut flour

In terms of elastic and viscous properties, Table 4 reveals a significant increase in instantaneous compliance (J_0) and retarded compliance (J_1) as the TNF content increases. For the control dough, J_0 was the lowest ($2.05 \times 10^6 \text{ Pa}^{-1}$), while the 50% TNF dough exhibited the highest value ($4.27 \times 10^6 \text{ Pa}^{-1}$), indicating that TNF-enriched

doughs are more deformable and less resistant to both instantaneous and delayed elastic deformation. The retardation time (λ_{ret}) decreased with higher TNF levels, implying a slower recovery from deformation, a trend also noted by Chompoorat et al. (2018) in gluten-based doughs. The zero-shear viscosity (η_0)

decreased significantly, from 10.41×10^7 Pa·s in the control dough to 1.42×10^7 Pa·s in the 50%

TNF dough, indicating that TNF-enriched doughs are less viscous and more prone to flow.

Table 4. Parameters of Burger model for biscuit dough samples

Sample	$J_0 \times 10^6$	$J_1 \times 10^5$	λ_{ret}	$\eta_0 \times 10^{-7}$
control	2.05	1.10	68.74	10.41 ^a
10%	1.86	0.90	54.28	13.79 ^a
20%	2.51	1.31	53.59	6.71 ^{ab}
30%	3.78	2.17	68.03	2.48 ^b
40%	4.03	2.74	78.97	1.83 ^b
50%	4.27	2.19	45.04	1.42 ^b

*The results are presented as mean values from three replicates. Values in each column having different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

Statistical analysis confirmed significant differences between the control and TNF doughs in terms of J_0 and η_0 ($P < 0.05$), with the most pronounced differences observed between the control, 10%, and 50% TNF formulations. These results are supported by similar findings in studies by Rezaei et al. (2017) and Laguna et al. (2013), where increased fiber and starch contents in dough systems enhanced deformation. However, the doughs retain some elastic recovery capacity, making TNF-enriched dough formulations potentially beneficial for applications requiring extensible yet structurally stable doughs. Overall, the creep-recovery results suggest that increasing TNF content decreases dough resistance to deformation, as reflected by higher creep compliance and lower viscosity values. However, the doughs retain some elastic recovery capacity, making TNF-enriched dough formulations potentially beneficial for applications requiring extensible yet structurally stable doughs.

CONCLUSIONS

Tiger nut flour (TNF) has shown significant potential as a valuable alternative for gluten-free formulations, primarily due to its high nutritional value and positive influence on dough properties. As a rich source of dietary fiber, healthy fats, and essential nutrients, TNF offers a promising alternative to traditional flours, particularly for individuals with gluten sensitivities or those seeking healthier food options. In this study, the inclusion of TNF in biscuit doughs resulted in

doughs that were more deformable, as evidenced by higher creep compliance and lower viscosity values, yet the doughs retained sufficient elastic recovery, making them suitable for products requiring both extensibility and structural integrity. The reduction in starch gelatinization enthalpy with increasing TNF content suggests that TNF requires less energy for starch gelatinization, enhancing processing efficiency. Additionally, the rheological behavior observed in dynamic oscillatory and creep-recovery tests demonstrates TNF's ability to maintain dough stability, despite the weakening effect typically associated with fiber-rich ingredients in gluten-free doughs. These findings highlight TNF's capacity to improve dough handling and textural properties, contributing to higher-quality gluten-free baked goods. The potential applications of TNF in a wide range of gluten-free products are significant, offering manufacturers an opportunity to create healthier, fiber-rich, and nutritionally superior alternatives to conventional gluten-containing products. Future research could further optimize TNF use in various gluten-free formulations, examining its effects on sensory properties and shelf life, thereby solidifying its role as a key ingredient in gluten-free food innovation.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by Hacettepe University-Scientific Research Projects Coordination (BAP) Unit (FHD-2016-10059).

DECLARATION OF COMPETING INTEREST

There is no conflict of interest.

REFERENCES

- AACC. (1990). *Approved methods of the AACC* (8th ed.). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Adejuyitan, J. A., Otunola, E. T., Akande, E. A., Bolarinwa, I. F., Oladokun, F. M. (2018). Effect of fermentation on the proximate composition of tigernut flour and its potentials in food formulation. *African Journal of Food Science Research*, 6, 368–372.
- Aguilar, N., Albanell, E., Miñarro, B., Guamis, B., Capellas, M. (2015). Effect of tiger nut-derived products in gluten-free batter and bread. *Food Science and Technology International*, 21(4), 323–331. <https://doi.org/10.1177/1082013214535615>
- Ahmed, Z., and Hussein, A. (2014). Exploring the suitability of incorporating tiger nut flour as a novel ingredient in gluten-free biscuit. *Journal of Food Science and Technology*, 64(1), 27–33. <https://doi.org/10.2478/v10222-012-0087-z>
- Bamishaiye, E. I., and Bamishaiye, O. M. (2011). Tiger nut: As a plant, its derivatives and benefits. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 11(5), 5157–5170.
- Çinar, A. T., Turabi Yolaçaner, E., Ateş, E. G. (2023). Rheological and quality properties of tiger nut-containing biscuit dough baked in IR-MW combination oven. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12610>
- Chompoorat, P., Hernández-Estrada, Z., Mulvaney, S., Payton, M., Lavine, B., Fasasi, A., Rayas-Duarte, P. (2018). Comparison of rheological properties of wet gluten: Creep-recovery and biaxial compression. *LWT*. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.08.036>.
- Demirkesen, I., Sumnu, G., Sahin, S. (2013). Quality of Gluten-Free Bread Formulations Baked in Different Ovens. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 746–753. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0712-6>.
- Ejiofor, J., and Deedam, J. N. (2015). Effect of tiger nut residue flour inclusion on the baking quality of confectionaries. *Journal of Food Research*, 4(5), 172–180. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n5p172>
- Gasparre, N., Pan, J., Alves, P. L. S., Rosell, C., Berrios, J. D. J. (2020). Tiger Nut (*Cyperus esculentus*) as a Functional Ingredient in Gluten-Free Extruded Snacks. *Foods*, 9(12), 1770. <https://doi.org/10.3390/foods9121770>
- Gao, Z., Fang, Y., Cao, Y., Liao, H., Nishinari, K., Phillips, G. O. (2017). Hydrocolloid-food component interactions. *Food Hydrocolloids*, 68, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.005>
- Horstmann, S., Foschia, M., Arendt, E. (2017). Correlation analysis of protein quality characteristics with gluten-free bread properties. *Food and Function*, 8(7), 2465–2474. <https://doi.org/10.1039/c7fo00415j>
- Laguna, L., Salvador, A., Sanz, T., Fiszman, S. (2011). Performance of a resistant starch rich ingredient in the baking and eating quality of short-dough biscuits. *LWT- Food Science and Technology*, 44, 737–746. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2010.05.034>.
- Larrosa, V. J., Lorenzo, G., Zaritzky, N., Califano, A. (2013). Optimization of rheological properties of gluten-free pasta dough using mixture design. *Journal of Cereal Science*, 57(4), 520–526. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.03.003>
- Maduka, N., and Ire, F. S. (2018). Nutritional evaluation of raw and roasted tiger nut tubers. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(8), 444–449.
- Mariotti, M., Lucisano, M., Pagani, M. A., Ng, P. (2009). The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate, and Psyllium flour on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs. *Food Research International*, 42(7), 963–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.04.017>
- Megušar, P., Stopar, D., Poklar Ulrih, N., Dogša, I., Prislán, I. (2022). Thermal and Rheological Properties of Gluten-Free, Starch-Based Model Systems Modified by Hydrocolloids. *Polymers*,

- 14(16), 3242. <https://doi.org/10.3390/polym14163242>
- Moiraghi, M., Vanzetti, L., Bainotti, C., Helguera, M., León, A., Pérez, G. (2010). Relationship between soft wheat flour physicochemical composition and cookie-making performance. *Cereal Chemistry Journal*, 88(2), 130–136. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-10-0011>
- Moreira, R., Chenlo, F., Torres, M. D. (2013). Rheology of gluten-free doughs from blends of chestnut and rice flours. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), 1476–1485. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0927-1>
- Niro, S., D'Agostino, A., Fratianni, A., Cinquanta, L., Panfili, G. (2019). Gluten-Free Alternative Grains: Nutritional Evaluation and Bioactive Compounds. *Foods*, 8(6), 208. <https://doi.org/10.3390/foods8060208>
- Pejcz, E., and Burešová, I. (2022). Rheological characteristics of model gluten-free dough with Plantago seeds and husk incorporation. *Foods*, 11(4), 536. <https://doi.org/10.3390/foods11040536>
- Pellegrini, N., and Agostoni, C. (2015). Nutritional aspects of gluten-free products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(12), 2380–2385. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7101>
- Ren, Y.-H., Linter, B., Linforth, R., Foster, T. (2020). A comprehensive investigation of gluten-free bread dough rheology, proving and baking performance, and bread qualities by response surface design and principal component analysis. *Food and Function*. <https://doi.org/10.1039/d0fo00115e>
- Rezaei, R., Khomeiri, M., Kashaninejad, M., Aalami, M., Mazaheri-Tehrani, M. (2017). Steady and dynamic rheological behaviour of frozen soy yogurt mix affected by resistant starch and β -glucan. *International Journal of Food Properties*, 20(S2), S2688–S2695. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1397692>
- Rybicka, I. (2018). The Handbook of Minerals on a Gluten-Free Diet. *Nutrients*, 10(11), 1683. <https://doi.org/10.3390/nu10111683>
- Rybicka, I., and Gliszczyńska-Świgło, A. (2017). Gluten-Free Flours from Different Raw Materials as the Source of Vitamin B1, B2, B3, and B6. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 63(2), 125–132. <https://doi.org/10.3177/jnsv.63.125>
- Sozer, N. (2009). Rheological properties of rice pasta dough supplemented with proteins and gums. *Food Hydrocolloids*, 23, 849–855. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.03.016>
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering* (pp. 294–348). USA: Freeman Press.
- Tarancón, P., Hernández, M., Salvador, A., Sanz, T. (2015). Relevance of creep and oscillatory tests for understanding how cellulose emulsions function as fat replacers in biscuits. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 640–646. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2014.06.029>
- Theethira, T., and Dennis, M. (2015). Celiac Disease and the Gluten-Free Diet: Consequences and Recommendations for Improvement. *Digestive Diseases*, 33, 175–182. <https://doi.org/10.1159/000369504>
- Tsatsaragkou, K., Yiannopoulos, S., Kontogiorgi, A., Poulli, E., Krokida, M., Mandala, I. (2014). Effect of carob flour addition on the rheological properties of gluten-free breads. *Food and Bioprocess Technology*, 7(4), 868–876. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1104-x>
- Xu, F., Hu, H., Liu, Q., Dai, X., Zhang, H. (2017). Rheological and microstructural properties of wheat flour dough systems added with potato granules. *International Journal of Food Properties*,
- Zannini, E., Jones, J. M., Renzetti, S., Arendt, E. K. (2012). Functional replacements for gluten. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 227–245. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101203>



FLAVONOID AND TOTAL PHENOLIC CONTENTS OF GREEN WALNUT FRUITS AND LEAVES, AND THE EFFECTS OF THEIR EXTRACTS ON THE MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF KURUT

Fatih Ramazan İSTANBULLUGİL^{*1}, Ziadat SALIEVA²,
Kalipa SALIEVA³, Bakyt BORKOEV³

¹ Kyrgyz-Turkish Manas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Kyrgyz Republic, Bishkek.

² Kyrgyz State Technical University named after I. Razzakov, Faculty of Technology, Department of Food Production, Kyrgyz Republic, Bishkek.

³ Kyrgyz-Turkish Manas University, Faculty of Engineering, Department of Chemical Engineering, Kyrgyz Republic, Bishkek.

Received/Geliş: 24.07.2024; Accepted/Kabul: 04.12.2024; Published online/Online baskı: 06.12.2024

İstanbulgil, F. R., Salieca, Z., Salieva, K., Borkoev, B. (2024) Flavonoid and total phenolic contents of green walnut fruits and leaves, and the effects of their extracts on the microbiological properties of kurut. GIDA (2024) 49 (6) 1228-1236 doi: 10.15237/gida.GD24073

İstanbulgil, F. R., Salieca, Z., Salieva, K., Borkoev, B. (2024) Yeşil ceviz meyveleri ve yapraklarının flavonoid ve toplam fenolik içerikleri ile ekstraktlarının kurutun mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. GIDA (2024) 49 (6) 1228-1236 doi: 10.15237/gida.GD24073

ABSTRACT

Kurut is a traditional dairy product, rich in protein and minerals, made by salting and drying strained yoghurt. This study investigates the effect of green walnut and green walnut leaf extracts on the microbiological properties of kurut samples. Kurut samples were prepared in seven groups using traditional methods. Seven groups of 300 g kurut samples were prepared using traditional methods. Groups GWL5, GWL10, and GWL15 were supplemented with 5 mg, 10 mg, and 15 mg of walnut leaf extract, while groups GWF5, GWF10, and GWF15 received 5 mg, 10 mg, and 15 mg of green walnut fruit extract. The seventh group was designated as the control group. Results indicated that the GWL15 group significantly inhibited the growth of *Enterobacteriaceae spp.* and *Staphylococcus-Micrococcus* bacteria. This suggests that incorporating walnut leaves into kurut production could inhibit bacterial growth, potentially extending shelf life and providing health benefits due to its bioactive components.

Keywords: Kurut, public health, walnut, walnut leaves

YEŞİL CEVİZ MEYVELERİ VE YAPRAKLARININ FLAVONOİD VE TOPLAM FENOLİK İÇERİKLERİ İLE EKSTRAKTLARININ KURUTUN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

ÖZ

Kurut, süzme yoğurdun tuzlanması ve kurutulması ile üretilen protein ve mineral madde yönünden zengin geleneksel bir süt ürünüdür. Bu çalışmada, deneysel olarak hazırlanan kurut numunelerine yeşil

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: fatih.ramazan@manas.edu.kg

☎: (+996) 312 4927 8688

☎: (+996) 312 54 1935

Fatih Ramazan İstanbulgil; ORCID no: 0000-0001-9610-2797

Kalipa Salieva; ORCID no: 0000-0003-3259-2058

Ziadat Salieva; ORCID no: 0000-0002-7615-620x

Bakyt Borkoev; ORCID no: 0000-0001-9456-2108

ceviz içi ve yeşil ceviz yapraklarından hazırlanan ekstraktların mikrobiyolojik özellikler üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Kurut numuneleri geleneksel yöntemlere bağlı kalınarak, her biri 300 gramlık yedi grup halinde hazırlanmıştır. GWL5, GWL10 ve GWL15 gruplarına sırasıyla 5 mg, 10 mg ve 15 mg ceviz yaprağı ekstraktı eklenirken, GWF5, GWF10 ve GWF15 gruplarına sırasıyla 5 mg, 10 mg ve 15 mg yeşil ceviz ekstraktı ilave edilmiştir. Yedinci grup ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Araştırmada GWL 15 katılarak hazırlanan kurut numunelerinin *Enterobacteriaceae* spp. ve *Stafilokok-Mikrokok* grubu bakterilerin üremelerini baskılayıcı etkisinin olduğu görülmüştür. Sonuç olarak ceviz yapraklarının kurut yapımında kullanılmasının bakterilerin üremesini baskılayarak raf ömrünü arttırabileceği, biyoaktif bileşenleri sayesinde de insan sağlığına olumlu katkılar sunabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Ceviz, ceviz yaprağı, kurut, halk sağlığı

INTRODUCTION

Drying is a method of food storage and preservation that has been used since ancient times to remove water from food. Sun drying stands out as a method that is cheap, easy to use and requires less labour and equipment to preserve (Say et al., 2015). Kurut is a dairy product made by drying strained yoghurt, which is popular in Anatolia and the geography of the Silk Road, where it can be preserved for a long time without spoiling (Mamatova and Aydın, 2022; Kiyat, 2023). Kurut can be added to dishes like pasta and soup or consumed by mixing it with water (Anli, 2022). Kurut is generally made by adding salt to strained yoghurt, kneading, shaping and sun drying (Gürbüz et al., 2018). All over the world, products similar to kurut are known by different names in different countries. For example; in China, Russia, Kazakhstan, and Kyrgyzstan, it is called 'kurut'; in Mongolia, 'aaruul'; in Iran, 'kashk'; in Lebanon, 'kishk'; in Iraq, 'kushuk'; in Turkey, 'keş or kurut'; in Lebanon, Syria, and Iraq, 'Kishk'; in Egypt, 'LebenZeer'; in Arab countries, 'Than'; in India, 'Chakka' and 'Shrikhand'; in Greece, 'Stragisto' or 'Sakoulas'; in Iceland, 'Skr'; and in Denmark, 'Ymer' (Mollabash and Aydemir Atasever, 2018). In the Xinjiang Uyghur Autonomous Region, which lies within the borders of what is now the People's Republic of China, it is also known as the 'milk knot' (Li et al., 2023). Although cow, goat and sheep's milk are commonly used to make kurut, it is also reported to be made from mare, buffalo and camel milk (Koboyeva and Güzeler, 2020). There are reports that it may have a beneficial effect on human health thanks to its probiotic micro-organisms (Tuganbay et al., 2022; Yegin et al., 2024).

Walnuts are one of the four most consumed nuts in the world and are therefore an economically and ecologically important tree species (Fordos et al., 2023). Walnut trees appear to be growing in popularity worldwide due to their natural origin, high phytochemical content and lack of adverse health effects compared to modern treatments (Sharma et al., 2022). Green walnut contains several bioactive metabolites such as polyphenols, flavonoids and tannins, which have antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and anticancer properties. With the growing trend towards natural or plant-derived therapeutics, green walnut appears to be regaining its therapeutic importance worldwide (Mukarram et al., 2024).

Walnut leaves and green shells, rich in bioactive compounds (phenolics, flavonoids, organic acids, triterpenic acids, terpenes, terpenoids, tetralone derivatives, megastigmane derivatives and juglone), are remarkable, inexpensive and abundant agricultural by-products that are often considered waste (Salik and Çakmakçı, 2023). Walnut leaves have tremendous antioxidant, anticancer and antifungal potential, according to in vitro research (Ara et al., 2023). Walnut leaves are recommended as a source of active ingredients without hepatotoxic effects for use in various food and pharmaceutical applications (Vieira et al., 2019).

Southern Kyrgyzstan is home to the largest naturally grown walnut forests in the world. These forests are located in pristine mountainous areas where no agricultural chemicals are used and access is difficult for producers. Approximately 1.000 to 3.000 tonnes of walnuts are harvested from these forests each year, and the walnuts are

in demand not only in the domestic market but also in export markets such as the European Union, China and the Russian Federation. (FAO 2023).

In a study conducted by Gürbüz et al., (2018), the microbiological quality characteristics of experimentally produced kurut samples were compared with those of samples collected from the market. While no growth of coliform bacteria or yeast and mould was observed in the experimentally produced kurut samples, the market samples exhibited coliform bacteria levels ranging from less than <1 to $3.13 \log_{10}$ colony-forming units (CFU)/g and yeast and mould levels ranging from 2.48 to $5.06 \log_{10}$ CFU/g. In their study, Patır and Ateş (2002) reported the presence of *Escherichia coli* in 12% of the examined kurut samples and *Staphylococcus aureus* in 16% of the samples. In a study conducted by Emirmustafaoğlu and Coşkun (2017), the changes in certain properties of traditionally produced and vacuum-packaged keş for frying samples were investigated over a period of 120 days during refrigerated storage ($3 \pm 1^\circ\text{C}$). Significant changes were reported in dry matter, fat, acidity, textural properties, and yeast-mold counts during the storage period ($P < 0.05$). The total aerobic mesophilic bacteria count was found to be between $7.56 \log$ CFU/g and $8.64 \log$ CFU/g, and no coliform bacteria were detected. Studies have reported that kurut may contain pathogenic bacteria due to poor hygiene during its production, storage and sale, and this situation could pose a risk to public health (Patır and Ateş, 2002; Gürbüz et al., 2018; Mamatova and Aydın, 2022). Keş for frying is a traditional Turkish dairy product that is a good source of protein. The frying process imbues the product with a rich aroma and flavour. It is prepared without added oil and ready for consumption in a short time. The production process is traditional and does not involve industrial-scale production. The product is stored in bags, limiting its shelf life to approximately 10 days (Emirmustafaoğlu and Coşkun, 2017).

In recent years, there have been numerous studies using plant extracts to reduce the

microbial load in traditional foods that could threaten shelf life, nutritional quality and public health. In a study conducted by Keskin et al., (2018), raw meatballs was stored with the addition of various plant extracts (green tea, hibiscus, tarragon, walnut shell, lemon peel oil, and orange peel oil) at a concentration of 0.5% and 1%, respectively, at a temperature of $+4^\circ\text{C}$ for a period of 21 days. The microbiological analysis revealed a reduction in yeast and mould, *Pseudomonas*, lactic acid bacteria, and *Lactococcus* counts in all samples. Conversely, there was no growth of *Staphylococcus aureus*. In their study Çiftçi (2008), examined the antimicrobial activities of thyme, mint, and rosemary essential oils against *E. coli* in kurut production. They observed that thyme oil demonstrated the most potent effect, while mint and rosemary oils displayed comparatively weaker efficacy. Temirbekova (2019) reported that no coliform bacteria growth was observed during a 120-day storage period in kurut samples produced with orange peel extract. In addition, there is a growing interest in making full use of waste from the agricultural industry (Meral and Demirdöven, 2024). The aim of this study is to investigate the effect of green walnut extracts and green walnut leaf extracts on the microbial load of kurut, a traditional food.

MATERIALS AND METHODS

The study material, comprising green walnut leaves (GWL) and green walnut fruits (GWF), were collected in the early morning hours of May 2021 from the botanical garden on the campus of Manas University. The cow's milk used in the production of kurut was 2.5% fat cow's milk obtained from a commercial supplier.

Preparation of GWL and GWF extracts

A spectrophotometric method using a UV-Vis spectrophotometer (SPECORD 50) was used for the quantitative determination of polyphenols. The methodology proposed by Singleton & Rossi (1965) was followed. The quantitative determination of flavonoids was carried out by a spectrophotometric method using a UV-Vis spectrophotometer (SPECORD 50), following the methodology proposed by Zhishen et al. (1999). Before analysis, the walnut leaves and

fruits were washed in water and dried at room temperature. The walnut leaves and fruits were then cut into pieces and ground in a coffee grinder for 5 minutes. The particle size of the fragmented plant material was less than 1 mm. GWL and GWF (10 g each) were measured and mixed with 100 mL of 70% ethanol in glass-stoppered tubes. The plant materials were extracted with a volume of ethanol five times that of the plant materials (1/5 w/v and 1/7.5 w/v) under continuous stirring conditions (200 rpm, 25°C) for a period of six hours. Ethanol was selected as the solvent over water due to its ability to dissolve a broader range of bioactive compounds, including both polar and non-polar substances. This enhances the efficiency of polyphenol and flavonoid extraction. Furthermore, ethanol helps preserve the stability of these compounds and reduces microbial contamination during the extraction process. Extraction was performed at 4°C in the dark for 7 days. The homogenates were centrifuged at 5000 rpm for 10 min (Hettich, Micro 22R, Andreas Hettich GmbH und Co., Tuttlingen, Germany) and the supernatant obtained was separated through a nylon filter and stored at 0-4°C until use. The final extracts of walnut leaves and green walnut fruits were concentrated to constant weight by evaporating the solvent under reduced pressure at 40°C using a rotary evaporator (rotavapor).

Total Phenolic Content (TPC)

TPC of extracts was measured by Folin-Ciocalteu (FC) spectrophotometry according to a previously described procedure (Babotă et al., 2018). Each sample (20 µL) was incubated with FC reagent (100 µL) for 3 minutes, followed by 7.5% sodium carbonate (80 µL). The resulting solutions were incubated in the dark at room temperature for 30 minutes and the absorbance was measured at 760 nm against a solvent blank. Gallic acid was used as a reference standard and TPC was calculated as gallic acid equivalents (GAE) per dry weight (dw) of plant material.

Total Flavonoid Content (TFC)

The TFC of the extracts was measured in accordance with a previously described method. (Mocan et al., 2018). The crude extract (100 µL)

was mixed with 2% aluminium chloride (100 µL) and incubated for 15 minutes in the dark at room temperature. Absorbance was measured at 420 nm using a spectrophotometer. Quercetin (0.01-0.2 mg/ml) was used as a standard and the results were expressed as quercetin equivalents (QE).

Preparation of Kurut Samples

The preparation of kurut samples was performed using a traditional method (Gürbüz et al., 2018). Briefly, pasteurized cow's milk was heated to 90°C for a period of five minutes in order to increase the total solids content. Following this, the milk was cooled to a temperature of between 42 and 45°C. 2% homemade yogurt starter culture was used, and the mixture was incubated in an incubator at 43°C for 6 hours to obtain yogurt, then refrigerated at +4°C for 12 hours. Strained yoghurt was prepared by straining with a cloth for 24 hours. When the consistency reached that of dough, salt was added, with an amount equal to 2% of the strained yogurt. Following the addition of salt, the strained yoghurt was processed until it reached a dough-like consistency and then divided into 300 g portions. The following extract quantities were added to each 300 g portion: The first, second and third groups were prepared with 5mL, 10mL and 15mL of green walnut extract (GWF5, GWF10, GWF15), respectively. The fourth, fifth and sixth groups were prepared with 5mL, 10mL and 15mL of green walnut leaf extract (GWL5, GWL10, GWL15), respectively. The seventh group was employed as a control. The samples were shaped into discs weighing 10-15 grams and subjected to a three-day drying process in an open area, away from direct sunlight. The extract-added kurut samples were prepared in four replicates. The prepared samples were then subjected to microbiological analysis.

Microbiological Analyzes

For microbiological analysis, dried samples were aseptically divided, weighed to 10 grams and transferred to sterile bags. Then 90 ml of Ringer's solution was added and mixed in a stomacher. Decimal dilutions (up to 10⁻⁶) were made. After preparation of the dilutions, specific agar media for the groups of microorganisms under investigation were used. At the end of the

incubation period, colonies in the range of 30 to 300 were identified and counted (Erkmen, 2015).

Total mesophilic aerobic bacteria count:

Samples were inoculated onto plate count agar (Merck 1.05463) using the pour plate technique and incubated at 32°C for 48-72 hours for total mesophilic aerobic bacteria count. After incubation, colonies were counted (Halkman and Sağdaş, 2011).

Lactobacillus spp: For the count of *Lactobacillus* spp., samples were inoculated onto deMan, Rogosa, and Sharpe Agar (Merck 1.10660) using the pour plate technique. After pouring a double layer of agar, the plates were incubated at 30°C for 72 hours, and then the colonies were counted (Halkman and Sağdaş, 2011).

Enterobacteriaceae spp: Samples were inoculated onto Violet Red Bile Dextrose Agar (Merck 1.10275) using the pour plate technique for the enumeration of *Enterobacteriaceae* spp.

Plates were incubated at 37°C for 24 hours and colonies were counted (Halkman and Sağdaş, 2011).

Yeast and mould: For yeast and mould enumeration, samples were inoculated onto Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (Merck 1.16000) using the pour plate technique. Plates were incubated for 5 days at 22°C and colonies were counted (Halkman and Sağdaş, 2011).

Statistical Analysis.

IBM SPSS Statistics 20 software was used to evaluate bacterial counts and physicochemical analysis results using the Mann-Whitney U test for independent samples (Özdamar, 2013).

RESULT AND DISCUSSION

The total flavonoid content (TFC) and total phenolic content (TPC) of walnut leaf extracts (GWL) and green walnut fruit extracts (GWF) are shown in Table 1.

Table 1. Total flavonoid contents (TFC) and total phenolic contents (TPC) of *Juglans regia* leaf extracts (GWL) and green walnut fruit (GWF) extracts. (n=5)

Sample	S/L Ratio (g/mL)	Extraction Yield	TFC (mg QE/g)	TPC (mg GAE/g)
GWL Extract	1/5	25.62±0.25	1.87±0.14	28.56± 1.54
GWF Extract	1/5	28.25±0.28	2.34± 0.12	18.11 ±1.64

Table 1 shows that in the extraction using green walnut leaves, the total flavonoid content was determined to be 1.87 ± 0.14 mg QE/g and the total phenolic content was 28.56 ± 1.54 mg GAE/g. When extracted from green walnut fruits, the total flavonoid content was 2.34 ± 0.12 mg QE/g and the total phenolic content was 18.11 ± 1.64 mg GAE/g. In their study, Gülsoy et al. (2021) determined that the total phenolic content of walnuts ranged from 7.16 to 13.95 mg GAE/g, while the total flavonoid content ranged from 0.73 to 1.11 mg QE/g. Cerit et al. (2017) found that the total phenolic content of extracts from fresh walnut kernels varied between 33 and 50.3 mg GAE/g. Vieira et al. (2019) observed that in their study on green and yellow walnut leaves, the total phenolic content was higher in green leaf extracts (29.70 ± 0.03 mg/g) and slightly lower in

yellow leaves (23.26 ± 0.06 mg/g). According to their findings, yellow leaves contained a higher flavonoid content (17.4 ± 0.2 mg/g), while green leaves had a lower content (16.7 ± 0.2 mg/g extract). In the same study, only the green leaf samples demonstrated anti-inflammatory potential. Ara et al. (2023) indicated that the total phenolic content of walnut leaf extract ranged from 2.024 mg/g GAE to 13.23 mg/g GAE. These studies, together with our research into the total flavonoid content (TFC) and total phenolic content (TPC) of walnuts and walnut leaves, demonstrate their biological activity. The differences observed can be attributed to the type of walnut used, the altitude of the region where the walnuts were grown, the climatic conditions and the methods used in the extraction process.

Production of kurut using green walnut and green walnut leaves extract

The results of microbiological analyses of dried products supplemented with walnut and walnut

leaf extracts using traditional methods are shown in Table 2.

Table 2. Results of microbiological analysis (\log_{10} CFU/ g). (n=4)

Microorganism	Control	GWF5	GWF10	GWF15	GWL5	GWL10	GWL15	p
TMAB	4.45±0.56	4.99±0.34	4.81±0.34	4.25±0.29	4.4±0.11	3.84±0.28	3.83±0.71	0.008
Yeast-mold	4.05±0.15	4.43±0.41	4.05±0.5	3.88±0.19	4.21±0.54	3.28±0.61	4.03±0.76	0.134
<i>Lactobacillus</i> spp	2.84±0.17	2.82±0.38	2.08±1.39	2.65±0.16	2.52±1.7	2.53±1.75	2.33±1.67	0.709
<i>Enterobacteriaceae</i> spp	1.27±1.47	1.3±1.51	1.33±1.54	0.64±1.27	1.4±1.62	0.62±1.24	ND	0.570
<i>Staphylococcus</i> and <i>Micrococcus</i> spp	2.35±1.57	2.01±1.34	1.96±1.31	0.67±1.34	1.35±1.56	0.7±1.41	ND	0.158

*TMAB: Total Mesophilic Aerobic Bacteria Count. ND: Not Detected

When Table 2 is examined, Total Mesophilic Aerobic Bacteria (TMAB): A statistically significant reduction ($P<0.05$) in the total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) count was observed in the kuruts produced using green walnut leaf extract (GWL). This finding aligns with studies by Ara et al. (2023) and Vieira et al. (2019), which reported the antimicrobial properties of walnut leaves. These studies suggest that the phenolic compounds in walnut leaf extract can inhibit bacterial growth effectively.

No growth of *Enterobacteriaceae* spp. was observed in the GWL15 group, although this result was not statistically significant. Research by Elouafy et al. (2023) and Vieira et al. (2019) highlighted that the flavonoids and other bioactive components in walnut leaves possess inhibitory effects on gram-negative bacteria. This supports the observed effects in kurut samples produced with GWL extract.

No growth of *Staphylococcus* spp. and *Micrococcus* spp. was detected in the GWL15 group; however, this finding was also not statistically significant. Studies such as those by Vieira et al. (2019) and Ara et al. (2023) have shown that walnut leaves exhibit antimicrobial potential against gram-positive bacteria. The phenolic and flavonoid contents are known to disrupt cell wall integrity and protein synthesis, thus inhibiting bacterial activity.

While there was no statistical difference in the yeast and mould counts in kuruts made with green walnut fruit (GWF), a reduction was noted in the GWF15 group. This finding is supported by

Elouafy et al. (2023), which reported that natural antimicrobial compounds such as phenolic acids and tannins in walnuts can limit fungal growth. These results are consistent with existing literature regarding the antimicrobial effects of walnut leaves and fruits. Temirbekova, (2020) in the kurut samples prepared using orange peel extract (*Citrus sinensis* L.), an initial increase in total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) counts was observed, followed by a decrease over the storage period. The researcher reported that inhibition of coliform bacteria growth was not detected in any of the kurut samples during the 120-day storage period. Çiftçi, (2008) reported that kurut samples prepared with thyme, mint and rosemary essential oils showed antimicrobial effects against *E. coli* from the 15th day. The researcher noted that mint essential oil had a suppressive effect on *E. coli*, yeast mould and total bacterial counts from day 15, while rosemary essential oil showed a rapid increase in antimicrobial activity against *E. coli*, total bacteria and yeast mould from day 30. The use of various plant extracts in kurut production, as observed in our study, is consistent with these findings in reducing microbial load.

Various plant extracts can be used as natural preservatives in dairy products due to their antimicrobial and antioxidant properties (Dupas et al., 2020). Phenolic compounds, which are among the chemical constituents of walnuts, are known to play an important role in protecting human health and preventing diseases (Uğurlu et al., 2019).

CONCLUSION

Based on the findings of this study, incorporating walnut and walnut leaf extracts into kurut production shows potential for reducing microbial load and extending shelf life. Notably, the GWL15 extract demonstrated a statistically significant reduction in total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) counts ($p=0.008$), indicating its effectiveness in controlling this group of microorganisms. Although no growth of *Enterobacteriaceae* spp. and *Staphylococcus-Micrococcus* spp. was observed in the GWL15 group, these results were not statistically significant. For yeast and mould counts, as well as *Lactobacillus* spp., there were no significant differences among the groups. This highlights the varied impact of different extract doses, with GWL15 being particularly effective in reducing TMAB counts. Overall, the use of GWL15 in kurut production showed the most promising results for reducing microbial loads, enhancing safety, and potentially extending shelf life. The findings of this study indicate that walnut leaf extracts may serve as a promising natural source of bioactive compounds. The total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of walnut leaves were observed to be higher than those of green walnut fruits. These findings suggest that walnut leaves may possess notable antioxidant and antimicrobial properties, which could contribute to their potential use in food preservation and other applications. However, further studies are recommended to confirm these findings and to elucidate the mechanisms underlying their bioactive properties.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflicts of interest to declare that are relevant to the content of this article.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

FRİ, SA, SZ and BB planned, designed, and supervised the research procedure. Preparation of extracts, TPC and TFC analysis by SA and BB. Preparation of kurut samples SA and SZ. Microbiological analyzes by FRİ. The manuscript was written by FRİ, SA, SZ and BB. All authors

have interpreted the data, revised the manuscript for contents, and approved the final version.

ETHICAL APPROVAL

Ethical approval is not required for this research.

REFERENCES

- Anli, E. A. (2022). Impact of Vacuum Assisted Oven Drying of Kurut on Product Quality and Drying Characteristics. *Applied Sciences*, 12(21): 11228, <https://doi.org/10.3390/app122111228>.
- Ara, T., Shafi, S., Ghazwani, M., Mir, J. I., Shah, A. H., Qadri, R. A., Hakami, A. R., Khalid, M., Hani, U., Wahab, S. (2023). In Vitro Potent Anticancer, Antifungal, and Antioxidant Efficacy of Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes. *Agronomy*, 13(5): 1232, <https://doi.org/10.3390/agronomy13051232>.
- Babotă, M., Mocan, A., Vlase, L., Crisan, O., Ielciu, I., Gheldiu, A. M., Vodnar, D. C., Crișan, G., Păltinean, R. (2018). Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of *helichrysum arenarium* (L.) moench. and *antennaria dioica* (L.) gaertn. Flowers. *Molecules*, 23(2): 409, <https://doi.org/10.3390/molecules23020409>.
- Cerit, İ., Sariçam, A., Demirkol, O., Ünver, H., Sakar, E., Coşansu, S. (2017). Comparative study of functional properties of eight walnut (*Juglans regia* L.) genotypes. *Food Science and Technology*, 37(3): 472-477, <https://doi.org/10.1590/1678-457x.20516>.
- Çiftçi, T. (2008). Kurutun kalite Özellikleri Üzerine Bazı Bitkisel kaynaklı Uçucu Yağların Etkilerinin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 60 s.
- Dupas, C., Métoyer, B., El Hatmi, H., Adt, I., Mahgoub, S. A., Dumas, E. (2020). Plants: A natural solution to enhance raw milk cheese preservation?. *In Food Research International*, 130, 108883, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108883>.
- Elouafy, Y., El Yadini, A., Mortada, S., Hnini, M., Harhar, H., Khalid, A., Abdalla, A., Bouyahya, A., Goh, K., Ming, L., Faouzi, M., Tabyaoui, M.

- (2023). Antioxidant, antimicrobial, and α -glucosidase inhibitory activities of saponin extracts from walnut (*Juglans regia* L.) leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 13(2): 60-69, <https://doi.org/10.4103/2221-1691.369610>.
- Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2017). Üretim parametreleri optimize edilmiş kızartmalık keş örneklerinde depolama boyunca meydana gelen değişimler. *GIDA*, 42(6): 643-653, doi: 10.15237/gida.GD17070
- Erkmen, Osman. (2015). Basic methods for the microbiological analysis of foods. 2.ed. Nobel Yayıncılık., Ankara, Türkiye, ISBN: 6051330747.
- FAO (2023). Regional knowledge platform on one country one priority product (OCOP) in Europe and Central Asia. <https://www.fao.org/one-country-one-priority-product/fao-regional-knowledge-platform-on-ocop-in-europe-and-central-asia/kyrgyzstan/en> (Accessed: 01 June 2024).
- Fordos, S., Abid, N., Gulzar, M., Pasha, I., Oz, F., Shahid, A., Khan, M. K. I., Mousavi Khaneghah, A., Aadil, R. M. (2023). Recent development in the application of walnut processing by-products (walnut shell and walnut husk). *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(16): 14389-14411, <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04778-6>.
- Gülsoy, E., Kaya, E., Türkhan, A. (2021). Bazı ceviz (*Juglans regia* L.) çeşitlerinin antioksidant aktiviteleri ve fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi. *Anadolu Journal Of Agricultural Sciences*, 36(1): 55-62, <https://doi.org/10.7161/omuanajas.751354>.
- Gürbüz, Ü., İstanbullugil, F. R., Biçer, Y. (2018). Kurut üretim teknolojisi ve kalite niteliklerinin belirlenmesi. *Manas J Agr Vet Life Sci*, 8(1), 59-67.
- Halkman, A. K., Sağdaş, Ö. E. (2011). Merck Mikrobiyoloji El Kitabı, II. Baskı, Ankara, Türkiye, ISBN:978-975-00373-2-0.
- Keskin, S. N., Şin, E., Akarca, G., Tomar, O. (2018). Çeşitli bitki ekstraktlarının çiğ köfte üzerindeki antimikrobiyal etkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 11(3): 266-278, <https://doi.org/10.30607/kvj.422778>.
- Kiyat, A. (2023). Kırgız mutfak kültüründe kış hazırlığı: gıdalar, kaplar ve muhafaza mekânları. *MANAS Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 12(1): 25-39, <https://doi.org/10.33206/mjss.1168049>.
- Koboyeva, F., Güzeler, N. (2020). Kazakistan süt üretimi ve süt endüstrisi. *ALKU Journal of Science*, 2(3), 163-177, <https://doi.org/10.46740/alku.797185>.
- Li, Y., Wang, C., Wang, J. (2023). Diversity analysis of the yeast and fungal community structure in Kazak cheese from the Yili Pastoral Area in Xinjiang. *International Dairy Journal*, 143,105672, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105672>.
- Mamatova, Z., Aydın, A. (2022). İpek yolu coğrafyasının ortak kültürel değeri “Kurut.” *MJAVL*, 12(2): 158-165. <https://doi.org/10.53518/mjavl.1116093>.
- Meral, H., Demirdöven, A. (2024). Green extraction of carotenoids from lemon peels. *GIDA / THE JOURNAL OF FOOD*, 49 (3): 580-593, <https://doi.org/10.15237/gida.gd24039>.
- Mocan, A., Moldovan, C., Zengin, G., Bender, O., Locatelli, M., Simirgiotis, M., Atalay, A., Vodnar, D. C., Rohn, S., Crişan, G. (2018). UHPLC-QTOF-MS analysis of bioactive constituents from two Romanian Goji (*Lycium barbarum* L.) berries cultivars and their antioxidant, enzyme inhibitory, and real-time cytotoxicological evaluation. *Food and Chemical Toxicology*, 115: 414-424, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.054>.
- Mollabash, N. M., Aydemir Atasever, M. (2018). İran’da satışa sunulan kurutların (Kishk) kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13(1): 70-76. <https://doi.org/10.17094/ataunivbd.292589>.
- Mukarram, S. A., Wandhekar, S. S., Ahmed, A. E. M., Várallyay, S., Pandey, V. K., József, P., Bela, K. (2024). Global perspectives on the medicinal implications of green walnut and its benefits: A comprehensive review. *Horticulturae*, 10(5): 433, <https://doi.org/10.3390/horticulturae10050433>

- Özdamar, K. (2013). Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizi - I, 9. Baskı. Nisan Kitabevi, Eskişehir.
- Patır, B., Ateş, G. (2002). Kurut'un mikrobiyolojik ve kimyasal bazı nitelikleri üzerine araştırmalar. *Türk J Vet Anim Sci*, 26: 785–792.
- Salık, M. A., Çakmakçı, S. (2023). Ceviz (*Juglans regia* L.) yaprağı ve yeşil kabuğu: fonksiyonel özellikleri, sağlığa yararları ve gıdalarda kullanım potansiyeli. *Akademik Gıda*, 21(1): 90-100, <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.1274040>.
- Say, D., Soltani, M., Güzeler, N. (2015). Dried Yoghurts: Kurut and Kashk. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 21(9): 428–432, <https://doi.org/10.5505/pajes.2015.47048>.
- Sharma, M., Sharma, M., Sharma, M. (2022). A comprehensive review on ethnobotanical, medicinal and nutritional potential of walnut (*Juglans regia* L.). *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 88(4): 601-616, <https://doi.org/10.1007/s43538-022-00119-9>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3). <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>.
- Temirbekova, A. (2020). Farklı oranlarda portakal kabuğu ekstraktı kullanılarak fonksiyonel kurut üretimi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksel Lisans Tezi, Samsun, Türkiye, 76 s.
- Tuganbay, A., Yousefvand, A., Saris, P. E. J. (2022). Production of kurut (kurt) using probiotic *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG strain in combination with a yeast isolated from Kazakhstan kurut. *Frontiers in Food Science and Technology*, 2,1045579, <https://doi.org/10.3389/frfst.2022.1045579>.
- Uğurlu, S., Okumuş, E., Bakkalbaşı, E. (2019). Van Gölü kıyısında farklı dönemlerde hasat edilen yeşil cevizlerin fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktiviteleri. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 29(3): 440–449, <https://doi.org/10.29133/yyutbd.543436>.
- Vieira, V., Pereira, C., Pires, T. C. S. P., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Ferreira, O., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R. (2019). Phenolic profile, antioxidant and antibacterial properties of *Juglans regia* L. (walnut) leaves from the Northeast of Portugal. *Industrial Crops and Products*, 134: 347-355, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.020>.
- Yegin, Z., Mamatova, Z., Yurt, M. N. Z., Tasbasi, B. B., Acar, E. E., Ucak, S., Süleymanoğlu, A. A., Aydın, A., Ozalp, V. C., Sudagidan, M. (2024). A metagenomic survey of bacterial communities from kurut: The fermented cow milk in Kyrgyzstan. *Chemistry and Biodiversity*, 21(2). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301374>.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4). [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2).

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Çaltınoğlu Toraman Ç., Güven, Ö., Şensoy, İ. (2024) *Valorization of artichoke leaf powder in extruded snacks: Product quality and in vitro starch digestibility* / Enginar yaprağı tozunun ekstrüde atıştırmalıklarda kullanılması: Ürün kalitesi ve in vitro nişasta sindirilebilirliği.....**997-1009**
- Ceylan, Ö., Uğur, A., Saraç, N., Eroğlu Arslan, B. (2024) *Antimicrobial, antibiofilm, anti-quorum sensing and antioxidant activities of some edible Asteraceae members* / Bazı yenilebilir Asteraceae üyelerinin antimikrobiyal, antibiyofilm, anti-quorum sensing ve antioksidan aktiviteleri.....**1028-1037**
- Şirin, Y., Erdem, B., Cengiz, S., Gürkan, S., Gürkan, P. (2024) *Biochemical composition and determination of adulteration of black mulberry extracts* / Karadut özlerinin biyokimyasal bileşimi ve tağşişin belirlenmesi.....**1038-1061**
- Tiribolulu, T., Haskaraca, G., Ayhan, Z. (2024) *The effects of ethylene scavenging-active packaging and storage temperature on quality and shelf life of cucumber (Cucumis sativus L.)* / Etilen tutucu içeren aktif ambalajlamanın ve depolama sıcaklığının badem hıyarın (*Cucumis sativus* L.) kalite ve raf ömrüne etkisi.....**1074-1094**
- Aslan, Ö., Arık Kibar, E. A. (2024) *Quality evaluation of pine and blossom honey samples produced in Turkey: Correlation between physicochemical characteristics* / Türkiye'ye özgü çam ve çiçek ballarının kalite özelliklerinin değerlendirilmesi: Fizikokimyasal özellikler arasındaki ilişki.....**1095-1108**
- Yıldız, E., Kus, N., San Güner, S., Sumnu, G. (2024) *Development of biodegradable active food packaging from agricultural wastes: Production, characterization, and application of films with banana peel and olive leaf extract* / Tarım atıklarından biyobozunur aktif gıda ambalajı geliştirilmesi: Muz kabuğu ve zeytin yaprağı ekstresi ile filmlerin üretimi, karakterizasyonu ve uygulaması.....**1109-1125**
- Arserim Uçar, D. K. (2024) *Engineered chitosan nanoparticles for encapsulation of thymol* / Timol enkapsülasyonu için tasarlanmış kitosan partikülleri **1148-1161**
- Çinar, A. T., Turabi Yolaçaner, E. (2024) *Modeling of dynamic oscillation and creep-recovery data of gluten-free biscuit dough containing tiger-nut flour* / Yer bademi unu içeren glutensiz bisküvi hamurunun dinamik salınım ve sünme-iyileşme verilerinin modellenmesi.....**1218-1227**
- İstanbulgil, F. R., Salieca, Z., Salieva, K., Borkoev, B. (2024) *Flavonoid and total phenolic contents of green walnut fruits and leaves, and the effects of their extracts on the microbiological properties of keurt* / Yeşil ceviz meyveleri ve yapraklarının flavonoid ve toplam fenolik içerikleri ile ekstraktlarının kurutun mikrobiyolojik özelliklerine etkisi.....**1228-1236**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Alifaki, Y. Ö., Yılmaz, M. S., Şakiyan, Ö., İşçi, A. (2024). Zeytin karasuyu fenolik birleşiklerinin ohmik, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonu ve kinetik modellemesi / *Kinetic modelling of ohmic, microwave and ultrasound assisted extractions of phenolic compounds from olive mill waste water***1010-1027**
- Coşkun, H., Albayrak, B., Helal, M., Dheyaa, S., Öztürk, B. B., Ertem, M. (2024). Zerdeçal ekstraktı kullanımının kefirin bazı fizikokimyasal özelliklerine etkisi / *The effect of turmeric extract usage on some physicochemical properties of kefir*.....**1062-1073**
- Kanca, N. (2024). Yoğurt suyu kullanımının yağsız ayranın bazı özellikleri üzerine etkisi / *Effect of yogurt whey use on some properties of nonfat ayran***1126-1137**
- Erinç, H., Erkan, T. (2024). Farklı kurutma tekniklerinin fındık oleozomları üzerine etkilerinin belirlenmesi / *Determination of the effects of different drying techniques on hazelnut oleosomes*.....**1138-1147**
- Cerit, İ., Güneş, R., Çelik, G. (2024). Farklı çözücü ve ultrasonikasyon uygulamalarının maya hücreleri ile β -karoten enkapsülasyonunda etkisi / *The effect of different solvents and ultrasonication applications on β -carotene encapsulation with yeast cells*.....**1162-1174**
- Döver, H., Bekar, E., Kamiloğlu, S. (2024). Çörek otu posasının marmelat yapımında değerlendirilmesi: Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği ve antioksidan kapasite üzerine etkileri / *Valorization of black cumin pomace in marmalade production: Effects on bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant capacity***1206-1217**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Şensu, E., Yüceetepe, A., Özçelik, B. (2024). Alternatif protein kaynağı olarak makroalgler ve makroalgal proteinlerin ekstraksiyonu: Bir derleme çalışması / *Macroalgae as alternative protein sources and extraction of macroalgal protein: A review study*.....**1175-1189**
- Horzum, B. S., Bayrak, E. (2024). Gölevez (*Colocasia esculenta* (L.) scott): Beslenme ve sağlık üzerine etkisi / *Taro (Colocasia esculenta (L.) scott): Effects on nutrition and health* **1190-1205**