

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 50

SAYI / NUMBER : 6

YIL / YEAR : 2025

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

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

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

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

İçindekiler / Content GIDA (2025)50(6)

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Aktaş, H. (2025). *Unveiling the quality and health potential of brined grape leaves Vitis vinifera L.: Microbiological, physicochemical and biofunctional properties* / Salamura üzüm yapraklarının (*Vitis vinifera* L.) kalite ve sağlık potansiyelinin ortaya çıkarılması: Mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve biyofonksiyonel özellikler961-978

Saraç, S., Soyocak, H., Sarıcaoglu, F. T., Turhan, S. (2025). *Standardization of texture profile analysis (TPA) parameters for chicken salami* / Tavuk salamı için tekstür profil analizi (TPA) parametrelerinin standardizasyonu979-988

Filiz, Ö., Altay, Ö., Köprüalan Aydın, Ö., Kaymak Ertekin, F. (2025). *Drum drying of sourdough: Identifying optimal process conditions for powder production and bread applications* / Ekşi hamurun valsli kurutucuda kurutulması: Toz üretimi ve ekmek uygulamaları için en uygun işlem koşullarının belirlenmesi1003-1016

Bilecen Şen, D. (2025). *Comparative evaluation of physicochemical, microbiological, and volatile aroma profiles in fermented, heat-treated, and butcher-style sucuk* / Fermente, ısı işlem görmüş ve kasap tipi sucuk örneklerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve uçucu aroma profillerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi1017-1032

Öztok, S., Köse, Ş., Erim Köse, Y. (2025). *Determination of some quality characteristics of dulce de leche's produced industrially in Turkey* / Türkiye'de endüstriyel olarak üretilen süt reçellerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi1033-1042

Yılmaz, E., Karataş, M., Aday, M. S. (2025). *Utilization of sunflower wax oleogels as coating materials to extend the shelf-life of fresh mandarin fruits* / Taze mandalina meyvesinin raf ömrünü uzatmak için ayçiçek mumu oleojellerinin kaplama materyali olarak kullanımı1043-1057

Bawadi, N., Fındık, B. T., Yıldız, H. (2025). *A natural food fortification approach to reduce iron-polyphenol complex formation: Orange peel-added black tea* / Demir-polifenol kompleksi oluşumunu azaltmaya yönelik doğal bir gıda zenginleştirme yaklaşımı: Portakal kabuğu katkılı siyah çay1091-1104

Meral-Aktaş, H. (2025). *Production of fermented milk using human origin Bifidobacterium longum BH28: A functional and technological assessment* / İnsan orijinli Bifidobacterium longum BH28 kullanılarak fermente süt üretimi: Fonksiyonel ve teknolojik değerlendirme1168-1185

Toprakçı Yüksel, İ. (2025). *Automatic solvent extraction of bioactive molecules rich in phenolics and flavonoids from Hypericum perforatum L.: Optimization and multivariate analysis* / Hypericum perforatum L'den fenolik ve flavonoidler açısından zengin biyoaktif moleküllerin otomatik çözücü ekstraksiyonu: Optimizasyon ve çok değişkenli analiz1200-1219

Sayın, B., Kızılkaya, P., Özhamamcı, İ., Bozkurt, A. G. (2025). *Comparative evaluation of traditional and industrial kasar cheeses based on physicochemical, textural, color, and sensory attributes* / Geleneksel ve endüstriyel kasar peynirlerinin fizikokimyasal, tekstürel, renk ve duyu özellikleri açısından karşılaştırmalı değerlendirilmesi1220-1229

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Güçöz, A., Erkoç, H. N., Aykın Dinçer, E. (2025). *Tavuk eti çubuklarının beta karotene zengin havuç posası kullanılarak renklendirilmesi* / Coloring of chicken meat sticks using beta-carotene rich carrot pomace989-1002

Kuluçlu, A., Özdemir, N., Kök Taş, T. (2025). *Mikroenkapsüle su kefir: Probiyotik stabilite, depolama ve sindirim sisteminde canlılık üzerine etkisi* / Microencapsulated water kefir: Effect on probiotic stability, storage and survival in the gastrointestinal tract1058-1076

Coşkun, H., Sarıca, E., Avcı, C., Bekdemir, N., Kır, R. (2025). *Biberiye yaprağı kaplamasının beyaz peynirde fenolik madde, antioksidan aktivite ve bazı kalite özelliklerine etkisi* / Effect of rosemary leaf coating on phenolic substances, antioxidant activity, and selected quality characteristics of white cheese1077-1090

Arslan Kulcan, A. (2025). *Çilek suyundan fenoliklerin ve antosiyaninlerin ultrafiltrasyon ile konsantrasyonu: Hacim azaltma faktörü ve membran ayırma sınırının etkisi* / Concentration of phenolics and anthocyanins from strawberry juice by ultrafiltration: Influence of volume reduction factor and membrane cut-off rate1105-1119

Eren, B., Güneş, E. (2025). *Afet ve acil durumlarda kullanılan gıda tasarımlarının incelenmesi* / An analysis of food designs used in disasters and emergencies1120-1136

Şengül M., Yavaş, O., Karakütük, İ. A. (2025). *Kurutulmuş karadut (Morus nigra) ve şırasının bazı fizikokimyasal özellikleri, fenolik profili, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin karşılaştırılması* / Comparison of some physicochemical properties, phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity of dried black mulberry (Morus nigra) and its syrup1137-1150

Tosun Demir, M. N., Korkmaz, F. (2025). *Türkiye ve Japonya menşeli matcha tozlarının fizikokimyasal ve duyu özelliklerinin karşılaştırılması* / Comparison of physicochemical and sensory properties of matcha powders from Türkiye and Japan.....1186-1199

Derlemeler (Türkçe) / Review (Turkish)

Göncü, G., Ertas Onmaz, N. (2025). *Bakteriyofaj-probiyotik kombinasyonlarının bağırsak mikrobiyotasını modüle etmede terapötik potansiyeli* / Therapeutic potential of bacteriophage-probiotic combinations in modulating the gut microbiota1151-1167

UNVEILING THE QUALITY AND HEALTH POTENTIAL OF BRINED GRAPE LEAVES (*VITIS VINIFERA* L.): MICROBIOLOGICAL, PHYSICOCHEMICAL AND BIOFUNCTIONAL PROPERTIES

Haktan AKTAŞ*

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

Received /Geliş: 10.06.2025; Accepted /Kabul: 05.10.2025; Published online /Online baskı: 22.10.2025

Aktaş, H. (2025). Unveiling the quality and health potential of brined grape leaves *Vitis vinifera* L.): Microbiological, physicochemical and biofunctional properties. GIDA (2025) 50 (6) 961-978 doi: 10.15237/gida.GD25073

Aktaş, H. (2025). Salamura üzüm yapraklarının (*Vitis vinifera* L.) kalite ve sağlık potansiyelinin ortaya çıkarılması: Mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve biyofonksiyonel özellikler. GIDA (2025) 50 (6) 961-978 doi: 10.15237/gida.GD25073

ABSTRACT

The grapevine and its brined leaves are important products in various regions of our country, both for their use in traditional dishes and nutritional value. This study investigated the microbiological and physicochemical properties, total phenolic, antioxidant capacity and chromatographic characteristics of unpackaged and packaged brined grape leaves sold in the Erzurum province of Turkey. Yeasts were the dominant microorganisms, ranging <1-7.20 log cfu/mL, although total viable count, mould, lactobacilli and lactococci were determined in some samples. The pH, acidity (% lactic acid) and salt content (%) of the samples ranged 2.55-3.47, 0.20-1.29 and 6.14-32.76, respectively. The total phenolic content and IC₅₀ were found to be in the range of 509.12-1870.59 mg GAE/L and 0.054-0.249 mg/mL, respectively. The samples were found to contain different ratios of organic acids, glutamic acid, gamma-aminobutyric acid, benzoic/sorbic acid. Further analysis is required to determine the microbial content (microbiota), ingredients, and pesticide residues in the samples.

Keywords: *Vitis vinifera* L., brined grape leaves, microbiological properties, phenolic/antioxidant capability, organic acid profile, gamma-aminobutyric acid content

SALAMURA ÜZÜM YAPRAKLARININ (*Vitis vinifera* L.) KALİTE VE SAĞLIK POTANSİYELİNİN ORTAYA ÇIKARILMASI: MİKROBİYOLOJİK, FİZİKOKİMYASAL VE BİYOFONKSİYONEL ÖZELLİKLER

ÖZ

Asma üzümü ve salamura yaprakları hem geleneksel yemeklerde kullanımı hem de besin değeri açısından ülkemizde çeşitli yörelerde üretilen önemli ürünlerdendir. Bu çalışmada, Türkiye'nin Erzurum ilinde ambalajsız ve ambalajlı şekilde satılan salamura üzüm yapraklarının mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri, toplam fenolik, antioksidan kapasitesi ve kromatografik özellikleri araştırılmıştır. Bazı örneklerde toplam canlı sayısı, küf, laktobasil ve laktokok tespit edilmesine rağmen, <1-7.20 log kob/mL arasında değişen yoğunlukta mayalar baskın mikroorganizma grubunu oluşturduğu tespit edilmiştir. Örneklerin pH, asitlik (% laktik asit) ve tuz içeriğinin (%) sırasıyla 2.55-3.47, 0.20-1.29 ve 6.14-32.76 arasında değiştiği belirlenmiştir. Toplam fenolik içerik ve IC₅₀ değeri

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: haktan.aktas@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 2482

Haktan Aktaş; ORCID no: 0000-0002-1067-061X

sırasıyla 509.12-1870.59 mg GAE/L ve 0.054-0.249 mg/mL aralığında bulunmuştur. Örneklerin farklı oranlarda organik asit, glutamik asit, gama-aminobütirik asit, benzoik/sorbik asit içerdiği tespit edilmiştir. Bu örneklerde mikrobiyal içeriğin (mikrobiyota), bileşenlerin ve pestisit kalıntılarının belirlenmesi için daha fazla analiz yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Vitis vinifera* L., salamura üzüm yaprakları, mikrobiyolojik özellikler, fenolik/antioksidan kapasite, organik asit profili, gama-aminobütirik asit içeriği

INTRODUCTION

Vitis vinifera L., commonly known as the grapevine, is a climbing shrub belonging to the *Vitaceae* family that produces fruit in a variety of colours. The grapevine is an important species native to the Mediterranean region, used both as a food source and for its medicinal properties (Acero et al., 2025). Türkiye is one of the world's leading producers of grapevine, with approximately 17% of its agricultural land dedicated to viticulture. In Türkiye, grapes are consumed fresh (as a table fruit) or processed into alcoholic beverages, tarhana, or dried fruit. However, in recent years, the consumption of fresh or brined grape leaves has become increasingly important, and this market is becoming an important source of income. Furthermore, the fact that grape leaves are used as an ingredient in important dishes, especially in Turkish cuisine, is one of the reasons for their increased importance (Zorlu Ünlü et al., 2023). The brined grape leaves are produced and sold in various forms, including unpackaged and packaged. As with other products, the microbiological and chemical quality of the final product can be directly affected by this. Moreover, unlike industrial products, traditional products are prone to issues with end-product standardisation, including variable pH levels, acidity, salt content and imbalanced microbial content (Aktaş and Çetin, 2024). Therefore, it is of great importance for food safety and quality control to regularly monitor brined products.

In recent years, pickled vegetables have begun to be regarded not only as traditional foods, but also as functional foods with potential health benefits. Such products, including grape leaves, contain phenolic compounds, organic acids and antioxidant substances that have biological activities which can have a positive effect on human health (Çağdaş and Seydim, 2016; Akyurt et al., 2018; Jridi et al., 2019). Therefore,

evaluating the biofunctional potential of brined grapevine leaves increases the importance of this product, both for traditional consumption and for its health benefits.

This study examined unpackaged and industrially produced/packaged brined grape leaves samples from Erzurum province in terms of their microbiological, physicochemical and biofunctional properties. Thus, the aim is to reveal the comparative differences arising from production type.

MATERIALS AND METHODS

Collection of brined grape leaves samples

In this study, brined grape leaves samples were collected from local markets in Erzurum. The study examined twenty-one brined grape leaves, fifteen of which were sold openly (unpackaged) and six of which were industrially produced and sold in packaged form. The samples were traditionally prepared by boiling/fresh leaves, adding salt, and storing in brine, as commonly practiced in the region. The samples were brought to the laboratory immediately in sterile containers and analysed on the same day. In this study, all analyses were performed using only the brine (liquid) portion of the samples. The grape leaves themselves were not analysed directly. The brine was chosen as it provides a consistent environment for microbiological analysis and contains soluble compounds (such as phenolic compounds, organic acids, GABA and preservatives) that are released from the leaves and affect the product's overall quality and safety.

Microbiological analyses

This study investigated the counts of total viable, psychrotrophic bacteria, yeast, mould, lactobacilli, lactococci and *Enterobacteriaceae* in unpackaged and packaged brined grape leaf samples. Microbiological analysis was performed using brine water for sampling. These microbiological

analyses were performed using the serial dilution method (Ben-David and Davidson, 2014). The total viable count was determined using plate count agar (PCA, Merck). The petri dishes were incubated at 30°C for 72 h (ISO 4833-1, 2013). Psychrotrophic bacteria were incubated on PCA at 7°C for ten days (Mol et al., 2007). The yeast and mould count in the samples were detected using Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC, Merck) agar, after which the samples were incubated at 25°C for five days (ISO 21527-1, 2008). Yeasts and moulds were enumerated on the same plates but distinguished and counted separately according to their colony morphology. This approach is recommended by ISO 21527-1 (2008) and described by Pitt and Hocking (2009). The counts of lactobacilli and lactococci were determined using de Man, Rogosa and Sharpe (MRS, Merck) and M17 agar (Merck), respectively. The lactobacilli were incubated anaerobically (Anaerocult A, Merck) at 30°C for 48-72 h, while the lactococci were incubated at 30°C for 24 h (Ashraf and Shah, 2011). Finally, the *Enterobacteriaceae* count was determined using violet red bile dextrose (VRB, Sigma-Aldrich) agar by the pour-plating method, after which the petri plates were incubated at 37°C for 24 h (ISO 21528-2, 2017).

Physicochemical analyses

In this study, the pH, acidity (as a percentage of lactic acid), and salt content (as a percentage) of unpackaged and packaged brined grape leaves samples were investigated. All these analyses were performed using brine water of the samples. The pH of the samples was determined using a pH meter (Hanna pH-211). Before conducting this analysis, the pH meter was calibrated using pH 4 and pH 7 buffers (Savello et al., 1989). The method of Cemeroglu (2010) was used to detect the acidity of the samples gravimetrically by titration. A 10 g sample was titrated with 0.1 N NaOH (Merck) in the presence of phenolphthalein, and the acidity was expressed as % lactic acid. The brined grape leaves samples were diluted (1:49) in distilled water and neutralised with 0.1 N NaOH (Merck) for salt content. Then, 0.5 mL of a 5% K₂CrO₄ solution was added to the mixture and titrated with 0.1 N

AgNO₃ until a red colour appeared. The salt content of the samples was calculated using the following formula (Hayaloğlu, 2009): Salt content (%) = $[(0.585 \times F \times (V_1 - V_2)) / m] \times DF$, where F showed factor of 0.1 N AgNO₃ solution, V₁ showed amount of 0.1 N AgNO₃ used for the sample (mL), V₂ showed amount of 0.1 N AgNO₃ used for the negative control (mL), m showed sample amount (g) and DF showed dilution factor.

Organic acid profile

The organic acid profiles of the brined grape leaf samples were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC, Agilent Technologies) with a 1260 infinity standard autosampler, 1260 quantitative pump and 1260 VWD UV detector. In the extraction step, the brine water (5 g) was homogenised with 25 mL of 0.01 N H₂SO₄ (Merck), then centrifuged at 7000 × g at 4°C for 7 min. The resulting supernatant was filtered through a 0.45 µm filter (Supelco Iso-Disc™ Filters, N-25-4 Nylon, 25 mm x 0.45 µm) and transferred to HPLC vials. In the HPLC step, the mobile phase consisted of 10 mM perchloric acid (HClO₄, Merck), and chromatographic separation was carried out using a Spherisorb ODS2 column (4.6 × 250 mm, 5 µm). After injecting 20 µL, the organic acid profiles of the samples were detected at a flow rate of 0.5 mL/min, a wavelength of 210 nm, and a column temperature of 35°C (Atalar, 2019).

Total phenolic content and antioxidant capability

This study determined the total phenolic content and antioxidant capability of the brined grape leaf samples. During extraction, 10 g of the brine water was mixed with 10 mL of a 75% (v/v) methanol solution and homogenised in an orbital shaker (Orbital Shaker SSL1) for 6 h. The mixture was then centrifuged at 1420 × g for 10 min, after which the resulting supernatant was filtered through Whatman No. 1 filter paper (Ozcan et al., 2019). The Folin–Ciocalteu method was used to determine the total phenolic content (TPC). The Folin–Ciocalteu colorimetric method was used to determine the total phenolic content (TPC) of the samples (Şengül et al., 2024). Two mL of the

extract were added to 500 µL of Folin-Ciocalteu reagent and left for 3 min. Then, 2 mL of an aqueous sodium carbonate solution (2%, w/v) was added, after which the mixture was incubated at 25°C for 2 h. Absorbance was detected at 760 nm using a UV-Vis spectrophotometer (Epoch, BioTek). The TPC was calculated based on the standard curve of gallic acid, and the results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents per litre of brine sample (mg GAE/L). The 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging method was used to determine the antioxidant capability of the samples (Şengül et al., 2024). One hundred µL of the extract were added to 0.1 mM DPPH solution to give a final volume of 3 mL and the mixture was kept in the dark for 30 min. The absorbance was measured at 517 nm using a UV-Vis spectrophotometer (Epoch, BioTek) and the DPPH radical scavenging capability was calculated using the following formula: DPPH scavenging capability (%) = $(1 - A_s/A_c) \times 100$, where A_s showed absorbance of the samples, A_c showed absorbance of the DPPH solution without sample.

Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid content

The glutamic acid and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of the samples was determined using the method specified by Le et al. (2020). First, 0.5 mL of the brine water were mixed with 5 mL of deionised water. This mixture was then centrifuged at 4000 rpm and at 22°C for 15 min, after which the supernatant was filtered into HPLC vials using a 0.45 µm filter (Supelco Iso-Disc™ Filters, N-25-4 Nylon, 25 mm x 0.45 µm). The extracts and derivatization reagent were mixed in a ratio of 108:342 µL for the derivatization step, and 20 µL of the mixture was injected into the HPLC system. The derivatization reagent consisted of a mixture of methanolic o-phosphoric acid (0.512 g/10 mL, w/v) and borate buffer. The mobile phase consisted of the solvent A (0.05 M sodium acetate, pH 7.2) and B (a mixture of 0.1 M sodium acetate, acetonitrile and methanol, 46:44:10, v/v/v, pH 7.2), with the following gradient elution: 0 min: 20% B; 0-24 min: 100% B; 24-34 min: 100% B; 34-39 min: 0% B; and 39-53 min: 0% B. The chromatographic

separation was carried out using an ACE 5 C18 column (4.6 × 150 mm, 5 µm). The glutamic acid and GABA content of the samples was detected at a flow rate of 1.0 mL/min, a wavelength of 338 nm and a column temperature of 25°C.

Benzoic and sorbic acid content

This study determined the benzoic and sorbic acid content of brined grape leaves samples. The brine water (5 g) were weighed into the flask, after which the final volume was brought to 100 mL with a methanol solution (35%, v/v). The mixture was then filtered into HPLC vials using filter paper. The mobile phase comprised an acetate buffer-methanol solution (70:30, v/v) at a flow rate of 0.8 mL/min, and the chromatographic separation was performed using a Spherisorb ODS2 column (4.6 × 250 mm, 5 µm). The injection volume was 20 µL and the detection of benzoic and sorbic acids were detected at 229 and 262 nm, respectively (Aktaş et al., 2024).

Statistical analysis

All analyses of the samples in this study were carried out in duplicate. The SPSS 22.0 programme (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used to statistically evaluate all of the data obtained. The independent sample T-test was used to determine the statistical differences between two groups, while One-way ANOVA and Duncan's multiple comparison analysis was used to determine the differences between more than two groups ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis was used to assess the relationship between the data. In addition, principal component analysis (PCA) was performed using SIMCA-14.1 (MKS UMETRICS, Umea, Sweden) to highlight differences between groups.

RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological analyses

The microbiological content of food is an important parameter that directly affects its spoilage, shelf life and quality (Bevilacqua et al., 2024). The aim of this study was to reveal the microbiological properties of brined grape leaves samples by determining their total viable count, psychrotrophic bacteria, yeast, mould, lactobacilli, lactococci and *Enterobacteriaceae* content. All

microbiological results are given in Table 1. No psychrotrophic or *Enterobacteriaceae* bacteria were detected in any of the samples, while lactobacilli were only detected in one sample (UP15) at a level of 1.95 log cfu/mL. Conversely, Salvetti et al. (2016) reported that *Enterobacteriaceae* were the dominant microorganisms in their study on grapes and grape leaves. However, the absence of *Enterobacteriaceae* in the brined grape leaves was an expected result of technological processes such as boiling, salting, and pickling of grape leaves, and the decrease in pH due to microbial growth (Aktaş and Çetin, 2024). Lactococci were found in two samples (UP4 and UP15), and mould was found in two samples (UP4 and P3). The total viable content of all samples ranged from <1 to 5.90 log cfu/mL. Total viable content was detected in four unpackaged (UP4, UP6, UP13, and UP15) and one packaged (P5) sample.

Statistical analysis revealed that the P5 sample had the highest total viable count ($P<0.001$). By contrast, the yeast content of all samples except UP3, UP6, UP10, UP12, UP14, and P1 ranged from 1.54 to 7.20 log cfu/mL. As yeasts are known to be the dominant microorganisms in grapes (Chavan et al., 2009; Salvetti et al., 2016), grape leaves (Firat and Çetin, 2014; Salvetti et al., 2016; Firat and Çetin, 2020), grape must (Raymond et al., 2018), and wine (Belessi et al., 2022), the results obtained in the present study are consistent with those of other studies. A statistical difference was observed in the yeast counts of the samples ($P<0.001$), with the highest count detected in UP1 (7.20 log cfu/mL) and UP5 (6.90 log cfu/mL). Upon evaluating all these results, it becomes clear that the predominant microorganism in the brined grape leaves is yeast, as Firat and Çetin (2014) emphasised.

Table 1. Results of microbiological analyses of the brined grape leaves¹

Sample code	Microbiological parameters (log cfu/mL)						
	Total viable count	Psychrotrophic bacteria	Yeast	Mould	Lactobacilli	Lactococci	<i>Enterobacteriaceae</i>
UP1	<1 ^f	<1	7.20±0.35 ^a	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP2	<1 ^f	<1	6.61±0.23 ^{ab}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP3	<1 ^f	<1	<1 ^h	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP4	5.12±0.17 ^b	<1	4.24±0.04 ^e	2.59±0.16 ^a	<1 ^b	4.79±0.16 ^a	<1 ²
UP5	<1 ^f	<1	6.90±0.14 ^a	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP6	4.72±0.34 ^c	<1	<1 ^h	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP7	<1 ^f	<1	5.72±0.34 ^{cd}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP8	<1 ^f	<1	1.95±0.07 ^{fg}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP9	<1 ^f	<1	4.92±0.11 ^{de}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP10	<1 ^f	<1	<1 ^h	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP11	<1 ^f	<1	2.00±1.41 ^{fg}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP12	<1 ^f	<1	<1 ^h	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP13	2.15±0.21 ^e	<1	2.51±0.56 ^f	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP14	<1 ^f	<1	<1 ^h	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
UP15	2.95±0.07 ^d	<1	2.57±0.48 ^f	<1 ^b	1.95±0.07 ^a	1.87±0.04 ^b	<1 ²
P1	<1 ^f	<1	<1 ^h	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
P2	<1 ^f	<1	5.03±0.17 ^{de}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
P3	<1 ^f	<1	4.91±0.12 ^{de}	2.85±1.20 ^a	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
P4	<1 ^f	<1	5.08±0.12 ^{de}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
P5	5.90±0.08 ^a	<1	6.02±0.03 ^{bc}	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
P6	<1 ^f	<1	1.54±0.34 ^g	<1 ^b	<1 ^b	<1 ^c	<1 ²
Sig. (ANOVA)							
Production type	Unpackaged	***	-	***	***	***	-
	Packaged	1.00±1.80	<1	2.97±2.72	0.17±0.66	0.13±0.50	0.44±1.27
Production type	Packaged	0.98±2.30	<1	3.76±2.29	0.47±1.17	<1	<1 ²
Sig. (T-test)							
Production type	Unpackaged	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Packaged	ns	ns	ns	ns	ns	ns

¹ All values are presented as the mean±standard deviation. Sig.: Degree of statistical significance, ns: Not statistically significant, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$, ANOVA: One-way ANOVA test, T-test: Independent sample T-test, UP: unpackaged brined grape leaves samples, P: packaged brined grape leaves samples. Lowercase represents statistical differences in the same column according to the One-way ANOVA test.

² cfu/mL

Supplementary materials: Unveiling the Quality and Health Potential of Brined Grape Leaves (*Vitis vinifera* L.): Microbiological, Physicochemical and Biofunctional Properties

Physicochemical analyses

This study investigated the physicochemical properties of brined grape leaves samples, including pH, acidity and salt content. The results are presented in Figure 1 and Table S1. The results showed a statistical difference in pH ($P=0.000043$) and acidity levels ($P=0.000006$) between packaged and unpackaged samples, but no difference in salt content ($P=0.144265$). The lower pH and higher acidity of unpackaged samples clearly indicate that quality parameters are more difficult to control and monitor in traditionally produced products than in industrially produced ones (Çetin and Aktaş, 2024). The pH of the unpackaged samples was between 2.55 and 3.34, while that of the packaged samples was between 2.82 and 3.47. The acidity levels of the unpackaged samples were between 0.20 and 1.29 % lactic acid, whereas those of the packaged samples were between 0.25 and 0.48 % lactic acid. Additionally, the salt content of the unpackaged samples varied between 8.19% and 32.76%, whereas that of the packaged samples varied between 6.14% and 28.67%. The study

conducted by Yaşa (2019) determined that the pH of brined grape leaves samples produced with different salt ratios was in the 2.95-3.16 range after 3 months. Additionally, Fırat and Çetin (2014) reported that the pH, acidity, and salt content of the brined grape leaves samples were in the ranges 2.91-4.60, 0.30-3.60 % lactic acid and 1.75-25.00%, respectively. Similarly, Zengin Yılmaz (2022) found that the pH, acidity, and salt content of the brined grape leaves samples were 3.22-5.19, 0.11-1.94 % lactic acid, and 2.98-17.84%, respectively. It is a well-known fact that low pH, high acidity, and low water activity (by drying, sugar addition or salting) in foods suppress the microbial growth in foods without the need for any additional protective barriers. In short, this is known as “hurdle technology”. On the other hand, yeasts are more resistant than bacteria to the inhibitory effects of hurdle technology (Vermeulen et al., 2007; Adeiza et al., 2024). The fact that yeast was detected in almost all of the samples in the present study, while bacterial content was almost negligible, may be due to the above-mentioned reasons.

Table S1. Physicochemical properties of pickled grape leaves samples^a

Sample code	Physicochemical parameters		
	pH	Acidity (% lactic acid)	Salt content (%)
UP1	3.34±0.00 ^b	0.20±0.03 ^m	8.19±0.00 ^l
UP2	2.95±0.00 ^g	0.36±0.01 ^k	14.92±0.41 ⁱ
UP3	2.78±0.01 ^h	0.38±0.00 ⁱ	31.30±0.41 ^b
UP4	2.91±0.01 ^h	0.60±0.00 ^f	13.16±0.41 ^j
UP5	2.85±0.00 ^h	0.63±0.00 ^f	22.52±0.41 ^e
UP6	2.96±0.00 ^f	0.38±0.01 ^j	15.21±0.00 ^h
UP7	2.90±0.00 ^h	0.52±0.02 ^g	13.16±0.41 ⁱ
UP8	2.65±0.01 ^m	1.29±0.01 ^a	17.26±0.41 ^h
UP9	2.78±0.01 ^h	0.51±0.02 ^g	24.86±0.41 ^d
UP10	2.77±0.00 ^j	0.73±0.02 ^c	23.99±0.00 ^d
UP11	2.83±0.00 ⁱ	0.91±0.01 ^c	21.06±0.83 ^f
UP12	2.64±0.00 ^m	1.04±0.00 ^b	19.60±0.41 ^g
UP13	2.60±0.01 ⁿ	1.07±0.13 ^b	24.57±0.83 ^d
UP14	2.78±0.00 ^j	0.77±0.02 ^{de}	24.86±0.41 ^d
UP15	2.55±0.00 ^o	0.84±0.07 ^d	32.76±0.83 ^a
P1	2.85±0.00 ^h	0.44±0.01 ^{gh}	28.67±1.65 ^c
P2	3.31±0.01 ^c	0.27±0.02 ^{lm}	12.87±0.83 ^j
P3	2.82±0.00 ^k	0.41±0.02 ^{hij}	19.60±1.24 ^g
P4	3.47±0.01 ^a	0.25±0.00 ^{lm}	6.14±0.41 ^m
P5	3.19±0.01 ^e	0.29±0.03 ^{kl}	23.69±0.41 ^{de}
P6	3.22±0.01 ^d	0.48±0.01 ^{gh}	9.95±0.00 ^k
Sig. (ANOVA)			
	$P<0.001$ (***)	$P<0.001$ (***)	$P<0.001$ (***)
Production type	Unpackaged	2.82±0.19	0.68±0.30
	Packaged	3.14±0.24	0.36±0.10
Sig. (T-test)			
	$P=0.000043$ (***)	$P=0.000006$ (***)	$P=0.144265$ (ns)

^aAll values are presented as the mean±standard deviation. Sig.: Degree of statistical significance, ANOVA: One-way ANOVA test, T-test: Independent sample T-test, ns: Not statistically significant, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$, UP: unpackaged brined grape leaves samples, P: packaged brined grape leaves samples. Lowercase represents statistical differences in the same column according to the One-way ANOVA test

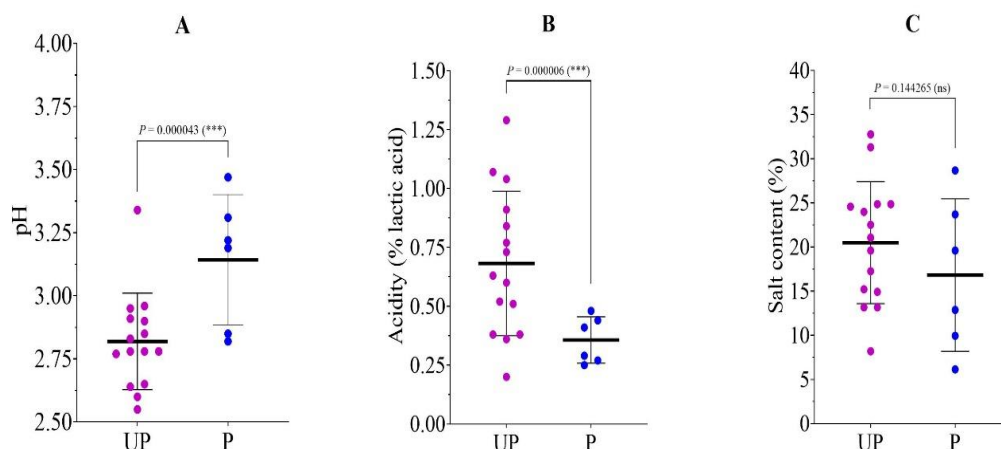


Figure 1. The pH (A), acidity (B), and salt content (C) of the brined grape leaves samples. UP: unpackaged samples, P: packaged samples

Organic acid profile

The production of organic acids, such as lactic and acetic acid, by microbial activity in fermented foods plays a key role in extending shelf life by lowering pH, in addition to their antimicrobial activity (Lee, 1997). This study investigated the organic acid profiles of brined grape leaf samples. The results are presented in Figure 2 and Table S2, and a chromatogram is shown in Figure S1. The malic acid content of the samples was between 133.98 and 3252.21 mg/L, the lactic acid content was between 1813.48 and 43367.95 mg/L, the acetic acid content was between <LOD and 3775.69 mg/L, the citric acid content was between <LOD and 3045.94 mg/L, and the propionic acid content was between <LOD and 1450.84 mg/L. Significant statistical differences were observed for all organic acids between the samples ($P < 0.001$). The highest levels of malic, lactic, acetic, citric, and propionic acid were found in UP10, UP10, UP3, P6 and UP10, respectively ($P < 0.001$). Conversely, it was found that production type caused statistically significant differences in the content of malic ($P = 0.000011$)

and lactic acids ($P = 0.000004$), but not in the content of acetic ($P = 0.244398$), citric ($P = 0.216881$) or propionic acids ($P = 0.060427$). In fermented vegetables, in the initial and primary phase of fermentation, pH decreases, and organic acids are produced by the activity of lactic acid bacteria. In the later stages of fermentation (secondary phase and post-fermentation phase), lactic acid bacteria lose their dominance and yeasts become dominant due to low pH and high acidity (Tokatlı et al., 2012; Çalışkan Aydoğan, 2016). This may explain why none of the samples (except for UP4 and UP15) used in this study contained lactic acid bacteria, despite the detection of a significantly high organic acid content. By contrast, yeasts predominated in the samples examined in this study, but they are known to have limited ability to produce organic acids (Tran and Zhao, 2022). Nevertheless, some researchers have reported that yeast strains, such as *Candida utilis*, *Pichia kudriavzevii*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Lachancea thermotolerans* can produce organic acids in foods (Vilela, 2018; Tsaruk et al., 2025).

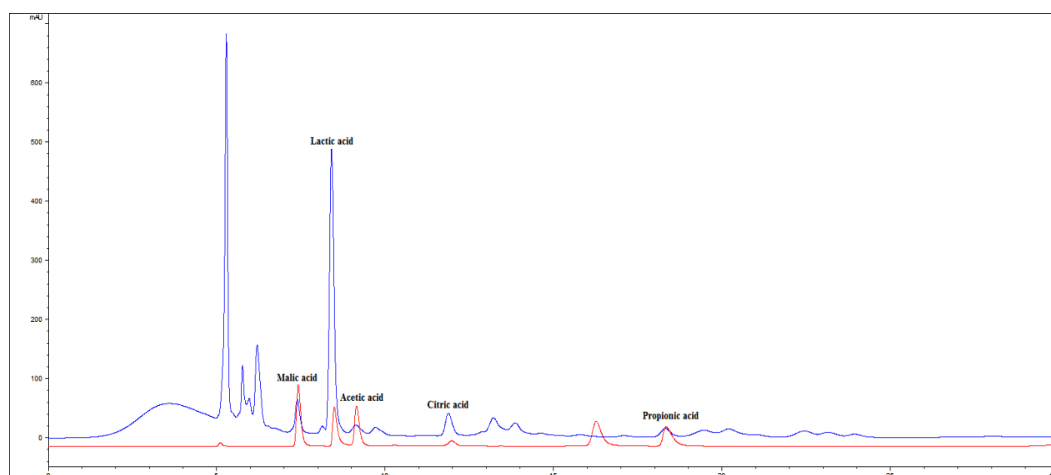


Figure S1. HPLC chromatogram obtained from the analysis to determine the organic acid profile. The red chromatogram shows the standard mixture, while the blue chromatogram shows the brined grape leaves sample

Table S2. Organic acid profile of pickled grape leaves samples^a

		Organic acid profile (mg/L)				
Sample code		Malic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Propionic acid
UP1		143.09±0.57 ^m	5965.43±0.75 ^o	<LOD ^k	<LOD ⁱ	<LOD ⁱ
UP2		990.89±2.94 ^j	18598.14±26.54 ⁱ	395.88±5.18 ^g	138.62±6.86 ^h	<LOD ⁱ
UP3		2771.15±20.51 ^c	15998.00±29.31 ^k	3775.69±91.49 ^a	576.59±55.88 ^e	808.47±13.27 ^d
UP4		1608.58±10.26 ^f	18040.02±169.41 ^j	383.97±42.01 ^{gh}	544.17±21.29 ^e	610.02±1.30 ^{ef}
UP5		3190.96±48.65 ^a	31011.57±524.56 ^e	232.85±9.35 ⁱ	825.08±41.97 ^c	984.36±155.56 ^c
UP6		1047.42±6.24 ⁱ	17832.83±14.94 ⁱ	1486.95±14.24 ^c	838.49±36.65 ^c	538.92±3.59 ^f
UP7		1386.75±6.57 ^h	34799.93±104.39 ^d	729.28±155.09 ^f	296.12±8.75 ^f	310.12±4.58 ^g
UP8		995.39±9.05 ^j	14576.77±26.43 ^j	402.66±2.25 ^g	<LOD ⁱ	537.38±6.15 ^f
UP9		1506.47±15.85 ^g	27898.03±3.93 ^g	377.86±0.93 ^{gh}	186.72±1.37 ^g	593.45±13.33 ^{ef}
UP10		3252.21±4.99 ^a	43367.95±43.00 ^a	656.11±27.40 ^f	697.71±33.55 ^d	1450.84±28.54 ^a
UP11		2883.99±19.98 ^b	28573.60±25.97 ^f	315.08±14.08 ^{gh}	1236.89±6.53 ^b	1190.80±39.57 ^b
UP12		762.73±5.68 ^k	3592.65±2.36 ^p	1374.41±23.09 ^d	<LOD ⁱ	350.49±52.90 ^g
UP13		2023.04±12.02 ^e	35963.68±348.43 ^c	938.58±30.74 ^e	318.53±8.46 ^f	845.40±11.19 ^d
UP14		2456.68±13.45 ^d	41248.82±83.78 ^b	2126.83±6.02 ^b	574.23±12.81 ^e	<LOD ⁱ
UP15		1295.15±48.99 ^h	23805.03±11.57 ^h	271.96±3.38 ^{hi}	345.80±12.97 ^f	673.07±10.15 ^e
P1		1341.05±0.45 ^h	18662.23±11.70 ⁱ	967.35±9.64 ^e	871.70±41.51 ^c	828.12±24.23 ^d
P2		900.53±182.90 ^j	11485.33±32.60 ^m	212.81±6.27 ⁱ	91.99±2.42 ^h	178.08±2.60 ^h
P3		682.22±6.39 ^{kl}	11164.69±199.74 ^m	291.58±137.97 ^{gh}	125.38±7.99 ^h	287.56±28.45 ^g
P4		636.71±5.91 ⁱ	2521.49±57.38 ^c	1525.79±37.70 ^c	296.11±0.19 ^f	<LOD ⁱ
P5		705.20±12.85 ^{kl}	8781.73±148.32 ⁿ	90.38±29.28 ^{ik}	663.16±18.32 ^d	680.64±79.41 ^e
P6		133.98±32.83 ^m	1813.48±3.63 ^s	192.59±9.70 ^{ji}	3045.94±7.26 ^a	<LOD ⁱ
Sig. (ANOVA)		P<0.001 (***)	P<0.001 (***)	P<0.001 (***)	P<0.001 (***)	P<0.001 (***)
Production type	Unpackaged	1754.30±941.49	24084.83±11788.68	897.87±964.36	438.60±356.26	592.89±421.66
	Packaged	773.28±378.18	9071.49±5998.32	546.75±548.80	849.05±1067.29	329.07±335.10
Sig. (T-test)		P=0.000011 (***)	P=0.000004 (***)	P=0.244398 (ns)	P=0.216881 (ns)	P=0.060427 (ns)

^aAll values are presented as the mean±standard deviation. LOD: Limit of detection, Sig.: Degree of statistical significance, ANOVA: One-way ANOVA test, T-test: Independent sample T-test, ns: Not statistically significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001. Lowercase represents statistical differences in the same column according to the One-way ANOVA test

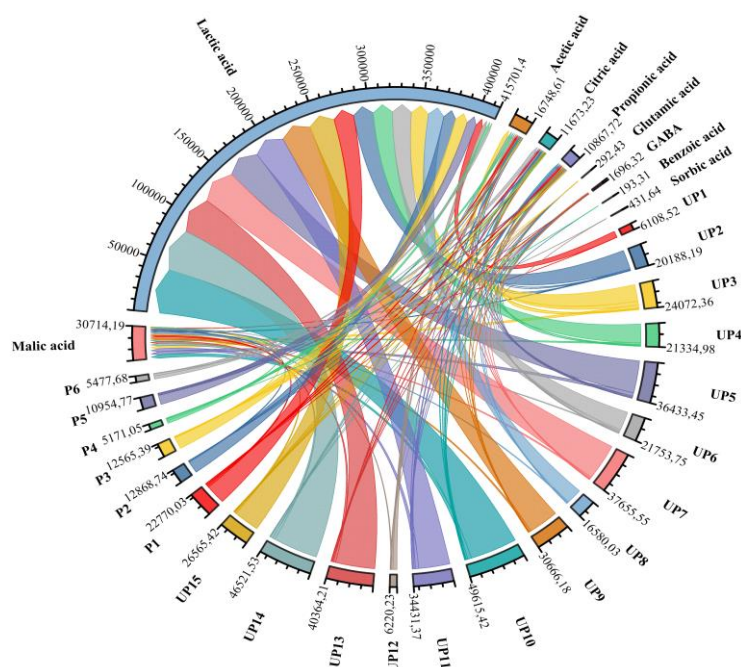


Figure 2. Chord diagram showing the results of the chromatographic analysis of the brined grape leaves samples

Total phenolic content and antioxidant capability

In this study, total phenolic content and antioxidant capacity of brined grape leaves samples were investigated, and the results are presented in Figure 3 and Table S3. The total phenolic content of the unpackaged and packaged samples was found to be 958.32-1870.59 and 509.23-1308.09 mg GAE/L, respectively. Zorlu Ünlü (2021) and Zengin Yılmaz (2022) reported that the phenolic content of brined grape leaves samples was 0.55-16.85 mg GAE/g and 1.33-14.14 mg GAE/g, respectively. Although similar results were mostly obtained, it is thought that the higher level of phenolic content in the above-mentioned study may be due to differences in the solvent used and the extraction process. The IC_{50} of the unpackaged and packaged samples was found to be 0.054-0.126 and 0.071-0.249 mg/mL, respectively. The results showed that the unpackaged samples had a higher total phenolic content than the packaged ones ($P=0.000013$). Correspondingly, the IC_{50} values of the unpackaged samples were lower than those of the packaged ones ($P=0.013404$). Notably, the total phenolic content of all samples varied

considerably, suggesting a potential link with leaf type and/or quantity (Figure 3A) (Zengin Yılmaz, 2022). Many researchers have stated that grapes (Breksa et al., 2010; Rockenbach et al., 2011), wine (Breksa et al., 2010; Rockenbach et al., 2011) and leaves (Zorlu Ünlü, 2021; Zengin Yılmaz, 2022) contain high amounts of phenolic components, which increase antioxidant capacity. Pastrana-Bonilla et al. (2003) found that the average total phenolic content of muscadine grape samples was 2178.8, 374.6, 23.8, and 351.6 mg/g gallic acid equivalent in seeds, skins, pulp, and leaves, respectively. Similarly, the samples in the present study appear to have high levels of phenolic content, and therefore high antioxidant capacity. It is well known that vegetables have a high phenolic content (Andarwulan et al., 2010). Banjanin et al. (2021) reported that differences in grapevine varieties and harvest regions can affect the total phenolic content and antioxidant capacity of the final product. This demonstrates that different vegetables can have different levels of phenolic content, and that even grape leaves can play an important role in healthy nutrition due to their high phenolic content.

Table S3. Total phenolic content and antioxidant capability of pickled grape leaves samples^a

Total phenolic content and antioxidant capability		
Sample code	Total phenolic content (mg GAE/L)	Antioxidant capability (IC ₅₀ , mg/mL)
UP1	958.32±6.11 ⁿ	0.114±0.002 ^{def}
UP2	1026.95±21.53 ^m	0.105±0.003 ^f
UP3	1773.55±5.14 ^b	0.056±0.001 ^{jk}
UP4	1674.00±21.21 ^d	0.064±0.006 ^{hijk}
UP5	1722.64±55.28 ^c	0.065±0.000 ^{hijk}
UP6	1073.77±23.46 ^l	0.118±0.001 ^{def}
UP7	1432.86±8.68 ^g	0.079±0.002 ^{gh}
UP8	1156.95±20.25 ⁱ	0.122±0.002 ^{de}
UP9	1119.00±7.07 ^{jk}	0.109±0.002 ^{ef}
UP10	1870.59±9.32 ^a	0.054±0.002 ^k
UP11	1566.50±25.39 ^f	0.076±0.004 ^{ghu}
UP12	1106.50±12.54 ^{kl}	0.126±0.001 ^d
UP13	1586.95±9.32 ^{ef}	0.067±0.004 ^{hijk}
UP14	1624.23±0.32 ^c	0.062±0.001 ^{ijk}
UP15	1238.32±27.32 ⁱ	0.089±0.005 ^g
P1	1006.73±16.07 ^m	0.123±0.001 ^{de}
P2	1091.95±4.82 ^{kl}	0.079±0.015 ^{gh}
P3	1308.09±8.36 ^h	0.071±0.003 ^{hij}
P4	806.95±17.68 ^o	0.140±0.004 ^c
P5	560.14±22.82 ^p	0.249±0.022 ^a
P6	509.23±4.18 ^r	0.230±0.010 ^b
Sig. (ANOVA)	P<0.001 (***)	P<0.001 (***)
Production type	Unpackaged	1395.41±304.93
	Packaged	880.52±298.47
Sig. (T-test)	P=0.000013 (***)	P=0.013404 (*)

^aAll values are presented as the mean±standard deviation. Sig.: Degree of statistical significance, ANOVA: One-way ANOVA test, T-test: Independent sample T-test, ns: Not statistically significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001. Lowercase represents statistical differences in the same column according to the One-way ANOVA test

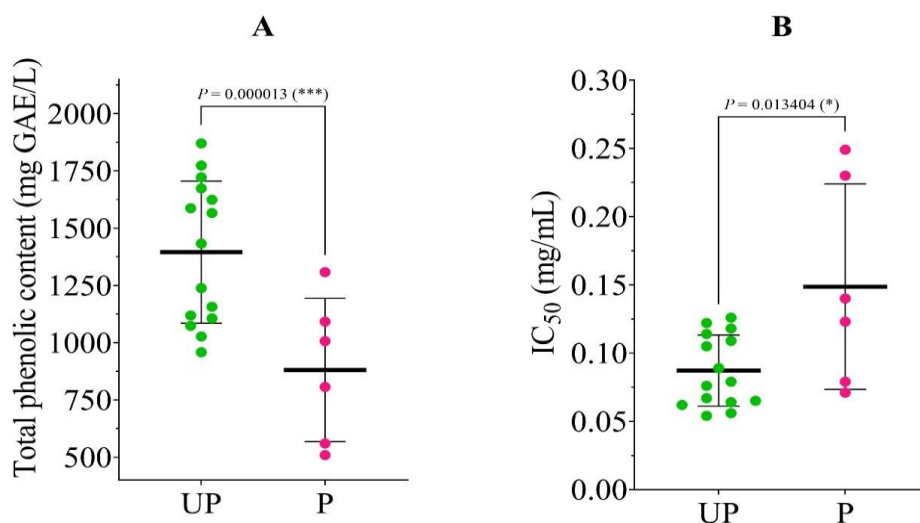


Figure 3. Total phenolic content (A) and antioxidant capability (B) of the brined grape leaves samples.
UP: unpackaged samples, P: packaged samples

Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid content

GABA has many beneficial effects on the human body, which includes lowering blood pressure, promoting the release of dopamine, regulating heart rate, stabilising blood sugar levels, and inhibiting the proliferation of cancer cells (Zhu et al., 2024). Therefore, the presence of GABA, a natural neurotransmitter, and its precursor glutamic acid in foods and its easy uptake into the body are of great importance for human health (Ayağ et al., 2025). In this study, glutamic acid and GABA contents of brined grape leaves samples were analysed using HPLC and the results are presented in Figure 2 and Table S4. A chromatogram is shown in Figure S2. The results revealed that the glutamic acid content of the samples varied from <LOD to 56.81 mg/L and there were statistically significant differences between the samples ($P<0.001$). On the other hand, the GABA content of the samples was between <LOD and 231.59 mg/L, and there were statistically significant differences between the samples ($P<0.001$). According to the results of statistical analysis, UP4 had the highest glutamic acid content and UP11 and UP13 had the highest GABA content ($P<0.001$). Furthermore, it was determined that the production type had a

statistically significant impact on the levels of glutamic acid ($P=0.000168$) and GABA ($P=0.000047$) in the samples and that the glutamic acid and GABA contents of the unpackaged products were higher than the packaged ones. Lactic acid bacteria (Ayağ et al., 2025) and yeasts (Han et al., 2016) are known to convert glutamic acid to GABA. To the best of the authors' knowledge, no studies have been conducted on the glutamic acid and GABA content of grape leaves. On the other hand, in the study conducted by Garde-Cerdán et al. (2016), it was found that grape must naturally contains glutamic acid and GABA at levels of 97.62 and 89.43 mg/L, respectively. Similar to grape must, this suggests that glutamic acid and GABA may be naturally present in brined grape leaves. In addition, some researchers have reported that yeasts can degrade GABA (Ando and Nakamura, 2016). The present study showed that the dominant microbiota in the samples were yeasts. This finding may support the theory that the amount of naturally occurring GABA in brined grape leaves decreases during fermentation due to degradation by the dominant microbiota, yeasts.

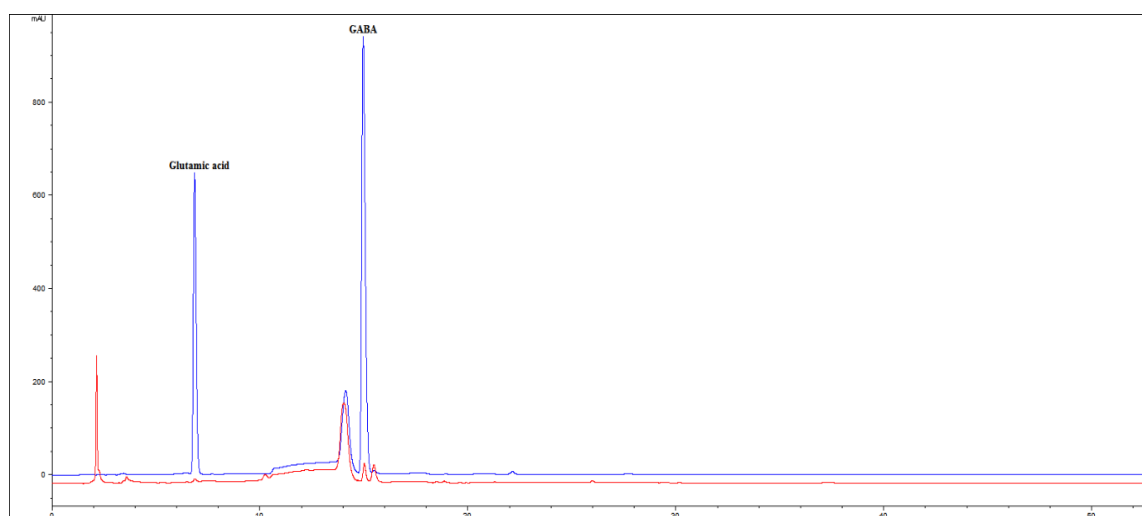


Figure S2. HPLC chromatogram obtained from the analysis to determine the glutamic acid and GABA. The blue chromatogram shows the standard mixture, while the red chromatogram shows the brined grape leaves sample

Table S4. Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid content of the brined grape leaves samples^a

Sample code		Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid content (mg/L)	
		Glutamic acid	Gamma-aminobutyric acid
	UP1	<LOD ^e	<LOD ⁱ
	UP2	<LOD ^e	62.30±2.34 ^{fg}
	UP3	34.72±2.30 ^{bc}	107.74±0.76 ^e
	UP4	56.81±20.68 ^a	91.41±26.64 ^e
	UP5	28.80±20.69 ^{bc}	159.83±10.91 ^{bc}
	UP6	6.06±0.91 ^e	3.08±1.24 ⁺
	UP7	<LOD ^e	133.35±9.78 ^d
	UP8	23.60±0.72 ^{cd}	44.23±5.03 ^{gh}
	UP9	37.44±0.51 ^{bc}	66.21±1.45 ^f
	UP10	13.24±4.02 ^{de}	177.36±13.15 ^b
	UP11	2.83±1.40 ^e	228.18±14.35 ^a
	UP12	<LOD ^e	<LOD ⁱ
	UP13	43.39±3.74 ^{ab}	231.59±4.85 ^a
	UP14	2.66±0.55 ^e	112.31±3.92 ^e
	UP15	28.92±2.25 ^{bc}	145.49±8.47 ^{cd}
	P1	<LOD ^e	99.58±19.92 ^e
	P2	<LOD ^e	<LOD ⁱ
	P3	13.96±4.51 ^{de}	<LOD ⁱ
	P4	<LOD ^e	<LOD ⁱ
	P5	<LOD ^e	33.66±14.63 ^h
	P6	<LOD ^e	<LOD ⁱ
Sig. (ANOVA)		$P<0.001$ (***)	$P<0.001$ (***)
Production type	Unpackaged	18.56±19.38	104.21±75.34
	Packaged	2.33±5.60	22.21±39.07
Sig. (T-test)		$P=0.000168$ (***)	$P=0.000047$ (***)

^aAll values are presented as the mean±standard deviation. LOD: Limit of detection, Sig.: Degree of statistical significance, ANOVA: One-way ANOVA test, T-test: Independent sample T-test, ns: Not statistically significant, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$. Lowercase represents statistical differences in the same column according to the One-way ANOVA test

Benzoic and sorbic acid content

In this study, the benzoic and sorbic acid contents of brined grape leaves samples were analysed by HPLC and the results are given in Figure 2 and Table S5. A chromatogram is shown in Figure S3. Only UP2 and P4 contained benzoic acid, at concentrations of 2.36 and 190.95 mg/L, respectively. By contrast, sorbic acid was only detected in UP12 and P6, with respective contents of 139.95 and 291.69 mg/L. Sorbic and benzoic acids can be used as preservatives in food products (Cakir and Cagri-Mehmetoglu, 2013). Conversely, benzoic acid can be produced naturally by lactic acid bacteria in fermented foods (Meral-Aktaş et al., 2025a). It is therefore thought that the benzoic acid in the samples may have been produced by lactic acid bacteria in the product during primary phase of fermentation. On the other hand, another theory is that the benzoic and sorbic acids detected may have been added to the product as preservatives.

Correlation and principal component analysis

Correlation (Figure 4) and principal component analysis (Figure 5) were performed on parameters such as pH, acidity, salt content, total viable count, yeast, mould, lactobacilli, lactococci, malic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, propionic acid, benzoic acid, sorbic acid, glutamic acid, GABA and phenolic content, as well as the IC₅₀ of the samples, to determine the relationships between the data obtained from brined grape leaves samples. Correlation analysis showed that yeast count was positively correlated with pH and negatively correlated with acidity and salt content. This was to be expected because of the effect that pH, acidity, and salt concentration have on the growth of microorganisms (Adeiza et al., 2024). Additionally, all organic acids except citric acid exhibited negative correlations with pH and positive correlations with acidity. Similarly, Meral-Aktaş et al. (2025b) also found a positive correlation between organic acid content and

acidity. A negative correlation was found between the phenolic content of the samples and their acidity, as well as with all organic acids except citric acid. However, the IC₅₀ values showed the opposite trend. This demonstrated a relationship between the phenolic content/IC₅₀ values of the brined grape leaves samples and acidity, as well as

the parameters affecting their acidity. This result was expected since it is known that phenolic components have variable stability at different pH values (Friedman and Jürgens, 2000).

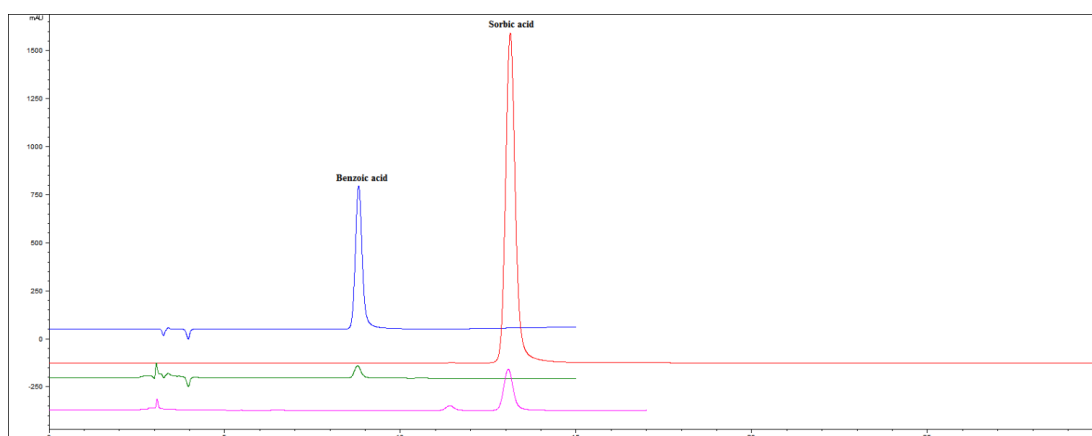


Figure S3. HPLC chromatogram obtained from the analysis to determine the benzoic and sorbic acid. The blue and red chromatograms show the benzoic and sorbic acid standards, respectively. The green and pink chromatograms show the brined grape leaves samples

Table S5. Benzoic and sorbic acid content of the brined grape leaves samples^a

Benzoic and sorbic acid content (mg/L)		
Sample code	Benzoic acid	Sorbic acid
UP1	<LOD ^b	<LOD ^c
UP2	2.36±0.15 ^b	<LOD ^c
UP3	<LOD ^b	<LOD ^c
UP4	<LOD ^b	<LOD ^c
UP5	<LOD ^b	<LOD ^c
UP6	<LOD ^b	<LOD ^c
UP7	<LOD ^b	<LOD ^c
UP8	<LOD ^b	<LOD ^c
UP9	<LOD ^b	<LOD ^c
UP10	<LOD ^b	<LOD ^c
UP11	<LOD ^b	<LOD ^c
UP12	<LOD ^b	139.95±1.28 ^b
UP13	<LOD ^b	<LOD ^c
UP14	<LOD ^b	<LOD ^c
UP15	<LOD ^b	<LOD ^c
P1	<LOD ^b	<LOD ^c
P2	<LOD ^b	<LOD ^c
P3	<LOD ^b	<LOD ^c
P4	190.95±12.16 ^a	<LOD ^c
P5	<LOD ^b	<LOD ^c
P6	<LOD ^b	291.69±14.73 ^a
Sig. (ANOVA)		$P<0.001$ (***)
Production type	Unpackaged	0.16±0.60
	Packaged	31.83±74.42
Sig. (T-test)		$P=0.168485$ (ns)
		$P=0.263057$ (ns)

^aAll values are presented as the mean±standard deviation. LOD: Limit of detection, Sig.: Degree of statistical significance, ANOVA: One-way ANOVA test, T-test: Independent sample T-test, ns: Not statistically significant, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$. Lowercase represents statistical differences in the same column according to the One-way ANOVA test

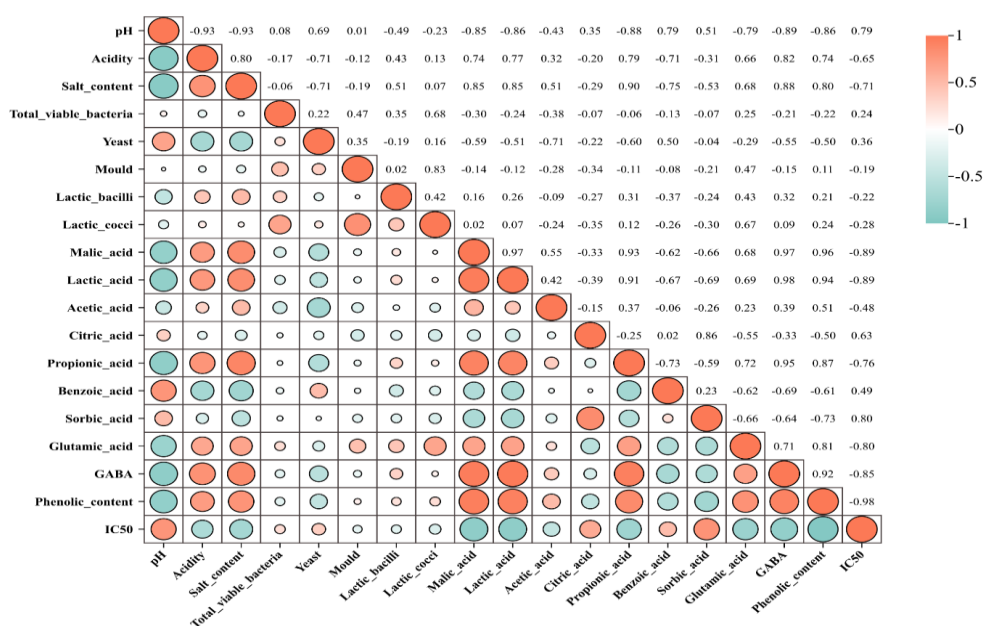


Figure 4. Correlation matrix of data from the brined grape leaves samples. The size of the plots indicates the strength of the correlation, and the colour, from red to blue, indicates the effect from positive to negative, respectively

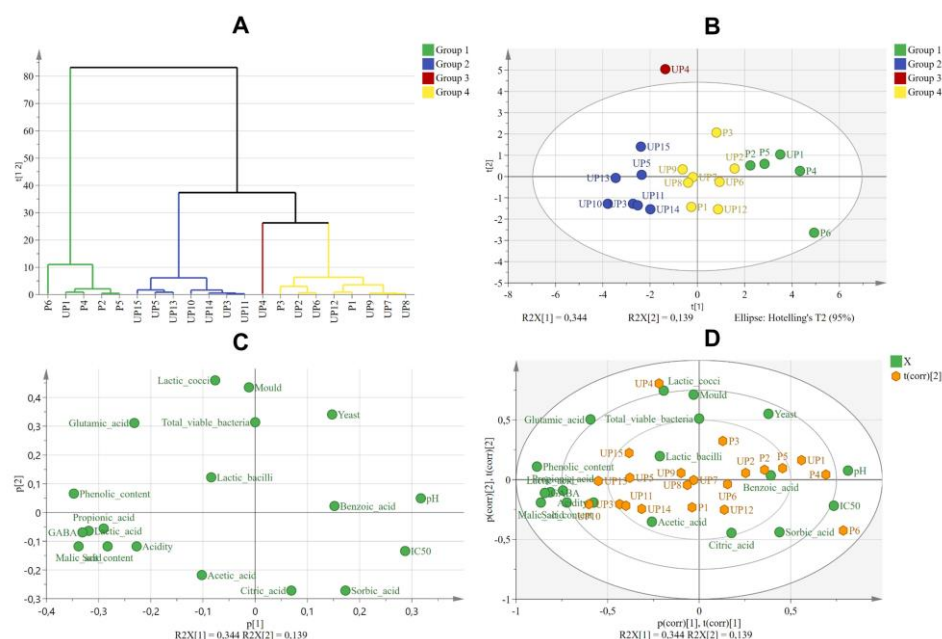


Figure 5. Hierarchical cluster analysis (A), score scatter plot (B), loading scatter plot (C), and biplot (D) of the principal component analysis. R2X[1] and R2X[2] in the principal component analysis are the variations explained by the PC1 and the PC2, respectively, together explaining 48.3% of the variation

The brined grape leaves samples were divided into four different groups when the data from the principal component analysis was examined

(Figure 5A and Figure 5B). The loading scatter plot is shown in Figure 5C, and PC1 accounts for 34.40% of the variation, and PC2 accounts for

13.90% of the variation, totalling 48.30% variation. The separation between group 1 (UP1, P2, P4, P5, and P6) and the other groups was driven by pH and IC₅₀. In addition, group 2 (UP3, UP5, UP10, UP11, UP13, UP14, and UP15) Figure 5

CONCLUSION

This study showed that, although lactobacilli, lactococci, and moulds were present in some samples, yeasts were dominant due to the low pH and high salt content of brined grape leaves. Conversely, the different pH and acidity of the unpackaged and packaged samples may indicate uncontrolled microbial growth. No consistent salt content was observed across all products, suggesting an absence of standards for this important product. The high phenolic content and antioxidant capacity of the samples used in the study emphasised the nutritional and health benefits of this product once again. However, further analysis is required using metagenomic and metabolomic methods to provide a more comprehensive assessment of the microbial diversity and nutrients present in the samples. In addition, it is important to study the pesticide and heavy metal residues widely used in production in detail, as they may leave residues in the final product, in order to reveal the risks to human health.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there is no conflict of interest with any individuals or institutions regarding this article.

REFERENCES

- Acero, N., Manrique, J., Muñoz-Mingarro, D., Martínez Solís, I., Bosch, F. (2025). *Vitis vinifera* L. leaves as a source of phenolic compounds with anti-inflammatory and antioxidant potential. *Antioxidants* 14(3): 279, doi: 10.3390/antiox14030279.
- Adeiza, Z.D., Olateju, K.S., Eneye, B.K., Amoka, A.G., Anoze, A.A. (2024). Hurdle concept and the role of lactic acid bacteria. *Journal of Food Technology & Nutrition Sciences* 6(4): 1-7.
- Aktaş, H., Çetin, B. (2024). Multidimensional evaluation of techno-functional properties of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal* 148: 105795, doi: 10.1016/j.idairyj.2023.105795.
- Aktaş, H., Meral Aktaş, H., Ürkek, B., Şengül, M., Çetin, B. (2024). Evaluation of spreadable kefir produced from different milks in terms of some quality criteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 16(5): 1734-1743, doi: 10.1007/s12602-023-10129-8.
- Akyurt, B., Başıyigit, B., Çam, M. (2018). Phenolic compounds content, antioxidant and antidiabetic potentials of seven edible leaves. *The Journal of Food* 43(5): 876-885, doi: 10.15237/gida.GD18076.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B., Wijaya, H. (2010). Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry* 121(4): 1231-1235, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.033.
- Ando, A., Nakamura, T. (2016). Prevention of GABA reduction during dough fermentation using a baker's yeast dal81 mutant. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 122(4): 441-445, doi: 10.1016/j.jbiosc.2016.03.006.
- Ashraf, R., Shah, N.P. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt-A review. *International Journal of Food Microbiology* 149(3): 194-208, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.008.
- Atalar, I. (2019). Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. *LWT* 107: 256-263, doi: 10.1016/j.lwt.2019.03.013.
- Ayağ, N., Dağdemir, E., Çetin, B., Hayaloğlu, A.A. (2025). Isolation and identification of lactic acid bacteria from artisanal Turkish cheeses, and evaluation of γ -aminobutyric acid (GABA)

- production potential. *International Dairy Journal* 161: 106132, doi: 10.1016/j.idairyj.2024.106132.
- Banjanin, T., Uslu, N., Vasic, Z.R., Özcan, M.M. (2021). Effect of grape varieties on bioactive properties, phenolic composition, and mineral contents of different grape-vine leaves. *Journal of Food Processing and Preservation* 45(2): e15159, doi: 10.1111/jfpp.15159.
- Belessi, C.E., Chalvanti, I., Marmaras, I., Nisiotou, A. (2022). The effect of vine variety and vintage on wine yeast community structure of grapes and ferments. *Journal of Applied Microbiology* 132(5): 3672-3684, doi: 10.1111/jam.15471.
- Ben-David, A., Davidson, C.E. (2014). Estimation method for serial dilution experiments. *Journal of Microbiological Methods* 107: 214-221, doi: 10.1016/j.mimet.2014.08.023.
- Bevilacqua, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M. (2024). *The microbiological quality of food: Foodborne spoilers*. Elsevier, Amsterdam, Holland, 310 p.
- Breksa III, A.P., Takeoka, G.R., Hidalgo, M.B., Vilches, A., Vasse, J., Ramming, D.W. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of 16 raisin grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars and selections. *Food Chemistry* 121(3): 740-745, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.029.
- Çağdaş, E., Seydim, A.C. (2016). Optimization of phenolic compounds from grape seed by response surface methodology. *The Journal of Food* 41(6): 403-410, doi: 10.15237/gida.GD16042.
- Cakir, R., Cagri-Mehmetoglu, A. (2013). Sorbic and benzoic acid in non-preservative-added food products in Turkey. *Food Additives and Contaminants: Part B* 6(1): 47-54, doi: 10.1080/19393210.2012.722131.
- Çalışkan Aydoğan, Ö. (2016). Molecular characterization of bacteria and yeast microbiota on traditionally fermented grape leaves. Master's thesis. Erciyes University, Kayseri, Türkiye, 86 p.
- Cemeroglu, B. (2010). *General methods in food analysis: Food analysis*. Food Technology Association Publications, Ankara, Turkey.
- Çetin, B., Aktaş, H. (2024). Investigation of consumer reactions towards yoghurts produced by using autochthonous isolates. *Food Science and Engineering Research* 3(1): 59-67, doi: 10.5281/zenodo.10908265.
- Chavan, P., Mane, S., Kulkarni, G., Shaikh, S., Ghormade, V., Nerkar, D.P., Shouche, Y., Deshpande, M.V. (2009). Natural yeast flora of different varieties of grapes used for wine making in India. *Food Microbiology* 26(8): 801-808, doi: 10.1016/j.fm.2009.05.005.
- Fırat, M.Ç., Çetin, B. (2014). Microbiological and some chemical properties of brined grapevine leaves produced by traditional and industrial methods. *Atatürk University Journal of Agricultural Faculty* 45(1): 15-19.
- Fırat, M.Ç., Çetin, B. (2020). Molecular characterization of the yeast isolates originating from Turkish autochthonal product, brined grapeleaves. *International Journal of Engineering Research & Technology* 9(7): 883-886, doi: 10.17577/IJERTV9IS070280.
- Friedman, M., Jürgens, H.S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(6): 2101-2110.
- Garde-Cerdán, T., Portu, J., López, R., Santamaría, P. (2016). Effect of methyl jasmonate application to grapevine leaves on grape amino acid content. *Food Chemistry* 203: 536-539, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.049.
- Han, S.M., Jeon, S.J., Lee, H.B., Lee, J.S. (2016). Screening of γ -aminobutyric acid (GABA)-producing wild yeasts and their microbiological characteristics. *The Korean Journal of Mycology* 44(2): 87-93, doi: 10.4489/KJM.2016.44.2.87.
- Hayaloğlu, A.A., (2009). Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 1388-1394, doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.01968.x.
- ISO 21527-1 (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds-Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95.

<https://www.iso.org/standard/38275.html>
(Accessed: 05 May 2025).

ISO 21528-2 (2017). Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae-Part 2: Colony-count technique.
<https://www.iso.org/standard/63504.html>
(Accessed: 05 May 2025).

ISO 4833-1 (2013). Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of microorganisms- Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique.
<https://www.iso.org/standard/53728.html>
(Accessed: 05 May 2025).

Jridi, M., Abdelhedi, O., Kchaou, H., Msaddak, L., Nasri, M., Zouari, N., Fakhfakh, N. (2019). Vine (*Vitis vinifera* L.) leaves as a functional ingredient in pistachio calisson formulations. *Food Bioscience* 31: 100436, doi: 10.1016/j.fbio.2019.100436.

Le, P.H., Verscheure, L., Le, T.T., Verheust, Y., Raes, K. (2020). Implementation of HPLC analysis for γ -aminobutyric acid (GABA) in fermented food matrices. *Food Analytical Methods* 13: 1190-1201, doi: 10.1007/s12161-020-01734-2.

Lee, C.H. (1997). Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia. *Food Control* 8(5-6): 259-269. doi: 10.1016/S0956-7135(97)00015-7.

Meral-Aktaş, H., Ürkek, B., Aktaş, H., Baltacı, C., Çetin, B., Şengül, M. (2025a). Comparison of different animal milks on microbiological, physicochemical, sensory properties, and volatile component profile of Kefir. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-16, doi: 10.1007/s11694-025-03372-w.

Meral-Aktaş, H., Bazu-Çırpıcı, B., Aktaş, H., Kadiroğlu, H., Çetin, B. (2025b). Comparative quality assessment of plant-based kefir as a vegan alternative to traditional kefir. *Food Bioscience* 70: 107062, doi: 10.1016/j.fbio.2025.107062.

Mol, S., Erkan, N., Uecok, D., Tosun, Ş.Y. (2007). Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. *Journal of Muscle Foods* 18(1): 120-128, doi: 10.1111/j.1745-4573.2007.00071.x.

Ozcan, T., Sahin, S., Akpınar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L. (2019). Assessment of antioxidant capacity by method comparison and amino acid characterisation in buffalo milk kefir. *International Journal of Dairy Technology* 72(1): 65-73, doi: 10.1111/1471-0307.12560.

Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C.C., Sellappan, S., Krewer, G. (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(18): 5497-5503.

Pitt, J.I., Hocking, A.D. (2009). *Fungi and food spoilage*. Springer, New York, the USA, 388 p.

Raymond Eder, M.L., Conti, F., Rosa, A.L. (2018). Differences between indigenous yeast populations in spontaneously fermenting musts from *V. vinifera* L. and *V. labrusca* L. Grapes harvested in the same geographic location. *Frontiers in Microbiology* 9: 1320, doi: 10.3389/fmicb.2018.01320.

Rockenbach, I.I., Rodrigues, E., Gonzaga, L.V., Caliari, V., Genovese, M.I., Gonçalves, A.E. D.S.S., Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry* 127(1): 174-179, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.137.

Salveti, E., Campanaro, S., Campedelli, I., Fracchetti, F., Gobbi, A., Tornielli, G.B., Torriani, S., Felis, G.E. (2016). Whole-metagenome-sequencing-based community profiles of *Vitis vinifera* L. cv. Corvina berries withered in two post-harvest conditions. *Frontiers in Microbiology* 7: 937, doi: 10.3389/fmicb.2016.00937.

Savello, P.A., Ernstrom, C.A., Kalab, M. (1989). Microstructure and meltability of model process cheese made with rennet and acid casein. *Journal of Dairy Science* 72(1): 1-11, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79073-1.

Şengül, M., Karakütük, İ.A., Ay, E. (2024). Effects of sweetener type and storage conditions on physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant properties of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) pulp and marmalade. *Journal of Food Measurement and Characterization*

18(10): 8622-8637, doi: 10.1007/s11694-024-02831-0.

Tokatlı, M., Dursun, D., Arslankoz, N., Şanlıbaba, P., Özçelik, F. (2012). Importance of Lactic Acid Bacteria in Pickle Production. *Akademik Gıda* 10(1): 70-76.

Tran, V.G., Zhao, H. (2022). Engineering robust microorganisms for organic acid production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 49(2): kuab067, doi: 10.1093/jimb/kuab067.

Tsaruk, A., Filip, K., Sibirny, A., Ruchala, J. (2025). Native and recombinant yeast producers of lactic acid: Characteristics and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences* 26(5): 2007, doi: 10.3390/ijms26052007.

Vermeulen, A., Devlieghere, F., Bernaerts, K., Van Impe, J., Debevere, J. (2007). Growth/no growth models describing the influence of pH, lactic and acetic acid on lactic acid bacteria developed to determine the stability of acidified sauces. *International Journal of Food Microbiology* 119(3): 258-269, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.003.

Vilela, A. (2018). *Lachancea thermotolerans*, the non-Saccharomyces yeast that reduces the volatile acidity of wines. *Fermentation* 4(3): 56, doi: 10.3390/fermentation4030056.

Yaşa, E.N. (2019). Determination of the microbial profile during the fermentation process of grape leaves brine. Master's thesis. Yıldız Technical University, İstanbul, Türkiye, 107 p.

Zengin Yılmaz, M. (2022). Determination of heavy metal content, some physicochemical and microbiological characteristics of Tokat narince brine vine leaves. Master's thesis. Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Türkiye, 56 p.

Zhu, L., Wang, Z., Gao, L., Chen, X. (2024). Unraveling the Potential of γ -Aminobutyric Acid: Insights into Its Biosynthesis and Biotechnological Applications. *Nutrients* 16(16): 2760, doi: 10.3390/nu16162760.

Zorlu Ünlü, T. (2021). Determination of physicochemical characteristics and pesticide residue quantities of brine vine leaves of Narince. Master's thesis. Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Türkiye, 69 p.

Zorlu Ünlü, T., Topuz, S., Bayram, M., Balkan, T., Kaya, C. (2023). Determination of pesticide residues in pickled vine (*Vitis vinifera* L.) leaves by a validated LC-MS/MS method. *The Journal of Food* 48(6): 1335-1350, doi: 10.15237/gida.GD23096.

**STANDARDIZATION OF TEXTURE PROFILE ANALYSIS (TPA)
PARAMETERS FOR CHICKEN SALAMI**

**Semiha SARAÇ¹, Hilal SOYOCAK¹,
Furkan Türker SARICAĞLU², Sadettin TURHAN^{1*}**

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye

²Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Natural Science, Bursa Technical University, Bursa, Türkiye

Received / Geliş: 21.07.2025; Accepted / Kabul: 12.10.2025; Published online / Online baskı: 27.10.2025

Saraç, S., Soyocak, H., Sarıcağlu, F. T., Turhan, S. (2025). Standardization of texture profile analysis (TPA) parameters for chicken salami. GIDA (2025) 50 (6) 979-988 doi: 10.15237/gida.GD25093

Saraç, S., Soyocak, H., Sarıcağlu, F. T., Turhan, S. (2025). Tavuk salamı için tekstür profil analizi (TPA) parametrelerinin standardizasyonu. GIDA (2025) 50 (6) 979-988 doi: 10.15237/gida.GD25093

ABSTRACT

Textural properties are key indicators of quality in meat products. In this study, the effects of slice thickness (15, 20, 25 mm), compression ratio (30, 40, 50%), and test speed (1, 2, 3 mm/s) on the textural characteristics of chicken salami were investigated. Increasing slice thickness raised hardness and adhesiveness but reduced cohesiveness ($P < 0.05$). Higher test speed increased hardness, springiness, cohesiveness, and chewiness, while decreasing adhesiveness ($P < 0.05$). The compression ratio influenced hardness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness ($P < 0.01$); higher ratios enhanced hardness, adhesiveness, and chewiness, but decreased cohesiveness ($P < 0.05$). Significant interactions were found between slice thickness $\times$ compression ratio for adhesiveness ($P < 0.01$), and test speed $\times$ compression ratio for chewiness ($P < 0.01$) and springiness ($P < 0.05$). The compression ratio was more effective than other parameters. Optimal conditions with minimal variability were identified for each parameter, suggesting suitable standardization criteria for texture profile analysis of chicken salami.

Keywords: Salami, texture, slice thickness, test speed, compression ratio

**TAVUK SALAMI İÇİN TEKSTÜR PROFİL ANALİZİ (TPA)
PARAMETRELERİNİN STANDARDİZASYONU**

ÖZ

Tekstürel özellikler, et ürünlerinde temel kalite göstergeleridir. Bu çalışmada, tavuk salamın tekstürel özellikleri üzerine dilim kalınlığı (15, 20, 25 mm), sıkıştırma oranı (%30, 40, 50) ve test hızı (1, 2, 3 mm/s) değişkenlerinin etkileri araştırılmıştır. Dilim kalınlığının artması, sertlik ve yüzey yapışkanlığını artırırken, iç yapışkanlığı azaltmıştır ($P < 0.05$). Daha yüksek test hızları, sertlik, elastikiyet, iç yapışkanlık ve çignenebilirliği artırmış, buna karşılık yüzey yapışkanlığını düşürmüştür ($P < 0.05$). Sıkıştırma oranı ise sertlik, yüzey yapışkanlığı, iç yapışkanlık ve çignenebilirlik üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmuştur ($P < 0.01$); daha yüksek oranlar sertlik, yüzey yapışkanlığı ve çignenebilirliği

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉: sturhan@omu.edu.tr

☎: (+90) 362 312 1919/1506

☎: (+90) 362 457 6034

Semiha Saraç; ORCID no: 0009-0000-1296-3865

Hilal Soyocak; ORCID no: 0000-0002-9754-3962

Furkan Türker Sarıcağlu; ORCID no: 0000-0003-1173-5793

Sadettin Turhan; ORCID no: 0000-0002-3510-4382

artırmış, ancak iç yapışkanlığı azaltmıştır ($P < 0.05$). Ayrıca, dilim kalınlığı $\times$ sıkıştırma oranı etkileşimi yüzey yapışkanlığı üzerinde ($P < 0.01$), test hızı $\times$ sıkıştırma oranı etkileşimi ise çiğnenebilirlik ($P < 0.01$) ve elastikiyet ($P < 0.05$) üzerinde anlamlı bulunmuştur. Sıkıştırma oranının diğer ölçüm parametrelerine göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Her bir parametre için minimum değişkenlikle en uygun koşullar tespit edilmiş olup, bu sonuçlar tavuk salamının tekstür profil analizinde kullanılabilecek uygun standardizasyon kriterlerini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Salam, tekstür, dilim kalınlığı, test hızı, sıkıştırma oranı

INTRODUCTION

The consumption of meat and meat products is widespread worldwide because of their high bioavailability of nutrients, bioactive compounds, essential minerals, and vitamins (Babaoglu et al., 2025). Many meat products are produced in different parts of the world, classified as fresh processed meat products, formed meat, cured meat products, raw-cooked meat products, raw fermented sausages, and dried meat products (Valli et al., 2018). Emulsion sausages and salamis are widely consumed in Western and Asian countries (Dinçer et al., 2017). While these products are produced in the West by fermenting and drying the batter produced with the emulsion technique after filling it into casings (Alamprese et al., 2016; Stangierski et al., 2023), in Türkiye, they are produced by heat treating the batter obtained with the emulsion technique after filling it into casings (Anonymous, 2019). Previously produced using pork, especially for the Christian minority in Istanbul, these products now use mostly beef and poultry meats. In addition to the raw materials used in production, products with different textures and qualities are offered to the market depending on different processing and storage conditions (Öztan, 2003).

Texture is one of the key quality attributes used in the fresh and processed food industry to assess product quality and acceptability (Chen and Opara, 2013; Alemu, 2022). It plays an important role in consumer acceptance and market value by greatly affecting the palatability and quality of meat products (Erdemir and Karaoğlu, 2021). Among the texture characteristics, hardness is one of the most important parameters, often used to determine the freshness of foods. Springiness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness are significant properties for the texture evaluation of meat-based products (Alemu, 2022). Textural quality attributes of foods may be evaluated by

descriptive sensory (subjective) or instrumental (objective) analyses. Texture Profile Analysis (TPA) is one of the instrumental methods used to evaluate the texture of various food items, with one advantage to assess multiple variables at one-time measurement (Chen and Opara, 2013; Alemu, 2022).

Many studies have been conducted on the production and quality characteristics of salami. Some of these studies are on the possibilities of using goose meat in production (Güner et al., 2002), the effect of partial replacement of sodium chloride in Italian salami production on sensory and textural properties (Fieira et al., 2015), the synergistic effect of polysaccharides, betalain pigment and phenolic compounds of red prickly pear (*Opuntia stricta*) in the stabilization of salami (Kharrat et al., 2018), the effect of modified potato starch on some quality properties of salami produced from beef and chicken meat (Saimaiti, 2018), the possibilities of using dried oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Hungarian salami production (Özünlü, 2019) and the effect of using olive pomace oil oleogel in chicken salami production on physicochemical, textural and sensory properties (Yazıcı, 2024). Although most of these studies include information on the textural properties of salami, TPA analyses were mainly performed under different measurement conditions, resulting in incomparable data.

In many cases, texture measurements obtained with TPA differ under different conditions. The biting and chewing activity of the mouth is simulated with the TPA device, and the texture of the foodstuff is measured accordingly. Therefore, these devices, unlike basic analysis devices, provide meaningful data depending on the similarity between the mechanical and sensory measurements of foodstuffs (Shin and Choi, 2021). In contrast, in texture studies, differences

in TPA values are often explained by measurement parameters, without considering the similarity between mechanical and sensory measurements or the reason for choosing certain conditions. As a result, it is unclear whether the observed differences in texture are due to the samples themselves or to the measurement conditions.

The most emphasized and changed measurement parameters in measuring the textural properties of salami are slice thickness, test speed, and compression ratio. Although there are many studies aimed at measuring and improving the textural properties of different poultry meat products, there is no specific study to determine the texture measurement parameters and their effects on textural properties. The primary aims of this study planned in this context were: i) to determine the textural parameters such as hardness, springiness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness of chicken salami samples using the TPA device at different slice thicknesses, compression ratio, and test speeds, and thus ii) provide basic data for establishing

standardized measurement conditions necessary for the textural analysis of salamis.

MATERIAL AND METHOD

Materials

In the study, four different brands of chicken salami were selected as the experimental material, and 6-7 samples were obtained from each brand. All samples were purchased from markets or delicatessens in Samsun. The samples were stored at 4 °C until their chemical composition and textural properties were analyzed (approximately 6 h).

Experimental design of texture measurement parameters

The experimental design included three measurement parameters: slice thickness, test speed, and compression ratio. The selected slice thicknesses were 15, 20, and 25 mm; the test speeds were 1, 2, and 3 mm/s; and the compression ratios were 30, 40, and 50% (Table 1). Preliminary experiments confirmed that these selected values did not cause any deformation in the salami samples.

Table 1. Measurement parameters and their variation ranges used in the experimental design

Measurement parameters	Variation ranges		
Slice thickness (mm)	15	20	25
Test speed (mm/s)	1	2	3
Compression ratio (%)	30	40	50

Proximate composition analysis

The moisture, protein ($N \times 6.25$), fat, and ash contents of chicken salami samples were determined using AOAC methods (AOAC, 2000). Carbohydrate contents were calculated by difference.

Texture profile analysis

The salami samples were kept in the refrigerator until analyzed, and their temperatures were balanced by keeping them at room temperature for ~20 min before slicing. Then, they were cut into cylindrical slices (diameter: 60 mm) of 15-, 20-, and 25-mm thickness using a slicing machine (Sönmez Vacuum, SN210, Türkiye). Textural properties of salami slices were measured at room temperature using a Texture Analyzer (TA-XT

Plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK) with a P/50R probe at different test speeds (1, 2, and 3 mm/s) and different compression ratios (30, 40, and 50%). During the measurements, salami slices were subjected to two compressions, with 5 s between compressions. Three slices per thickness and brand were analyzed. The hardness, springiness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness parameters of the samples were calculated from the curves provided by the equipment.

Statistical analysis

The data obtained from the TPA measurements were analyzed by the General Linear Model, in which slice thickness, test speed, and compression ratio were the main factors using the SPSS

statistical package program (Version 10, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Differences among the means were compared using Duncan's multiple range test at $P < 0.05$ level. The results of the main factors were shown as boxplots, while the results of the interactions were presented as line charts. The minimum and maximum values, median, and first and third quartiles were shown on the boxplots.

RESULTS AND DISCUSSION

Proximate composition

In the present study, where the effect of measurement parameters on the textural properties of chicken salami was investigated, the proximate compositions of four different brands of chicken salamis were also investigated, and it was determined that salamis contained 63.93-69.49% moisture, 10.53-12.45% protein, 7.47-14.06% fat, 2.86-4.01% ash, and 4.71-7.73% carbohydrate. Similar proximate composition results were reported by Battaloğlu (2024) in chicken salamis sold in the Kayseri market in Türkiye.

Texture measurement parameters

Slice thickness

In the present study, the textural properties of chicken salamis were measured at three different slice thicknesses (15, 20, and 25 mm), and the effect of slice thickness on hardness, springiness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness is presented in Figure 1a-e. The slice thickness had a significant ($P < 0.01$) effect only on the hardness, adhesiveness, and cohesiveness. The lowest hardness value was measured at 15 mm slice thickness as 126.32 N, and as the slice thickness increased, the hardness values increased ($P < 0.05$). However, this increase was not significant in 15- and 20-mm slice thicknesses ($P > 0.05$) (Figure 1a). The increase in hardness values as the slice thickness increases could be explained by the need for a higher compression force to deform the thicker slice. Similar findings were also reported by Boles and Shand (2008) in beef stir-fry strips from the round and chuck. As with the hardness values, adhesiveness values increased as the slice thickness increased ($P < 0.05$), and the highest value was determined at 25 mm slice

thickness, resulting in 4.02 N.s (Figure 1c). However, increasing the slice thickness decreased the cohesiveness values of chicken salami ($P < 0.05$) (Figure 1d). This decrease could be attributed to the weak connection effect. It is thought that the connection weakened as the slice thickness increased, which caused a decrease in cohesiveness.

As seen in Figure 1a-e, the 1st and 3rd quartiles of the hardness values of salami slices with different thicknesses ranged from 70.00 to 196.51 N, the 1st and 3rd quartiles of the springiness values ranged from 0.89 to 0.97, the 1st and 3rd quartiles of the adhesiveness values ranged from 0.04 to 5.24 N.s, the 1st and 3rd quartiles of the cohesiveness values ranged from 0.77 to 0.85, and the 1st and 3rd quartiles of the chewiness values ranged from 55.84 to 140.48 N.s. However, narrower boxes were obtained in the measurements made at 20 mm slice thickness for hardness and chewiness, in the measurements made at 20- and 25-mm slice thickness for springiness, in the measurements made at 15 mm slice thickness for adhesiveness, and in the measurements made at 25 mm slice thickness for cohesiveness. A narrower box indicates less variability among the measurements, whereas a wider box indicates the opposite. Less variability is ideal for the standardization of measurement conditions. The results of the current study showed that, in terms of slice thickness standardization, measurements obtained at 20 mm for hardness and chewiness, at 20 and 25 mm for springiness, at 15 mm for adhesiveness, and at 25 mm for cohesiveness exhibited the least variability compared to other thicknesses, thereby indicating their suitability for standard conditions.

Test speed

This study conducted texture measurements at three different test speeds: 1, 2, and 3 mm/s. The effect of test speed on the textural properties is also presented in Figure 2a-e. The test speed significantly affected hardness at the 0.05 level and springiness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness at the 0.01 level. When the test speed was increased from 1 mm/s to 3 mm/s, the hardness, springiness, cohesiveness, and

chewiness values also increased ($P < 0.05$). However, these increases were not significant for hardness, springiness, and chewiness at 1 and 2 mm/s test speeds and for cohesiveness at 2 and 3 mm/s test speeds ($P > 0.05$) (Figure 2a, b, d, and e). The increase in hardness, springiness, cohesiveness, and chewiness values with the increase in test speed could be explained by increased internal pressure or friction resistance. Similarly, Mittal et al. (1992) reported that TPA measurements performed at different test speeds (0.5, 1.0, and 2.0 cm/min) affected salami samples' cohesiveness and chewiness values. Shin

and Choi (2021) also reported that the test speed affected not only the cohesiveness and chewiness of sausages but also their hardness and springiness, with the most notable occurring in cohesiveness values. Contrary to the hardness, springiness, cohesiveness, and chewiness values, adhesiveness values decreased as the test speed increased ($P < 0.05$), but this decrease was not significant in 2 and 3 mm/s test speed ($P > 0.05$) (Figure 2c). Similarly, Shin and Choi (2021) reported that the test speed affected the adhesiveness values of sausages.

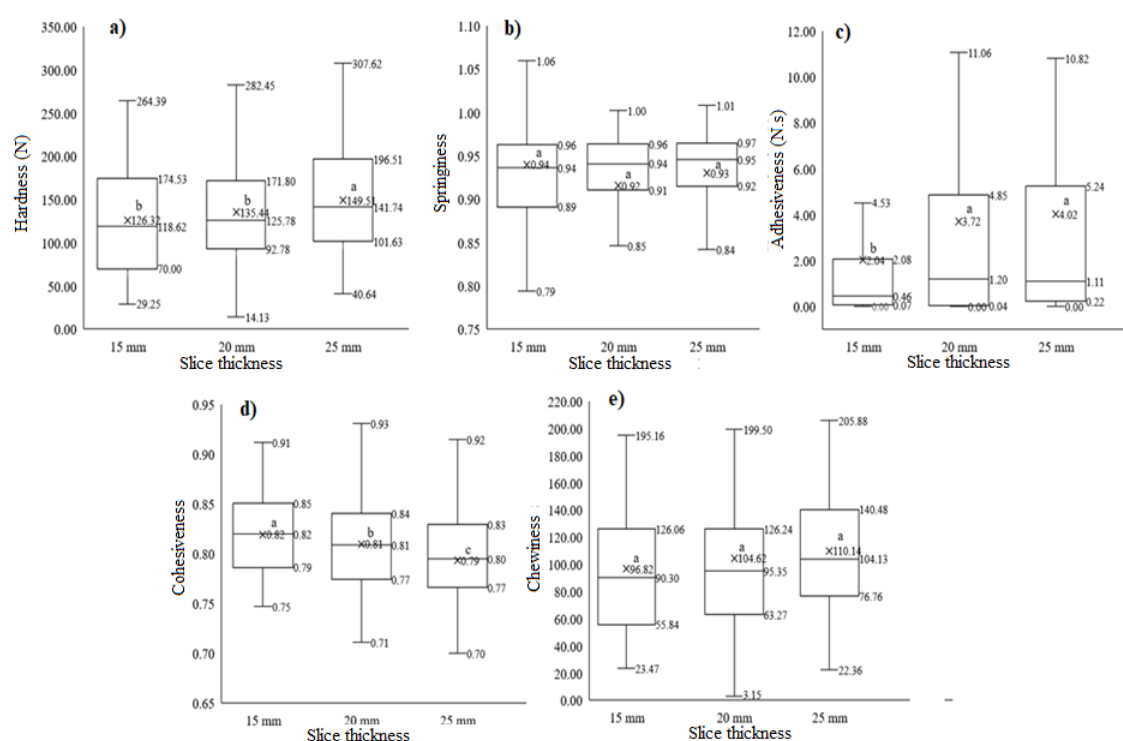


Figure 1. Effect of slice thickness on textural properties: a) Hardness, b) Springiness, c) Adhesiveness, d) Cohesiveness, e) Chewiness. Differences between means marked with different letters in each graphic are significant ($P < 0.05$).

The 1st and 3rd quartiles of the hardness values measured at different test speeds varied from 95.89 to 182.52 N at 1 mm/s test speed, from 91.08 to 166.45 N at 2 mm/s test speed, and from 89.00 to 195.83 N at 3 mm/s test speed, and a narrower box was obtained in the measurements made at 2 mm/s test speed (Figure 2a). Similarly, a narrower box was obtained at a test speed of 2

mm/s for adhesiveness (Figure 2c). In contrast, narrower boxes were obtained in measurements made at 3 mm/s for springiness (Figure 2b) and at a test speed of 1 mm/s for chewiness (Figure 2e). The 1st and 3rd quartiles of the cohesiveness values varied from 0.76 to 0.83 at 1 mm/s test speed, from 0.78 to 0.84 at 2 and 3 mm/s test speeds and narrower boxes were obtained in the

measurements made at 2 and 3 mm/s test speeds (Figure 2d). These results showed that, in terms of test speed standardization, measurements made at 2 mm/s for hardness and adhesiveness, 3

mm/s for springiness, 1 mm/s for chewiness, and 2 or 3 mm/s for cohesiveness exhibited the least variability compared to other test speeds, thereby indicating their suitability for standard conditions.

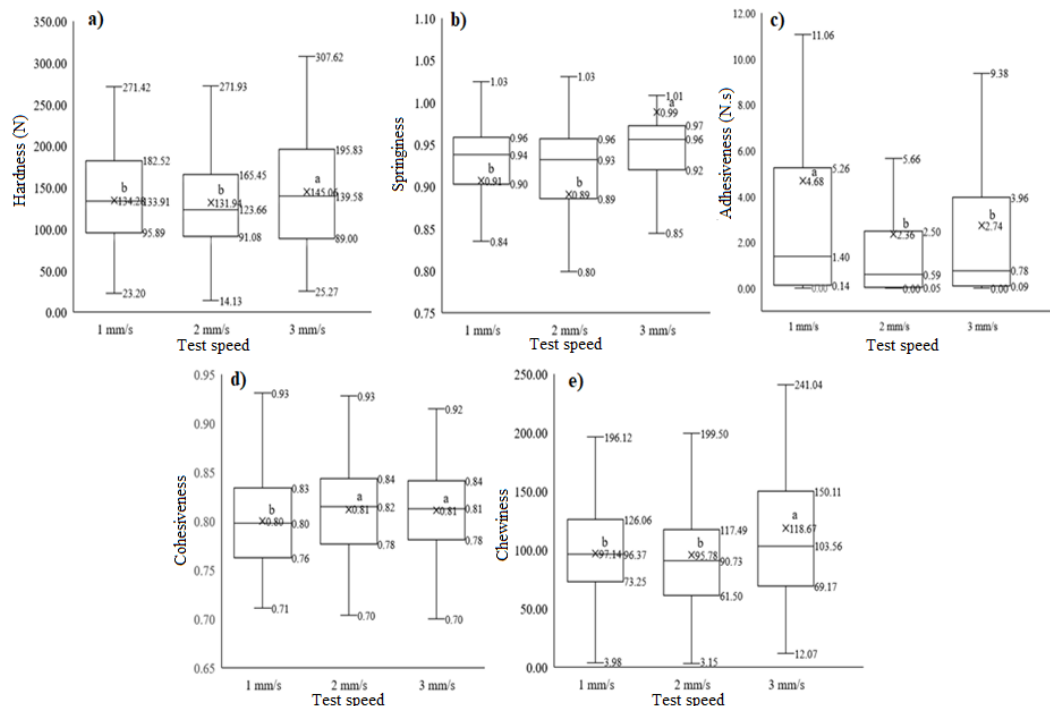


Figure 2. Effect of test speed on textural properties: a) Hardness, b) Springiness, c) Adhesiveness, d) Cohesiveness, e) Chewiness. Differences between means marked with different letters in each graphic are significant ($P < 0.05$).

Compression ratio

In measuring the texture of food products, in addition to slice thickness and test speed, the compression ratio is also an important parameter. The effect of compression ratio on textural properties is illustrated in Figure 3a-e. As seen, the compression ratio significantly affected hardness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness at the 0.01 level. The hardness values of chicken salamis ranged from 82.26 to 197.71 N, and as the compression ratio increased, the hardness values also increased ($P < 0.05$) (Figure 3a). As with the hardness values, the adhesiveness and chewiness values also increased as the compression ratio increased (Figure 3c, e). This could be explained by the increase in the internal pressure and, consequently, the friction resistance with the increase in the compression ratio. On the other hand, as the compression ratio was increased

from 30% to 50%, the cohesiveness values decreased from 0.85 to 0.76 ($P < 0.05$) (Figure 3d). Similarly, Mittal et al. (1992) reported that compression ratio (25, 50, and 75%) affected the hardness, cohesiveness, and chewiness values of salami samples and that increasing the compression ratio from 25 to 50% increased the hardness values while decreasing cohesiveness. In another study, Shin and Choi (2021) reported that the compression ratio changed the hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, and chewiness values, and the highest change was observed in cohesiveness values and the lowest change in springiness values.

As seen in Figure 3a-e, narrower boxes were obtained in the measurements made at 30% compression ratio for hardness, adhesiveness, and chewiness, in the measurements made at 30 and

40% compression ratio for springiness, and in the measurements made at all three compression ratios for cohesiveness. These results showed that, in terms of standardization of compression ratio, measurements made at 30% compression

ratio for hardness, adhesiveness, and chewiness, 30 or 40% compression ratios for springiness, and 30, 40, and 50% compression ratios for cohesiveness exhibited fewer variable values, resulting in more ideal results.

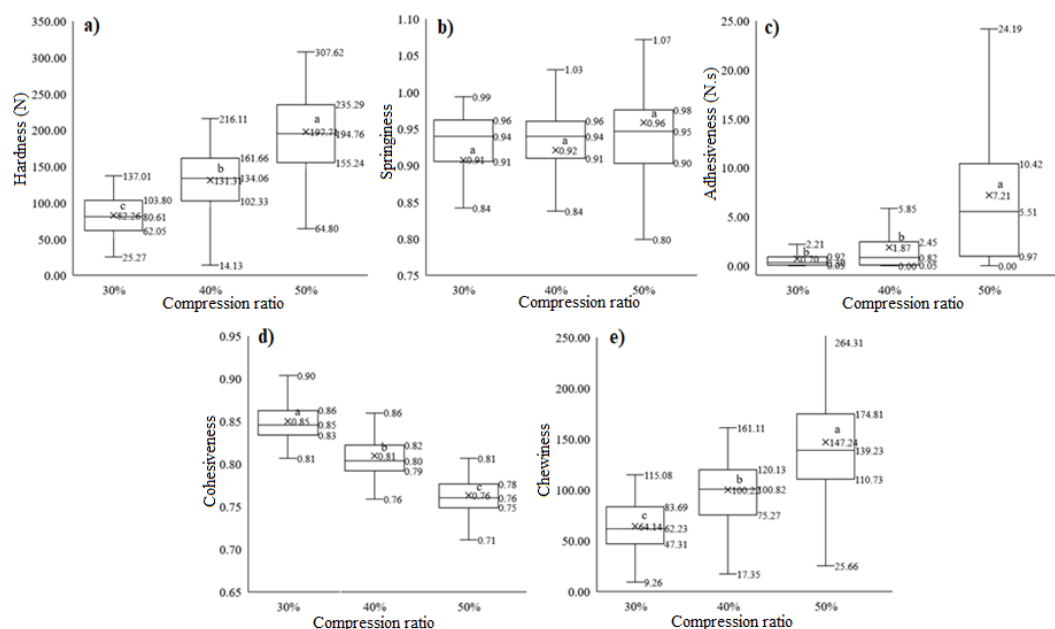


Figure 3. Effect of compression ratio on textural properties: a) Hardness, b) Springiness, c) Adhesiveness, d) Cohesiveness, e) Chewiness. Differences between means marked with different letters in each graphic are significant ($P < 0.05$).

Interaction analysis

The above explanations showed that the measurement parameters statistically affected most of the textural properties of chicken salami. However, the interactions between measurement parameters are not given. The interactions between the measurement parameters are also important to better understand the effect of the measurement parameters on the textural properties. Statistical analyses showed that the slice thickness x compression ratio interaction significantly affected adhesiveness at the 0.01 level, and the test speed x compression ratio interaction significantly affected chewiness at the 0.01 level and springiness at the 0.05 level. The graphs of these interactions are presented in Figure 4a-c.

In the slice thickness x compression ratio interaction, the highest adhesiveness value was measured with 8.79 N. s in the 20 mm slice thickness samples at 50% compression ratio, followed by the measurement with 8.66 N. s in the 25 mm slice thickness at 50% compression ratio, and the lowest value was determined in the measurement with 0.39 N. s in the 15 mm slice thickness at 30% compression ratio. In addition, for all slice thicknesses, measurements made at a 50% compression ratio showed higher values than measurements made at a 40% compression ratio, and measurements made at a 40% compression ratio showed higher values than measurements made at a 30% compression ratio (Figure 4a). In the test speed x compression ratio interaction, the chewiness values varied from 63.63 to 178.39 (Figure 4b). The highest value was determined as 178.39 in the measurement made at 50% compression ratio and 3 mm/s test speed,

followed by 131.88 at 50% compression ratio and 1 mm/s test speed. The lowest chewiness value was determined as 63.63 at a 30% compression ratio and 2 mm/s test speed. In all test speeds, measurements at a 50% compression ratio

exhibited higher values than measurements at 40%, and the 40% compression ratio exhibited higher values than measurements at a 30% compression ratio.

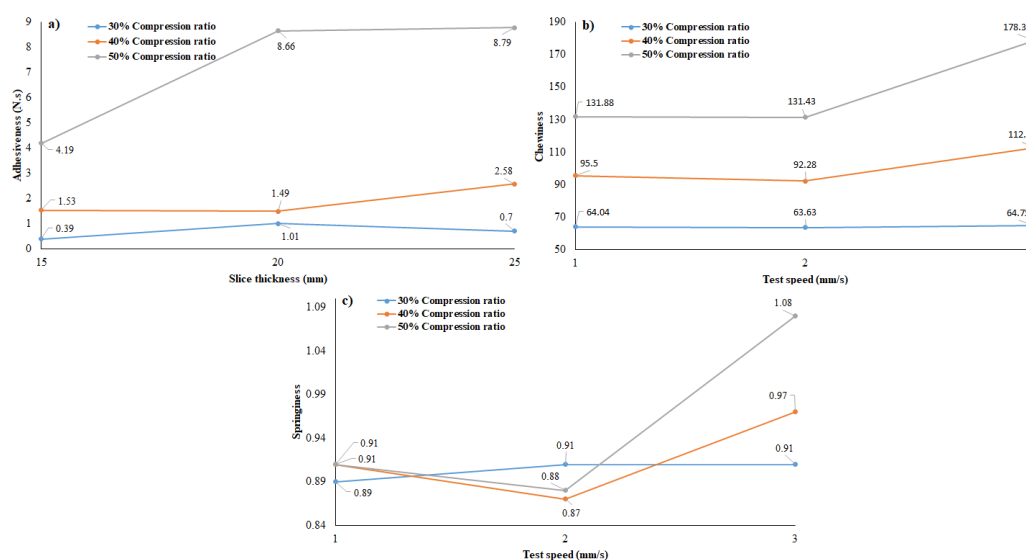


Figure 4. The interaction plots of measurement parameters: a) Effect of slice thickness x compression ratio interaction on adhesiveness, b) Effect of test speed x compression ratio interaction on chewiness, c) Effect of test speed x compression ratio interaction on springiness

As seen in Figure 4c, the springiness values in the test speed x compression ratio interaction varied from 0.87 to 1.08, and the lowest value was determined in the measurement made at 2 mm/s test speed at 40% compression ratio. In the measurements made at 1 and 3 mm/s test speeds, the 30% compression ratio exhibited the lowest springiness value, while the lowest value at 2 mm/s test speed was determined at the 40% compression ratio. These results showed that the measurement parameters affected the textural properties (hardness, springiness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness) at different significance levels. However, among the three tested measurement parameters, compression ratio was the main influencing factor. In addition, slice thickness x compression ratio and test speed x compression ratio had higher significance levels than all the factors.

CONCLUSION

This study comprehensively evaluated the effects of slice thickness, test speed, and compression

ratio on the textural properties of chicken salami. The findings revealed that slice thickness affected the hardness, adhesiveness, and cohesiveness values ($P < 0.01$), test speed affected the hardness ($P < 0.05$), springiness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness values ($P < 0.01$), and compression ratio affected the hardness, adhesiveness, cohesiveness, and chewiness values ($P < 0.01$). Among these parameters, the compression ratio emerged as the most critical factor affecting textural attributes, followed by slice thickness and test speed. Moreover, interaction effects, particularly slice thickness $\times$ compression ratio and test speed $\times$ compression ratio, demonstrated significant impacts, underscoring the importance of considering parameter interactions in TPA. In terms of standardization, the study identified optimal conditions for each textural attribute: 20 mm slice thickness for hardness and chewiness, 20–25 mm for springiness, 15 mm for adhesiveness, and 25 mm for cohesiveness; 2 mm/s test speed for hardness and adhesiveness, 3 mm/s for

springiness, 1 mm/s for chewiness, and 2–3 mm/s for cohesiveness; and a 30% compression ratio for hardness, adhesiveness, and chewiness, 30–40% for springiness, and 30–50% for cohesiveness. These standardized conditions minimize measurement variability and provide reliable reference points for future studies. Overall, the study contributes to the methodological improvement of texture profile analysis in processed meat products by establishing standardized measurement conditions. The results obtained are recommended as a suitable test protocol for quality control in the food industry.

CONFLICT OF INTEREST

There are no possible conflicts of interest between the authors.

AUTHOR CONTRIBUTION

This study was derived from Semiha Saraç's master's thesis. The thesis student, Semiha Saraç, prepared samples, analyses, reporting, and writing and correction of literature sources. Hilal Soyocak assisted in conducting analyses and writing-review-proofreading-publishing procedures. Furkan Türker Sarıcaoglu assisted in statistical analyses of data, writing the article, and writing-review-proofreading-publishing procedures. Sadettin Turhan contributed as the thesis supervisor to conducting analyses, writing the article, and writing review-proofreading-publishing procedures. The authors have read and approved the final version of the article.

REFERENCES

- Alamprese, C., Fongaro, L., Casiraghi, E. (2016). Effect of fresh pork meat conditioning on quality characteristics of salami. *Meat Science*, 119: 193-198, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.05.004.
- Alemu, T. (2022). Texture profile and design of food product. *Journal of Agriculture and Horticulture Research*, 6: 272-281, doi: 10.33140/jahr.06.02.03.
- Anonymous (2019). Turkish food codex. Notification on meat, prepared meat mixtures, and meat products (Notification no: 2018/52). Ministry of Food, Agriculture and Livestock, 29 January 2019, Official Gazette Number: 30670, Ankara.
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis* (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Babaoglu, M., Aktas, N., Igci, N., Ertul, S. (2025). Cooking-induced lipid-protein oxidation in kavurma (a cooked meat product). *Journal of Food Processing and Preservation*, 3824071: 1-13, doi: 10.1155/jfpp/3824071.
- Battaloğlu, S. (2024). Emulsified meat products protein contents investigation of regulation compliance. Erciyes University Institute of Health Sciences Department of Veterinary Food Hygiene and Technology Master Thesis, Kayseri, Türkiye, 71 p.
- Boles, J.A., Shand, P.J. (2008). Effect of muscle location, fiber direction, and slice thickness on the processing characteristics and tenderness of beef stir-fry strips from the round and chuck. *Meat Science*, 78: 369-374, doi: 10.1016/j.meatsci.2007.06.024.
- Chen, L., Opara, U.L. (2013). Texture measurement approaches in fresh and processed foods-A review. *Food Research International*, 51: 823-835, doi: 10.1016/j.foodres.2013.01.046.
- Dinçer, M.T., Erdem, Ö.A., Şen Yılmaz E.B. (2017). Comparison of the mechanical properties of meat and fish salamis. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(4): 443-449, doi: 10.12714/egejfas.2017.34.4.11.
- Erdemir, E., Karaoğlu, M.M. (2021). A review on methods of determining textural properties of meat and meat products instrumentally and texture profile analysis. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11: 2836-2848, doi: 10.782149/jist.782149.
- Fieira, C., Marchi, J.F., Alfaro, A.T. (2015). Partial replacement of sodium chloride in Italian salami and the influence on the sensory properties and texture. *Acta Scientiarum*, 37: 293-299, doi: 10.4025/actascitechnol.v37i2.24912.
- Güner, A., Doğruer, Y., Uçar, G., Yörük, H.D. (2002). The possibility of using goose meat in the

production of salami. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26: 1303-1308.

Kharrat, N., Salem, H., Mrabet, A., Aloui, F., Triki, S., Fendri, A., Gargouri, Y. (2018). Synergistic effect of polysaccharides, betalain pigment and phenolic compounds of red prickly pear (*Opuntia stricta*) in the stabilization of salami. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111: 561-568, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.025.

Mittal, G.S., Nadulski, R., Barbut, S., Negi, S.C. (1992). Textural profile analysis test conditions for meat products. *Food Research International*, 25(6): 411-417, doi: 10.1016/0963-9969(92)90165-2.

Öztan, A. (2003). *Et Bilimi ve Teknolojisi*. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi, Yayın No:1, 4. Baskı, Ankara, Türkiye, 495 s.

Özünlü, O. (2019). Possibilities of using dried oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in production of salami. Pamukkale University Institute of Science Department of Food Engineering Master of Thesis, Denizli, Türkiye, 72 p.

Saimaiti, M. (2018). The effect of modified potato starches on certain properties of salami which produced from beef and chicken meat. Ondokuz Mayıs University Graduate School of Sciences

Department of Food Engineering Master's Thesis, Samsun, Türkiye, 89 p.

Shin, S-H., Choi, W-S. (2021). Variation in significant difference of sausage textural parameters measured by texture profile analysis (TPA) under changing measurement conditions. *Food Science of Animal Resources*, 41(4): 739-747, doi: 10.5851/kosfa.2021.e26.

Stangierski, J., Rezler, R., Kawecki, K. (2023). An analysis of changes in the physicochemical and mechanical properties during the storage of smoked and mould salamis made in Poland. *Molecules*, 28: 5122, doi: 10.3390/molecules28135122.

Valli, E., Petracci, M., Pezzolato, M., Bozzetta, E. (2018). Meat and meat products. *Food Integrity Handbook*, 169716119, doi: 10.32741/fihb.4.meat.

Yazıcı, Ş. (2024). Effect of using olive pomace oil oleogel on physicochemical, textural, and sensory properties in bologna-type chicken sausage production. Atatürk University Institute of Science Department of Food Engineering Master Thesis, Erzurum, Türkiye, 63 p.

TAVUK ETİ ÇUBUKLARININ BETA KAROTENCE ZENGİN HAVUÇ POSASI KULLANILARAK RENKLENDİRİLMESİ

Aylin GÜCÜÖZ, Hatice Nur ERKOÇ, Elif AYKIN DİNÇER*

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received 22.04.2025; Kabul / Accepted: 12.10.2025; Online baskı / Published online: 31.10.2025

Gücüöz, A., Erkoç, H. N. Aykın Dinçer, E. (2025). Tavuk eti çubuklarının beta karotence zengin havuç posası kullanılarak renklendirilmesi. GIDA (2025) 50 (6) 989-1002 doi: 10.15237/ gida.GD25055

Gücüöz, A., Erkoç, H. N. Aykın Dinçer, E. (2025). Coloring of chicken meat sticks using beta-carotene rich carrot pomace. GIDA (2025) 50 (6) 989-1002 doi: 10.15237/ gida.GD25055

ÖZ

Bu çalışmada, tavuk eti çubuklarında beta karoten açısından zengin havuç posasının kullanımı araştırılmıştır. Farklı oranlarda (%0, %2, %4 ve %6) kurutulmuş havuç posası eklenen ürünlerin kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik ve duyu özellikleri değerlendirilmiştir. Kurutulmuş havuç posasının oranı arttıkça çubukların nem ve yağ içeriği azalmış, kül içeriği artmış ve protein içeriği ise değişmemiştir. Kurutulmuş havuç posası içeren gruplarda ortalama β -karoten miktarı 45.75 $\mu\text{g/g}$ olarak tespit edilmiştir. Örneklerdeki kurutulmuş havuç posası miktarı arttıkça, a^* ve b^* değerleri yükselmiş, L^* değeri azalmıştır. Mikrobiyolojik analizler, tüm grupların güvenli sınırlar içinde olduğunu göstermiştir. Duyusal değerlendirmede ise, kurutulmuş havuç posasının çubukların genel kabul edilebilirliğini olumsuz etkilemediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, kurutulmuş havuç posası doğal renklendirici ve fonksiyonel bir katkı maddesi olarak tavuk eti ürünlerinde kullanılabilir ve sürdürülebilir bir alternatif sunabilir.

Anahtar kelimeler: Atıştırmalık et ürünleri, beta karoten, havuç posası, tavuk eti

COLORING OF CHICKEN MEAT STICKS USING BETA-CAROTENE RICH CARROT POMACE

ABSTRACT

In this study, the use of carrot pomace, which is rich in beta-carotene, was investigated in chicken sticks. The chemical, physical, microbiological, and sensory properties of products enriched with different levels of carrot pomace (0%, 2%, 4%, and 6%) were evaluated. As the proportion of carrot pomace increased, the moisture and fat content of the sticks decreased, the ash increased, while the protein did not change. The average β -carotene content in groups containing carrot pomace was determined to be 45.75 $\mu\text{g/g}$. As the amount of carrot pomace in samples increased, a^* and b^* values increased, while L^* value decreased. Microbiological analyses indicated that all groups were within safe limits. In sensory evaluation, it was found that carrot pomace did not negatively affect overall acceptability of the sticks. As a result, carrot pomace can be used as a natural colorant and functional additive in chicken meat products, offering a sustainable alternative.

Keywords: Beta carotene, carrot pomace, chicken meat, snack meat products

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: elifaykin@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 310 4345

☎: (+90) 242 227 4564

Aylin Gücüöz; ORCID no: 0009-0003-9200-4016

Hatice Nur Erkoç; ORCID no: 0009-0004-9446-3766

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

GİRİŞ

Gıdalardaki renk değişimleri ürünün tazelik, besinsel kalitesi ve güvenilirliği ile doğrudan ilişkilendirilmektedir. Tüketici beklentisini karşılama amacıyla kullanılan doğal ve sentetik renklendiriciler, gıda ürünlerinin görünümünü iyileştirme ve fonksiyonel özellikler kazandırma açısından önemli bir role sahiptir. Ancak, sentetik renklendiricilerin sağlık üzerindeki olası riskleri, gıda endüstrisini doğal alternatiflere yönlendirmektedir (Dinçer ve Dinçer, 2022; Geçer ve Öztürk, 2023).

Tavuk eti ürünleri, yüksek protein içeriği, kırmızı ete göre düşük maliyeti ve çok yönlü kullanım alanlarıyla dünya çapında popülerdir. (Dinçer vd., 2024; Kim vd., 2020). Nohut unu (Kılınççeker, 2020), keten tohumu unu (Kılınççeker ve Kırpık, 2019), çiya tohumu unu (Yıldız ve Arslan, 2022), meşe palamutu unu (Önel, 2022), kabak unu (Mumyapan, 2021), mor ve turuncu tatlı patates lifleri (Saraç vd., 2021), bezelye, muz, inülin, narenciye, yulaf, elma, buğday, kinoa, soya fasulyesi lifleri (Marczak ve Mendes, 2024) çeşitli et ürünlerinde kullanımı araştırılan diyet lif kaynaklarıdır.

Havuç (*Daucus carota*), beta karoten açısından zengin içeriğiyle hem besin değeri yüksek bir gıda kaynağı hem de doğal bir renklendirici olarak önemli bir potansiyel taşır. Beta karoten, A vitamini öncüsü olarak vücutta işlev görürken, aynı zamanda güçlü bir antioksidan kaynağı olarak serbest radikalleri nötralize eder (Ikram vd., 2024). Havuç kökü; yaklaşık %72 selüloz, %13 hemiselüloz ve %15 lignin içeriğiyle oldukça yüksek diyet lif içeriğine sahiptir (Motegaonkar vd., 2024). Havuç posası ise, genellikle meyve suyu işleme tesislerinden elde edilen, diyet lif ve karotenoidler açısından zengin bir işleme atığıdır. Havuç suyu üretilirken posayla birlikte yaklaşık %50 atık oluşmaktadır ve bu atık posadaki karoten içeriği “2 g/kg” (havuçtaki karotenin “%17’si”) olabilmektedir (Ikram vd., 2024). Yüksek besleyici içeriklere sahip atık posanın çeşitli gıda ürünlerinde değerlendirilmesi atık yönetimi, sürdürülebilirlik ve işlevsellik konularına da katkı sağlamaktadır (Çümen vd., 2021; Geçer ve Öztürk, 2023).

Literatürde, et ürünlerine farklı bitkisel kaynaklı katkı maddeleri (havuç lifi, selüloz, buğday lifi, limon lifi, havuç püresi ve posası gibi) eklenerek ürünlerin duyuşal, teknolojik ve besinsel özelliklerinin iyileştirilebileceği gösterilmiştir. Örneğin, yapılan çeşitli çalışmalarda bu katkıların et ürünlerinde yağ içeriğini azaltabildiği (Sam vd., 2021), antioksidan kapasiteyi artırabildiği (Sam vd., 2021), ürün verimi ve kalite özelliklerini iyileştirebildiği (Kılınççeker ve Kurt, 2018; Santhi vd., 2022), bazı durumlarda ise katkı oranına bağlı olarak duyuşal beğeniye olumsuz etkileyebildiği belirtilmiştir (Santhi vd., 2022). Havuç lifinin, özellikle hamburger (Soncu vd., 2015), sucuk (Eren, 2021), köfte (Richard, 2023) gibi farklı ürünlerde olumlu etkiler sağladığı; limon lifi gibi diğer kaynaklarla karşılaştırıldığında daha yüksek duyuşal kabul gördüğü bildirilmektedir.

Atıştırmalık ürünler; küçük ve kompakt boyutları ve taşıma kolaylığı sayesinde, bireyler tarafından hızlıca tüketilebilen hazır ürünlerdir. Atıştırmalıklar genellikle doymuş yağ oranı yüksek ve karbonhidrat ağırlıklı olduğundan, sağlıklı olarak değerlendirilmemektedir. Bunun aksine, et atıştırmalıkları ise yüksek protein içeriğiyle geniş bir tüketici kitlesi için daha iyi bir tercih olmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri, et atıştırmalıkları arasında en popüler olan ürünün et çubukları olduğunu ve toplam satış hacminde %55’lik yer kapladığını rapor etmiştir (Kumar vd., 2019). Bu ürünlerin üretim süreci temel olarak, etin kıyma haline getirildikten sonra tuz ve çeşitli baharatlarla lezzetlendirilerek yoğurulması, doğal ya da sentetik bir kılıf içine doldurulmasıyla çubuk şeklinin sağlanması ve fırınlanması aşamalarından oluşmaktadır. Atıştırmalık et çubukları, yalnızca lezzetli ve doyurucu olmalarıyla değil aynı zamanda fonksiyonel bileşenlerle zenginleştirilmeleriyle de günümüzde artan tüketici taleplerine hitap eden yenilikçi gıda ürünleri arasında yer almaktadır (Yiğit ve Aykın Dinçer, 2025; Kumar vd., 2019). Bu çalışmada, tavuk eti çubuklarına farklı oranlarda (%2, %4 ve %6) kurutulmuş havuç posası ilavesinin ürünün fiziksel, kimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Böylece, tavuk eti gibi beyaz et kaynaklı bir ürün üzerinde

farklı havuç posası düzeylerinin çok yönlü etkileri ortaya konularak, mevcut çalışmalardan farklı olarak ürün tipi ve katkı oranı etkileşimine dair özgün ve kapsamlı veriler sunulması, atık yönetimi bakımından örnek olması, Türkiye’de çok bilinmeyen et çubuklarının atıştırılabilir olarak tanıtılması hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan tavuk göğüs eti, yerel bir marketten (File Market, Antalya, Türkiye) temin edilip aynı gün içerisinde kullanılmak üzere +4°C’deki buzdolabında muhafaza edilmiştir. Tavuk göğüsleri bütün halinde, yüzeydeki mikroorganizmalardan nispeten arındırmak için içilebilir özellikteki su ile yıkama işleminin ardından, bıçak yardımıyla yağ ve bağ dokularından ayrılmış ve boyutları küçültüldükten sonra çok amaçlı gıda hazırlama makinesi (Karaca Multichief, Türkiye) 3 veya 4 ayarında kullanılarak 0.3 cm çapında kıyma formuna getirilmiştir.

Çalışmada kullanılan havuçlar, yerel bir üreticiden (Antalya, Türkiye) taze olarak temin edilmiştir. Kontrol grubunda renklendirici olarak kullanılan beta karoten (E 160) %1 kimyasal saflıkta yerel bir

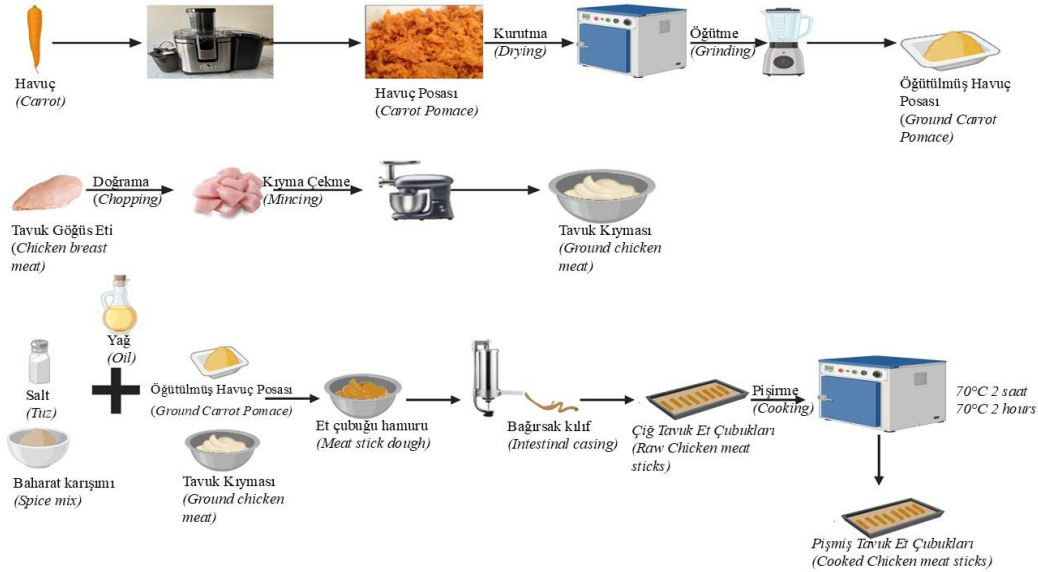
fırmadan (Smart Kimya, İzmir, Türkiye) satın alınmıştır.

Tavuk çubuğu üretiminde kullanılan doğal kuzu bağırsağı ve hazır baharat karışımı ise Kayseri’deki yerel firmalardan temin edilmiştir. Tuzlanmış halde paketlenmiş kuzu bağırsağı, kullanılmadan önce ılık suda bekletilmiş ve fazla tuzu giderilerek kullanıma hazırlanmıştır.

Havuç posası üretimi

Havuç posası eldesi için, öncelikle yıkanmış havuçların kabukları soyacak yardımıyla uzaklaştırılmış ve ardından soyulmuş havuçlar katı meyve sıkacağından (Arçelik K-1579, Türkiye) geçirilerek meyve suyu formuna dönüştürülmüştür. Katı meyve sıkacağının atık haznesinden toplanan posa, 60°C’deki etüvde (Memmert UNB400, Almanya) 10 saat kurutulmuştur (Şekil 1). Kurutulan havuç posası bir öğütücü (Waring 8010ES, ABD) ile gözle görülen büyük bir parça kalmayana kadar toz haline getirilmiştir. Daha sonra No 5 (elek açıklığı 4.00 mm) elekten elenmiştir. Çizelge 1’de belirtilen formülasyona uygun olarak örnek gruplarına ilave edilmiştir.

Çizelge 1



Şekil 1. Kurutulmuş havuç posası kullanılarak renklendirilmiş tavuk eti çubuklarının üretimine ait akım şeması

Figure 1. Flow chart to produce colored chicken meat sticks using dried carrot pomace

Çizelge 1. Tavuk Et Çubuklarının Formülasyonu
 Table 1. Formulation of Chicken Meat Sticks

Malzemeler (%) (Ingredients)	Kontrol (Control)	%2 H. P (2% C.P)	%4 H. P (4% C.P)	%6 H. P (6% C.P)
Tavuk Eti (chicken meat)	94	93	91	89
Su (water)	1.5	1.5	1.5	1.5
Yağ (oil)	1.5	1.5	1.5	1.5
Tuz (salt)	0.7	0.7	0.7	0.7
Baharat Karışımı (spice mix)	1	1	1	1
Sodyum Tripolifosfat (Sodium Triphosphate)	0.3	0.3	0.3	0.3
BetaKaroten/Havuç Posası (Beta-Carotene/Carrot Pomace)	1	2	4	6

Kontrol: %1 beta karoten kullanılan tavuk eti çubukları
 %2 H.P: %2 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları
 %4 H.P: %4 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları
 %6 H.P: %6 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları
 Control: Chicken meat sticks with 1% beta-carotene
 2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace
 4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace
 6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace

Tavuk eti çubuğu üretimi

Şekil 1’de belirtilen üretim akış şeması takip edilerek grupların üretimleri yapılmıştır. Çizelge 1’de belirtilen formülasyon esas alınarak tavuk kıymasına tuz, hazır sucuk baharat karışımı, ayçiçek yağı, destile su, sodyum tripolifostat ve öğütülen kurutulmuş havuç posası eklenmiş ve karışım 10 dk boyunca elle yoğrulmuştur. Kurutulmuş havuç posasının renklendirme gücünün kıyaslanması için kontrol grubu örneğinde aynı proses izlenmiş olup, sadece karışımında kurutulmuş havuç posası yerine %1 oranında beta karoten tozu (Tito, Türkiye) kullanılmıştır. Hazırlanan karışım, dolum makinesi (Lavion -HR-7L-V, P.R.C.) kullanılarak doğal kuzu bağırsaklarına (16/18 mm) doldurulmuştur. Oluşan uzun çubuklar, 15 cm boyutlarında kesilmiş, uçları ip ile bağlanmıştır. Çubuklar, birbirine temas etmeyecek şekilde tepsilere dizildikten sonra, konveksiyonel bir kurutucuda (Memmert UNB400, Almanya) 70°C’de 2 sa boyunca (ilk saatin ardından ters çevrilerek) pişirilmiştir (Şekil 2). Atıştırmalık

çubuklar, 30 dk oda sıcaklığında bekletilerek soğutulmuş ve kalite analizleri için iki gruba ayrılarak +4°C ve -18°C’de depolanmıştır.

Metot

Kimyasal ve Fiziksel Analizler

Atıştırmalık tavuk çubuğu örneklerinin nem tayini için, sabit ağırlığa getirilen petrilere 3’er g örnek tartılarak 105°C’deki etüvde (Memmert UNB400, Almanya) kurutma işlemi gerçekleştirilmiş ve gravimetrik olarak örneklerin %nem içeriği hesaplanmıştır (AOAC, 2006). Ham protein miktarı, Kjeldahl yöntemine göre 1 g örnekteki toplam azot miktarının belirlenmesi ve bu değerin protein çevirme faktörü olan 6.25 ile çarpılmasıyla belirlenmiştir (AOAC, 2000). Ham yağ miktarı, Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile tespit edilmiştir (AOAC, 2000). Örneklerin kül miktarı, yaklaşık 3 g homojen örnek alınarak önceden darası alınmış krozelerde 550°C’de kül haline gelene kadar yakılmasıyla belirlenmiştir (AOAC, 2000). Tuz miktarı ise, titrimetrik Mohr yöntemi ile kül fırınında yakılan örneklerin titrasyonunda

harcanan AgNO_3 miktarına göre hesaplanmıştır (AOAC, 2000). Örneklerin pH ve su aktivitesi değerleri, oda sıcaklığında dijital pH metre cihazı

(Orion 4-Star pH meter, Thermo Scientific, ABD) ve su aktivitesi ölçme cihazı (Aqualab 4TE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür.



Kontrol %1 beta karoten
(Control %1 beta carotene)



%2 Kurutulmuş Havuç Posası
(%2 Dried Carrot Pomace)



%4 Kurutulmuş Havuç Posası
(%4 Dried Carrot Pomace)



%6 Kurutulmuş Havuç Posası
(%6 Dried Carrot Pomace)

Şekil 2. Kurutulmuş havuç posası kullanılarak renklendirilmiş tavuk eti çubukları

Figure 2. Chicken meat sticks colored using dried carrot pomace

Örneklerin karotenoid miktarı, Chan ve Matanjun (2017) yöntemine göre 3 g örneğin 2:1:1 hekzan:aseton:etanol çözeltisi ile ekstraksiyonundan sonra organik fazın ayrılıp 470 nm'deki absorbansı ölçülerek belirlenmiştir. Örneklerin L^* , a^* ve b^* renk değerleri, CR-400 Chromameter (Konica Minolta, Japan) cihazı kullanılarak hem iç hem de dış yüzeyin 5 ayrı noktasından ölçülmüştür.

Örneklerin tekstürel özellikleri (sertlik, yapışkanlık, esneklik ve çiğnenebilirlik), Tekstür Profil Analizi (TPA) yapılarak belirlenmiştir. Uzunluğu 1.5 cm olacak şekilde hazırlanan numuneler, TA.XTplus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) cihazının test tablasına dikey olarak yerleştirilmiştir. Ölçümler sırasında 75 mm çapında düz silindirik prob kullanılmıştır. Cihaz,

TPA 1 modunda çalıştırılmış olup, numunelere %50 sıkıştırma oranı ile iki ardışık sıkıştırma uygulanmıştır. Analiz parametreleri; pre-test hızı 1.00 mm/s, test hızı 5.00 mm/s, post-test hızı 5.00 mm/s, sıkıştırma mesafesi 5.000 mm ve iki sıkıştırma arasında 5 saniyelik bekleme süresi olacak şekilde ayarlanmıştır. Probun örneğe temasını algılamak için tetikleyici kuvvet (trigger force) 5.0 g olarak belirlenmiş ve cihazın otomatik sıfırlama (tare) modu etkinleştirilmiştir. Tüm ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiş olup, bu işlemler sonucunda elde edilen tekstürel parametreler değerlendirilmiştir (Menegas vd., 2013).

Mikrobiyolojik Analizler

Aseptik koşullarda 5 g örneğin 45 mL peptonlu su ile homojenize edildikten sonra, uygun

dilüsyonlara seyreltilmesi ve dökme yöntemine göre ekim yapılması ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam psikrofilik aerobik bakteri ve maya-küf sayımları yapılmıştır. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için, steril petri kutularına uygun dilüsyonlardan 1 mL örnek alınarak üzerine 45°C'ye kadar soğutulmuş 15 mL Plate Count Agar (PCA, Merck) dökülmüş ve ekimi yapılan petriler 30°C'de 2 gün inkübe edilmiştir. Toplam psikrofilik aerobik bakteri sayımında da aynı besiyeri (PCA, Merck) kullanılmış ve petriler 10°C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Maya-küf sayımında ise, hazırlanan dilüsyonlardan alınan 1 mL örnek üzerine 45°C'ye kadar soğutulmuş 15 mL Potato Dextrose Agar (PDA, Merck) dökülmüş ve ekimi yapılan petriler 25°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, 30-300 koloni içeren paralel petri kutularında sayım yapılmıştır (Halkman, 2005).

Duyusal Değerlendirme

Örneklerinin görünüş, renk, koku, lezzet, tekstür ve genel beğeni özellikleri 10 kişilik Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğrenci ve personelinden oluşan deneyimli panelist grubu tarafından 5 puanlık hedonik skala (1: çok kötü, 5: çok iyi) kullanılarak değerlendirilmiştir (Konieczny vd., 2007). Et çubukları, üç basamaklı sayılarla kodlanarak, rastgele bir sırayla ve oda sıcaklığında panelistlere sunulmuştur.

İstatistiksel Analiz

Deneme, kurutulmuş havuç posası miktarı (kontrol, %2, %4, %6) faktör alınarak 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Farklı konsantrasyon uygulamaları sabit etki ve tekerrürler ise modele rastgele etki olarak dahil edilmiştir. Havuç posasının ve kurutulmuş et çubuklarının kalite özellikleri ve duyusal değerlendirme 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen verilere SAS istatistik programı (SAS Institute, Inc., Cary, Version 7, NC, USA) ile varyans analiz uygulanmıştır. Ortalama değerler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata şeklinde sunulmuştur.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Tavuk Eti Çubuklarının Kimyasal Kompozisyonu

Farklı oranlarda kurutulmuş havuç posası kullanılarak üretilmiş tavuk eti çubuklarının bileşimi Çizelge 2'de verilmiştir. Nihai ürünlerde protein, tuz ve pH değerlerinde kurutulmuş havuç posası miktarı artışına bağlı olarak istatistiksel farklılık tespit edilememiş olup; nem, kül, yağ ve su aktivitesi değerlerinde ise önemli düzeyde ($p<0.01$) farklılıklar bulunmuştur.

Kullanılan kurutulmuş havuç posası miktarının artışına bağlı olarak ürünlerin nem miktarı % 59.66 ila 62.12, protein miktarı % 14.43 ila 16.32, yağ miktarı % 1.50 ila 3.49, kül miktarı % 2.28 ila 2.69, ve tuz miktarı 0.47 ila 0.62 aralıklarında tespit edilmiştir. Kurutulmuş havuç posası ilavesi, tavuk eti çubuklarının nem ve yağ içeriğini azaltırken, kül miktarını arttırmıştır (Çizelge 2). pH değeri 6.58 ila 6.69 arasında tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol örneği en yüksek su aktivitesi değerine (0.967) sahip olmuştur. Bu durum kurutulmuş havuç posası miktarı arttıkça, örneklerin kuru madde içeriğinin artması ve dolayısıyla nem içeriği ve su aktivitesinin azalmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca, kurutulmuş havuç posası miktarı arttıkça formülasyonda tavuk kıyması miktarı azaldığından yağ içeriğinin azalmış olabileceği değerlendirilmiştir. Benzer olarak, Yadav vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada kullanılan kurutulmuş havuç posası miktarının (%3, %6 ve %9) artışına bağlı olarak üretilen tavuk sosislerinin nem, protein ve yağ içeriklerinde azalma ve kül içeriğinde ise artış bildirilmiştir.

Tavuk Eti Çubuklarının Beta Karoten Değerleri

Farklı oranlarda kurutulmuş havuç posası kullanılarak üretilmiş tavuk eti çubuklarının β -karoten değerleri Çizelge 3'te verilmiştir. Kullanılan kurutulmuş havuç posası miktarının artışına bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$) bir farklılık gözlenmiştir. Kurutulmuş havuç posası içeren gruplarda β -karoten miktarı 27.62 ve 69.91 $\mu\text{g/g}$ arasında tespit edilmiştir (Çizelge 3). Benzer olarak, Ünlü (2017) havuç posasında β -karoten miktarını 4.00 mg/100 g (40

µg/g) olarak bildirmiştir. Kontrol grubunda havuç posalı gruplara kıyasla daha yüksek β-karoten tespit edilmesinin nedeni ise, ticari β-karoten maddesini % 1 oranında içermesidir. Azizi vd. (2021) çalışmalarında, atıştırılmalık sosislerin besin değerlerini artırmak için %10 ve %20 oranlarında havuç püresi eklemiş ve β-karoten miktarı kontrol ve havuç pürelili gruplarda istatistiksel olarak önemli fark göstermiştir. Benzer şekilde Chomanov vd. (2022) konserve keçi etine %10, %20 ve %30 oranlarında havuç ekleyerek, son ürünlerdeki beta karoten miktarında artış tespit etmiştir. Arslan vd. (2020) tarafından

yapılan çalışmada da havuç unu miktarındaki (%5, %10 ve %15) artışın makarnaların β-karoten içeriğini artırdığı bildirilmiştir. Artan beta-karoten miktarının, mevcut çalışmada üretimi yapılan tavuk çubuklarına fonksiyonellik kazandırdığı düşünülmektedir. Yapılan araştırmalarda da havuçtaki beta karotenin biyoyararlılığının, çiğ havuç tüketmekten ziyade havuca ısıtma işlemi (özellikle sıcak havada kurutma) veya boyut küçültme işlemi uygulanmasıyla arttığı ve böylece beta karoten emiliminin daha fazla olduğu ifade edilmiştir (Bass-Bellver, 2023; Kuo vd., 2022).

Çizelge 2. Tavuk Eti Çubuklarının Kimyasal Bileşimi ve Kimyasal Kalite Parametreleri

Table 2. Chemical Composition and Chemical Quality Parameters of Chicken Meat Sticks

	Kontrol (Control)	%2 H. P (2% C.P)	%4 H. P (4% C.P)	%6 H. P (6% C.P)	Önem (significant)
Nem (Moisture)(%)	62.12 ^a ± 0.01	60.80 ^b ± 0.13	60.30 ^c ± 0.04	59.66 ^d ± 0.01	**
Protein (Protein) (%)	16.32 ± 0.00	14.43 ± 1.46	15.16 ± 0.21	14.74 ± 0.19	NS
Kül (Ash) (%)	2.28 ^c ± 0.01	2.32 ^c ± 0.01	2.45 ^b ± 0.02	2.69 ^a ± 0.03	**
Yağ (Fat) (%)	3.49 ^a ± 0.00	3.00 ^b ± 0.00	2.17 ^c ± 0.17	1.50 ^d ± 0.17	**
Tuz (Salt) (%)	0.47 ± 0.04	0.51 ± 0.03	0.58 ± 0.05	0.62 ± 0.01	NS
pH (pH)	6.58 ± 0.03	6.64 ± 0.01	6.67 ± 0.03	6.69 ± 0.02	NS
a _w (a _w)	0.967 ^a ± 0.00	0.964 ^a ± 0.00	0.957 ^b ± 0.00	0.955 ^b ± 0.00	**

Kontrol: %1 beta karoten kullanılan tavuk eti çubukları

%2 H.P: %2 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%4 H.P: %4 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%6 H.P: %6 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

a,b,c,d Satır içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

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

Control: Chicken meat sticks with 1% beta-carotene

2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace

4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace

6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace

a, b, c, d: Mean values within same row followed by different letters indicate significant differences.

NS: No significant difference (p > 0.05); * p < 0.05; ** p < 0.01

Çizelge 3. Tavuk Eti Çubuklarının Beta Karoten Değerleri
Table 3. Beta-Carotene Content of Chicken Meat Sticks

	β - karoten (β -carotene) ($\mu\text{g/g}$)
Kontrol (<i>Control</i>)	169.28 ^a $\pm$ 3.40
%2 H.P. (2% C.P)	27.62 ^d $\pm$ 2.25
%4 H.P. (4% C.P)	39.71 ^c $\pm$ 1.86
%6 H.P. (6% C.P)	69.91 ^b $\pm$ 0.10
Önem seviyesi (<i>significant</i>)	**

Kontrol: %1 beta karoten kullanılan tavuk eti çubukları
 %2 H.P: %2 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları
 %4 H.P: %4 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları
 %6 H.P: %6 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları
 a,b,c,d Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

** $p < 0.01$

Control: Chicken meat sticks with 1% beta-carotene

2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace

4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace

6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace

a, b, c, d: Mean values within same column followed by different letters indicate significant differences.

** $p < 0.01$

2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace

4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace

6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace

a, b, c, d: Mean values within same row followed by different letters indicate significant differences.

** $p < 0.01$

Tavuk Eti Çubuklarının İç/Dış Yüzey Renk Değerleri

Farklı oranlarda kurutulmuş havuç posası kullanılarak üretilmiş tavuk eti çubuklarının iç/dış yüzey renk değerleri Çizelge 4'te verilmiştir. CIE renk sistemine göre yapılan kolorimetrik analizlerde çubukların aydınlık-parlaklık (L^*), kırmızılık ($+a^*$) ve sarılık ($+b^*$) değerleri üzerine kurutulmuş havuç posası miktarının önemli düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$; $p < 0.01$).

Kontrol grubu %1 oranında beta karoten içerdiği için kurutulmuş havuç posası kullanılan gruplara göre hem iç hem de dış yüzeyde, tüm renk parametreleri (L^* , a^* , b^*) açısından en yüksek değerlere sahiptir. Kurutulmuş havuç posası miktarı arttıkça, iç yüzeyde L^* değeri azalırken, a^* değeri artmış ve b^* değeri ise istatistiksel olarak değişmemiştir. Bu durum, kurutulmuş havuç posası miktarı arttıkça tavuk eti çubuklarının iç

yüzey renginin daha koyu bir turuncu renk olduğunu göstermektedir. Tavuk eti çubuklarının dış yüzeyde ise; iç yüzey rengine benzer olarak, kurutulmuş havuç posası miktarının artmasına bağlı olarak L^* değeri azalmış, a^* ve b^* değerleri ise artmıştır (Çizelge 4). Benzer bir çalışmada da, tavuk etine marınasyonla uygulanan havuç suyu konsantrasyonunun 1°Bx 'den 4°Bx 'e yükselmesi ile örneklerin daha düşük L^* ve daha yüksek a^* ve b^* değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Aykın-Dinçer ve Dinçer, 2023). Soncu vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada da kullanılan havuç posası (%2, %4 ve %6) artışına bağlı olarak dana hamburgerlerin L^* ve b^* değerlerinde artış gözlenirken a^* değerinde istatistiksel bir farklılık gözlenmediği bildirilmiştir. Richards (2023) tarafından yapılan çalışmada köfte formülasyonuna farklı oranlarda (%1, %3 ve %4.2) havuç posası eklenmesi, renk parametrelerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değiştirmiştir. Havuç posası ilavesi ile L^*

değerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı, a^* değerinin yükseldiği ve b^* değerinin de belirgin şekilde artarak sarı tonunu güçlendirdiği bildirilmiştir. Kılınççeker (2017) tarafından yapılan çalışmada, köftelere %5 oranında ilave edilen havuç lifinin, çiğ örneklerde a^* ve b^* değerlerini belirgin şekilde artırdığı, bunun lifin

doğal kırmızımsı-sarı pigmentlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Kızartma sonrasında ise havuç lifi, L^* değerinde kontrol grubuna göre artış sağlamış, a^* ve b^* değerlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı belirtilmiştir.

Çizelge 4. Tavuk Eti Çubuklarının İç/Dış Yüzey Renk Değerleri
Table 4. Internal/External Surface Color Values of Chicken Meat Sticks

İç yüzey Renk (Internal Surface Color)	Kontrol (Control)	%2 H. P (2% C.P)	%4 H. P (4% C.P)	%6 H. P (6% C.P)	Önem (significant)
L^*	59.93 ^a ± 1.33	55.72 ^b ± 0.11	52.85 ^{bc} ± 1.00	51.99 ^c ± 0.60	*
a^*	12.18 ^a ± 0.07	8.05 ^b ± 0.51	8.81 ^b ± 0.17	11.69 ^a ± 0.03	**
b^*	56.09 ^a ± 1.85	29.08 ^b ± 0.11	30.33 ^b ± 0.55	32.65 ^b ± 0.03	**
Dış yüzey renk (External Surface Color)					
L^*	51.56 ^a ± 0.17	49.26 ^b ± 0.03	48.33 ^c ± 0.30	47.02 ^d ± 0.09	**
a^*	15.53 ^a ± 0.30	10.09 ^d ± 0.05	12.05 ^c ± 0.32	13.72 ^b ± 0.15	**
b^*	44.28 ^a ± 0.02	28.24 ^d ± 0.24	30.44 ^c ± 0.27	31.17 ^b ± 0.03	**

Kontrol: %1 beta karoten kullanılan tavuk eti çubukları

%2 H.P: %2 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%4 H.P: %4 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%6 H.P: %6 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

a,b,c,d Satır içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Control: Chicken meat sticks with 1% beta-carotene

2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace

4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace

6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace

a, b, c, d: Mean values within same row followed by different letters indicate significant differences. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Tavuk Eti Çubuklarının Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Farklı oranlarda kurutulmuş havuç posası kullanılarak üretilmiş tavuk eti çubuklarının mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 5'te verilmiştir. Toplam mezofilik aerobik bakteri, psikrofilik aerobik bakteri ve maya-küf sayıları açısından kontrol grubu ile %6 kurutulmuş havuç posası içeren grup arasında yaklaşık 1 log'luk bir fark tespit edilmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olsa da sayısal olarak belirgin bir artışı göstermektedir. Toplam mezofilik bakteri sayısı 4.42 ila 5.38 arasında, toplam psikrofilik aerobik bakteri sayısı 4.48 ila 5.23 aralığında ve maya-küf sayısı 2.34 ila 3.46 log KOB/g aralığında belirlenmiştir. Et ürünlerinin

bozulmanın, genellikle toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 8–9 log KOB/g seviyelerine ulaştığında gerçekleştiği ifade edilmektedir (Martinez-Laorden vd., 2023). Bu durumda kurutulmuş havuç posası ile renklendirdiğimiz tavuk eti çubuklarının mikrobiyal açıdan güvenilir olduğu ve tespit edilen mikrobiyal yükün üretim, depolama ve analiz sürecindeki kontaminasyonlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Çizelge 5). Diyet lif ilavesinin araştırıldığı diğer çalışmalarda da diyet lif miktarındaki artışın mikrobiyolojik kalite üzerinde olumsuz bir etki meydana getirmediği tespit edilmiştir (Papatya 2024, Özkaya ve Kayaardı, 2018,). Sabahi vd. (2024) tarafından yapılan çalışmada dondurarak kurutulmuş havuç

posasının %1–4.2 oranlarında sığır köftelerine doğrudan eklenmesiyle yapılan bir çalışmada, mikrobiyolojik kalite üzerinde anlamlı bir

değişiklik gözlenmemiş; posanın mikrobiyal yükü azaltmadığı bildirilmiştir.

Çizelge 5. Tavuk Eti Çubuklarının Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (log KOB/g)

Table 5. Microbiological Analysis Results of Chicken Meat Sticks

	Kontrol (Control)	%2 H. P (2% C.P)	%4 H. P (4% C.P)	%6 H. P (6% C.P)	Önem (significant)
Toplam mezofilik aerobik bakteri (Total mesophilic aerobic bacteria)	4.42 ± 0.20	4.71 ± 0.33	4.90 ± 0.32	5.38 ± 0.21	NS
Toplam psikrofilik aerobik bakteri (Total psychophilic aerobic bacteria)	4.60 ± 0.25	4.48 ± 0.42	4.67 ± 0.27	5.23 ± 0.56	NS
Maya-küf (Yeast-mold)	2.34 ± 0.02	2.68 ± 0.14	2.82 ± 0.26	3.46 ± 0.44	NS
Kontrol: %1 beta karoten kullanılan tavuk eti çubukları %2 H.P: %2 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları %4 H.P: %4 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları %6 H.P: %6 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır Control: Chicken meat sticks with 1% beta-carotene 2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace 4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace 6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace NS: No significant difference					

Tavuk Eti Çubuklarının Tekstür Profili

Farklı oranlarda kurutulmuş havuç posası kullanılarak üretilmiş tavuk eti çubuklarının tekstür profiline ait değerleri Çizelge 6'da verilmiştir. Kullanılan kurutulmuş havuç posası miktarının, örneklerin sertlik değeri üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığı; çiğnenebilirlik değerinde önemli ($p < 0.05$) düzeyde, esneklik ve yapışkanlık değerlerinde ise çok önemli ($p < 0.01$) düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir. En yüksek esneklik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerleri kontrol grubunda tespit edilirken, kurutulmuş havuç posasının miktarındaki artışa bağlı olarak bu değerlerde azalma tespit edilmiştir (Çizelge 6). Benzer şekilde literatürde havuç posası kullanılarak üretilmiş et ürünlerinde de, kullanılan havuç posası miktarı arttıkça örneklerin daha az yapışkan, daha az esnek ve daha az çiğnenebilir olduğu tespit edilmiştir (Richards vd., 2024; Yadav vd., 2017).

Tavuk Eti Çubuklarının Duyusal Değerlendirme Sonuçları

Farklı oranlarda kurutulmuş havuç posası kullanılarak üretilmiş tavuk eti çubuklarının duysal değerlendirme sonuçları Çizelge 7'de verilmiştir. Görünüş, lezzet ve tekstür özelliklerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Ancak, renk ve koku parametrelerinde gruplar arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Renk ve koku özellikleri açısından, %2 oranında kurutulmuş havuç posası içeren grup hariç, kontrol dahil tüm gruplar benzer puanlara sahip olmuştur. Düşük oranda kurutulmuş havuç posası kullanımı, renk ve koku üzerinde istenilen etkiyi göstermemiş olabilir. Ayrıca, tüm grupların (%2, %4 ve %6) genel beğeni puanları arasında istatistiksel olarak bir farkın olmaması; kurutulmuş havuç posasının panelistler tarafından da kabul edilebilir olduğunu ve tavuk eti ürünlerinin renklendirilmesinde

kullanılabileceğini göstermektedir. Yadav vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada %6 oranında havuç posası kullanılarak üretilen tavuk sosislerin

diğer gruplara (kontrol, %3, %9) göre daha çok beğenildiği bildirilmiştir.

Çizelge 6. Tavuk Eti Çubuklarının Tekstür Değerleri

Table 6. Texture Values of Chicken Meat Sticks

	Kontrol (Control)	%2 H. P (2% C.P)	%4 H. P (4% C.P)	%6 H. P (6% C.P)	Önem (significant)
Sertlik (Hardness)	1.32± 0.01	1.26 ± 0.16	1.26 ± 0.19	1.52± 0.15	NS
Esneklik (Springiness)	0.95 ^a ± 0.01	0.89 ^b ± 0.02	0.85 ^{bc} ± 0.00	0.84 ^c ± 0.01	**
Yapışkanlık (Cohesiveness)	0.79 ^a ± 0.01	0.78 ^a ± 0.01	0.74 ^b ± 0.01	0.72 ^b ± 0.01	**
Çiğnenebilirlik (Chewiness)	1.12 ^a ± 0.03	0.94 ^{ab} ± 0.01	0.81 ^b ± 0.13	0.69 ^b ± 0.02	*

Kontrol: %1 beta karoten kullanılan tavuk eti çubukları

%2 H.P: %2 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%4 H.P: %4 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%6 H.P: %6 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

a,b,c Satır içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

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

Control: Chicken meat sticks with 1% beta-carotene

2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace

4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace

6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace

a, b, c: Mean values within same row followed by different letters indicate significant differences.

NS: No significant difference (p > 0.05); * p < 0.05; ** p < 0.01

Çizelge 7. Tavuk Eti Çubuklarının Duyusal Değerlendirme Sonuçları

Table 7. Sensory Evaluation Results of Chicken Meat Sticks

	Kontrol (Control)	%2 H. P (2% C.P)	%4 H. P (4% C.P)	%6 H. P (6% C.P)	Önem (significant)
Görünüş (Appearance)	7.42 ± 0.09	6.59 ± 0.17	6.96 ± 0.04	7.13 ± 0.21	NS
Renk (Color)	7.42 ^a ± 0.17	6.30 ^b ± 0.13	7.04 ^a ± 0.04	7.29 ^a ± 0.29	*
Koku (Odor)	7.08 ^a ± 0.00	6.57 ^b ± 0.09	6.88 ^a ± 0.05	7.00 ^a ± 0.08	*
Lezzet (Flavor)	6.83 ± 0.00	6.88 ± 0.05	7.00 ± 0.00	6.92 ± 0.09	NS
Tekstür (Texture)	6.96 ± 0.13	7.17 ± 0.09	7.09 ± 0.17	6.75 ± 0.08	NS
Genel Beğeni (Overall Acceptability)	7.30 ± 0.13	7.09 ± 0.17	7.33 ± 0.25	7.21 ± 0.21	NS

Kontrol: %1 beta karoten kullanılan tavuk eti çubukları

%2 H.P: %2 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%4 H.P: %4 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

%6 H.P: %6 Kurutulmuş havuç posası kullanılan tavuk eti çubukları

a,b Satır içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

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

Control: Chicken meat sticks with 1% beta-carotene

2% C.P: Chicken meat sticks with 2% dried carrot pomace

4% C.P: Chicken meat sticks with 4% dried carrot pomace

6% C.P: Chicken meat sticks with 6% dried carrot pomace

a, b: Mean values within same row followed by different letters indicate significant differences.

NS: No significant difference (p > 0.05); * p < 0.05

SONUÇ

Bu çalışma, beta karoten açısından zengin kurutulmuş havuç posasının tavuk eti çubuklarında doğal bir renklendirici ve fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Kurutulmuş havuç posası ilavesindeki artışa bağlı olarak tavuk eti çubuklarının % nem ve % yağ değerleri azalmış ve % kül değeri artmıştır. Renk analizleri, kurutulmuş havuç posası ilavesinin beta karoten değerindeki artışa bağlı olarak ürünlerin kırmızılık (a^*) ve sarılık (b^*) değerlerini yükselttiği, parlaklık (L^*) değerini ise azalttığını göstermektedir. Duyusal değerlendirme sonuçları ise, ürünlerin duysal kalite özellikleri ve genel beğenilirliği üzerine kurutulmuş havuç posası ilavesinin olumsuz bir etkisinin olmadığını ifade etmiştir.

Sonuç olarak, kurutulmuş havuç posası, tavuk eti çubuklarının besinsel değerini artırırken aynı zamanda doğal bir renklendirici olarak; β -karoten içeriğini yükselterek ve yağ oranını düşürerek fonksiyonel özellikler kazandırmaktadır. Elde edilen bulgular, çalışmanın öncelikli amacı olan tavuk eti çubuklarının doğal yollarla renklendirilmesini başarıyla desteklemektedir. Havuç posasının tavuk eti ürünlerinde değerlendirilmesi, homojen ve çekici bir turuncu görünümün sağlanmasında ve dolayısıyla tüketici beğenisinin artmasında etkilidir. Ayrıca, kurutulmuş havuç posasının değerlendirilmesi, gıda endüstrisinde sürdürülebilirlik açısından önemli bir role sahip olup, atık yönetimine katkıda bulunarak çevre üzerindeki olumsuz etkilerin azaltılması konularını desteklemektedir. Elde edilen bulgular doğrultusunda yazarlar, gelecekte yürütülecek çalışmalarda farklı bitkisel kaynaklı posaların gıdalarda fonksiyonel katkı maddesi olarak kullanımının, ürün kalitesi, fonksiyonel özellikler ve sürdürülebilirlik açısından daha kapsamlı biçimde değerlendirilmesinin bilimsel açıdan önemli katkılar sağlayacağı kanaatinde.

TEŞEKKÜRLER

Yazarlar, havuç posası tedariki için yüksek lisans öğrencisi Cem Yiğit'e (Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, Türkiye) teşekkürlerini sunarlar.

YAZAR KATKILARI

Çalışmanın tasarımı, planlanması, projenin yönetimi, verilerin analizi, veri yorumlama, istatistiksel değerlendirme ve görselleştirme Doç. Dr. Elif Aykın Dinçer tarafından gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmaların yürütülmesi, analizlerin gerçekleştirilmesi, verilerin analizi ve makalenin yazımı Aylin Gücüöz ve Hatice Nur Erkoç tarafından yapılmıştır.

KAYNAKLAR

AOAC (2000). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. Gaithersburg, Maryland, the USA.

AOAC (2006). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 18th Edition, Gaithersburg, Maryland, the USA.

Alvarado-Ramírez, M., Santana-Gálvez, J., Santacruz, A., Carranza-Montelvo, L. D., Ortega-Hernández, E., Tirado-Escobosa, J., Jacobo-Velázquez, D. A. (2018). Using a functional carrot powder ingredient to produce sausages with high levels of nutraceuticals. *Journal of Food Science*, 83(9), 2351-2361.

Arslan, B. (2020). Besleyici değeri yüksek glutensiz makarna üretiminde havuç ve nohut ununun kullanım imkanlarının araştırılması. Doktora Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye, 137 s.

Aykın-Dinçer, E., Dinçer, C. (2022). Vakumlu emdirim ile renkli fonksiyonel tavuk eti küplerinin üretilmesi. *GIDA*, 47(5), 860-873.

Aykın-Dinçer, E., Dinçer, C. (2023). Vakumlu emdirim tekniği ile tavuk eti küplerinin renklendirilmesinde havuç suyunun kullanımı. 6. Uluslararası Beyaz Et Kongresi, 1-5 Mart 2023, Antalya, Türkiye, 35 s., ss.124-128.

Azizi, E. C., Bahar, A., Adi, A. C. (2021, March). The Effect of Tempe Substitution and Addition of Carrot Puree on The Acceptability and Nutritional Value of Sausages for Snacks for School Children. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 709, No. 1, p. 012043). IOP Publishing.

- Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N., Seguí, L. (2023). Effect of processing and in vitro digestion on bioactive constituents of powdered IV range carrot (*Daucus carota*, L.) wastes. *Foods*, 12(4), 731.
- Chan, P. T., & Matanjun, P. (2017). Chemical composition and physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria changii*. *Food Chemistry*, 221, 302-310.
- Chomanov, U., Kenenbay, G., Tursynov, A., Zhumalieva, T., Tultabayev, N., Suychinov, A. (2022). Nutritive profile of canned goat meat food with added carrot. *Applied Sciences*, 12(19), 9911.
- Çümen, E., Bostancı, Ş. (2021). Havucun gastronomide alternatif kullanım alanları: Farklı ürün denemeleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 14(2), 202-215.
- Dinçer, C., Üstünel, S., Erkoç, H.N., Yiyen, A., Aykın-Dinçer, E. (2024). Effect of vacuum impregnation with anthocyanin rich fruit juices on the quality characteristics of chicken cubes. *Food Biophysics*, 19(4), 973-981.
- Erdil, D. N., Gedik, S. (2018). Kırmızı ve yeşil mercimekten elde edilen diyet liflerinin karakterizasyonu ve fonksiyonel özellikleri. *Akademik Gıda*, 16(2), 135-147.
- Eren, A. (2021). Diyet lif ilave edilerek üretilen ısı işlem görmüş sucuğun kalite özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar, Türkiye, 88 s.
- Geçer, E. N., Öztürk, Ş. (2023). Bazı yenilebilir kaplamaların fırınlanmış havucun fizikokimyasal özelliklerine etkisi. *Aydın Gastronomy*, 7(2), 173-186. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/en/pub/aydingas/issue/78864/1213115>
- Halkman, A. K. (2005). Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 358 s.
- Ikram, A., Rasheed, A., Ahmad Khan, A., Khan, R., Ahmad, M., Bashir, R., Hassan Mohamed, M. (2024). Exploring the health benefits and utility of carrots and carrot pomace: a systematic review. *International Journal of Food Properties*, 27(1), 180-193.
- Kılınççeker, O. (2017). Diyet Özellikteki Bazı Bitkisel Liflerin Tavuk Köftelerde Kullanım Olanakları. *ADYUTAYAM Dergisi*, 5(1), 1-9.
- Kılınççeker, O. (2020). Nohut ununun tavuk köfte üretiminde kullanımı. *Akademik Ziraat Dergisi*, 9(1), 49-54.
- Kılınççeker, O., Kırpık, M. (2019). Keten tohumu ununun tavuk köfte yapımında kullanımı. *ADYUTAYAM Dergisi*, 7(1), 23-32.
- Kurt, Ş., Kılınççeker, O. (2018). Effects of inulin, carrot and cellulose fibres on the properties of raw and fried chicken meatballs. *South African Journal of Animal Science*, 48(1), 39-47.
- Kim, H.J., Kim, H.J., Jeon, J.J., Nam, K.C., Shim, K.S., Jung, J.H., Jang, A. (2020). Comparison of the quality characteristics of chicken breast meat from conventional and animal welfare farms under refrigerated storage. *Poultry Science*, 99(3), 1788-1796.
- Konieczny, P., Stangierski, J., Kijowski, J. (2007). Physical and chemical characteristics and acceptability of home style beef jerky. *Meat Science*, 76(2), 253-257.
- Kumar, P., Verma, A. K., Kumar, D., Umaraw, P., Mehta, N., Malav, O. P. (2019). Meat snacks: A novel technological perspective. In *Innovations in traditional foods* (pp. 293-321). Woodhead Publishing.
- Kuo, E. , McClements, DJ (2022). Karotenoid biyoyararlanımını artırarak yaşa bağlı makula dejenerasyonunu ele almak için gıda kolloid bazlı dağıtım sistemleri: Bir inceleme. Sağlık İçin Gıda Hidrokolloidleri , 2 , 100093.
- Marczak, A., & Mendes, A. C. (2024). Dietary fibers: Shaping textural and functional properties of processed meats and plant-based meat alternatives. *Foods*, 13(12), 1952.
- Martínez-Laorden, A., Arraiz-Fernández, C., González-Fandos, E. (2023). Microbiological Quality and Safety of Fresh Turkey Meat at Retail Level, Including the Presence of ESBL-Producing Enterobacteriaceae and Methicillin-Resistant *S. aureus*. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(6), 1274. <https://doi.org/10.3390/foods12061274>

- Menegas, L.Z., Pimentel, T.C., Garcia, S., Prudencio, S.H. (2013). Dry-fermented chicken sausage produced with inulin and corn oil: Physicochemical, microbiological, and textural characteristics and acceptability during storage. *Meat Science*, 93(3), 501–506.
- Motegaonkar, S., Shankar, A., Tazeen, H., Gunjal, M., Payyanad, S. (2024). A comprehensive review on carrot (*Daucus carota* L.): The effect of different drying methods on nutritional properties and its processing as value-added foods. *Sustainable Food Technology*, 2(3), 667–688.
- Mumyapan, M. (2021). Çerezlik kabak ununun diyet lif kaynağı olarak salam üretiminde kullanımı. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir, Türkiye, 125 s
- Önel, E. (2022). Meşe palamut unu kullanımının köftelerin kalite karakteristikleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye, 139 s.
- Özkaya, P. T., Kayaardı, S. (2018). Et ve et ürünlerinin kalitesini geliştirmede kullanılan yeni teknikler. *Akademik Gıda*, 16(3), 323–331.
- Papatya, Z.E. (2024). Nar, havuç ve kapy biber suyu kullanımının hazır et köftesinin bazı fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerine etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, Türkiye, 57 s.
- Ravindran, R., Jaiswal, A.K. (2016). Exploitation of food industry waste for high-value products. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 58–69.
- Richards, J. O. A. (2023). Physical Treatments to Modify the Functionality of Carrot Pomace and the Development of an Enhanced Beef Patty. Yüksek lisans tezi, Kaliforniya Politeknik Eyalet Üniversitesi, Kaliforniya, 99 s.
- Richards, J., Lammert, A., Madden, J., Cahn, A., Kang, I., Amin, S. (2024). Addition of Carrot Pomace to Enhance the Physical, Sensory, and Functional Properties of Beef Patties. *Foods*, 13(23), 3910.
- Sabahi, S., Abbasi, A., & Mortazavi, S. A. (2024). Phenolic components from carrot (*Daucus carota* L.) pomace: Optimizing the extraction and assessing its potential antioxidant and antimicrobial activities. *Heliyon*, 10(17).
- Sam, F. E., Ma, T. Z., Atuna, R. A., Salifu, R., Nubalanaan, B. A., Amagloh, F. K., Han, S. Y. (2021). Physicochemical, oxidative stability and sensory properties of frankfurter-type sausage as influenced by the addition of carrot (*Daucus carota*) paste. *Foods*, 10(12), 3032.
- Santhi, D., Kalaikannan, A., Elango, A., Natarajan, A. (2022). Functional Chicken Meatballs with Carrot Pomace Powder. *Journal of Meat Science*, 17(1), 31–36.
- Saraç, M. G., Hastaoğlu, E., Dinçel, B., Can, Ö. P. (2021). Investigation of Uses of Purple and Orange Sweet Potato Dietary Fiber Concentrates in Sucuks. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(9), 1679–1685.
- Soncu, E. D., Kolsarıcı, N., Cicek, N., Öztürk, G. S. (2015). The comparative effect of carrot and lemon fiber as a fat replacer on physico-chemical, textural, and organoleptic quality of low-fat beef hamburger. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(3), 370
- Ünlü, M.U. (2017). Havuç lifi ve şeker pancarı lifinin tarhana kalitesine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi, Aksaray, Türkiye, 60 s.
- Yadav, S., Pathera, A. K., Islam, R. U., Malik, A. K., Sharma, D. P. (2018). Effect of wheat bran and dried carrot pomace addition on quality characteristics of chicken sausage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(5), 729–737. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0214>
- Yıldız, P.O., Arslan, G. (2022). Keten ve çiya tohumu ile zenginleştirilmiş yayın balığı (*Siluris glanis*) köftelerinin bazı kalite kriterlerinin araştırılması. *Acta Aquatica Turcica*, 18(3), 369–383.
- Yiğit, C., Aykın Dinçer, E. (2025). Karadut (*Morus nigra*) ve hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktları kullanılarak biyoaktif bileşenlerce zengin ve karmine alternatif olarak renklendirilmiş fonksiyonel et çubuğu üretimi. *GIDA*, 50(1), 87–101.

**DRUM DRYING OF SOURDOUGH: IDENTIFYING OPTIMAL PROCESS
CONDITIONS FOR POWDER PRODUCTION AND BREAD APPLICATIONS**

**Özge FİLİZ, Özgül ALTAY, Özgün KÖPRÜALAN-AYDIN,
Figen KAYMAK- ERTEKİN***

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Ege University, İzmir, Türkiye

Received /Geliş: 13.06.2025; Accepted /Kabul: 12.10.2025; Published online /Online baskı: 31.10.2025

Filiz, Ö., Altay, Ö., Köprüalan Aydın, Ö., Kaymak Ertekin, F. (2025). *Drum drying of sourdough: Identifying optimal process conditions for powder production and bread applications*. GIDA (2025) 50 (6) 1003-1016 doi: 10.15237/gida.GD25075

Filiz, Ö., Altay, Ö., Köprüalan Aydın, Özgün, Kaymak Ertekin, F. (2025). Ekşi hamurun valsli kurutucuda kurutulması: Toz üretimi ve ekmek uygulamaları için en uygun işlem koşullarının belirlenmesi. GIDA (2025) 50 (6) 1003-1016 doi: 10.15237/gida.GD25075

ABSTRACT

In this study, sourdough was produced using a *Lactobacillus brevis* starter culture and subsequently dried using a drum dryer under varying conditions (steam pressures of 2, 2.5, and 3 bar; rotation speeds of 2, 3, 4, and 5 rpm) to obtain sourdough powder. The resulting powders were evaluated for bread production. Optimal drum-drying conditions were identified as 3 bar steam pressure and 2 rpm rotation speed, yielding powders with a moisture content of 8.30% (wb), solubility of 25.80%, and a viable LAB count of 6.3 log CFU/g DM. Breads produced with these powders as a starter exhibited high loaf volume (71.0 cm³) and strong sensory acceptability (6.57/7). For comparison, sourdough was also processed using spray drying, producing powders with lower moisture (4.47% wb), reduced solubility (18.08%), and higher LAB retention (8.2 log CFU/g DM). The effects of both drying methods on bread quality were assessed in terms of technological attributes.

Keywords: Sourdough powder, starter culture, drum dryer, spray dryer, sourdough bread

**EKŞİ HAMURUN VALSLİ KURUTUCUDA KURUTULMASI: TOZ ÜRETİMİ VE
EKMEK UYGULAMALARI İÇİN EN UYGUN İŞLEM KOŞULLARININ
BELİRLENMESİ**

ÖZ

Bu çalışmada, *Lactobacillus brevis* starter kültürü kullanılarak üretilen ekşi hamur valsli kurutucuda farklı koşullarda (2, 2.5 ve 3 bar; 2, 3, 4 ve 5 rpm) kurutulmuş ve elde edilen ekşi hamur tozları ekmek üretiminde test edilmiştir. En uygun (optimum) kurutma koşulu 3 bar buhar basıncı ve 2 rpm dönme hızı olarak belirlenmiş, bu koşullarda üretilen tozların nem içeriğinin %8.30 (yb), çözünübilirlik değerinin %25.80 ve LAB sayısının 6.3 log KOB/g KM olduğu gözlemlenmiştir. Valsli kurutucuda optimum koşulda elde edilen tozların maya (starter kültür) olarak kullanımı ile üretilen ekmeklerin

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: figen.ertekin@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 3001

☎: (+90) (232) 342 7592

Özge Filiz; ORCID no: 0009-0003-2493-2451

Özgül Altay; ORCID no: 0000-0003-0067-9319

Özgün Köprüalan-Aydın; ORCID no: 0000-0001-8800-7714

Figen Kaymak- Ertekin; ORCID no: 0000-0001-5042-3659

yüksek hacim (71.0 cm³) ve duyuşal kabul edilebilirlik değeri (6.57/7) sahip olduğu görölmüştür. Ekşi hamur ayrıca püskürtmeli kurutucuda da kurutulmuş ve elde edilen tozların nem içeriği %4.47 (yb), çözünebilirlik değeri %18.08 ve LAB sayısı 8.2 log KOB/g KM olarak belirlenmiştir. Her iki kurutma yöntemi ile elde edilen ekşi hamur tozlarının ekmek kalitesi üzerindeki etkileri değeriendirilmiş ve üretilen ekmekler teknolojik özellikler açısından karşılaştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ekşi hamur tozu, starter kültür, valsli kurutucu, püskürtmeli kurutucu, ekşi hamur ekmeği

INTRODUCTION

Sourdough bread, obtained through the spontaneous fermentation of dough consisting of grain flour and water, is considered as the earliest form of bread known today, dating back to Ancient Egypt. In recent years, the increasing demand for healthier food options has renewed interest in sourdough-based products (Lau et al., 2021). The microflora of sourdough consists of yeasts and lactic acid bacteria (LAB), which produce metabolites such as organic acids, exopolysaccharides, and enzymes that contribute to its distinctive aroma. The use of sourdough in bread production enhances not only flavor and shelf-life but also improves texture and volume (Martin-Garcia et al., 2023).

Sourdough is classified into five types based on its preparation method: Type 0: Prepared as a pre-dough, undergoing spontaneous fermentation for a limited time to allow growth of LAB naturally present in the flour (De Vuyst et al., 2023). Type I: Prepared through spontaneous fermentation of a flour-water mixture at 20–30°C, with daily refreshments (back slopping). Type II: Produced by adding a starter culture, followed by a single-stage fermentation (15–20 hours at 30°C) and a single refreshment step. The starter culture consists of LAB and/or yeast cultures. Type III: Derived from Type II sourdough through drying, making it more stable. The microflora of Type III sourdough includes *Pediococcus pentosaceus*, *L. plantarum*, and *L. brevis*, which are resilient to drying processes (Siepmann et al., 2018). The most commonly used drying methods for Type III sourdough are drum drying and spray drying (Brandt, 2019). Type IV: Mixed sourdough, prepared by initiating with a starter culture and propagated through back-slopping; spontaneous fermentation and microbial interactions can lead to natural selection (Siepmann et al., 2018).

Drying is a widely used technique across food, pharmaceutical, and chemical industries, aiming to reduce water content and extend shelf-life (Türker et al., 2006; Köprüalan, 2019). The process involves moisture removal via evaporation and diffusion, preventing microbial spoilage and enzyme-driven degradation. Microbial growth ceases below 10% moisture content, while levels below 5% help preserve taste, aroma, and nutritional value (Geankoplis, 2006; Altay, 2020).

For starter culture drying, the survival rate of microorganisms is a critical parameter (Vaessen et al., 2019). Several drying methods have been explored for sourdough, including tray drying (Hendek-Ertop et al., 2018; Lafuente et al., 2024), spray drying (Tafti et al., 2013, Reale et al., 2019), freeze-drying (Rózyło et al., 2016; De Marco et al., 2025), and refractance window drying (Arslan-Tontul et al., 2024). Spray drying atomizes liquid samples into a hot air chamber, rapidly evaporating moisture. The short processing time minimizes heat-induced deterioration, and evaporative cooling helps prevent Maillard reactions (Ohtake et al., 2020; Martin-Garcia et al., 2023). Drum drying involves direct contact with a heated surface, utilizing latent and sensible heat for evaporation. Drum dryers are available in two designs: Single-drum dryers, where the product is spread in a thin layer over a heated drum. Double-drum dryers, where two parallel, counter-rotating drums process the product, with the gap between the drums adjustable to control film thickness. The thickness of the feed film layer is a crucial parameter that directly affects the quality and characteristics of the final product in drum drying. It influences drying efficiency, moisture content, texture, and rehydration properties of the dried sourdough powder (Brandt, 2019). A thinner film allows for faster drying and better heat transfer, while a thicker

film may lead to uneven drying and potential quality deterioration. Optimizing this parameter ensures the desired functional and sensory attributes of the final product. This method is widely applied in baby formula, milk powders, breakfast cereals, fruit and vegetable pulps, mashed potatoes, and dry yeast production (Malekjani et al., 2023).

Drum drying offers high reliability, efficiency, and flavor enhancement via Maillard reactions (Kirchhoff, 2000). However, most previous studies on drum-dried sourdough have focused on its flavor and volatile compounds, with limited research on LAB survival during the process. Given that drum drying is more economical than other drying methods, investigating LAB survival and the suitability of drum-dried sourdough for bread production enhances the originality and significance of this study.

The aim of this study is to optimize the drum drying parameters for sourdough powder production and evaluate its suitability in bread making. The study investigates the effects of steam pressure and drum rotation speed on the physicochemical properties and lactic acid bacteria (LAB) survival in the dried sourdough powder. Additionally, the functionality of the obtained powder is assessed by incorporating it into sourdough bread formulations and analyzing bread quality attributes such as volume, texture, and sensory properties. Furthermore, a comparison with spray drying is conducted to evaluate the economic and functional feasibility of drum drying as an alternative drying method for sourdough preservation.

MATERIAL AND METHOD

Material

In this study, *Lactobacillus brevis* starter culture (Pak Gıda Üretim ve Pazarlama A. Ş., Türkiye) and whole wheat flour (Söke Degirmencilik San. ve Tic. A.Ş., Türkiye) with protein content of 13.2%, moisture content of 14.5%, and ash content of 1.4% were used to produce sourdough. Instant dry yeast (Pak Gıda Üretim ve Pazarlama A. Ş., Türkiye) and salt used for bread baking were obtained from a local market in Türkiye.

Method

Activation and cultivation of the starter culture

The *Lactobacillus brevis* culture, provided in glycerol stock form, was activated by incubation in MRS Broth (pH 5.7±0.2; Merck, Germany) at 30°C for 24 hours following a 10% inoculation. After activation, the culture was further cultivated in MRS Broth, and the cell suspension was obtained by centrifugation (4000g, 10 min), followed by two washes with 0.85% NaCl solution (Khem et al., 2016).

Preparation of sourdough

For sourdough preparation, 120 g of whole wheat flour, 18 mL of cell suspension, and 42 g of water were mixed and incubated at 30°C for 5 hours. Sourdough production was carried out over eight back-slopping steps (Döner, 2017). During each back-slopping step, the dough: flour: water ratio was maintained at 2:2:1 (w/w/w), with 44.4% of the previously prepared dough used as inoculum for the next fermentation cycle.

Drum drying of sourdough

Drum drying of sourdough samples was performed using pilot-scale double drum dryer located at the Ege University, Department of Food Engineering. The drum dryer consisted of two hollow cylinders, each measuring 20 cm in length and 10 cm in diameter. The drying process was conducted under steam pressures of 2, 2.5, and 3 bar, with rotation speeds of 2, 3, 4, and 5 rpm, and a drum opening of 2 mm. Before feeding into the dryer, the sourdough was diluted with distilled water at a 2:1 (w/v) ratio to achieve the desired consistency. The drum opening (2 mm) was considered the thickness of the final dried product.

Spray drying of sourdough

Spray drying of sourdough samples was carried out according to the method of Reale et al. (2019), with slight modifications. In this context, a sourdough suspension (prepared by diluting sourdough with distilled water at a 2:1 (w/v) ratio) was fed into the spray dryer using a peristaltic pump at 25°C. Spray drying was conducted using a laboratory-scale spray dryer (Buchi B-290, Switzerland) under the following conditions:

Aspiration rate: 60%, Airflow rate: 473 L/h, Air pressure: 5 kg/cm², Nozzle diameter: 0.7 mm, Air inlet temperature: 130°C, Air outlet temperature: 60°C. All parameters were maintained constant throughout the process.

Bread production from sourdough powder

Breads were produced using sourdough powders that met the suitable moisture content criteria among those obtained via spray drying and drum drying. The bread formulation was adapted from Lattanzi et al. (2014) with modifications. The amount of sourdough powder used was adjusted to match the dry matter content of fresh yeast typically included in the formulation. The powder was then incorporated into a mixture of whole wheat flour of 41.1 g, dry yeast of 1.05 g, water of 23.5 g, salt of 0.83 g. To evaluate the impact of sourdough powder, a control group was prepared without its addition. The amount of water added during bread production was adjusted according to the water absorption capacity of the flour. Farinograph analysis revealed that the water absorption capacity of the whole wheat flour was 65%.

Dough samples were kneaded for 10 minutes initially, followed by a three-stage fermentation process: 45 minutes of fermentation, 1 minute of kneading, 45 minutes of fermentation, 1 minute of kneading and 75 minutes of fermentation. After fermentation, the dough was shaped and baked for 35 minutes at 180°C in a conventional oven.

Analysis

Moisture content and water activity

Sourdough, sourdough powder, and bread samples were analyzed for moisture content according to AOAC 925.10 standards, using a stove set to 105°C. Water activity of sourdough powder and bread samples was measured using a water activity probe (Testo AG400), calibrated to ±0.001 precision (Hajar-Azhari, 2024).

pH and total titratable acidity (TTA)

Sourdough and sourdough powder samples were homogenized with distilled water at a 1:9 (w/v) ratio and analyzed for pH using a pH meter (pH7110, InoLab). The pH of the mixture was

adjusted to 8.3 by titrating with 0.1 N NaOH (Reale et al., 2019). Total titratable acidity was calculated using Equation (1) and expressed as lactic acid percentage.

$$TTA (\%) = \frac{V \times 0.009}{m} \times 100 \quad (1)$$

Where; V: 0.1 N NaOH used in titration (ml); m: Sample weight used in titration (g)

Bulk and tapped density

Bulk density of the sourdough powder samples was analyzed by the weight/volume ratio of powders filled into a graduated cylinder without any space between the particles and without applying force. Tapped density was determined by tapping the graduated cylinder manually on a surface until a constant volume was reached (Bhandari et al., 1992).

Solubility

Sourdough powders were diluted at a 1:25 (w/v) ratio with distilled water and homogenized at 3000 rpm for 5 minutes. The mixture was then centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes, and the fluid at the top was collected and dried in a stove at 105°C for 4 hours. The solubility value was calculated based on the weight difference, expressed as a percentage (Cano-Chauca et al., 2005).

Lactic acid bacteria count

Sourdough and sourdough powder samples were homogenized with a 0.85 % NaCl solution at a 1:9 (w/v) ratio and prepared through serial dilutions. One milliliter of each suitable sample was inoculated onto MRS Agar (pH 5.7±0.2; Merck, Germany) using a double-layer pour-plate method. Samples were incubated for 3 days at 30-35°C, and colonies were counted after the incubation period (Caglar et al., 2021). Results were expressed as CFU/g DM.

Color properties

Color values (L* (brightness, darkness), a* (redness, greenness), b* (yellowness, blueness)) of sourdough, sourdough powder, and bread samples were measured using a Minolta CR-300 color meter and recorded according to Hunter CIE Lab and Color Flex system (Shahabi et al.,

2014). The device was calibrated with a white plate prior to measurements. The following parameters were calculated:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (2)$$

$$C = (a_t^2 + b_t^2)^{0.5} \quad (3)$$

$$Hue = \tan^{-1} \left(\frac{b_t}{a_t} \right) \quad (4)$$

$$BI = \frac{\left[100 \times \left(\frac{a_t + 1.75L_t}{5.645L_t + a_t - 3.012b_t} - 0.31 \right) \right]}{0.17} \quad (5)$$

Water absorption capacity of flour

To formulate the bread recipe, the water absorption capacity of whole wheat flour was determined using a farinograph (Brabender, Mod. PL Nr.952065, Duisburg, Germany) according to ICC Standard Nr. 115/1 (Altinel and Ünal, 2017).

Cooking loss

The cooking loss of bread samples was determined by calculating the difference in weight before and after baking, expressed as a percentage (Alvarez-Jubette et al., 2010).

Crust thickness

10 mm thick, uniform cutaways were taken from bread samples, and the crust thickness was measured using calipers. Measurements were taken from three different points (Hendek-Ertop, 2014).

Bread volume

To determine the volume of bread samples, rapeseeds were filled into a glass vessel of known volume to analyze their bulk volume, which was calculated based on the volume of the vessel and the weight of the seeds. The bread volume was determined by weighing the bread samples individually, placing them into a glass vessel of known weight, and weighing again. The volume of bread was calculated using rapeseeds of known weight and volume (Parenti et al., 2020).

Texture profile analysis

Using a cylindrical probe (P/36R) and a texture analyzer (TA-XT2, Stable Micro Systems, Haslemere, UK), the hardness, springiness, chewiness, cohesiveness, and gumminess values

of the bread samples were determined on the inner part of the bread after a 2-hour resting period. The pre-test, test, and post-test speeds were set at 2.0 mm/sec, with a test distance of 5 mm and a trigger force of 5.0 g. Ten measurements were taken for each sample, and the average values were calculated (Liu et al., 2024).

Sensory evaluation

The sensory evaluation of bread samples was conducted by 10 semi-trained panelists based on crust color, inside color, porosity, appearance, taste, and overall acceptability. A 1-7 scoring scale was used for multiple comparisons (Altuğ-Onoğur & Elmacı, 2011).

Statistical analysis

Statistical analyses of sourdough powder samples dried in a drum dryer, and the produced bread samples were performed using Duncan's variance analysis in SPSS V25.0 (IBM, USA) statistical software.

Sourdough powder and bread production were carried out in duplicate. All analyses were performed in duplicate, except for colour measurements and texture analysis, which were conducted in five and ten replicates, respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical and microbiological properties of drum dried sourdough powders and selection of optimum conditions

The physicochemical and microbiological properties of sourdough powders are summarized in Table 1a and Table 1b. The moisture content, pH, and total titratable acidity (TTA) of the sourdough produced after eight back-slopping cycles (30°C, 4 hours) with *Lactobacillus brevis* starter culture were determined as 38.75%±0.43 (wb), 3.95±0.002, and 1.58%±0.15, respectively. The production of lactic acid as a metabolite of the starter culture contributes to increased acidity, thereby lowering the pH. Similar results were reported in a study where sourdough samples fermented with *L. brevis* exhibited a minimum pH value of 3.86 over a seven-day fermentation period (Akgün, 2007). Additionally, Alkay (2017) reported TTA values ranging between 1.01% and

1.52% for sourdough samples produced with *Lactobacillus rossiae*, *L. plantarum*, *L. brevis*, and *Weissella cibaria* strains after 24 hours, which aligns with the findings of this study. The lactic acid bacteria count in sourdough samples was

determined as 9.9 log CFU/g DM. Regarding colour properties, L^* , a^* , and b^* values were recorded as 71.21 ± 1.08 , 5.28 ± 0.41 , and 24.12 ± 0.90 , respectively.

Table 1a. Physicochemical and microbiological properties of sourdough powders produced by a drum dryer under different operating conditions and a spray dryer

	*SP (bar)	**DS (rpm)	Moisture Content (% wb)	Water Activity	Bulk Density (kg/m ³)	Tapped Density (kg/m ³)	pH	TTA (%)	LAB (log CFU/g DM)
DRUM DRIED	2	2	13.02 ^b ±0.05	0.766 ^b ±0.010	187.44 ^{bc} ±1.83	244.66 ^{bc} ±6.12	4.06 ^a ±0.052	1.65 ^c ±0.05	7.2±0.01
		3	25.35 ^c ±0.53	0.944 ^g ±0.007	238.88 ^e ±4.59	272.86 ^{de} ±9.88	4.04 ^a ±0.085	1.62 ^c ±0.04	-
		4	27.09 ^e ±0.24	0.951 ^h ±0.003	291.81 ^f ±6.52	310.41 ^f ±7.49	3.99 ^a ±0.052	1.44 ^b ±0.08	-
		5	37.20 ⁱ ±0.63	0.960 ⁱ ±0.001	327.45 ^h ±10.98	334.60 ^h ±6.60	3.98 ^a ±0.047	1.35 ^a ±0.00	-
		2	9.18 ^a ±0.04	0.693 ^a ±0.013	143.96 ^a ±4.56	219.56 ^a ±4.79	3.90 ^a ±0.067	2.16 ^e ±0.10	5.5±0.15
	2.5	3	18.82 ^d ±0.23	0.829 ^c ±0.010	178.33 ^b ±1.56	227.05 ^{ab} ±1.07	3.96 ^a ±0.004	2.16 ^e ±0.10	-
		4	25.30 ^f ±0.13	0.866 ^d ±0.015	193.49 ^{bc} ±4.11	238.38 ^{abc} ±1.83	3.95 ^a ±0.018	2.03 ^d ±0.05	-
		5	35.97 ⁱ ±0.48	0.920 ^f ±0.011	215.04 ^d ±3.37	289.66 ^c ±2.30	3.93 ^a ±0.002	1.94 ^d ±0.05	-
	3	2	8.25 ^a ±0.05	0.660 ^a ±0.024	176.39 ^b ±3.21	241.68 ^{bc} ±3.43	4.00 ^a ±0.001	1.98 ^e ±0.10	6.3±0.01
		3	16.95 ^c ±0.64	0.837 ^{cd} ±0.010	186.98 ^{bc} ±3.22	248.60 ^{bc} ±4.34	3.99 ^a ±0.007	1.76 ^b ±0.05	-
		4	23.82 ^e ±0.61	0.905 ^e ±0.006	197.65 ^c ±1.35	255.21 ^{cd} ±6.54	3.96 ^a ±0.002	1.71 ⁱ ±0.00	-
		5	33.91 ^h ±0.17	0.924 ^e ±0.002	223.47 ^{de} ±9.36	281.11 ^e ±9.44	3.97 ^a ±0.020	1.67 ^g ±0.05	-
	SPRAY DRIED		4.47±0.37	0.337±0.001	449.96±6.40	534.74±5.80	4.18±0.012	1.40±0.08	8.2±0.01

*SP: Steam Pressure, **DS: Drum Rotation Speed. Microbiological analyses were conducted on experimental groups with suitable powder properties (moisture content <13%). Different letters within a column indicates statistically significant differences at $P < 0.05$ between values.

The moisture content of sourdough powders produced by drum drying remained below 13% only in samples dried at 2, 2.5, and 3 bar steam pressure with a 2 rpm rotation speed, with water activity values ranging from 0.660 to 0.960 (Table 1a). An evaluation of the moisture content and water activity results revealed that higher steam pressure and lower rotational speed enhanced the drying efficiency, leading to sourdough powders with lower moisture content and water activity values ($P < 0.05$). Conversely, an increase in drum rotation speed reduced drying efficiency, resulting in insufficiently dried sourdough powders. Among the tested conditions, sourdough powders dried at 2, 2.5, and 3 bar steam pressure with 2 rpm rotation speed exhibited the most desirable moisture content values. Moisture content and water activity are key indicators of drying efficiency; higher-than-expected values indicate an insufficient drying process. Similar trends were observed in a study by Topuz & Pazır (2017), where increasing steam pressure and decreasing drum rotation speed resulted in apple purée powders with lower moisture content.

An analysis of bulk and tapped density data revealed that sourdough powders produced at 2.5 bar steam pressure and 2 rpm rotation speed exhibited the lowest values ($P < 0.05$). Bulk and tapped densities are crucial parameters for assessing the physical properties of powdered products. Bulk density depends on particle type and the interstitial space between particles. Even if two particles have the same weight, differences in particle size influence bulk density due to varying degrees of space between them. A decrease in particle size within a bulk system generally leads to an increase in compressed volume (Altay, 2020). The pH and total titratable acidity (TTA) values of sourdough powders ranged from 3.93 to 4.06 and 1.35% to 2.16%, respectively (Table 1a). Among the tested conditions, the sourdough powder produced at 2.5 bar steam pressure and 2 rpm rotation speed was the most acidic in terms of both pH and TTA. Insufficiently dried samples, caused by higher drum rotation speeds, exhibited lower acidity levels, likely due to retained moisture reducing the concentration of acidic compounds. In contrast,

samples dried at 2 rpm rotational speed, which met the desired powder properties, showed higher acidity values ($P<0.05$). Figure 1 presents the solubility of sourdough powders produced under different drying conditions. Properly dried powders are expected to have high solubility; however, due to the presence of gluten from

wheat flour, sourdough powders tend to form suspensions rather than fully dissolving in water. Moreover, gluten coagulates at 70°C, forming a pseudo-solid film (Göncü, 2011). Given the high temperatures used in drum drying, gluten coagulation likely contributed to the lower solubility of sourdough powders.

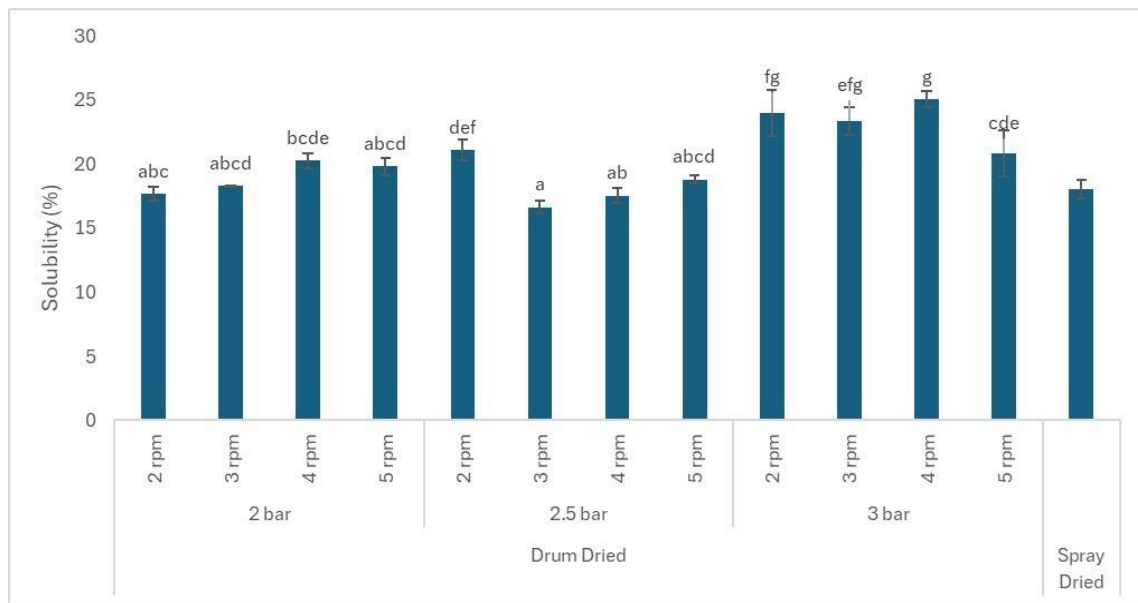


Figure 1. Solubility of sourdough powders produced by a drum dryer under different operating conditions and a spray dryer

*Different letters within a column indicates statistically significant differences at $P<0.05$ between values.

The solubility values of sourdough powders produced in this study ranged from 16.66% to 25.07% (Figure 1). Among the tested conditions, the highest solubility was observed in the sample drum-dried at 3 bar steam pressure and 2 rpm rotation speed. Statistical analysis of samples with suitable powder properties indicated that solubility decreased as moisture content increased ($P<0.05$). Colour analysis of properly dried sourdough powders showed higher L (brightness) values* compared to insufficiently dried samples. The Browning Index (BI), which reflects the degree of darkening due to factors such as burning or improper drying was higher in samples with excessive moisture content, suggesting localized browning (Table 1b).

A high lactic acid bacteria count is desirable in sourdough powders, as it indicates better

microbial viability. Sourdough powders produced at 2 rpm rotation speed and 2, 2.5, and 3 bar steam pressure, which met the desired powder characteristics, were analysed for lactic acid bacteria viability. The lowest bacterial viability was recorded at 2.5 bar steam pressure, while the highest was observed at 2 bar steam pressure. This suggests that increasing steam pressure at a constant rotational speed raises drum temperatures, leading to reduced bacterial viability. Overall, a 2–4 log unit reduction in lactic acid bacteria count was observed in sourdough powders dried at 2 rpm rotational speed. When considering all the results, the most suitable drying conditions for sourdough powder production were determined to be 3 bar steam pressure and 2 rpm rotation speed.

Table 1b. Physicochemical and microbiological properties of sourdough powders produced by a drum dryer under different operating conditions and a spray dryer

	*SP (bar)	**DS (rpm)	L*	a*	b*	Chroma	Hue	BI	ΔE
DRUM DRIED	2	2	81.02 ^c ±1.21	2.32 ^{abcd} ±0.33	13.72 ^{ab} ±0.34	13.92 ^{abc} ±0.38	80.42 ^{de} ±1.17	20.29 ^{ab} ±1.09	14.61 ^{cd} ±1.11
		3	71.31 ^b ±4.83	3.18 ^{bcd} ±0.44	14.18 ^{ab} ±1.26	14.54 ^a ±1.26	77.32 ^{de} ±1.66	25.11 ^{abcd} ±2.55	11.07 ^{abcd} ±1.5
		4	67.27 ^a ±4.33	3.88 ^{ef} ±0.45	14.84 ^{ab} ±0.87	15.34 ^{abc} ±0.86	75.33 ^{abc} ±1.77	28.83 ^{cd} ±2.70	10.80 ^{abc} ±2.09
		5	67.11 ^a ±3.38	3.41 ^{ef} ±0.80	14.39 ^{ab} ±2.26	14.79 ^{abc} ±2.36	76.82 ^{ab} ±1.51	27.46 ^{cd} ±4.70	11.13 ^{abc} ±2.58
	2.5	2	79.65 ^{bc} ±1.12	2.13 ^{ab} ±0.10	13.01 ^a ±0.40	13.18 ^{ab} ±0.40	80.73 ^{ef} ±0.31	19.43 ^a ±0.72	14.34 ^{bcd} ±0.69
		3	75.8 ^a ±5.56	2.16 ^a ±0.34	13.17 ^a ±0.74	13.35 ^a ±0.77	80.72 ^{ef} ±1.19	20.98 ^{ab} ±3.05	13.28 ^{abcd} ±0.99
		4	72.39 ^b ±6.12	2.81 ^{abcd} ±0.78	14.71 ^{ab} ±0.87	14.99 ^{abc} ±0.89	79.22 ^{ef} ±2.90	25.23 ^{abc} ±2.15	11.16 ^{abcd} ±2.21
		5	74.98 ^b ±3.97	1.93 ^a ±0.67	14.84 ^b ±2.06	14.98 ^{bc} ±2.07	82.59 ^f ±2.41	23.58 ^{bcd} ±3.86	11.14 ^{ab} ±2.34
	3	2	81.97 ^c ±0.78	2.16 ^{abc} ±0.23	13.66 ^{ab} ±0.38	13.83 ^{abc} ±0.39	81.04 ^{ef} ±0.89	19.78 ^{ab} ±0.71	15.34 ^d ±0.64
		3	66.60 ^a ±8.98	3.75 ^{de} ±0.81	15.11 ^{ab} ±0.85	15.58 ^{abc} ±0.83	76.05 ^{bcd} ±3.02	29.96 ^{cd} ±5.04	12.88 ^{abcd} ±3.00
		4	68.13 ^a ±1.18	4.32 ^f ±0.50	16.23 ^b ±0.73	16.78 ^c ±0.83	75.42 ^a ±1.09	31.31 ^d ±2.15	8.62 ^a ±0.74
		5	69.04 ^a ±10.47	2.97 ^{cde} ±1.47	13.53 ^{ab} ±1.54	13.91 ^{abc} ±1.65	77.87 ^{cde} ±5.68	25.35 ^{cd} ±6.37	14.36 ^{abcd} ±3.67
SPRAY DRIED		95.88±0.28	0.07±0.03	4.46±0.26	4.46±0.26	89.11±0.43	4.70±0.27	31.98±0.35	

*SP: Steam Pressure, **DS: Drum Rotation Speed. Microbiological analyses were conducted on experimental groups with suitable powder properties (moisture content <13%). Different letters within a column indicates statistically significant differences at $P<0.05$ between values.

Comparison of sourdough powders obtained via spray drying and drum drying

The physicochemical and microbiological properties of spray-dried sourdough powders are presented in Table 1a and Table 1b. The moisture content and water activity of spray-dried samples were determined as $4.47\pm0.37\%$ (wb) and 0.337 ± 0.001 , respectively. These values are significantly lower than those of drum-dried samples, indicating that spray drying is more effective in reducing moisture and achieving lower water activity. Additionally, spray-dried powders exhibited better powder characteristics, as reflected in their higher bulk density (449.96 ± 6.40 kg/m³) and tapped density (534.74 ± 5.80 kg/m³) compared to drum-dried samples. This suggests that spray drying leads to better particle packing and flowability, which are important for storage and handling. In terms of colour properties, L* values (95.88 ± 0.28) of spray-dried powders were significantly higher, indicating brighter and lighter-coloured powders, while browning index (BI) values (4.70 ± 0.27) were lower compared to drum-dried powders. This suggests that Maillard reactions and browning effects were minimized in spray drying due to shorter exposure to high temperatures. The viability of lactic acid bacteria (LAB) in spray-dried sourdough powders was recorded as 8.2 ± 0.01 log CFU/g DM, with only a 1-log unit

reduction from the initial LAB count before drying. This retention is notably higher than in drum drying, where thermal stress during contact drying significantly reduces bacterial viability.

Similar studies have reported more reductions that are significant in LAB viability during spray drying. For instance, in a study where sourdough was spray-dried using an inlet air temperature of 180°C and an outlet air temperature of 90°C, LAB viability decreased from 2.0×10^9 CFU/g to 2.0×10^5 CFU/g when the final moisture content was reduced to approximately 4-5% (Tafti et al., 2013). Similarly, Caglar et al. (2021) reported that sourdough was spray-dried (air inlet temperature 160 °C, outlet temperature 90 °C) until the moisture content dropped below 5%, resulting in a decline in LAB viability from 9.7 log CFU/g to 5.0 log CFU/g. However, in the present study, LAB viability was found to be significantly higher than in similar studies, suggesting that optimized spray drying conditions in this study were more favourable for LAB survival. The lower bacterial inactivation observed in this study could be attributed to controlled drying parameters, protective matrices within the sourdough, or strain-specific resistance to drying processes (Corsetti, 2012; Reale et al., 2019).

Properties of bread produced with sourdough powders

The physical properties of breads produced with spray-dried and drum-dried sourdough powders under different drying conditions are presented in Table 2. The moisture content, water activity, and crust thickness of breads made with drum-dried sourdough powders showed no statistically significant differences ($p>0.05$) (Table 2).

In contrast, breads produced with spray-dried sourdough powders exhibited greater variations in water content and crust thickness. However, the difference in moisture content between breads made with spray-dried powders, control samples, and drum-dried powders produced under optimal conditions (3 bar, 2 rpm) was not statistically significant ($p>0.05$) (Table 2).

Table 2. Physical properties of breads made with sourdough powders produced via drum drying under different operating conditions and spray drying.

	*SP (bar)	**DS (rpm)	Moisture Content (% wb)	Water Activity	Cooking Loss (%)	Crust Thickness (mm)	Hardness (N)	Springiness	Chewiness (N)	Cohesiveness	Gumminess
CONTROL			32.30 ^A ±0.73	0.930 ^A ±0.004	15.07 ^B ±0.06	2.02 ^A ±0.00	9.74 ^A ±1.00	0.86 ^A ±0.03	5.82 ^A ±0.33	0.69 ^{AB} ±0.02	6.82 ^A ±0.59
DRUM DRIED	2		32.24 ^a ±0.42	0.941 ^a ±0.001	13.84 ^b ±0.29	2.25 ^a ±0.05	54.07 ^b ±1.64	0.85 ^a ±0.04	31.25 ^b ±0.38	0.67 ^a ±0.02	36.45 ^b ±0.25
	2.5	2	32.89 ^a ±0.50	0.936 ^a ±0.002	12.23 ^a ±0.42	2.36 ^a ±0.16	42.05 ^a ±1.00	0.87 ^a ±0.05	25.68 ^a ±0.71	0.70 ^a ±0.00	29.35 ^a ±0.62
	3		32.22 ^{a/A} ±0.60	0.935 ^{a/A} ±0.003	14.33 ^{b/B} ±0.12	2.20 ^{a/B} ±0.01	43.45 ^{a/C} ±1.74	0.88 ^{a/A} ±0.01	27.87 ^{a/C} ±1.69	0.72 ^{a/B} ±0.01	31.57 ^{a/C} ±1.42
SPRAY DRIED			32.87 ^A ±0.42	0.951 ^B ±0.004	11.31 ^A ±0.34	2.17 ^B ±0.12	23.52 ^B ±0.63	0.82 ^A ±0.06	12.43 ^B ±0.16	0.66 ^A ±0.01	9.85 ^B ±0.04

*SP: Steam Pressure, **DS: Drum Rotation Speed. Different letters within a column indicates statistically significant differences at $P<0.05$ between values. Lowercase letters indicate statistically significant differences between drum-dried samples while uppercase letters indicate statistically differences between control, spray and drum dried (under the most suitable conditions) samples.

When evaluating bread volume (Figure 2) and cooking loss (Table 2), the highest values were observed in breads produced with sourdough powders dried at 3 bar steam pressure and 2 rpm rotational speed. However, spray-dried sourdough powders resulted in breads with even

higher volume compared to both drum-dried samples and the control group (Figure 2). Additionally, cooking loss was found to be lowest in breads made with spray-dried powders (Table 2), indicating improved baking performance.

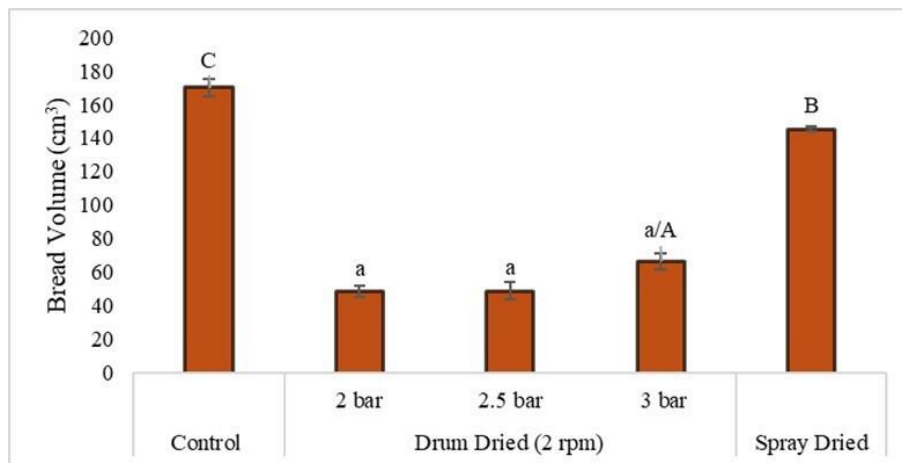


Figure 2. Volumes of breads made with sourdough powders produced via drum drying with different operating conditions, spray drying and control

*Different letters within a column indicates statistically significant differences at $P<0.05$ between values. Lowercase letters indicate statistically significant differences between drum-dried samples while uppercase letters indicate statistically differences between control, spray and drum dried (under the most suitable conditions) samples.

The textural properties of breads produced using sourdough powders from drum drying (under different conditions) and spray drying are presented in Table 2. The highest hardness value was observed in breads made from sourdough powders dried at 2 bar steam pressure and 2 rpm rotational speed ($P<0.05$). Breads produced with sourdough powders from 2.5 and 3 bar steam pressure at 2 rpm exhibited similar hardness and chewiness values, indicating consistent textural characteristics under these drying conditions. Spray-dried sourdough powders resulted in softer breads, with hardness values lower than drum-dried samples but higher than the control. The highest cohesiveness values were recorded in breads made with sourdough powders dried at 3 bar steam pressure and 2 rpm rotational speed.

Chewiness values followed a similar trend to hardness, where breads with spray-dried powders were softer and less chewy than drum-dried samples but chewier than the control. The hardness values of sourdough powder breads in this study align with previous reports, where values ranged between 20.73-56.54 N (Olojede et al., 2020). Breads produced with *L. brevis* starter culture and prebiotic additives were reported to have chewiness values between 4.11-15.37 N

(Alkay, 2017), similar to the chewiness trends observed in this study. As expected, sourdough breads exhibit greater chewiness compared to standard yeast-leavened breads.

The colour properties of breads produced with sourdough powders dried by drum drying (under different conditions) and spray drying are presented in Table 3. The L^* , a^* , and b^* values for both inside and crust colour of bread samples made with drum-dried sourdough powders showed no significant differences among drying conditions ($P>0.05$). This suggests that varying steam pressure and rotational speed during drum drying did not significantly affect the colour properties of the resulting bread. Spray-dried samples exhibited higher inside L^* values than both control and drum-dried samples, indicating a lighter crumb colour. The crust L^* values showed no significant difference ($P>0.05$) between spray-dried and drum-dried samples. The crust BI (Browning Index) values for drum-dried samples were found to be the lowest, suggesting less browning compared to spray-dried or control samples. These results indicate that spray drying may lead to a brighter crumb colour, while drum drying results in less browning on the crust.

Table 3. Colour properties of breads produced using sourdough powders from drum drying (under different conditions) and spray drying

			*SP (bar)	**DS (rpm)	Inside				
			L*	a*	b*	Chroma	Hue	BI	ΔE
DRUM DRIED	CONTROL		57.67 ^A ±2.77	3.93 ^B ±0.25	18.54 ^A ±0.64	57.67 ^A ±2.77	18.96 ^B ±0.62	78.02 ^B ±0.88	43.16 ^B ±2.16
	2		52.60 ^a ±2.11	5.19 ^a ±0.09	18.94 ^a ±0.94	19.62 ^a ±0.92	74.92 ^a ±0.56	50.94 ^a ±1.95	19.33 ^a ±2.3
	2.5	2	52.51 ^a ±1.34	5.36 ^a ±0.32	19.17 ^a ±0.41	19.91 ^a ±0.43	74.39 ^a ±0.85	52.14 ^a ±2.82	19.36 ^a ±1.2
	3		52.63 ^{a/A} ±2.10	5.61 ^{a/C} ±0.40	19.51 ^{a/A} ±0.73	20.30 ^{a/A} ±0.75	73.97 ^{a/A} ±1.00	53.35 ^{a/B} ±3.25	19.16 ^{a/B} ±2.1
	SPRAY DRIED		73.69 ^B ±0.57	2.13 ^A ±0.26	17.24 ^A ±0.67	17.37 ^A ±0.69	82.97 ^C ±0.75	28.23 ^A ±1.47	7.99 ^A ±0.75
			*SP (bar)	**DS (rpm)	Crust				
			L*	a*	b*	Chroma	Hue	BI	ΔE
DRUM DRIED	CONTROL		66.82 ^A ±5.50	5.98 ^A ±2.30	23.03 ^B ±3.43	66.82 ^B ±5.50	23.83 ^A ±3.89	75.88 ^{AB} ±3.29	49.63 ^A ±15.58
	2		62.71 ^a ±5.57	5.20 ^a ±1.21	16.41 ^{ab} ±2.91	17.22 ^{ab} ±3.12	72.62 ^a ±1.52	36.92 ^{ab} ±9.71	12.83 ^a ±1.3
	2.5	2	60.87 ^a ±4.56	5.74 ^a ±1.47	19.74 ^b ±4.74	20.56 ^b ±4.94	73.81 ^a ±1.42	47.14 ^b ±15.83	12.71 ^a ±1.8
	3		61.85 ^{a/A} ±3.75	5.17 ^{a/A} ±1.51	16.92 ^{a/A} ±4.25	17.70 ^{a/A} ±4.49	73.14 ^{a/A} ±1.68	38.58 ^{a/A} ±13.6	12.89 ^{a/B} ±1.6
	SPRAY DRIED		69.51 ^A ±1.47	5.45 ^A ±0.95	27.45 ^B ±0.61	28.88 ^B ±0.51	78.76 ^A ±2.05	54.88 ^B ±1.16	4.02 ^A ±0.82

*SP: Steam Pressure, **DS: Drum Rotation Speed. Different letters within a column indicates statistically significant differences at $P<0.05$ between values. Lowercase letters indicate statistically significant differences between drum dried samples while uppercase letters indicate statistically differences between control, spray and drum dried (under the most suitable conditions) samples.

Sensory evaluation scores of breads produced using sourdough powder from drum drying and spray drying are given in Figure 3.

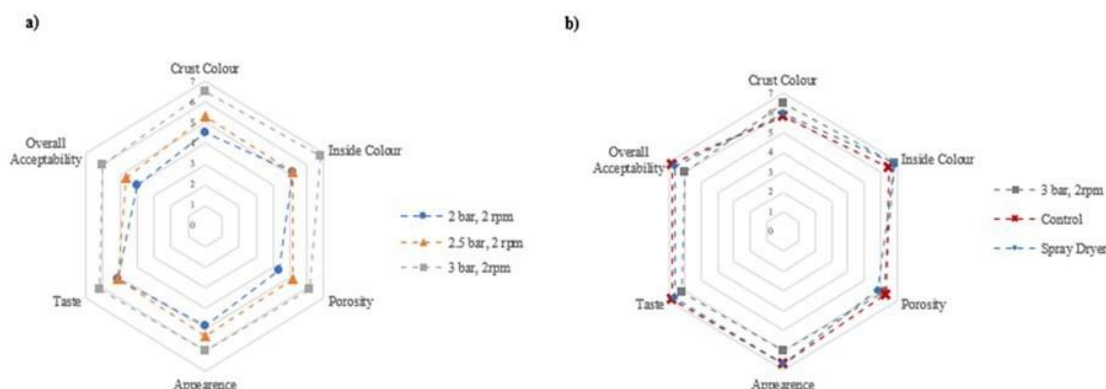


Figure 3. Sensory evaluation scores of sourdough powder breads produced by drum drying a) under different operating conditions b) with most suitable operating conditions, spray drying and control bread

When the sensory evaluation scores of breads produced with sourdough powders are examined (Figure 3a, 3b), the differences between samples were statistically insignificant ($P>0.05$), indicating that all drum-dried sourdough powders produced breads with comparable sensory properties. However, breads produced with sourdough powders obtained at 3 bar steam pressure and 2 rpm scored higher across all sensory attributes, including texture, taste, aroma, and overall acceptability. These results suggest that 3 bar, 2 rpm is the most suitable drum-drying condition for producing sensory-appealing sourdough breads.

The difference between breads made with spray-dried and drum-dried sourdough powders (3 bar, 2 rpm) was statistically insignificant ($P>0.05$) (Fig 3b). This indicates that both drying methods yielded similar sensory characteristics, supporting the feasibility of drum drying as an alternative to spray drying. High scores were observed for all sourdough samples, confirming their favourable sensory properties and consumer acceptability.

CONCLUSION

With the increasing consumer preference for healthier and traditional food products, the demand for sourdough bread has risen

significantly. The symbiotic relationship between lactic acid bacteria and yeasts during sourdough fermentation enhances its nutritional value and quality. However, conventional sourdough preparation is a time-consuming process. This study aimed to develop sourdough powder through drum drying, enabling more efficient and consistent sourdough bread production while ensuring sustainability and quality control. The effects of different drying parameters; steam pressure (2, 2.5, and 3 bar) and rotational speed (2, 3, 4, and 5 rpm) were evaluated.

Higher steam pressure (3 bar) and lower rotational speed (2 rpm) improved drying efficiency, leading to sourdough powders with lower moisture content ($<13\%$), desirable water activity, and better solubility. Insufficiently dried samples exhibited lower pH values, while well-dried powders had improved colour (higher L^* values) and solubility. Despite drying, lactic acid bacteria retained viability with only a 3-log-unit reduction, reaching $6.3 \log \text{ CFU/g DM}$, indicating that the drying process was suitable for maintaining probiotic functionality. Among the breads produced using drum-dried sourdough powders, those obtained under the optimal conditions (3 bar, 2 rpm) exhibited better volume, texture, and sensory scores compared to other

experimental groups. Although breads made with spray-dried sourdough exhibited slightly better technological properties (volume, texture, colour, etc.) than those produced with optimally drum-dried powders, both were comparable in terms of sensory attributes. The most suitable drying conditions produced breads with superior colour, porosity, taste, and overall acceptability among panellists.

In conclusion, despite certain limitations such as slightly reduced loaf volume and lower microbial viability due to direct contact with the hot drum surface, drum drying remains a practical and efficient alternative to spray drying. It offers simpler operation, good microbial stability, and functional properties comparable to spray-dried powders, while supporting the production of high-quality sourdough bread that aligns with consumer demand for healthy and traditional baked products.

ACKNOWLEDGMENT

Thanks to Eren TORUN for the contributions to this study. This research was supported by Scientific Research Projects of Ege University (FLP-2022-23592).

AUTHORS' CONTRIBUTION

Özge Filiz: investigation, carried out the experiments and wrote the manuscript; Özgül Altay and Özgün Köprüalan-Aydın: investigation and methodology; Figen Ertekin-Kaymak: investigation, writing-review and editing, supervision.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

REFERENCES

Akgün, F. B. (2007). Ekşi hamur tozu eldesi ve ekmek üretiminde kullanılabilme olanakları. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, Türkiye, 66 s.

Alkay, Z. (2017). Ekşi hamur ve ekşi hamur ekmeği üretiminde farklı tahıl tanelerinin

fonksiyonel etkilerinin incelenmesi. Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bayburt, Türkiye, 95 s.

Altay, Ö. (2020). Akışkan yatak kaplama teknolojisi ile kontrollü salınımaya sahip kuru ekmek mayası üretimi ve optimum koşullarda kaplanmış mayanın model gıda olarak ekmek üretiminde test edilmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 206 s.

Altinel, B., & Ünal, S. S. (2017). The effects of certain enzymes on the rheology of dough and the quality characteristics of bread prepared from wheat meal. *Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 1628-1637. doi: 10.1007/s13197-017-2594-8

Altuğ-Onoğur, T., Elmacı, Y. (2011). *Gıdalarda duyuşsal değerlendirme*. Sidaş Medya, İzmir, Türkiye, 135 s. ISBN: 9789944566087

Alvarez-Jubete, L., Auty, M., Arendt E. K., Gallagher, E. (2010). Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology*, 230(3): 437-445, doi: 10.1007/s00217-009-1184-z

Arsalan-Tontul, S., Çetin-Babaoğlu, H., Aslan, M., & Tontul, I. (2024). Evaluation of refractance window-dried type 3 sourdough as an alternative to liquid sourdough in bread production. *Journal of Cereal Science*, 116, 103882. doi: 10.1016/j.jcs.2024.103882

Bhandari, B. R., Dumoulin, E. D., Richard, H. M. J., Noleau, I., Lebert, A. M. (1992). Flavor encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate. *Journal of Food Science*, 57(1), 217-221, doi: 10.1111/j.1365-2621.1992.tb05459.x

Brandt, M. J. (2019). Industrial production of sourdoughs for the baking branch—An overview. *International journal of food microbiology*, 302, 3-7, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.008

Cağlar, N., Ermis, E., Durak, M. Z. (2021). Spray-dried and freeze-dried sourdough powders: Properties and evaluation of their use in

- breadmaking. *Journal of Food Engineering*, 292, 110355, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110355
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428, doi: 10.1016/j.ifset.2005.05.003.
- Corsetti, A. (2012). Technology of sourdough fermentation and sourdough applications. In *Handbook on sourdough biotechnology* (pp. 85-103). New York, NY: Springer US. doi: 10.1007/978-1-4614-5425-0_4
- De Marco, I., Oliveira de Moraes, J., Nunes Ferreira, F., Turnes Pasini Deolindo, C., Eller Pazzini, I. A., da Silva Vale, A., Verruck, S., & De Dea Lindner, J. (2025). Production of type III sourdough by spray-and freeze-drying focusing on organic acids, volatile organic compounds, and cell viability during storage. *ACS Food Science & Technology*, 5(1), 292-305. doi: 10.1021/acfoodscitech.4c00826
- De Vuyst, L., Comasio, A., & Kerrebroeck, S. V. (2023). Sourdough production: fermentation strategies, microbial ecology, and use of non-flour ingredients. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(15), 2447-2479. doi: 10.1080/10408398.2021.1976100
- Döner, F., (2017). *Lactobacillus sanfranciscensis* üreme koşullarının optimizasyonu ve ekşi hamur ekmeği üretiminde starter kültür olarak kullanımı. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 72 s.
- Ertop, M. H., İlter, Ş. M., Yılmaz, F., Baltacı, C., & Gündoğdu, A. (2018). Quality properties of wheat breads incorporated with dried sourdoughs produced with different fermentation and drying methods. *Food Science and Technology Research*, 24(6), 971-980. doi: 10.3136/fstr.24.971
- Geankoplis, C. J. (2006). *Transport processes and separation process principles*. Pearson Education, London, UK, 980 s. ISBN: 9781292026022
- Göncü, A. (2011). Farklı Tahıl Unları İlavesi İle Elde Edilen Fırınlanmış Buğday Cipsinin Kalite Niteliklerinin Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, Türkiye, 83 s.
- Hajar-Azhari, S., Mohd Roby, B. H., Jemain, S. N., Meor Hussin, A. S. (2024). Sourdough powder: physicochemical, microbiological properties and shelf-life stability in different package type. *Journal of Food Science and Technology*, 1-10, doi: 10.1007/s13197-024-05941-1
- Hendek-Ertop, M. (2014). Ekşi hamur formül optimizasyonunun ekmeğin aromatik profili, biyoaktif nitelikleri ve raf ömrü üzerine etkileri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Kayseri, Türkiye, 249 s.
- Khem, S., Small, D. M., May, B. K. (2016). The behaviour of whey protein isolate in protecting *Lactobacillus plantarum*. *Food chemistry*, 190, 717-723, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.020
- Kirchhoff, E. K. (2000). Charakterisierung von Schlüsselaromastoffen in Roggenbrot: Untersuchungen zum Einfluß des Herstellungsverfahrens und der Teigrezeptur. Technische Universität München Faculty of Chemistry Doctoral Thesis, Munich. Deutschland.
- Köprüalan, Ö. (2019). Puf kurutma yöntemi ile protein içeriği yüksek atıştırmalık beyaz peynir üretimi: Uygun ön işlem koşullarının belirlenmesi, puf kurutma işlem koşullarının optimizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 207 s.
- Lafuente, C., de Melo Nazareth, T., Dopazo, V., Meca, G., & Luz, C. (2024). Enhancing bread quality and extending shelf life using dried sourdough. *LWT*, 203, 116379. doi: 10.1016/j.lwt.2024.116379
- Lattanzi, A., Minervini, F., Gobbetti, M. (2014). Assessment of comparative methods for storing type-I wheat sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 948-955, doi: 10.1016/j.lwt.2014.06.032

- Lau, S. W., Chong, A. Q., Chin, N. L., Talib, R. A., Basha, R. K. (2021). Sourdough microbiome comparison and benefits. *Microorganisms*, 9(7), 1355, doi: 10.3390/microorganisms9071355
- Liu, A., Su, S., Sun, Y., Li, Q., Li, J., Hu, K., Zhao, N., He, L., Chen, S., Liu, S. (2024). Enhancing the highland barley-wheat dough network structure and bread quality using freeze-dried sourdough powder with inulin as a protectant. *LWT*, 191, 115599, doi: 10.1016/j.lwt.2023.115599
- Malekjani, N., Talemy, F. P., Zolqadri, R., Jafari, S. M. (2023). Roller/drum dryers and rotary dryers. In: *Drying Technology in Food Processing*, Jafari, S. M., Malekjani, N. (Eds.), Woodhead Publishing, the UK, pp. 47-66. ISBN: 978-0-12-819895-7
- Martín-García, A., Riu-Aumatell, M., López-Tamames, E. (2023). Influence of process parameters on sourdough microbiota, physical properties and sensory profile. *Food Reviews International*, 39(1), 334-348, doi: 10.1080/87559129.2021.1906698
- Ohtake, S., Izutsu, K. I., Lechuga-Ballesteros, D. (Eds.). (2020). *Drying technologies for biotechnology and pharmaceutical applications*. John Wiley & Sons, New York, the USA, 372 p. ISBN: 9783527802104
- Olojede, A. O., Sanni, A. I., Banwo, K. (2020). Rheological, textural and nutritional properties of gluten-free sourdough made with functionally important lactic acid bacteria and yeast from Nigerian sorghum. *LWT*, 120, 108875, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108875
- Parenti, O., Guerrini, L., Cavallini, B., Baldi, F., Zanoni, B. (2020). Breadmaking with an old wholewheat flour: Optimization of ingredients to improve bread quality. *LWT*, 121, 108980, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108980
- Reale, A., Di Renzo, T., Preziuso, M., Panfili, G., Cipriano, L., Messina, M. C. (2019). Stabilization of sourdough starter by spray drying technique: New breadmaking perspective. *LWT*, 99, 468-475, doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.016
- Rózyło, R., Rudy, S., Krzykowski, A., Dziki, D., Siastala, M., & Polak, R. (2016). Gluten-free bread prepared with fresh and freeze-dried rice sourdough-texture and sensory evaluation. *Journal of Texture Studies*, 47(5), 443-453. doi: 10.1111/jtxs.12180
- Shahabi, M., Rafiee, S., Mohtasebi, S. S., Hosseinpour, S. (2014). Image analysis and green tea color change kinetics during thin-layer drying. *Food Science and Technology International*, 20(6), 465-476, doi: 10.1177/1082013213492524
- Siepmann, F. B., Ripari, V., Waszczynskyj, N., Spier, M. R. (2018). Overview of sourdough technology: From production to marketing. *Food and Bioprocess Technology*, 11(2), 242-270, doi: 10.1007/s11947-017-1968-2
- Tafti, A. G., Peighambaroust, S. H., Hesari, J., Bahrami, A., Bonab, E. S. (2013). Physico-chemical and functional properties of spray-dried sourdough in breadmaking. *Food Science and Technology International*, 19(3), 271-278, doi: 10.1177/108201321245241
- Topuz, F. C., Pazır, F. (2017). Valsli kurutucu parametrelerinin elma püresi tozunun çeşitli fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(4): 488-495, doi: 10.29133/yyutbd.299211
- Türker, M., Kanarya, A., Yüzgeç, U., Kapucu, H., Şenalp, Z. (2006). Drying of baker's yeast in batch fluidized bed. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 45(12), 1019-1028, doi: 10.1016/j.cep.2006.01.016
- Vaessen, E. M., den Besten, H. M., Esveld, E. D., Schutyser, M. A. (2019). Accumulation of intracellular trehalose and lactose in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 during pulsed electric field treatment and subsequent freeze and spray drying. *LWT*, 115, 108478, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108478

COMPARATIVE EVALUATION OF PHYSICOCHEMICAL, MICROBIOLOGICAL, AND VOLATILE AROMA PROFILES IN FERMENTED, HEAT-TREATED, AND BUTCHER-STYLE SUCUK**Damla BILECEN ŞEN***

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Türkiye

Received /Geliş 08.07.2025; Accepted /Kabul: 12.10.2025; Published online /Online baskı: 31.10.2025

Bilecen Şen, D. (2025). Comparative evaluation of physicochemical, microbiological, and volatile aroma profiles in fermented, heat-treated, and butcher-style sucuk. GIDA (2025) 50 (6) 1017-1032 doi: 10.15237/gida.GD25086

Bilecen Şen, D. (2025). Fermente, ısıtılmış işlem görmüş ve kasap tipi sucuk örneklerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve uçucu aroma profillerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi. GIDA (2025) 50 (6) 1017-1032 doi: 10.15237/gida.GD25086

ABSTRACT

This study compared the physicochemical, microbiological, and volatile aroma profiles of fermented (FS), heat-treated (HS), and butcher-style (BS) sucuk sold in Türkiye. The aim was to evaluate how production method and standardization affect product quality and safety. FS and HS showed consistent pH, water activity, and microbiological properties, generally aligning with TS 1070, TS 13297, and Turkish Food Codex. In contrast, BS exhibited higher microbial counts, with total mesophilic aerobic bacteria, molds-yeasts, and *Staphylococcus* spp. reaching 7.63, 6.06, and 4.29 log CFU/g, respectively; the *Staphylococcus* spp. count exceeded the 3 log CFU/g limit, indicating a potential health risk. Aldehydes, alcohols, and acids were predominant volatile compounds in all groups. FS and HS had more consistent aroma profiles, reflecting better process control, whereas BS showed variability linked to unstandardized production. These results highlight the importance of controlled fermentation and heat treatment, and the need for stronger oversight of butcher-style products.

Keywords: Sucuk, quality characteristics, volatile aroma profile, food safety, regulatory compliance

FERMENTE, ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ VE KASAP TİPİ SUCUK ÖRNEKLERİNDE FİZİKOKİMYASAL, MİKROBİYOLOJİK VE UÇUCU AROMA PROFİLLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRİLMESİ**ÖZ**

Bu çalışma, Türkiye’de satışa sunulan fermente (FS), ısıtılmış işlem görmüş (HS) ve kasap tipi (BS) sucukların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve uçucu aroma profillerini karşılaştırmıştır. Çalışmanın amacı, üretim yöntemi ve standardizasyonun ürün kalitesi ve güvenliği üzerindeki etkilerini değerlendirmektir. FS ve HS örnekleri, pH, su aktivitesi ve mikrobiyolojik özellikler açısından tutarlı sonuçlar göstermiş ve genel olarak TS 1070, TS 13297 ve Türk Gıda Kodeksi ile uyumlu bulunmuştur. Buna karşılık, BS örneklerinde toplam mezofilik aerob bakteri, küf-maya ve *Staphylococcus* spp. sayıları sırasıyla 7.63, 6.06 ve 4.29 log CFU/g düzeylerine ulaşmış; *Staphylococcus* spp. sayısı 3 log CFU/g sınırını aşarak olası bir halk sağlığı riski oluşturmuştur. Tüm gruplarda aldehytlar, alkoller ve asitler başlıca uçucu bileşenler olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, mikrobiyal güvenlik ve aroma kalitesinin sağlanmasında kontrollü fermentasyon ve ısıtılmanın önemini ve kasap tipi ürünlerde daha güçlü denetim gerekliliğini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: Sucuk, kalite özellikleri, uçucu aroma profili, gıda güvenliği, mevzuata uygunluk

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: dbilecen@mehmetakif.edu.tr

☎: (+90) 248 213 2728

Damla Bilecen Şen; ORCID no: 0000-0003-3243-923X

INTRODUCTION

Fermented sausages are widely consumed meat products around the world. In Türkiye, fermented sucuk is the only type dry-fermented sausage and holds a prominent place in traditional cuisine. It is typically produced from beef, water buffalo, or occasionally mutton, combined with sheep tail fat or meat fat. Common spices include allspice, paprika, cumin, black pepper, and garlic. The production process involves batter preparation, fermentation, and ripening/drying, typically lasting between 6 and 20 days, without the application of smoking or heat treatment (Kaban and Bayrak, 2015).

Another variant produced in Türkiye is heat-treated sucuk, which shares a similar formulation with traditional fermented sucuk but differs in processing. After a short fermentation period, it is subjected to heat treatment (typically 60–68°C) (Kaban et al., 2022; Yılmaz Oral and Kaban, 2023). This process is generally perceived by consumers as safer. However, the limited fermentation period restricts acidification and moisture loss, often resulting in higher pH and water activity levels, conditions that may pose microbiological risks. Moreover, sublethal heat treatment temperatures and inadequate hygiene practices in small and medium scale facilities can further compromise product safety. In addition, such products may lack the characteristic flavor and aroma profiles expected from traditionally fermented sucuk.

Butcher-style sucuk, while often marketed as a fermented product, is typically produced by local butchers under informal and non-standardized conditions. Due to the absence of regulatory oversight and consistent manufacturing protocols, these products may exhibit substantial variability in quality and safety. Including butcher-style sucuk in comparative analyses is important to highlight differences in production practices and regulatory compliance across product types.

Fermented sucuk is especially distinguished by its complex flavor, resulting from biochemical reactions such as carbohydrate fermentation, proteolysis, lipolysis, amino acid catabolism, and

lipid oxidation, in addition to the use of spices (Bolumar et al., 2006). Lactic acid bacteria (LAB) and Gram-positive catalase-positive staphylococci play key roles in fermentation: LAB are responsible for acidification, texture, color development, and inhibition of pathogens, while staphylococci contribute to color stabilization, lipid oxidation delay, and flavor development through enzymatic activity (Fonseca et al., 2013). Volatile compounds such as hydrocarbons, aldehydes, acids, ketones, alcohols, esters, and terpenes are typically found in fermented meat products. Furthermore, non-volatile compounds like amino acids and peptides also contribute significantly to flavor development (Shan et al., 2023). However, in rapidly fermented products like heat-treated sucuk, it is often difficult to achieve the desired aroma compounds and sensory properties typically associated with traditional fermentation.

Although numerous studies in Türkiye have assessed the chemical, physical, and microbiological properties of commercially available sucuk (Pehlivanoglu et al., 2015; Can et al., 2016; Benli, 2017; Kara et al., 2021; Hallaç and Sancak, 2022; Oral and Sallan, 2023; Şevik et al., 2024), none has comparatively evaluated the quality characteristics and aroma profiles of fermented, heat-treated, and butcher-style sucuk. Therefore, this study aims to examine and compare the chemical and microbiological properties, along with the volatile aroma profiles, of these three sucuk types available in the Turkish market. Additionally, the findings are evaluated against national standards to assess product compliance and potential implications for food safety.

MATERIAL AND METHODS

Material

The study material consisted of a total of 21 sucuk samples, comprising 7 fermented sucuk (FS), 7 heat-treated sucuk (HS), and 7 butcher-style sucuk (BS). The FS and HS samples were obtained from different commercial brands available in the market, while the BS samples were collected from 7 different local butchers. All samples were randomly collected in duplicate.

Each FS and HS sample weighed approximately 250 g, and each BS sample weighed approximately 500 g. Sampling was conducted in January 2025 from supermarkets and butcher shops located in Isparta, Türkiye. All samples were stored at 4°C until analysis.

Methods

Physicochemical analyses

pH measurements were conducted using a digital pH meter (Testo 205, Lenzkirch, Germany) calibrated with pH 4.0 and pH 7.0 buffer solutions. For the determination of titratable acidity, sample slurries were first prepared by diluting to a final volume of 250 mL and filtering through coarse filter paper into a volumetric flask. Then, 25 mL of the filtrate was mixed with 75 mL of distilled water, and the mixture was titrated with 0.01 N NaOH using phenolphthalein as an indicator. Titratable acidity was expressed as a percentage of lactic acid (AOAC, 2010). Water activity (a_w) values were measured using a water activity meter (Novasina AG Lab Swift, Switzerland). All physicochemical analyses were performed in quadruplicate for each sample.

Determination of color values

The CIE L^* (lightness), a^* (redness), and b^* (yellowness) color values were measured using a colorimeter (Konica-Minolta CR400, Osaka, Japan) equipped with a D65 illuminant, an 8.0 mm aperture size, and a 10° standard observer angle. The device was calibrated using its standard white calibration plate. All measurements were performed in quadruplicate.

Microbiological analyses

A 10 g portion of each sucuk sample was homogenized with 90 mL of physiological saline (0.85% NaCl) using a stomacher (Laboratory Blender Stomacher 400, London, UK) for 1 min. Serial dilutions were then prepared from the homogenate. Lactic acid bacteria were enumerated on MRS Agar (de Man Rogosa Sharpe Agar, Merck) and incubated at 30°C for 48 h (Comi et al., 2005). *Staphylococcus* spp. counts were determined on Baird Parker Agar (BPA, Merck) supplemented with egg yolk tellurite (Merck). The plates were incubated at 37 °C for

48 h. Colonies with a typical black appearance surrounded by a clear zone on plates were counted (Blaiotta et al., 2004). Total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), total coliform bacteria, and mold-yeast counts were determined using Plate Count Agar (PCA, Merck), Eosin Methylene Blue Agar (EMB, Merck), and Potato Dextrose Agar (PDA, Merck), respectively. Incubation conditions were 30°C for 48 h for TMAB, 37°C for 48 h for coliforms, and 25°C for 5-7 days for molds and yeasts.

Identification of volatile aroma profile

In this study, volatile aroma profiles in the sucuk samples were isolated using the solid-phase microextraction (SPME) method and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), following a modified protocol based on Canbay (2017) and Sezer et al. (2023). Identified compounds were classified into major chemical groups including aldehydes, terpenes, alcohols, acids, ketones, esters, and hydrocarbons. A few compounds that could not be clearly classified under these standard categories, such as camphene, myrcene, and carene, were assigned to the “Others” group due to their complex or atypical structures.

Five grams of each homogenized sample were transferred into headspace vials and pre-equilibrated in a thermal block at 35°C for 5 min. A 50/30 μ m Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA) was then exposed to the headspace for SPME extraction. Volatile aroma profiles were analyzed using an Agilent 7890A GC system coupled with a 5975C MS detector and a 7697A headspace sampler (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Separation was carried out on a capillary column using helium as the carrier gas at 25 psi. The oven program started at 35°C (held for 5 min), increased to 150°C at 50°C/min, and was held for an additional 5 min. Injector and detector temperatures were set to 180°C and 200°C, respectively. Volatile aroma profiles were identified by comparing their mass spectra to commercial libraries and calculating Kovats retention indices. Results were expressed as relative percentages of the total peak area.

Statistical analyses

All data were statistically analyzed using Jamovi 2.3 (Sydney, Australia). The physicochemical, microbiological, and volatile aroma profiles of sucuk samples produced using the same method were evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's post hoc test at a significance level of $P < 0.001$. Likewise, comparisons among sucuk types produced using different production methods were also conducted using one-way ANOVA (Tukey's test, $P < 0.001$).

RESULTS AND DISCUSSIONS

Physicochemical properties

The physicochemical properties of the sucuk samples are presented in Table 1, while Table 2 compares these properties among sucuk groups produced by different methods. The pH values ranged from 5.43 to 5.77 in fermented sucuk (FS), 4.74 to 6.17 in heat-treated sucuk (HS), and 5.11 to 6.28 in butcher-style sucuk (BS). Within the FS group, samples FS-3, FS-4, and FS-6 had significantly higher pH values than FS-1 and FS-7 ($P < 0.001$). Similarly, HS-2 showed the highest and HS-3 the lowest pH values among heat-treated samples, while BS-1 exhibited the highest pH within the BS group ($P < 0.001$). Despite these within-group differences, no statistically significant differences were observed between the mean pH values of the groups (Table 2; $P > 0.001$). However, the presence of individual samples exceeding regulatory limits underscores the necessity of evaluating compliance at the individual level rather than relying solely on group means. According to the Turkish Standard TS 1070 (Turkish Fermented Sucuk Standard; Anonymous, 2016a) and Turkish Food Codex (Anonymous, 2012), fermented sucuk should exhibit a pH not exceeding 5.4. None of the FS samples in this study met this criterion, indicating insufficient acidification. High pH values in fermented sucuk have been associated with various factors such as inadequate lactic acid bacteria activity, shortened fermentation periods, non-traditional processing (e.g., heat treatment or acidifiers), the use of meat that has not completed rigor mortis, or DFD meat with high water-holding capacity. Several studies have reported

widespread non-compliance with pH standards in sucuk samples, with non-conformity rates ranging from 25% to over 80% and pH values reaching as high as 6.76 (Öksüztepe et al., 2011; Pehlivanoglu et al., 2015; Şimşek, 2022; Şevik et al., 2024). In contrast, studies conducted under controlled production conditions have demonstrated that compliance is achievable (Poçan et al., 2015; Kara et al., 2021). According to the Turkish Standard TS 13297 (Heat-Treated Sucuk Standard), the maximum allowable pH for heat-treated sucuk is 5.6 (Anonymous, 2016b). In the present study, four out of seven HS samples exceeded this limit, indicating potential non-compliance. Elevated pH values in heat-treated sucuk may result from insufficient heat application, incorrect formulation, or post-process microbial contamination, and may also indicate that either fermentation is not performed sufficiently or not performed at all (Oral and Sallan, 2023). Although some studies have reported compliant pH values for heat-treated sucuk, for instance, Poçan et al. (2015) found values ranging from 4.92 to 5.68, such outcomes appear achievable only under well-controlled production conditions. The wide range of pH values observed in BS samples, particularly the highest value of 6.28, suggests a lack of controlled fermentation processes (Barbieri et al., 2024). These findings raise concerns about the authenticity and regulatory compliance of such products, especially when they are presented as fermented sucuk despite not undergoing proper fermentation or quality control. Supporting this, Erkmen and Bozkurt (2004) reported that 71% of butcher-style sucuk samples had pH values exceeding 5.4, indicating similar issues. Likewise, Hallaç and Sancak (2022) determined the mean pH value of butcher-style sucuk as 5.41 and observed that 26.67% of samples did not comply with the Turkish Food Codex (Anonymous 2019), while 93.33% of samples failed to meet the requirements of TS 1070 (Anonymous 2016a), further highlighting significant deviations from expected fermentation standards.

As shown in Table 1, titratable acidity values ranged from 0.41 to 1.00% in FS, from 0.07 to 0.72% in HS, and from 0.07 to 0.74% in BS. FS-2 and FS-6 exhibited the highest acidity among all

samples, while HS-2 and BS-1 showed the lowest values, indicating almost no acid development ($P < 0.001$). Although five out of seven FS samples displayed moderately high acidity ($\geq 0.60\%$), FS-3 showed a notably low value (0.41%), suggesting incomplete fermentation. In both HS and BS groups, acidity was generally low and highly variable, reflecting inconsistent or insufficient fermentation processes. According to Table 2, statistically significant differences were observed among the groups ($P < 0.001$). FS had the highest mean acidity, followed by BS and HS ($P < 0.001$). The acidity of FS differed significantly from HS ($P < 0.001$), while BS showed an intermediate value not statistically different from either ($P > 0.001$). These results indicate that lactic acid formation, an indicator of active fermentation,

was more consistent in FS, while in HS and BS, fermentation was either partial or absent. The low acidity values in several HS and BS samples raise concerns about product stability and fermentation authenticity, in line with previous studies emphasizing the role of acid development in microbial safety and shelf life (Akköse et al., 2023; Yılmaz Topcam et al., 2024). Poğan et al. (2015) reported lactic acid values ranging from 0.93% to 2.03% in sucuk samples, with significantly higher levels observed in fermented products compared to heat-treated ones, which supports the present findings. However, it should be noted that Turkish sucuk standards (TS 1070 and TS 13297) do not specify a threshold for titratable acidity, which limits the ability to directly compare the current results with regulatory criteria.

Table 1. Physicochemical analysis results of the sucuk samples

Samples	Color values			pH	a _w	Titratable acidity (lactic acid %)	
	L [*]	a [*]	b [*]				
FS	1	46.45±0.33 ^c	22.83±0.14 ^b	17.04±0.35 ^b	5.48±0.05 ^{bc}	0.700±0.02 ^c	0.56±0.00 ^{bc}
	2	50.32±0.32 ^{ab}	25.29±0.33 ^a	14.36±0.26 ^c	5.66±0.01 ^{ab}	0.726±0.01 ^c	1.00±0.01 ^a
	3	51.52±0.69 ^a	22.73±0.46 ^b	18.25±0.40 ^{ab}	5.70±0.03 ^a	0.758±0.00 ^{bc}	0.41±0.00 ^c
	4	52.90±0.37 ^a	17.85±0.13 ^c	14.00±0.15 ^c	5.77±0.02 ^a	0.803±0.00 ^{ab}	0.56±0.01 ^{bc}
	5	51.41±0.34 ^a	21.16±0.40 ^b	17.43±0.30 ^{ab}	5.59±0.01 ^{abc}	0.801±0.00 ^{ab}	0.50±0.02 ^{bc}
	6	49.90±0.06 ^b	25.88±0.10 ^a	19.78±0.56 ^a	5.70±0.01 ^a	0.809±0.00 ^{ab}	0.94±0.02 ^a
	7	47.53±0.58 ^{bc}	22.06±0.35 ^b	14.55±0.20 ^c	5.43±0.03 ^c	0.817±0.00 ^a	0.58±0.01 ^b
HS	1	46.53±0.31 ^c	22.40±0.19 ^a	16.46±0.20 ^b	5.11±0.00 ^c	0.703±0.02 ^a	0.27±0.03 ^{bc}
	2	50.02±0.42 ^{ab}	16.47±0.23 ^c	21.63±0.34 ^a	6.17±0.11 ^a	0.771±0.03 ^a	0.07±0.00 ^d
	3	51.78±0.15 ^a	22.08±0.09 ^a	17.21±0.61 ^b	4.74±0.02 ^d	0.772±0.02 ^a	0.64±0.04 ^a
	4	51.20±0.43 ^a	18.89±0.22 ^b	17.02±0.18 ^b	5.69±0.04 ^b	0.749±0.02 ^a	0.07±0.01 ^d
	5	51.05±0.28 ^a	20.25±0.26 ^{ab}	13.79±0.11 ^c	5.86±0.02 ^{ab}	0.781±0.01 ^a	0.38±0.02 ^b
	6	49.53±0.51 ^{ab}	21.76±0.62 ^a	21.19±0.43 ^a	5.67±0.00 ^b	0.767±0.01 ^a	0.18±0.01 ^{cd}
	7	47.82±0.17 ^{bc}	19.65±0.36 ^b	17.74±0.35 ^b	5.27±0.02 ^c	0.764±0.01 ^a	0.72±0.01 ^a
BS	1	46.88±0.89 ^{bc}	19.60±0.58 ^{ab}	22.91±0.85 ^a	6.28±0.01 ^a	0.738±0.01 ^b	0.07±0.00 ^c
	2	46.24±0.45 ^{bc}	22.65±0.41 ^a	21.91±0.58 ^{ab}	5.15±0.06 ^{bc}	0.996±0.00 ^a	0.74±0.00 ^a
	3	51.53±0.28 ^a	20.21±0.06 ^{ab}	20.25±0.33 ^{abc}	5.11±0.01 ^c	0.999±0.00 ^a	0.61±0.02 ^{ab}
	4	46.28±0.16 ^{bc}	21.10±0.58 ^a	18.10±0.57 ^{bcd}	5.32±0.02 ^{bc}	0.999±0.00 ^a	0.54±0.02 ^{bc}
	5	47.49±0.21 ^{bc}	19.79±0.28 ^{ab}	16.76±0.28 ^{cd}	5.41±0.09 ^{bc}	0.996±0.00 ^a	0.42±0.03 ^{cd}
	6	44.74±0.32 ^c	17.91±0.63 ^{bc}	15.35±1.05 ^d	5.46±0.02 ^b	0.999±0.00 ^a	0.65±0.01 ^{ab}
	7	48.09±0.18 ^b	15.52±0.31 ^c	15.77±0.53 ^d	5.39±0.04 ^{bc}	0.999±0.00 ^a	0.28±0.00 ^d

a–e – Means with different letters within the same column indicate statistically significant differences ($P < 0.001$). Statistical differences were determined among samples within each sucuk type. Results are presented as mean $\pm$ standard error. (FS: fermented sucuk; HS: heat-treated sucuk; BS: butcher-style sucuk)

The water activity (a_w) values of the sucuk samples varied considerably depending on the production method, as shown in Table 1 ($P < 0.001$). BS samples had consistently high a_w values, ranging

from 0.738 to 0.999, with most exceeding the critical threshold of 0.95, which is associated with increased microbial risk (ICMSF, 2006). This suggests inadequate drying or insufficient

ripening, raising concerns about microbial stability and shelf life. In contrast, FS and HS samples generally exhibited lower a_w values, between 0.700 and 0.817, indicating better moisture control. Table 2 further supports these findings by demonstrating that the mean a_w value of the BS group was significantly higher than those of FS and HS ($P<0.001$), highlighting the influence of processing method. The significant differences observed between the groups clearly show that butcher-style sucuks are not subjected to controlled fermentation and may be more susceptible to microbial spoilage due to elevated a_w levels. Such variability in a_w may result from differences in ripening temperature, duration, and fat content, as noted by Soyer et al. (2005). Dry fermented sausages typically have a_w values below 0.90, while semi-dry products range between 0.90 and 0.95 (Caplice and Fitzgerald, 1999). In this study, all FS and HS samples had a_w values below 0.90, whereas nearly all BS samples (except BS-1) exceeded 0.95, indicating that butcher-style products do not meet the a_w criteria for either dry or semi-dry fermented sucuk. These findings align with previous studies reporting a_w values generally below 0.95 in fermented or heat-treated sucuks (Kaban and Kaya, 2008; Benli, 2017; Kaban et al., 2022b; Kızılkaya et al., 2023; Oral and Sallan, 2023; Şevik et al., 2024). Although Turkish standards (TS 1070, TS 13297) do not specify a_w limits, both a_w and pH are considered critical hurdles in fermented sucuk safety. In the present study, the combination of high a_w and insufficient acidification in BS samples emphasizes the need for appropriate cold storage to ensure microbial stability and extend shelf life.

Overall, previous studies and the present findings indicate that the physicochemical properties of sucuk products, whether fermented, heat-treated, or butcher-style, vary considerably depending on production methods, raw material quality, and the extent of fermentation and drying processes. The substantial differences observed in pH, titratable acidity, and water activity values across samples highlight a general lack of standardization, particularly in butcher-style products. The occurrence of non-compliant pH levels, low acid development, and high a_w values in several

samples suggests inadequate fermentation or post-process control, potentially compromising microbial stability and shelf life. These findings emphasize the importance of process control and regulatory compliance to ensure consistent quality and food safety in sucuk production.

Color values

The color parameters (L^* , a^* , b^*) of the sucuk samples varied significantly across different production methods, as shown in Tables 1 and 2 ($P<0.001$). In Table 1, FS samples generally exhibited higher L^* values, ranging from 46.45 to 52.90, indicating a brighter appearance. Samples FS-3, FS-4, and FS-5 showed particularly high lightness values ($P<0.001$). Consistent with individual sample data, the FS group had the highest mean L^* value, which was significantly brighter than that of the BS group ($P<0.001$; Table 2). Poçan et al. (2015), Kara et al. (2021), and Şevik et al. (2024) reported L^* values for fermented sucuk within similar ranges of 44.91–55.20, 31.34–57.81, and 42.85–55.83, respectively, which show close agreement with our current results. HS samples had L^* values ranging from 46.53 to 51.78, with moderate brightness that aligns with the group mean (Table 2). BS, however, had the lowest and most variable L^* values (44.74 to 51.53), reflecting inconsistency in production practices. Their significantly lower mean L^* value may be associated with non-standardized manufacturing (AMSA, 2012), uncontrolled drying (Ruedt et al., 2023), or differences in formulation, particularly regarding spice content (Kim and Chin, 2021) and the absence of nitrite (Bae and Jeong, 2024).

In terms of redness (a^*), FS samples again outperformed the others, with high a^* values like 25.29 (FS-2) and 25.88 (FS-6), suggesting better pigment development and curing. These results align with Poçan et al. (2015), Kara et al. (2021), and Şevik et al. (2024), who reported a^* values ranging from 19.40 to 25.95, 17.69 to 29.02, and 15.28 to 30.32, respectively, in fermented sucuk. The mean a^* value for FS was significantly higher than that of HS and BS ($P<0.001$; Table 2). This confirms that fermented sucuk had the most desirable cured meat coloration (Gök et al., 2011).

Comparative quality and aroma profiles of different sucuk types

HS samples showed moderate redness, while BS samples exhibited the lowest a^* values overall, especially BS-7, again indicating insufficient or inconsistent color formation.

Table 2. Comparison of the physicochemical properties of sucuk samples with different production methods

Production method	Color values			pH	a_w	Total acidity (lactic acid %)
	L^*	a^*	b^*			
F	50.00±0.43 ^a	22.54±0.49 ^a	16.49±0.41 ^a	5.62±0.02 ^a	0.773±0.02 ^b	0.65±0.09 ^a
HT	49.71±0.36 ^a	20.21±0.39 ^b	17.86±0.50 ^a	5.50±0.09 ^a	0.758±0.01 ^b	0.33±0.10 ^b
B	47.32±0.41 ^b	19.54±0.43 ^b	18.72±0.58 ^a	5.45±0.07 ^a	0.961±0.04 ^a	0.47±0.09 ^{ab}

a, b – Means with different letters within the same physicochemical parameter are significantly different ($P<0.001$). Results are presented as mean ± standard error. (F: fermented; HT: heat-treated; B: butcher-style)

Regarding yellowness (b^*), all groups showed similar ranges in Table 1, though BS samples tended to have slightly higher b^* values, such as BS-1. However, Table 2 indicated no statistically significant differences ($P>0.001$) in b^* among the groups, suggesting that production method may not strongly influence this parameter.

Overall, the data from both tables consistently show that fermented sucuk samples have superior and more consistent color characteristics, whereas butcher-style products demonstrate high

variability and suboptimal color quality, likely due to a lack of standardization in ingredients and processing conditions.

Microbial composition

The microbiological analysis revealed significant differences among the sucuk groups in terms of lactic acid bacteria (LAB), total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), total coliforms, mold-yeast counts, and *Staphylococcus* spp. ($P<0.001$; Table 3).

Table 3. Microbiological analysis results (log CFU/g) of the sucuk samples

Samples	Lactic acid bacteria	<i>Staphylococcus</i>	Total mesophilic aerobic bacteria	Total coliform bacteria	Mold-yeast	
FS	1	2.53±0.03 ^c	<10	2.80±0.04 ^c	<10 ^d	<10 ^c
	2	4.83±0.03 ^b	<10	5.08±0.01 ^a	<10 ^d	<10 ^c
	3	<10 ^f	<10	5.15±0.00 ^a	4.22±0.02 ^a	2.63±0.01 ^a
	4	5.08±0.00 ^{ab}	<10	5.08±0.00 ^a	2.32±0.06 ^{bc}	2.04±0.14 ^{ab}
	5	5.19±0.00 ^a	<10	5.09±0.04 ^a	2.33±0.13 ^{bc}	<10 ^c
	6	4.38±0.06 ^c	<10	5.12±0.02 ^a	2.82±0.02 ^b	2.22±0.04 ^{ab}
	7	3.67±0.01 ^d	<10	3.83±0.06 ^b	1.86±0.09 ^c	1.89±0.11 ^b
HS	1	<10 ^e	<10	3.24±0.01 ^c	<10 ^e	3.26±0.01 ^a
	2	<10 ^e	<10	3.45±0.05 ^c	2.34±0.04 ^{ab}	2.31±0.11 ^{bc}
	3	3.44±0.04 ^b	<10	5.86±0.00 ^a	2.58±0.04 ^{ab}	2.75±0.08 ^{ab}
	4	4.10±0.01 ^a	<10	4.29±0.04 ^b	1.95±0.05 ^b	<10 ^d
	5	2.87±0.04 ^c	<10	3.28±0.10 ^c	1.85±0.10 ^b	<10 ^d
	6	2.25±0.05 ^d	<10	4.12±0.16 ^{bc}	2.92±0.01 ^a	<10 ^d
	7	3.15±0.02 ^{bc}	<10	4.38±0.01 ^b	2.06±0.11 ^b	1.73±0.12 ^c
BS	1	6.63±0.02 ^c	<10 ^d	6.68±0.05 ^c	3.21±0.10 ^b	3.77±0.05 ^c
	2	6.54±0.03 ^c	1.45±0.01 ^c	6.57±0.04 ^c	2.61±0.04 ^c	4.44±0.02 ^c
	3	7.72±0.05 ^a	2.58±0.06 ^b	7.63±0.01 ^a	3.37±0.03 ^b	6.06±0.04 ^a
	4	7.25±0.01 ^b	3.00±0.11 ^b	7.35±0.02 ^a	3.30±0.04 ^b	4.11±0.01 ^d
	5	6.73±0.02 ^c	3.21±0.02 ^b	6.99±0.01 ^b	3.52±0.03 ^{ab}	6.06±0.02 ^a
	6	7.57±0.00 ^a	2.84±0.05 ^b	7.59±0.00 ^a	3.45±0.03 ^{ab}	4.48±0.02 ^c
	7	6.68±0.02 ^c	4.29±0.03 ^a	7.42±0.01 ^a	3.96±0.02 ^a	4.80±0.03 ^b

a–e – Means with different letters within the same column indicate statistically significant differences ($P<0.001$). Statistical differences were determined among samples within each sucuk type. Results are presented as mean ± standard error. (FS: fermented sucuk; HS: heat-treated sucuk; BS: butcher-style sucuk)

LAB counts in BS ranged from 6.54 to 7.72 log CFU/g, which are generally within the expected range for traditionally fermented sucuk (Gökalp et al., 2004; Kaban, 2013). However, the absence of accompanying acidification in some BS samples (Table 1, Table 2), despite high LAB counts, suggests that these bacteria may not have been metabolically active or that fermentation conditions were suboptimal or inconsistent. This situation is further supported by the high TMAB counts detected in BS samples (Table 3), which may indicate inadequate hygiene or absence of controlled starter cultures. In contrast, LAB counts in FS and HS samples were lower than those in BS ($P < 0.001$) and did not differ significantly from each other ($P > 0.001$), indicating comparable LAB levels between these two groups. In HS, several samples fell below the detection limit (< 10 log CFU/g), which is expected due to microbial inactivation by heat treatment. Similarly, Şevik et al. (2024) reported that LAB counts in 30 fermented sucuk samples ranged from 1.85 to 7.63 log CFU/g, with a mean value of 6.21 log CFU/g. In earlier studies, mean LAB counts of fermented sucuk were reported as 8.56 log CFU/g by Öksüztepe et al. (2011) and 7.00 log CFU/g by Pehlivanoglu et al. (2015), which are all higher than the values observed in the current study. These variations likely reflect differences in formulation, fermentation conditions, use of starter cultures, and thermal processing practices. Interestingly, the relatively low LAB counts observed in FS samples, despite being labeled as fermented, may suggest that these products were also subjected to heat treatment prior to or after fermentation, potentially as a preservation measure (Oral and Sallan, 2023). These findings emphasize that successful fermentation does not merely depend on the presence of LAB but also on their metabolic activity, which is essential for adequate acidification and microbiological safety.

TMAB counts were higher in BS samples, ranging from 6.57 to 7.63 log CFU/g, whereas FS and HS groups exhibited notably lower levels ($P < 0.001$; Table 3). These elevated counts in BS products may be associated with insufficient hygiene, lack of thermal processing, and uncontrolled

fermentation practices during production (Lücke, 2000; Ammor and Mayo, 2007). The relatively low TMAB levels in FS samples likely result from the combined effects of competitive inhibition by lactic acid bacteria and acidification through fermentation (Nazlı 1998). Similarly, the reduction observed in HS samples can be attributed to the bactericidal impact of heat treatment (Bozkurt and Erkmen, 2002), which is also reflected in the lower average TMAB levels of FS and HS groups compared to the markedly higher values observed in BS samples (Figure 1). Şevik et al. (2024) demonstrated that TMAB counts of fermented sucuk samples were determined as follows: minimum < 10 log CFU/g, maximum 2.93 log CFU/g, and mean 1.90 log CFU/g. TMAB counts in some BS samples exceeded 7 log CFU/g. Although this level is not explicitly defined as a legal limit in the Turkish Food Codex (Anonymous, 2011) or in standards TS 1070 and TS 13297, it is generally regarded in the literature as the upper microbiological threshold for meat products produced under proper hygienic conditions (Hallaç and Sancak, 2022). Exceeding this level may indicate potential non-compliance and microbiological quality issues in butcher-style products.

Total coliform bacteria were frequently detected in BS samples, with counts ranging from 2.61 to 3.96 log CFU/g, suggesting possible fecal contamination, poor hygiene, or improper handling during production (Tamang et al., 2016). In contrast, coliforms in FS and HS groups were either undetectable or remained below 3 log CFU/g (Table 3), likely reflecting the combined effects of hygienic production practices, fermentation-driven acidification, and heat treatment in the case of HS (Can et al., 2016). These intergroup differences are also evident in the coliform counts shown in Figure 1, where the BS group exhibited consistently higher mean levels than the other two groups. According to TS 1070 (Anonymous, 2016a), *E. coli* O157:H7 must not be detected in 25 g of fermented sucuk. Although the standard does not specify a limit for total coliforms or generic *E. coli*, the detection of coliform bacteria, particularly *E. coli*, in BS samples indicates poor hygiene and possible fecal

contamination during production. Şevik et al. (2024) reported total coliform counts in fermented sucuk ranging from <10 to 1.95 log CFU/g, Çon et al. (2002) found a mean count of >6 log CFU/g, Öksüztepe et al. (2011) reported counts between 1.10 and 2.6 log CFU/g, and Pehlivanoglu et al. (2015) indicated counts ranging from <10 to 2.67 log CFU/g.

Mold-yeast counts were significantly higher in BS samples ($P<0.001$), with values ranging from 3.77 to 6.06 log CFU/g, suggesting potential issues related to uncontrolled environmental exposure, high water activity, and inadequate storage hygiene. These microorganisms may have proliferated due to improper drying, insufficient packaging, or contamination from equipment and air during traditional production (Asefa et al., 2009). In contrast, FS and HS samples generally exhibited lower mold-yeast counts (Figure 1). In both FS and HS groups, three samples had mold-yeast counts below the detection limit (<10 log CFU/g), while the remaining samples generally stayed below 3 log CFU/g. Oral and Sallan (2023) stated that mold-yeast counts in heat treated sucuk were below the detectable limit in most samples; however, some fermented sucuk samples showed mold-yeast levels ranging between 10^2 and 10^3 CFU/g. These relatively low fungal loads may be attributed to the combined effects of fermentation-related acidification and competitive exclusion by lactic acid bacteria in FS (Leroy and De Vuyst, 2004), and the fungicidal impact of thermal processing in HS (Oral and Sallan, 2023). Similarly, previous studies reported total mold-yeast counts in fermented sucuk generally ranging from 3.00 to >5 log CFU/g (Kök et al., 2007; Pehlivanoglu et al., 2015; Öksüztepe et al., 2011), while Şevik et al. (2024) showed a broader but overall lower range of 0.70-4.65 log CFU/g (average 2.46 log CFU/g). Although TS 1070 and TS 13297 do not define specific limits for molds and yeasts, their presence at high levels is undesirable due to spoilage and possible mycotoxin risks. The high fungal counts observed in BS samples (up to 6.06 log CFU/g) suggest a lack of fungal control during production and storage.

Staphylococcus spp. were not detected in any of the FS and HS samples (<10 log CFU/g), indicating effective hygienic control and/or the inhibitory effect of starter cultures and heat treatment. Since *Staphylococcus* are acid-sensitive microorganisms, rapid acidification during fermentation can significantly inhibit their growth (Akköse et al., 2023), which may explain their absence in FS samples. In contrast, all BS samples (except BS-1) contained detectable levels of *Staphylococcus* spp., with counts ranging from 1.45 to 4.29 log CFU/g. The highest level was observed in sample BS-7 ($P<0.001$), which may raise potential food safety concerns, particularly if coagulase-positive strains such as *Staphylococcus aureus* are present. The presence of *Staphylococcus* spp. in butcher-style sucuks could be attributed to non-standardized production practices, inadequate handling hygiene, cross-contamination during processing, and elevated a_w values (Kaban and Bayrak, 2015). Additionally, the absence of heat treatment and controlled fermentation using starter cultures in BS products may have contributed to the survival and proliferation of these organisms (Figure 1). Although TS 1070 and TS 13297 do not explicitly set limits for *Staphylococcus* spp., its presence is generally considered unacceptable in sucuk products. In this study, *Staphylococcus* spp. were detected in BS samples, with counts up to 4.29 log CFU/g, exceeding the limit of 3 log CFU/g specified in the Turkish Food Codex Microbiological Criteria Regulation and thus posing a potential risk to public health (Anonymous, 2011). These findings are consistent with Can et al. (2016), who detected coagulase-positive *S. aureus* in 6 out of 50 heat treated sucuk samples (12%). Similarly, Oral and Sallan (2023) reported that *Micrococcus/Staphylococcus* counts were below the detectable limit in 23.3% of heat treated sucuk samples.

BS samples exhibited the highest microbial loads across nearly all parameters ($P<0.001$; Figure 1), highlighting significant microbial instability and potential safety risks. In contrast, the FS and HS groups demonstrated comparatively better microbiological quality, likely due to the presence of competitive microbiota, fermentation-induced

acidification, and, in the case of HS, the application of heat treatment. These findings underscore the impact of standardized

processing, hygiene control, and thermal treatment on ensuring the microbial safety of sucuk products.

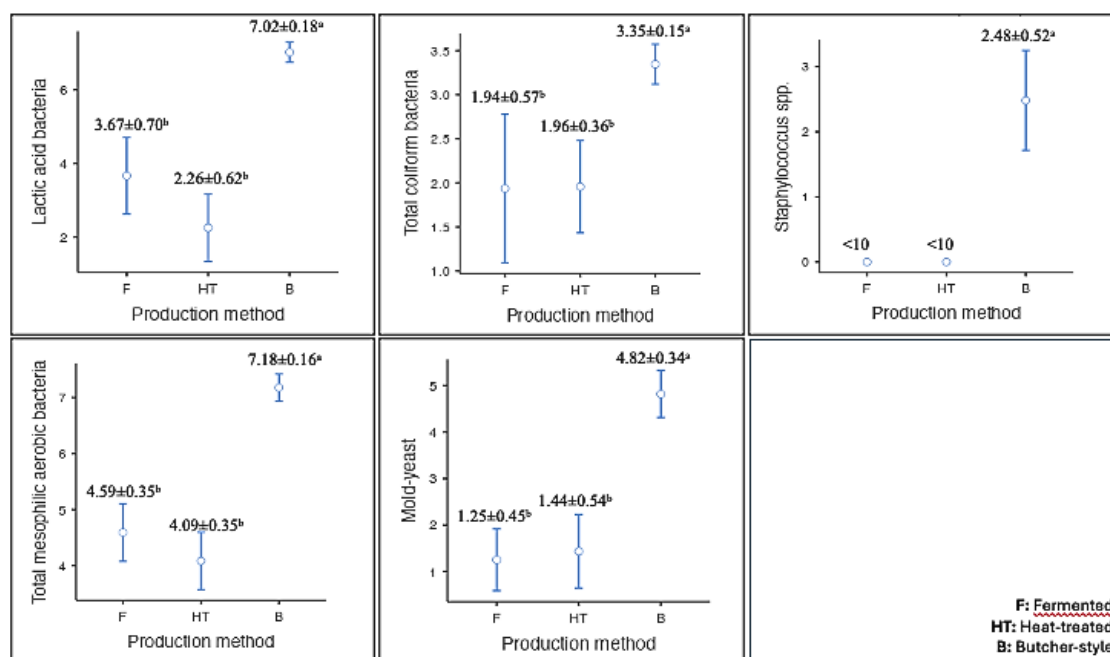


Figure 1. Comparison of the microbiological analysis results ($\log_{10}$ CFU/g) of sucuk samples with different production methods

a, b – Means with different letters within the same microbiological parameter are significantly different ($P < 0.001$). Results are presented as mean $\pm$ standard error. (F: fermented; HT: heat-treated; B: butcher-style)

Volatile aroma profile

According to Table 4 and Figure 2, volatile aroma profiles exhibited significant variation among sucuk samples, depending on both sample type and production method ($P < 0.001$). Among the major compound classes identified, aldehydes, alcohols, and acids were the most abundant, while ketones, esters, terpenes, and hydrocarbons contributed at varying degrees.

Aldehydes were dominant in all sucuk groups ($P < 0.001$). In the FS group, levels ranged from 30.38% to 47.77%, with FS-2 showing the highest concentration ($P < 0.001$), suggesting more intensive lipid oxidation or greater oxygen exposure during fermentation. Similarly, Ansorena et al. (2001) reported that in five commercial brands of Spanish dry fermented sausages, most aldehydes originated from lipid oxidation. HS7 had the highest aldehyde content among all samples ($P < 0.001$), likely due to heat-

induced lipid oxidation and amino acid catabolism (Yılmaz Oral and Kaban, 2021). In contrast, BS5 showed the lowest aldehyde concentration ($P < 0.001$), possibly due to limited oxidative reactions under anaerobic conditions or the absence of a starter culture. While moderate aldehyde levels contribute positively to flavor, excessive accumulation may result in rancidity. These findings indicated that controlled fermentation or thermal processing can promote favorable aldehyde formation, whereas uncontrolled production may compromise aroma quality. Although lipid oxidation is typically regarded as undesirable in meat products, it plays a crucial role in developing the characteristic aroma of fermented and cured meats (Ordoñez et al., 1999).

Comparative quality and aroma profiles of different sucuk types

Table 4. Percentage (%) of volatile aroma profiles identified in sucuk samples

Samples	Aldehydes	Terpenes	Alcohols	Acids	Ketones	Esters	Aliphatic hydrocarbons	Aromatic hydrocarbons	Others
FS	1 37.56±0.13 ^c	13.84±0.05 ^a	13.71±0.05 ^d	12.12±0.04 ^c	5.23±0.02 ^b	2.20±0.01 ^b	1.61±0.01 ^a	0.34±0.00 ^c	11.85±0.04 ^a
	2 47.77±0.27 ^a	12.57±0.07 ^{bc}	21.55±0.12 ^b	6.14±0.03 ^c	0.13±0.00 ^c	1.51±0.01 ^d	0.73±0.00 ^{cd}	0.54±0.01 ^a	8.13±0.05 ^c
	3 44.81±0.51 ^{ab}	13.16±0.15 ^{ab}	10.28±0.12 ^f	9.25±0.10 ^d	5.88±0.07 ^a	2.03±0.02 ^c	1.37±0.02 ^b	n.d.	11.13±0.13 ^b
	4 30.38±0.15 ^d	12.54±0.06 ^{bc}	29.86±0.15 ^a	11.41±0.06 ^c	4.10±0.02 ^c	2.30±0.01 ^b	0.69±0.00 ^d	n.d.	7.78±0.04 ^c
	5 34.24±1.36 ^{cd}	12.25±0.06 ^c	12.46±0.06 ^c	29.09±0.13 ^a	2.82±0.01 ^d	1.43±0.01 ^d	0.79±0.00 ^c	0.51±0.01 ^b	7.03±0.03 ^d
	6 39.56±0.16 ^{bc}	13.23±0.05 ^{ab}	15.05±0.06 ^c	16.61±0.07 ^b	4.03±0.02 ^c	4.02±0.02 ^a	0.91±0.00 ^c	n.d.	5.83±0.02 ^c
	7 39.56±0.16 ^{bc}	13.23±0.05 ^{ab}	15.05±0.06 ^c	16.61±0.07 ^b	4.03±0.02 ^c	4.02±0.02 ^a	0.91±0.00 ^c	n.d.	5.83±0.02 ^c
HS	1 25.01±0.14 ^e	15.48±0.09 ^d	31.33±0.18 ^a	9.22±0.05 ^c	3.77±0.02 ^d	1.90±0.01 ^c	0.78±0.00 ^c	n.d.	11.77±0.07 ^b
	2 32.20±0.16 ^d	25.75±0.13 ^a	23.48±0.12 ^c	4.14±0.02 ^c	n.d.	1.11±0.01 ^e	2.77±0.01 ^a	n.d.	9.76±0.05 ^c
	3 37.10±0.30 ^c	2.10±0.02 ^e	4.93±0.04 ^f	28.45±0.23 ^a	5.32±0.04 ^b	5.86±0.05 ^b	n.d.	n.d.	14.08±0.11 ^a
	4 20.34±0.08 ^f	21.76±0.09 ^b	27.54±0.11 ^b	12.08±0.05 ^b	4.94±0.02 ^c	2.00±0.01 ^c	1.55±0.01 ^b	n.d.	8.73±0.04 ^d
	5 22.89±0.10 ^c	11.60±0.05 ^c	26.63±0.16 ^b	9.63±0.04 ^c	5.95±0.03 ^a	14.46±0.07 ^a	0.21±0.00 ^c	0.50±0.00 ^a	7.44±0.03 ^c
	6 44.57±0.16 ^b	16.49±0.06 ^c	12.32±0.04 ^c	6.42±0.02 ^d	3.95±0.01 ^d	0.92±0.00 ^c	0.37±0.00 ^d	n.d.	14.31±0.05 ^a
	7 62.51±0.38 ^a	9.59±0.06 ^f	14.36±0.09 ^d	3.50±0.02 ^c	4.85±0.03 ^c	1.49±0.01 ^d	0.15±0.00 ^c	n.d.	2.66±0.02 ^f
BS	1 44.85±0.23 ^a	12.13±0.06 ^c	19.81±0.10 ^c	14.63±0.07 ^c	0.35±0.00 ^d	2.74±0.01 ^e	0.15±0.00 ^c	n.d.	4.34±0.02 ^d
	2 24.13±0.23 ^b	19.92±0.19 ^b	22.70±0.22 ^b	15.40±0.15 ^c	0.80±0.01 ^c	5.76±0.06 ^c	0.22±0.00 ^d	n.d.	9.29±0.09 ^a
	3 19.17±0.13 ^c	11.80±0.08 ^c	22.05±0.14 ^b	23.24±0.15 ^d	0.11±0.00 ^c	14.36±0.09 ^a	0.37±0.00 ^c	n.d.	8.01±0.05 ^b
	4 17.98±0.04 ^c	22.76±0.05 ^a	31.22±0.06 ^a	16.07±0.03 ^c	0.13±0.00 ^c	4.03±0.01 ^f	0.53±0.00 ^a	n.d.	6.61±0.01 ^c
	5 5.00±0.01 ^c	11.56±0.02 ^c	8.96±0.01 ^f	63.35±0.15 ^a	1.46±0.00 ^b	6.82±0.01 ^d	n.d.	n.d.	2.37±0.00 ^c
	6 9.44±0.01 ^d	3.51±0.01 ^c	16.99±0.03 ^d	51.12±0.08 ^b	2.06±0.00 ^a	11.16±0.02 ^b	0.39±0.00 ^b	n.d.	4.12±0.01 ^d
	7 10.27±0.05 ^d	10.47±0.05 ^d	15.21±0.08 ^c	49.47±0.25 ^c	n.d.	8.13±0.04 ^c	0.03±0.00 ^f	n.d.	4.38±0.02 ^d

a-g – Means with different letters within the same column indicate statistically significant differences ($P<0.001$). Statistical differences were determined among samples within each sucuk type. Results are presented as mean $\pm$ standard error. n.d.—not detected. (FS: fermented sucuk; HS: heat-treated sucuk; BS: butcher-style sucuk)

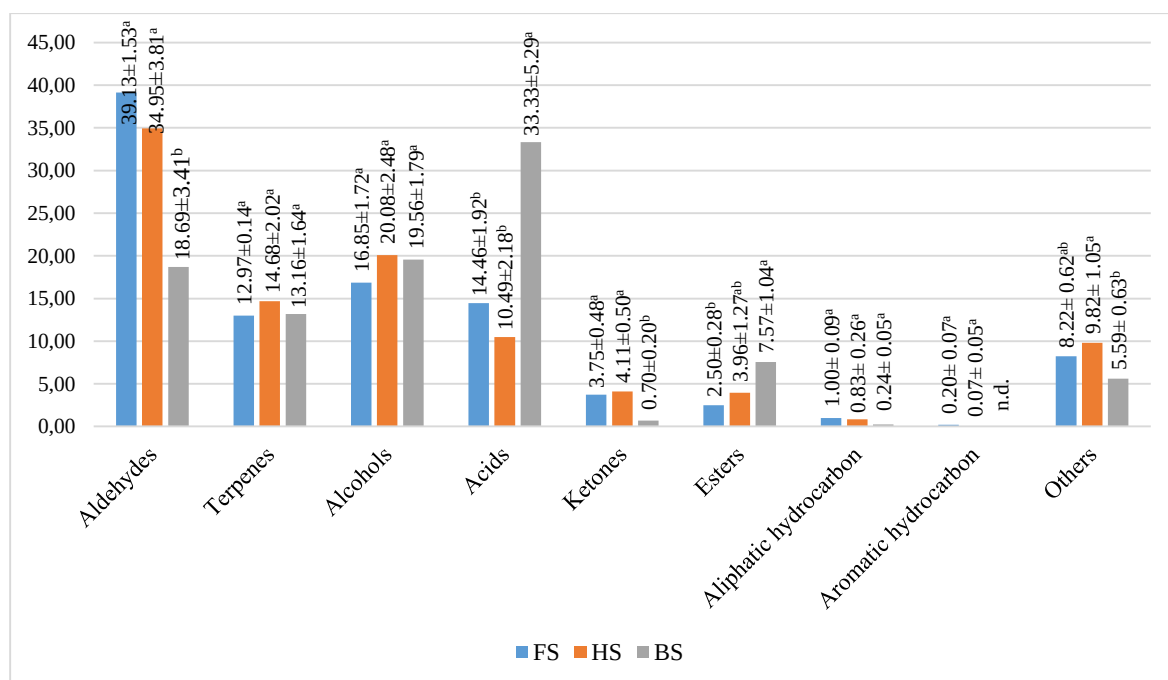


Figure 2. Comparison of the volatile aroma profiles (%) of sucuk samples with different production methods

Terpenes varied significantly within groups ($P < 0.001$), but the overall means across FS, HS, and BS were not significantly different ($P > 0.001$; Figure 2). In FS samples, terpene concentrations remained stable (12-14%), suggesting uniform ingredient use and limited processing impact. HS samples exhibited broader variation, likely due to thermal degradation and differences in spice composition. In BS samples, terpene levels ranged from 3.51% to 22.76%, reflecting non-standardized formulations. As terpenes primarily originate from spices (Çakır et al., 2013; Kaban and Bayrak, 2015), their differences appear more related to formulation variability and thermal sensitivity than to the production method itself. Ansorena et al. (2001) similarly reported that variations in terpene content among Spanish dry fermented sausage brands reflected differences in the amount of spices used during production.

Alcohols varied significantly among individual samples ($P < 0.001$); however, mean levels did not differ significantly between FS, HS, and BS groups ($P > 0.001$; Figure 2). In FS, FS4 had the highest alcohol content, consistent with its elevated LAB and yeast counts (Table 3), while FS-3 had the lowest ($P < 0.001$). Alcohol levels in HS and BS samples also varied widely, with BS-4 and HS-1 exhibiting higher levels, potentially due to prolonged or active fermentation. These results emphasize that alcohol formation is driven primarily by microbial activity, not production type. Starter cultures convert amino acids into α -keto acids via aminotransferase, which then serve as aroma precursors like aldehydes, alcohols, and acids (Gutsche et al., 2012).

Acids differed significantly both within and across groups ($P < 0.001$). FS-5 and HS-3 had the highest values in their respective groups ($P < 0.001$), likely reflecting intensified LAB metabolism. In BS, acid levels ranged widely, with BS-5 displaying notably high content, possibly due to uncontrolled fermentation without starter cultures. Acids can occasionally represent the predominant class of volatile compounds. For instance, in a study analyzing commercial sucuk samples, acids constituted the major group in only one brand (Kaban, 2013). These findings indicate

that processing conditions, particularly the presence of controlled fermentation, heavily influence acid formation in sucuk (Figure 2).

Ketones were generally low but varied significantly ($P < 0.001$). FS-3 and HS-5 had the highest ketone contents ($P < 0.001$), likely from amino acid catabolism and lipid oxidation (Zhao et al., 2024). In BS, ketones were absent in BS-7 but detected in others, with BS-6 showing the highest value ($P < 0.001$), possibly due to oxidative stress or extended degradation (Yin et al., 2021).

Esters also exhibited significant differences ($P < 0.001$). FS-6, FS-7, and HS-5 showed higher ester levels ($P < 0.001$), which may result from esterification of alcohols and acids (Ansorena et al., 2001). In the BS group, BS-3 had the highest ester content ($P < 0.001$), likely resulting from microbial esterification activity, particularly by lactic acid bacteria and staphylococci (Gutsche et al., 2012). Despite this variation, means did not differ significantly ($P > 0.001$), indicating ester levels are more dependent on sample-specific conditions than processing method. The formation of ethyl esters, in particular, may be influenced by the presence of nitrite and lactic acid bacteria (Stahnke, 1995).

Aliphatic hydrocarbons contributed minimally to the total volatile aroma profile. FS-1 had the highest level in its group ($P < 0.001$), while HS-2 and HS-3 showed non-detectable levels. BS samples also varied ($P < 0.001$), with BS-5 showing no detectable hydrocarbons. Such variation likely results from differences in fat content, lipid oxidation, and microbial activity. No significant differences were observed among group means ($P > 0.001$), suggesting that hydrocarbon formation is more influenced by sample composition than by the production method. Aromatic hydrocarbons were detected only in trace amounts in FS-1, FS-2, FS-5, and HS-5, and were not found in any BS samples ($P < 0.001$). These compounds may originate from lipid degradation, forage consumption, or amino acid catabolism in sucuk (Meynier et al., 1999; Marco et al., 2008).

Volatile aroma profile analysis showed that aldehydes, alcohols, and acids were predominant in all groups. FS and HS samples had more consistent profiles, reflecting controlled processing. In contrast, BS samples varied widely due to non-standardized production, highlighting the impact of formulation and process control on aroma quality.

CONCLUSION

This study provides a comprehensive comparison of fermented, heat-treated, and butcher-style sucuk in terms of physicochemical characteristics, microbiological quality, and volatile aroma profiles. The results clearly demonstrated that FS and HS samples, produced through standardized and regulated methods, meet key safety and quality criteria, aligning well with national standards. These products also exhibited more consistent aroma profiles, particularly with dominant aldehydes, alcohols, and acids, contributing to desirable sensory properties. Conversely, BS samples showed considerable inconsistency in both microbial and aromatic characteristics, frequently exceeding acceptable microbial limits and displaying irregular aroma compound distributions. The observed differences are attributed to unstandardized production conditions, lack of starter cultures, and limited process control. The findings highlight the importance of applying controlled fermentation, thermal treatment, and regulatory oversight in traditional sucuk production. Improving quality assurance, particularly for butcher-style products in the local market, is essential to ensure consumer safety, product consistency, and compliance with national food standards.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was financially supported by the Burdur Mehmet Akif Ersoy University Coordinatorship of Scientific Research Projects under project numbers 1110-BİDEP-25.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Damla Bilecen Şen: Conceptualization, Methodology, Investigation, Data curation, Formal analysis, Writing—original draft, Writing—review and editing.

REFERENCES

- Adamu, B.B., Obioh, G.I.B., Idehand, R.R., Olukotun, G.B. (2025). The role of lactic acid bacteria in food, agriculture and industry: A review. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 30(01): 099–106.
- AMSA (2012). American Meat Science Association, Meat Color Measurement Guidelines.
- AOAC (2010). Official Methods of Analysis (17th ed.). Washington, DC, USA: AOAC International.
- Akköse, A., Oğraş, Ş.Ş., Kaya, M., Kaban, G. (2023). Microbiological, physicochemical and sensorial changes during the ripening of sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage: Effects of autochthonous strains, sheep tail fat and ripening rate. *Fermentation*, 9(6): 558.
- Ammor, M.S., Mayo, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science*, 76(1): 138–146.
- Anonymous (2011). Turkish Food Codex Microbiological Criteria Regulation. Official Gazette, 29.12.2011, 28157, Ankara, Türkiye.
- Anonymous (2012). Turkish Food Codex Legislation on Meat and Meat Products. The Official Gazette, No. 2012/74, Ankara, Türkiye.
- Anonymous (2016a). Turkish Sucuk (Fermented sucuk), TS 1070. Turkish Standards Institute, Ankara, Türkiye.
- Anonymous (2016b). Thermally treated sucuk, TS 13297. Turkish Standards Institute, Ankara, Türkiye.
- Ansorena, D., Gimeno, O., Astiasaran, I., Bello, J. (2001). Analysis of volatile compounds by GC–MS of a dry fermented sausage: Chorizo De Pamplona. *Food Research International*, 34: 67–75.

- Asefa, D.T., Gjerde, R.O., Sidhu, M.S., Langsrud, S., Kure, C.F., Nesbakken, T., Skaar, I. (2009). Moulds contaminants on Norwegian dry-cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 128(3): 435–439.
- Bae, S.M., Jeong, J.Y. (2024). Investigating the effects of pink-generating ligands on enhancing color stability and pigment properties in pork sausage model systems cured with sodium nitrite or white kimchi powder. *Foods*, 13(18): 2872.
- Barbieri, F., Montanari, C., Angelucci, C., Gardini, F., Tabanelli, G. (2024). Use of indigenous lactic acid bacteria for industrial fermented sausage production: Microbiological, chemico-physical and sensory features and biogenic amine content. *Fermentation*, 10(10): 1–15.
- Benli, H. (2017). Some chemical characteristics of sucuk and salami samples available at retail in Adana. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(11): 1307–1311.
- Blaiotta, G., Pennacchia, C., Villani, F., Ricciardi, A., Tofalo, R., Parente, E. (2004). Diversity and dynamics of communities of coagulase-negative staphylococci in traditional fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 97(2): 271–284.
- Bolumar, T., Sanz, Y., Flores, M., Aristoy, M.C., Toldrá, F., Flores, J. (2006). Sensory improvement of dry-fermented sausages by the addition of cell-free extracts from *Debaryomyces hansenii* and *Lactobacillus sakei*. *Meat Science*, 72(3): 457–466.
- Bozkurt, H., Erkmen, O. (2002). Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk). *Meat Science*, 61(2): 149–156.
- Can, Ö.P., Şahin, S., Eligüz, A., Dinçer, A. (2016). Sivas ilinde tüketime sunulan ısıtılmış sucukların mikrobiyolojik kalitesi. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 2(1): 30–33.
- Canbay, H.S. (2017). Effectiveness of liquid-liquid extraction, solid phase extraction, and headspace technique for determination of some volatile water-soluble compounds of rose aromatic water. *International Journal of Analytical Chemistry*, 1: 4870671.
- Caplice, E., Fitzgerald, G.F. (1999). Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2): 131–149.
- Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., Cocolin, L. (2005). Characterisation of naturally fermented sausages produced in the Northeast of Italy. *Meat Science*, 69(3): 381–392.
- Çon, A.H., Doğu, M., Gökalep, H.Y. (2002). Periodical determination of some microbiological characteristics of sucuk samples produced at some big meat plants in the city of Afyon. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26: 11–16.
- Çakır, M.A., Kaya, M., Kaban, G. (2013). Effect of heat treatment on the volatile compound profile and other qualitative properties of sucuk. *Fleischwirtschaft International*, 5: 69–74.
- Erkmen, O., Bozkurt, H. (2004). Quality characteristics of retailed sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Food Technology and Biotechnology*, 42(1): 63–69.
- Fonseca, S., Cachaldora, A., Gómez, M., Franco, I., Carballo, J. (2013). Effect of different autochthonous starter cultures on the volatile compounds profile and sensory properties of Galician chorizo, a traditional Spanish dry fermented sausage. *Food Control*, 33(1): 6–14.
- Gök, V., Obuz, E., Şahin, M.E., Serteser, A. (2011). The effects of some natural antioxidants on the color, chemical and microbiological properties of sucuk (Turkish dry-fermented sausage) during ripening and storage periods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(5): 677–690.
- Gutsche, K.A., Tran, T.B.T., Vogel, R.F. (2012). Production of volatile compounds by *Lactobacillus sakei* from branched chain α -keto acids. *Food Microbiology*, 29: 224–228.
- Hallaç, B., Sancak, H. (2022). Evaluation of some quality characteristics of fermented sucuks produced by butchers with traditional methods in terms of compliance with standards. *Kocatepe Veterinary Journal*, 15(4): 460–469.

- ICMSF. (2006). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities (Vol. 6). Springer Science and Business Media.
- Kaban, G., Kaya, M. (2008). Identification of lactic acid bacteria and Gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (sucuk). *Journal of Food Science*, 73(8): M385–M388.
- Kaban, G. (2013). Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Science*, 95(4): 912–918.
- Kaban, G., Bayrak, D. (2015). The effects of using turkey meat on qualitative properties of heat-treated sucuk. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(4): 377–383.
- Kaban, G., Bayraktar, F., Jaber, R., Fettahoğlu, K., Kaya, M. (2022). Effects of NaCl substitution with KCl on quality properties of heat-treated sucuk during the production stages. *Journal of Food and Nutrition Research*, 61(1): 43–52.
- Kaban, G., Polat, Z., Sallan, S., Kaya, M. (2022b). The occurrence of volatile N-nitrosamines in heat-treated sucuk in relation to pH, aw and residual nitrite. *Journal of Food Science and Technology*, 59(5): 1748–1755.
- Kara, R., Acaröz, U., Gürler, Z., Soylu, A. (2021). Bazı et ürünlerinin fizikokimyasal özelliklerinin araştırılması. *Akademik Et ve Süt Kurumu Dergisi*, 2: 5–12.
- Kaveh, S., Hashemi, S.M.B., Abedi, E., Amiri, M.J., Conte, F.L. (2023). Bio-preservation of meat and fermented meat products by lactic acid bacteria strains and their antibacterial metabolites. *Sustainability*, 15(13): 10154.
- Kızılkaya, M.F., Oral, Z.F.Y., Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. (2023). Volatile nitrosamines in a dry fermented sausage “sucuk”: Occurrence and effect of cooking on their formation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 119: 105284.
- Kim, G.H., Chin, K.B. (2021). Characteristics of low-nitrite pork emulsified-sausages with paprika oleoresin solution during refrigerated storage. *Journal of Animal Science and Technology*, 63(2): 394.
- Kök, F., Özbey, G., Muz, A. (2007). Aydın ilinde satışa sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 21(6): 249–252.
- Lücke, F.K. (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56(2): 105–115.
- Leroy, F., De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2): 67–78.
- Marco, A., Navarro J.L., Flores, M. (2008). The sensory quality of dry fermented sausages as affected by fermentation stage and curing agents. *European Food Research and Technology*, 226(3): 449–458.
- Meynier, A., Novelli, E., Chizzolini, R., Zanardi, E., Gandemer, G. (1999). Volatile compounds of commercial Milano salami. *Meat Science*, 51: 175–183.
- Ockerman, H.W., Basu, L. (2014). Production and consumption of fermented meat products. *Handbook of fermented Meat and Poultry*, 7–11.
- Oral, Z.F.Y., Kaban, G. (2021). Effects of autochthonous strains on volatile compounds and technological properties of heat-treated sucuk. *Food Bioscience*, 43: 101140.
- Oral, Z.F.Y., Sallan, S. (2023). Evaluation of quality characteristics of commercial fermented sausages (sucuk and heat-treated sucuk). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 11(10): 1855–1861.
- Oral, Z.F.Y., Kaban, G. (2023). The effect of the combination of rosemary extract and green tea extract on nitrosamine content, microbiological, physicochemical and sensorial properties of heat-treated sucuk. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29(6): 705–715.
- Ordóñez, J.A., Hierro, E.M., Bruna, J.M., Hoz, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(4): 329–367.

- Öksüztepe, G., Güran, H.Ş., İncili, G.K., Gül, S.B. (2011). Elazığ'da tüketime sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 25(3): 107–117.
- Pehlivanoglu, H., Nazlı, B., İmamoğlu, H., Çakır, B. (2015). Piyasada fermente sucuk olarak satılan ürünlerin kalite özelliklerinin saptanması ve geleneksel Türk fermente sucuğu ile karşılaştırılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 41(2): 191–198.
- Poçan, H.B., Babaoğlu, A.S., Ünal, K., Karakaya, M. (2015). Determination of physicochemical and textural properties of different types of sucuk offered for commercial sale. *Journal of New Results in Engineering and Natural Science*, 4: 1–10.
- Ruedt, C., Gibis, M., Weiss, J. (2023). Meat color and iridescence: Origin, analysis, and approaches to modulation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(4): 3366–3394.
- Sezer, E.N.Ş., Yorgancılar, M., Uysal, T. (2023). The characterization of volatile compounds belonging to some lupin genotypes by spme GC-MS method. *KSÜ Tarm ve Doğa Dergisi*, 26 (4): 870–877.
- Shan, K., Yao, Y., Wang, J., Zhou, T., Zeng, X., Zhang, M., Weixin, K., He, H., Li, C. (2023). Effect of probiotic *Bacillus cereus* DM423 on the flavor formation of fermented sausage. *Food Research International*, 172: 113210.
- Soyer, A., Ertas, A.H., Üzümcüoğlu, Ü. (2005). Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuks). *Meat Science*, 69(1): 135–141.
- Stahnke, L.H. (1995). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels-Part II. Volatile components. *Meat Science*, 41(2): 193–209.
- Şevik, R., Yeşilirmak, H., Akarca, G., Aşçıoğlu, Ç., Denizkara, A.J. (2024). Quality features of Afyon fermented sausage (sucuk) and standards compliance. *Kocatepe Veterinary Journal*, 17(2): 150–161.
- Şimşek, A. (2022). An evaluation of the physicochemical and microbiological characteristics and the hygienic status of naturally fermented camel sausages (sucuks). *Food Science and Technology*, 42: e81321.
- Taang, J.P., Watanabe, K., Holzapfel, W.H. (2016). Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in Microbiology*, 7: 377.
- Yılmaz Topcam, M.M., Arslan, B., Soyer, A. (2024). Sucuk, Turkish-style fermented sausage: Evaluation of the effect of bioprotective starter cultures on its microbiological, physicochemical, and chemical properties. *Applied Microbiology*, 4(3): 1215–1231.
- Yin, X., Lv, Y., Wen, R., Wang, Y., Chen, Q., Kong, B. (2021). Characterization of selected Harbin red sausages on the basis of their flavour profiles using HS-SPME-GC/MS combined with electronic nose and electronic tongue. *Meat Science*, 172: 108345.
- Zhao, P., An, Y., Dong, Z., Sun, X., Zhang, W., Wang, H., Yang, B., Yan, J., Fang, B., Ren, F., Chen, L. (2024). Comparative analysis of commercially available flavor oil sausages and smoked sausages. *Molecules*, 29(16): 3772.

DETERMINATION OF SOME QUALITY CHARACTERISTICS OF DULCE DE LECHE'S PRODUCED INDUSTRIALLY IN TURKEY

Sibel ÖZTOK¹, Şenol KÖSE^{1,2*}, Yağmur ERİM KÖSE^{1,2}

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Van Yuzuncu Yıl University, Van, Türkiye

²Department of Food Engineering, Faculty of Chemistry and Metallurgy, Yıldız Technical University, Istanbul, Türkiye

Received / Geliş: 27.05.2025; Accepted / Kabul: 15.10.2025; Published online / Online baskı: 31.10.2025

Öztok, S., Köse, Ş., Erim Köse, Y. (2025). Determination of some quality characteristics of dulce de leche's produced industrially in Turkey. GIDA (2025) 50 (6) 1033-1042 doi: 10.15237/ gida.GD25069

Öztok, S., Köse, Ş., Erim Köse, Y. (2025). Türkiye'de endüstriyel olarak üretilen süt reçellerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2025) 50 (6) 1033-1042 doi: 10.15237/ gida.GD25069

ABSTRACT

In this study, nine different Dulce de leche (DL) samples produced by industrial methods were investigated for their physicochemical, textural, sensory properties, total phenolic content (TPC) and antioxidant activities. In addition, macro and micro element (Ca, K, Mg, Na, Fe, Mn, Zn, Cu) contents of the samples were determined. Dry matter, fat, protein, acidity, pH, ash and brix values of the samples varied between 48.14–77.21%, 1.45–12.35%, 0.10–9.04%, 0.41–0.65%, 5.66–6.65%, 1.15–3.18% and 59.65–79.35%, respectively. HMF was determined as 9.98–25.06 µmol/100 g, total phenolic content as 810.00–2830.83 mg GAE/kg, antioxidant activity as 12.73–71.95% in the DPPH, and 4.50–7.91 mmol TE/g in the TEAC test. In the mineral analysis, the concentration of Ca and K elements was found to be high, and a wide variation was observed in color and textural properties. Sensory evaluations showed that DL formulation and production differences significantly affected product properties.

Keywords: Dulce de leche, quality characteristics, nutritional values

TÜRKİYE'DE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN SÜT REÇELLERİNİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZ

Bu çalışmada, endüstriyel yöntemlerle üretilen dokuz farklı süt reçeli (Dulce de leche) örneğinin fizikokimyasal, tekstürel, duyuşal özellikleri ile toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca örneklerin makro ve mikro element (Ca, K, Mg, Na, Fe, Mn, Zn, Cu) içerikleri belirlenmiştir. Numunelerin kuru madde, yağ, protein, asitlik, pH, kül ve briks değerleri sırasıyla %48.14–77.21, %1.45–12.35, %0.10–9.04, %0.41–0.65, 5.66–6.65, %1.15–3.18 ve 59.65–79.35 arasında değişmiştir. HMF 9.98–25.06 µmol/100 g, toplam fenolik madde 810.00–2830.83 mg GAE/kg, antioksidan aktivite DPPH testinde %12.73–71.95, TEAK testinde 4.50–7.91 mmol TE/g olarak belirlenmiştir. Mineral analizinde Ca ve K elementlerinin konsantrasyonu yüksek bulunmuş olup, renk ve tekstürel özellikleri arasında geniş varyasyon gözlenmiştir. Duyuşal değerlendirmeler,

* Corresponding author/Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: senolkose28@gmail.com

☎: (+90) 212 383 4572

☎: (+90) 212 383 4571

Sibel ÖZTOK, ORCID no:0000-0002-7479-5331

Şenol KÖSE, ORCID no: 0000-0003-0599-6030

Yağmur ERİM KÖSE, ORCID no: 0000-0002-8008-0009

reçel formülasyonunun ve üretim farklılıklarının ürün özelliklerini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Süt reçeli, kalite özellikleri, besin değerleri

INTRODUCTION

Dulce de leche (DL) is a dairy product consumed as a dessert and used in sweet recipes. It is widely consumed in Latin America, particularly in Brazil, Uruguay, and Argentina, with lesser consumption in Paraguay, Bolivia, and Chile (Gaze et al., 2015). Also, it has been exported to the United States and the European Union (Ranalli et al., 2017). In recent years, DL products have started to be on the market, increasingly, with the name of “milk jam” in Turkey (Yuksel Onur, 2018).

In Turkey, DL is particularly consumed as a spread, dessert, and at breakfast, and is also used in the manufacture of confectionery and ice cream. The production of DL involves concentrating a mixture of milk and sucrose by boiling it at atmospheric pressure until it reaches a solids content of approximately 70%. Sometimes, sucrose is partially replaced with glucose to prevent crystallization. The maillard browning reaction, which occurs between sugars and milk proteins, is a key process in DL production (Malec et al., 1999). Sodium bicarbonate (NaHCO_3) is added during production to prevent casein coagulation and to promote the Maillard reaction, which is responsible for DL's characteristic brown color and flavor (Yuksel Onur, 2018).

While DL consists of milk, sucrose, sodium bicarbonate, and various additives, its characteristics can significantly differ across industries and production regions. Factors such as cow management, genetics, good agricultural practices, formulation, and final processing play a crucial role in determining these characteristics (Smit, 2000). Different processing parameters including heating time and temperature, intensity of negative pressure, and mass balance directly impact the physicochemical and sensory properties of the final product (Perrone et al., 2011). These characteristics are closely linked to the nutritional, technological, and sensory quality of DL, which in turn influences consumer purchasing decisions, opens new market

opportunities, reduces production costs, and enhances quality control (Giménez et al., 2008). Therefore, the quality characteristics and nutritional values of DL must be consistently monitored.

The aim of this study was to determine the quality characteristics and nutritional values of industrially produced DL in Turkey. By analysing the physicochemical and sensory characteristics of DL, we aim to provide the necessary data to understand the impact of this product on consumer acceptability and to improve quality control processes. In addition, the results are expected to contribute to the improvement of DL production standards in Turkey and increase its competitiveness in local and international markets.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Nine DL samples belonging to different brands sold in grocery stores in Istanbul in 2022 were obtained as research material. These samples were stored in their original glass packages at 4 ± 1 °C during the analyses. The ingredient information and codes given on the labels of the milk jams are shown in Table 1.

Methods

Physicochemical Analyses

The dry matter, protein, fat, ash and Brix was determined according to the recommendations of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005). The pH and the percentage of lactic acid were determined according to Adolfo Lutz Institute methodology (Instituto Adolfo Lutz, IAL, 2008).

Hunter L*, a* and b* values of milk jam samples were determined by Konica Minolta Chroma Meter CR-400 (Osaka, Japan) colour meter. L* value shows 100 lightness /0 darkness, a* value shows +redness/greenness and b* value shows +yellowness/blueness (Elgün, 2002).

Table 1. Contents and sample numbers of industrially produced milk jam samples

Sample No	Content of DL Samples
1.	Milk, sugar and lemon juice
2.	Sheep milk, sugar, baking soda
3.	Whole cow's milk, sugar, sodium carbonate, and flavour (vanilla)
4.	Milk, sugar, natural fruit pectin
5.	Sweetened condensed milk, glucose syrup, sugar, water, and acidity regulator: sodium citrates, salt, gelling agent (fruit pectin)
6.	Cow's milk, beetroot sugar, baking soda and vanilla
7.	Pasteurised cow's milk, sugar, baking soda, vanilla
8.	Goat's milk, beetroot sugar, food soda (baking soda)
9.	Pasteurised milk, beet sugar, milk powder, baking soda

HMF Analyses

Spectrophotometric HMF analysis as determined by Mistry and Pulgar (1996) method was made by modification. 10 g of DL samples were weighed and completed to 100 ml with pure water and homogenized in ultraturax at 12500 rpm for 1 minute. 10 ml of the diluted sample was taken into a test tube and 5 ml of 0.3 N oxalic acid was added and mixed, then kept in a water bath at 100°C for 1 hour. The tubes removed from the water bath were cooled to 25°C. Then 5 ml of 40% TCA solution was added and mixed in a vortex device, then filtered with Whatman 42 filter papers. 4 ml of the filtrate was taken into another tube and 1 ml of 0.05 M TBA solution was added, mixed and kept in a water bath at 40°C for 35 minutes. Then the tubes were cooled to 25°C. Absorption values of samples were measured at 443 nm wavelength in the spectrophotometer. HMF values were calculated according to the formula.

HMF in milk jam ($\mu\text{mol/l}$) = $(\text{Absorbance} - 0.055) \times 87.5$

Textural Analyses

Texture profile analyses of DL samples were performed using a texture analyzer (Texture Technologies Corp., Hamilton, MA, USA) equipped with a 5 kg load cell, cylindrical probe (25.4 mm diameter) and software program (Exponent, Version 6.0.6.0., Texture Technologies Corp.). Before analysis, samples were kept at room temperature. Texture profile analysis was performed by compressing twice with a cylindrical probe at a speed of 5 mm/s to provide 10 mm penetration. Texture parameters were measured as hardness, springiness,

resilience, chewiness, external adhesiveness, gumminess and internal adhesiveness (Erim-Köse et al., 2018).

Sensory Analyses

The sensory analysis panel form adapted by Cebeci (2020) from (TSE, 1982) for DL was used. Sensory analyses were carried out by fifteen panellists and the samples were scored in the range of 1-5.

Mineral Analyses

The dry incineration method specified in TS 3606 was used for the analysis of mineral substances (Anonymous, 1995). The milk jam sample was weighed into a porcelain crucible and dried in an oven and then subjected to incineration at a temperature of 500-550 °C in a gradually increasing muffle furnace. The ash obtained as a result of the incineration process was dissolved with nitric acid solution and then quantitatively transferred to 100 ml plastic filters with 1 N nitric acid solution. Appropriate dilutions were made from the stock solutions prepared in this way and analysed samples were prepared. Na, Ca, Mg, K, Zn, Fe, Cu and Mn concentrations of the samples were determined by using ICP-OES device at Van Yuzuncu Yil University Science Research and Application Centre.

Preparation of Water Soluble Extracts for Determination of Total Phenolic Substance and Antioxidant Activity

The samples were diluted 1:1 (w/v) with 95% ethanol and homogenised in a homogeniser for 1 min. They were mixed in an ultrasonic water bath

for 10 min and in a mechanical shaker for 15 min at room temperature. After centrifugation in a refrigerated centrifuge (NÜVE NF 1200 R) at 8500 rpm for 15 min at 4°C, the clear part remaining on the tubes was collected and stored in a cooler until analysis (Selcuk and Yilmaz, 2009).

Total Phenolic Substance

Determination of total phenolic content according to Folin & Ciocalteu's method was performed. For this purpose, 150 µL of sample and 3 mL of 2% Na₂CO₃ solution were added to the test tubes. After approximately 2 min. 150 µL of Folin-Ciocalteu's marker diluted 1:1 with ultrapure water was added to the tubes. The tubes were mixed in a vortex device and kept at room temperature and in a dark place for 45 min. The absorbance values were then read at 765 nm in a spectrophotometer (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan). The total phenolic content of the samples was calculated from the calibration graph with gallic acid and expressed as gallic acid equivalent (Bae and Suh, 2007).

Antioxidant Activity

DPPH Test

DPPH radical scavenging power was determined according to the method of Brand-Williams et al. (1995). DPPH solution (25 mg DPPH/L methanol) was prepared daily and the absorbance of the solution was diluted to 0.700 ± 0.020 at 520 nm. 100 µL of the extracts of the obtained DL samples were placed in tubes and 2.4 mL of DPPH solution was added. After 30 min in the dark, the absorbance values of the samples were analysed in a spectrophotometer (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan) at 520 nm wavelength. The % inhibition rate of DPPH radical was calculated according to the formula.

Inhibition % = $(\text{Control absorbance} - \text{sample absorbance}) / \text{Control absorbance} \times 100$

TEAC Test

In order to determine the TEAC values of the samples, 7 mM ABTS+ radical solution containing 2.45 mM potassium persulfate was first prepared. This solution was kept at room temperature and in a dark environment for 12-16

hours. At the end of the waiting time, the radical solution was diluted with 80% ethanol to give an absorbance of 0.700 ± 0.2 at 734 nm in the spectrophotometer. 2.9 mL of the diluted radical solution was added to the test tube. 100 µL of the DL sample extract was added. This mixture was mixed rapidly on a vortex for 6 minutes and read at 734 nm on a spectrophotometer (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan). The results using the Trolox standard curve calculated according to the formula (Kirca and Ozkan, 2007).

$\text{TEAC (mM Trolox/g sample)} = \text{Slope of the inhibition curve of the sample/Trolox standard curve} \times \text{Dilution Factor}$

Statistical Analyses

In the statistical analysis using IBM SPSS Statistic 20 package programme, the differences between the results obtained in the study were subjected to Duncan multiple comparison test according to 95% significance level.

RESULTS AND DISCUSSIONS

As seen in Table 2, the chemical analysis results of the DL samples varied within a wide range. Yuksel-Onur (2018) determined that the chemical composition of 6 DL's obtained from the market varied within a similarly wide range. It is thought that the biggest reason for these differences is the lack of legal regulation on DL in Turkey.

In the present study, the lowest L* value was determined in sample number 4 (28.71) and the highest in sample number 2 (41.40). The parameter a* ranged from 4.28 to 11.28 in the samples 5 and 1, respectively. The samples 6 and 1 had the lowest (-1.28) and the highest (18.02) b* values, respectively. The obtained data (Table 3) were lower than the L*, a* and b* values of seven milk jams obtained from the Brazilian market by Gaze et al. (2015). The differences between the samples in terms of colour parameters are probably due to differences in protein and sugar composition, as well as changes in time, temperature and pressure, according to the protocol of each industry (Oliveira et al., 2009).

Table 2. Chemical analysis results of DL samples

Sample no	Drymatter (%)	Ash (%)	Fat (%)	Protein (%)	pH	Acidity (%)	Brix
1	65.17±0.11 ^{CD}	1.15±0.03 ^A	4.45±0.07 ^D	4.20±0.01 ^D	6.35±0.07 ^D	0.43±0.01 ^A	67.45±0.07 ^C
2	65.91±0.27 ^{CD}	1.85±0.14 ^C	12.35±0.07 ^H	9.04±0.06 ^G	6.24±0.03 ^C	0.55±0.01 ^{BC}	66.45±0.01 ^B
3	48.14±1.83 ^A	2.76±0.21 ^D	1.45±0.07 ^A	0.10±0.03 ^A	5.98±0.04 ^B	0.64±0.01 ^D	69.75±0.07 ^F
4	64.63±0.45 ^{CD}	3.18±0.02 ^E	3.15±0.07 ^B	2.90±0.14 ^B	6.28±0.04 ^{CD}	0.65±0.01 ^D	68.55±0.03 ^D
5	71.35±1.02 ^{DE}	1.47±0.02 ^B	3.75±0.07 ^C	3.40±0.14 ^C	5.95±0.02 ^B	0.41±0.01 ^A	71.85±0.07 ^H
6	67.10±1.65 ^{CD}	1.98±0.01 ^C	7.25±0.07 ^F	6.46±0.08 ^F	5.70±0.01 ^A	0.57±0.01 ^C	69.05±0.01 ^E
7	51.74±1.2 ^{AB}	1.76±0.04 ^C	8.15±0.07 ^G	6.39±0.01 ^F	5.66±0.03 ^A	0.52±0.02 ^B	70.05±0.07 ^G
8	58.34±1.21 ^{BC}	1.69±0.24 ^{BC}	7.20±0.14 ^F	6.44±0.06 ^F	6.23±0.01 ^C	0.44±0.01 ^A	59.65±0.07 ^A
9	77.21±1.03 ^E	1.69±0.04 ^{BC}	6.05±0.07 ^E	5.80±0.42 ^E	6.65±0.07 ^E	0.42±0.03 ^A	79.35±0.06 ^I

A,B,C,D,E,F,G,H,I Indicates the difference ($p < 0.05$) between samples.

Table 3. Color values of DL samples

Sample no	L*	a*	b*
1	37.66±0.85 ^E	11.28±0.54 ^G	18.02±1.01 ^F
2	41.40±0.57 ^F	9.68±0.40 ^E	16.52±0.25 ^E
3	33.24±0.95 ^C	14.39±0.21 ^H	11.42±1.58 ^{CD}
4	28.71±0.28 ^A	5.56±0.03 ^C	6.20±0.06 ^B
5	31.04±1.29 ^B	4.28±0.13 ^A	6.46±0.13 ^B
6	29.45±0.25 ^A	4.43±0.01 ^{AB}	-1.28±0.11 ^A
7	32.70±0.09 ^C	10.55±0.01 ^F	10.14±0.37 ^C
8	35.74±0.06 ^D	6.84±0.01 ^D	12.52±0.04 ^D
9	35.69±0.14 ^D	4.88±0.02 ^B	12.15±0.06 ^D

A,B,C,D,E,F shows the difference ($p < 0.05$) between samples.

The Maillard reaction, known as a non-enzymatic browning reaction in foods, is based on the interaction of protein and sugar with heat. The Maillard reaction, which is not desired to occur in drinking milk, is desired for the formation of characteristic color and aroma in DL. HMF is an intermediate product formed during the Maillard reaction and shows the intensity of the applied heat treatment (Akai et al., 2018). HMF values were found to be 9.98-25.06 $\mu\text{mol/l}$ (Table 4).

The differences between HMF values of samples were found statistically different ($p < 0.05$). It is thought that different production methods of the producers and different heat treatment-duration combination applications and the composition of the milk used cause the difference in HMF values. It is also thought that storage conditions, milk type and ratio, sugar amount and sodium bicarbonate amount may also cause the difference in HMF values.

Table 4. HMF values of DL samples

Sample no	HMF ($\mu\text{mol/l}$)
1	14.44±0.74 ^{CDE}
2	9.98±0.12 ^A
3	23.63±1.86 ^F
4	10.29±3.53 ^{AB}
5	17.07±1.11 ^E
6	25.06±0.04 ^F
7	16.66±0.04 ^{DE}
8	11.82±0.12 ^{ABC}
9	13.52±1.17 ^{BCD}

A,B,C,D,E,F shows the difference ($p < 0.05$) between samples

The hardness of the DL samples varied between 15.78 and 19.00 g, the adhesiveness between -2662.78 and -253.45 g.sec, the resilience between 1.87 and 50.85%, the cohesiveness between 0.81 and 1.03, the springiness between 46 and 95.33%, the gumminess between 14.02 and 18.45 and the chewiness between 7.97 and 16.85 (Table 5). In order for DL to be spreadable and used as a filler, it is neither too soft nor too viscous. Therefore, the product should not show high gumminess, adhesiveness and hardness values (Silva et al., 2015). Bruno et al. (2018) evaluated the textural properties of six different brands of milk jam and reported that the hardness value of the samples was between 106.39 and 145.66, the adhesiveness value was between -416.07 and -201.37, the cohesiveness value was between 0.667 and 0.730, the gumminess value was between 71.02 and 102.14 and the chewiness value was between 64.03 and 86.14. Chacon-Villalobos et al. (2013) observed that hardness, adhesiveness and

springiness values increased as the proportion of cow's milk in the mixture increased in their study on DL samples prepared with different milk combinations of cow's milk and goat's milk. Similar to the findings of this study, the hardness, adhesiveness and springiness values of the sample number eight made from goat's milk in our study were found to be lower than the other samples. Lima et al. (2020) found that the gumminess value of milk jam samples obtained from different ratios of cow's milk and sheep's milk mixtures was between 0.16 and 0.24 and stated that DL samples with higher sheep's milk ratio had higher gumminess and springiness values because sheep's milk contains more lipids than cow's milk. The data obtained in our study were similar to this study and it was observed that the gumminess and springiness values of the sample number two produced from sheep milk were higher than the other samples.

Table 5. Textural profile analysis results of DL samples

Sample no	Hardness (g)	Adhesiveness (g.s)	Resilience (%)	Cohesiveness	Springiness (%)	Gumminess	Chewiness
1	19.00±3.62 ^A	-336.55±147.79 ^{DE}	24.26±4.99 ^C	0.93±0.01 ^{BC}	95.33±6.75 ^E	17.55±3.52 ^{AB}	16.85±4.55 ^D
2	18.11±0.16 ^A	-870.98±59.35 ^B	16.57±1.79 ^B	0.98±0.01 ^{CD}	86.06±1.91 ^D	17.71±0.38 ^{AB}	15.24±0.01 ^{CD}
3	18.22±1.57 ^A	-366.88±6.39 ^{DE}	41.50±0.32 ^E	0.93±0.01 ^{BC}	46.98±1.63 ^A	16.99±1.75 ^{AB}	7.97±0.54 ^A
4	17.17±0.23 ^A	-2662.78±18.07 ^A	1.87±0.09 ^A	0.81±0.01 ^A	70.67±0.07 ^{BC}	14.27±0.03 ^A	10.11±0.01 ^{AB}
5	18.56±0.47 ^A	-340.32±31.71 ^{DE}	50.85±2.79 ^F	0.89±0.06 ^B	79.36±0.78 ^{CD}	16.56±1.51 ^{AB}	13.15±1.32 ^{BCD}
6	16.00±0.31 ^A	-510.06±19.62 ^C	21.83±1.12 ^C	1.03±0.02 ^D	72.39±1.66 ^{BC}	16.40±0.69 ^{AB}	11.88±0.78 ^{ABC}
7	18.45±0.32 ^A	-472.30±14.7 ^{CD}	21.22±0.49 ^{BC}	0.91±0.05 ^B	81.59±7.04 ^D	16.65±1.26 ^{AB}	13.54±0.15 ^{BCD}
8	15.78±0.31 ^A	-303.86±24.85 ^E	31.49±1.29 ^D	0.89±0.01 ^B	69.54±3.63 ^B	14.02±0.03 ^A	9.76±0.53 ^{AB}
9	18.89±2.20 ^A	-253.45±26.13 ^E	23.30±1.93 ^C	0.98±0.01 ^{CD}	78.61±1.41 ^{CD}	18.45±2.04 ^B	14.49±1.34 ^{CD}

A,B,C,D,E Indicates the difference between samples ($p < 0.05$).

Although DL is a semi-solid product, its gel-like texture justifies the inclusion of additional parameters such as chewiness and springiness in the texture profile analysis. These parameters are widely used in gel-structured semi-solid foods such as yogurt, milk-based desserts, and custards. In our study, chewiness and springiness varied meaningfully among samples and provided valuable information about the mechanical structure and elasticity of DL, which may influence consumer perception and the product's applicability as a spread or filling.

Texture is one of the most important quality characteristics in DL because it defines the

characteristics of the product in subsequent applications, especially for doughy products. Texture defects can negatively affect consumer acceptance, which is generally caused by poor production (Ranalli et al., 2012).

When the samples were examined in terms of sensory analysis (Table 6), they received scores between 3.65 and 4.95 in terms of color, with sample number one receiving the highest score and sample number eight receiving the lowest score. The odour of the DL samples was scored between 3.20 and 4.60 and the highest score was obtained by sample number one and three and the lowest score was obtained by sample number six.

The consistency of the DL's was scored between 3.20 and 4.61 and the highest score was obtained by sample number 2 and the lowest score was obtained by sample number 1. In terms of taste characteristics, milk jams scored between 2.40 and 4.85 and the highest score was given to sample

number 2 and the lowest score was given to sample number 9. According to the results of sensory analysis, the different materials used in jam making caused different results to be obtained among the samples.

Table 6. Sensory properties of DL samples

Sample no	Colour	Odour	Consistency	Taste/Aroma
1	4.94±0.06 ^D	4.60±0.07 ^E	3.20±0.16 ^A	4.60±0.14 ^H
2	4.40±0.14 ^B	3.60±0.14 ^{BC}	4.61±0.14 ^D	4.85±0.04 ^I
3	4.40±0.03 ^B	4.60±0.06 ^E	4.60±0.07 ^D	2.80±0.03 ^B
4	4.60±0.07 ^{BC}	3.80±0.17 ^C	3.80±0.14 ^{BC}	3.40±0.07 ^D
5	4.80±0.14 ^{CD}	3.40±0.14 ^{AB}	3.60±0.07 ^B	3.80±0.06 ^E
6	4.95±0.5 ^D	3.20±0.21 ^A	4.40±0.14 ^D	4.00±0.07 ^F
7	4.00±0.1 ^A	4.20±0.14 ^D	3.65±0.17 ^B	4.40±0.1 ^G
8	3.65±0.14 ^A	3.80±0.08 ^C	4.00±0.06 ^C	3.00±0.07 ^C
9	4.00±0.11 ^A	3.60±0.11 ^{BC}	3.60±0.07 ^B	2.40±0.03 ^A

A,B,C,D,E,F,G,H,I Indicates the difference between samples ($p < 0.05$).

Cebeci (2020) examined the sensory properties of milk jam samples produced using different milk combinations and found that the taste and odour appreciation of the samples increased as the proportion of cow's milk in the mixture increased. It was found that the consistency properties increased with increasing cow milk ratio in cow milk and sheep milk combinations and decreased with increasing cow milk ratio in goat milk combinations. Chacón-Villalobos et al. (2013) reported that the general liking decreased as the goat milk ratio increased in milk jam samples prepared with different combinations of cow milk and goat milk. When we compared the obtained data with the studies in the literature, contrary to the findings of Cebeci (2020), it was observed that the taste characteristics of sample number two containing sheep milk received higher scores compared to the other samples, similar to the study of Chacón-Villalobos et al. (2013), and the taste appreciation of sample number eight made from goat milk was lower than the other samples.

When the sensory results were interpreted in conjunction with instrumental data, a partial relationship was observed between consumer preferences and key textural properties. Sample 2, which received the highest scores in taste and consistency, also exhibited relatively high

cohesiveness (0.98) and springiness (86.06%), along with moderate hardness (18.11 g) and adhesiveness (-870.98 g.s) values. These characteristics may have contributed to its pleasant mouthfeel and ease of spreadability. On the other hand, Sample 9, which received the lowest score in taste (2.40), had the highest gumminess (18.45) and one of the highest hardness values (18.89 g). Interestingly, it also showed a high cohesiveness value (0.98), indicating that despite some favorable texture traits, excessive hardness and gumminess may have negatively affected consumer acceptance. These findings suggest that certain instrumental texture parameters—particularly gumminess and hardness—are aligned with sensory perceptions and may influence the acceptability of dulce de leche samples.

When the mineral contents of the DL samples were compared, it was observed that the amount of potassium (K) and calcium (Ca) contained in the samples were higher than the other minerals. It was determined that Ca content of DL samples varied between 839.47 and 3286.16 mg/kg, Mg content between 106.70 and 318.58 mg/kg, K content between 821.59 and 3499.90 mg/kg, Na content between 488.76 and 2399.82 mg/kg, Fe content between 27.52 and 75.90 mg/kg, Cu

content between 3.64 and 12.86 mg/kg, Mn content between 0.98 and 3.27 mg/kg, Zn content between 69.98 and 319.30 mg/kg (Table 7). As can be seen, the mineral content of DL showed statistical differences among the samples except for the Mn element. This situation is thought to be due to the addition of a technological food additive during the production

process rather than the difference in the mineral content of the milk affecting the raw material in different DL samples. It was determined that the highest concentration was in mineral Ca. However, Gaze et al. (2015) found that K had the highest concentration among the minerals examined in their study.

Table 7. Mineral content of DL samples (mg/kg)

Sample no	Ca	Mg	K	Na	Fe	Cu	Mn	Zn
1	1431.97±83.12 ^B	210.09±29.13 ^B	1349.97±35.33 ^B	912.24±182.02 ^B	34.85±46.97 ^{AB}	3.64±4.60 ^A	0.98±1.12 ^A	69.98±85.74 ^A
2	2829.57±142.67 ^E	299.74±5.16 ^{CD}	1502.82±64 ^B	1248.15±17.44 ^{BC}	41.78±0.00 ^{ABC}	12.86±4.03 ^B	3.27±1.06 ^A	271.72±35.84 ^{AB}
3	3286.16±339.8 ^F	318.58±28.53 ^D	3222.05±355.93 ^D	2259.51±334.08 ^D	40.09±5.62 ^{ABC}	10.32±1.82 ^{AB}	1.38±0.21 ^A	291.20±36.32 ^B
4	2673.87±196.78 ^{DE}	312.66±27.2 ^{CD}	3499.90±140.95 ^D	2399.82±70.43 ^D	75.90±8.97 ^{BC}	6.57±0.84 ^{AB}	2.71±0.46 ^A	275.26±125.67 ^{AB}
5	839.47±174.49 ^A	106.70±17.59 ^A	821.59±90.76 ^A	1488.96±91.32 ^C	46.13±8.01 ^{ABC}	5.51±1.92 ^A	1.15±0.07 ^A	244.54±29.18 ^{AB}
6	1520.63±115.53 ^B	209.83±74.9 ^B	1507.17±39.73 ^B	1349.70±368.03 ^{BC}	81.06±12.49 ^C	8.55±3.52 ^{AB}	3.06±2.30 ^A	162.44±34.63 ^{AB}
7	932.05±142.49 ^A	122.24±20.68 ^A	1029.98±125.35 ^A	488.76±73.71 ^A	28.31±8.39 ^A	4.37±0.81 ^A	1.52±0.33 ^A	187.66±20.77 ^{AB}
8	2411.19±44.43 ^{CD}	237.88±26.3 ^{BC}	2206.66±24.47 ^C	1531.69±17.88 ^C	27.52±3.09 ^A	8.51±1.34 ^{AB}	1.69±1.12 ^A	319.30±188.83 ^B
9	2043.81±86.94 ^C	210.50±1.22 ^B	1923.27±6.94 ^C	1291.27±56.54 ^{BC}	37.74±3.45 ^{AB}	7.27±4.15 ^{AB}	2.53±2.28 ^A	156.19±18.46 ^{AB}

A,B,C,D,E,F Indicates the difference between samples ($p < 0.05$).

Total phenolic matter values of DL samples are given in Table 8. The lowest TPC value was 810 mg GAE/kg and the highest TPC value was 2830.83 mg GAE/kg. As can be seen in Table 8, the TPC values of the samples varied in a wide range. Tuna (2018) determined the amount of total phenolic matter in milk jams produced by enriching with plain and different fruits as 680 mg

GAE/kg on the first day of storage for plain milk jam and 480 mg GAE/kg on the 60th day of storage. It was determined that the data obtained were higher than the values found by Tuna (2018). It is thought that this may be due to the fact that Tuna (2018) used open boiler cooking method in his study.

Table 8. Total phenolic substance and antioxidant activity values of DL samples

Sample no	TPC (mg GAE/kg)	DPPH (% Inhibition)	TEAC (mmol/g)
1	810.00±117.85 ^A	40.39±0.01 ^B	4.50±1.37 ^A
2	1941.25±103.12 ^{DE}	40.91±4.05 ^B	6.43±1.53 ^B
3	2830.83±23.57 ^G	41.47±3.26 ^B	7.28±0.67 ^B
4	2357.92±73.66 ^F	54.61±1.09 ^C	7.72±0.05 ^B
5	1768.33±223.91 ^{CDE}	12.73±5.34 ^A	7.13±0.37 ^B
6	2155.83±5.9 ^{EF}	71.95±2.67 ^D	7.84±0.06 ^B
7	1437.08±32.41 ^{BC}	43.62±0.02 ^B	7.23±0.26 ^B
8	1676.67±276.95 ^{CD}	52.51±0.89 ^C	7.91±0.00 ^B
9	1268.33±329.98 ^B	38.67±5.04 ^B	7.34±0.37 ^B

A,B,C,D,E,F Indicates the difference between samples ($p < 0.05$).

DPPH % inhibition values of DL samples are given in Table 8. The lowest DPPH inhibition value was 12.73 % and the highest DPPH inhibition value was 71.95 %.

The lowest TEAC value of DL samples was 4.50 mmol TE/g and the highest TEAC value was 7.91 mmol TE/g. Tuna (2018) determined the total

antioxidant activity in DL produced by enriching with plain and different fruits as 50 mmol TE/g on the first day of storage for plain DL and 80 mmol TE/g on the 60th day of storage. Tuna (2018) stated that the sample formulation affected the antioxidant activity and the antioxidant activity of DL produced from apricot, which is rich in carotene, was higher than plain DL. The

values obtained in our study were lower than the values in this study. It is thought that the difference between the TPC, DPPH and TEAC values of the samples is caused by the type and amount of milk used and the production method applied.

CONCLUSIONS

It has been observed that the type of milk used, the amount of milk, the additives and the production method cause differences in product features. Since there is no legal regulation in Turkey that sets the limit values of milk jam composition, the compliance of the examined samples with food legislation could not be evaluated. When the studies in the literature are examined, it has been determined that the studies on DL are limited and there is only one study on DL's produced industrially and offered for sale in Turkey. This study is a resource in terms of eliminating the deficiencies in the literature and will contribute to eliminating the lack of information in this field. However, more detailed and comprehensive studies on DL should be conducted and the standard production of this DL should be determined.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflicts of interest for this article.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Sibel ÖZTOK: investigation, data curation, writing – original draft; Şenol KÖSE: methodology, conceptualization, investigation, resources, supervision, project administration, funding acquisition, writing – review & editing; Yağmur ERİM KÖSE: investigation, data curation, writing – review & editing. All authors read and approved the final manuscript.

REFERENCES

Akal, C., Buran, İ., Delialioğlu, R. A., Yetişemiyen, A. (2018). Farklı şeker oranlarının süt kalite özellikleri üzerine etkisi. *Gıda*, 43(5), 865-875. <https://doi.org/10.15237/gida.GD18067>

Anonymous, (1995) TS 3606 "Gıdalarda Metal iyonlarının Tayini". Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara.

Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official methods of analysis of AOAC international (18th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International.

Bae S. H., Suh H. J. (2007) Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT-Food Science and Technology*, 40(6), 955-962. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.06.007>.

Brand Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset C. L. W. T. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28 (1): 25-30. Bruno, R.C., Oliveira, M.M., Fernandes, M.S., Sehn, G.R., Carvalho, G., Barone, B., Correa, A.C., Bolini H.M. (2018) "Sensory Characterization of Commercial Dulce De Leche with Consumers and Trained Assessors". *Advance Journal of Food Science and Technology*, 1, 6-14.

Chacón-Villalobos, A., Pineda Castro, M. L., Méndez-Rojas, S. G. (2013). Efecto de la proporción de leche bovina y caprina en las características del dulce de leche. *Agronomía Mesoamericana*, 24(1), 149-167.

Cebeci, C. (2020). Farklı süt kombinasyonlarının süt reçeli üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Erim Kose, Y., Altun, I., S. Kose (2018) Determination of texture profile analysis of yogurt produced by industrial and traditional method. *International Journal of Scientific and Technological Research*, 4(8), 66-70.

da Silva, F. L., Ferreira, H. A. L., de Souza, A. B., de Freitas Almeida, D., Stephani, R., Pirozi, M. R., ... & Í. T. Perrone (2015). Production of dulce de leche: The effect of starch addition. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 417-423. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.062>.

Gaze, L. V., Costa, M. P., Monteiro, M. L. G., Lavorato, J. A. A., Júnior, C. C., Raices, R. S. L., ... M. Q. Freitas (2015) Dulce de Leche, a typical product of Latin America: Characterisation by

- physicochemical, optical and instrumental methods. *Food Chemistry*, 169, 471-477. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.017>.
- Giménez, A., Ares, G., & Gámbaro, A. (2008). Consumer reaction to changes in sensory profile of dulce de leche due to lactose hydrolysis. *International Dairy Journal*, 18(9), 951-955. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.12.007>.
- Institute Adolfo Lutz. (2008) Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (4th ed.). São Paulo, Brazil: Instituto Adolfo Lutz.
- Kırca, A., M. Özkan (2007). Değişik amaçlı bazı test ve analiz yön-temleri, Bölüm, 11. Gıda Analizleri (Editör: Bekir Cemeroglu). GıdaTecnolojisi Derneği Yayınları, 34, Ankara. 535.
- Lima, P. C., Marco, I. D., Stein, V., Pagotto, C. K., Rigo, E., Cavalheiro, D., Schogor, A. L. B. (2020). Obtaining and characterizing “dulce de leche” prepared with sheep’s and cow’s milk in different proportions. *Food Science and Technology*, 40, 832-837. <https://doi.org/10.1590/fst.16819>
- Malec, L.S., Llosa, R.A., Vigo, M.S. (1999). Sugar formulation effect on available lysine content of dulce de leche. *Journal of Dairy Research*, 66, 335-339. doi: 10.1017/s0022029999003416.
- Mistry, V. V., Pulgar, J. B. (1996). Physical and storage properties of high milk protein powder. *International Dairy Journal*, 6(2), 195-203.
- Perrone, I. T., Stephani, R., B. S. Neves (2011). Doce de Leite. Aspectos Tecnológicos. Juiz de Fora, MG: Instituto de Laticínios Cândido Tostes.
- Ranalli, N., Andrés S.C., A.N. Califano (2012) Physicochemical and rheological characterization of “dulce de leche”. *Journal of Texture Studies*, 43(2): 115-123. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2011.00321.x>.
- Oliveira, M. N., Penna, A. L. B., Nevarez, H. G. (2009). Production of evaporated milk, sweetened condensed milk and ‘dulce de leche’. In Tamime, A. Y. (Ed.), *Dairy Powders and Concentrated Products* (pp. 149-180). Blackwell Publishing: Oxford, UK.
- Ranalli, N., Andrés, S. C., & Califano, A. N. (2017). Rheological behavior of low-fat dulce de leche with added xanthan gum. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4), e13011. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13011>.
- Smit, G. (2000). *Dairy processing – Improving quality*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Selcuk, A. R., Y. Yılmaz (2009) İşlenmiş üzüm çekirdeği tozu ilavesinin lokum benzeri bir ürünün toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivitesi üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 7(5), 56-61.
- Tuna, C. (2018) Farklı meyvelerle zenginleştirilen süt reçellerinin bazı özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Türk Standartları Enstitüsü, (1982). Meyveler ve Ürünleri. Marmelatlar Standardı (TS 3734). Ankara.
- Yüksel Önür, Z. (2018) Süt reçeli veya dulce de leche: fizikokimyasal karakterizasyonu. *GIDA* (2018) 43(6): 1091-1099. doi: 10.15237/gida.GD180111.

UTILIZATION OF SUNFLOWER WAX OLEOGELS AS COATING MATERIALS TO EXTEND THE SHELF-LIFE OF FRESH MANDARIN FRUITS

Emin YILMAZ*, Merve KARATAŞ, Mehmet Seçkin ADAY

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

Received / Geliş: 28.05.2025; Accepted / Kabul: 15.10.2025; Published online / Online baskı: 31.10.2025

Yılmaz, E., Karataş, M., Aday, M. S. (2025). Utilization of sunflower wax oleogels as coating materials to extend the shelf-life of fresh mandarin fruits. GIDA (2025) 50 (6) 1043-1057 doi: 10.15237/gida.GD25070

Yılmaz, E., Karataş, M., Aday, M. S. (2025). Taze mandalina meyvesinin raf ömrünü uzatmak için ayçiçek mumu oleojellerinin kaplama materyali olarak kullanımı. GIDA (2025) 50 (6) 1043-1057 doi: 10.15237/gida.GD25070

ABSTRACT

This study aimed to coat mandarin fruits with sunflower oil: sunflower wax oleogel (SOO) and sunflower oil: limonene: sunflower wax (SOLO) oleogel. The peak melting temperatures and storage modulus values of the SOO and SOLO were 61.78 and 59.78 °C, and 110 and 130 kPa. After storage, L colour values (brightness) of the samples were 28.27, 55.80, and 56.05 for the control, SOO and SOLO-coated samples. Total weight loss values of 49.51%, 38.09%, and 26.72% were recorded after the storage. Total aerobic viable counts were 100, 50, and 3750 CFU/g for the control, SOO, and SOLO-coated samples. After storage, the total soluble solids were 5.55%, 6.17%, and 7.65% for the same samples. Fresh fruit had 14.9% total soluble solids. Overall, oleogel coating, especially limonene-containing oleogel, provided significant protection against colour change, weight loss and microbial activity. Further studies with different oleogels and oleogels with lower oleogelator concentrations are suggested.

Keywords: Mandarin, oleogel, coating, colour, weight loss, microorganism, shelf-life

TAZE MANDALİNA MEYVESİNİN RAF ÖMRÜNÜ UZATMAK İÇİN AYÇİÇEK MUMU OLEOJELLERİNİN KAPLAMA MATERYALİ OLARAK KULLANIMI

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, mandalina meyvesini ayçiçek yağı: ayçiçek mumu oleojeli (AAO) ve ayçiçek yağı: limonen: ayçiçek mumu oleojeli (ALAO) ile kaplamaktır. AAO ve ALAO'nun ergime pik noktaları ve depo modül değerleri 61.78 ve 59.78 °C ve 110 ve 130 kPa olarak ölçülmüştür. Bir aylık depolama sonunda mandalina örneklerinin L renk değerleri (parlaklık) kontrol, AAO-kaplanmış ve ALAO-kaplanmış için 28.27, 55.80, ve 56.05 olarak ölçülmüştür. Toplam ağırlık kayıpları da depolama sonunda %49.51, %38.09, ve %26.72 olarak belirlenmiştir. Aynı örnekler için toplam aerobik sayım değerleri ise 100, 50, ve 3750 CFU/g olarak belirlenmiştir. Depolama sonunda toplam çözünür katılar %5.55, %6.17, ve %7.65 olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak oleojel kaplama ve özellikle limonen içeren kaplamanın renk değişimi, ağırlık kaybı ve mikrobiyal aktiviteye karşı önemli koruma sağladığı ortaya konulmuştur. Farklı oleojeller ve daha düşük oleojeletör konsantrasyonuyla hazırlanan oleojeller ile daha ileri araştırmalar önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: Mandalina, oleojel, kaplama, renk, ağırlık kaybı, mikroorganizma, raf-ömür

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: eyilmaz@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018/2054

☎: (+90) 286 218 0541

Emin Yılmaz; ORCID no: 0000-0003-1527-5042

Merve Karataş; ORCID no: 0000-0002-7271-6054

Mehmet Seçkin Aday; ORCID no: 0000-0002-5669-5812

INTRODUCTION

Mandarin (*Citrus reticulata*), also known as mandarine or tangerine, is a small, rounded fruit belonging to the citrus family (*Rutaceae*). It is a non-climacteric and perishable fruit, which makes it unsuitable for prolonged transit and storage. Mandarin fruits may be preserved for 1 to 2 weeks after harvest, depending on temperature and humidity (Rokaya et al., 2016). Mandarin is one of Turkey's predominant citrus crop producing 1.865.000 tons in 2022, and being third order in the world behind China and EU (Aygören, 2023).

Weight loss and fungal deterioration are the primary factors limiting the storage life of mandarins (Whangchai et al., 2010). Due to the chemical residues, the use of chemical disinfection to mitigate rotting has declined, and the need for ecologically sustainable preservation techniques has heightened (Hong et al., 2007). The use of edible coatings on fruits has garnered global interest, as these coatings safeguard perishables from spoilage by diminishing respiration, enhancing textural quality, preserving volatile flavour compounds, and inhibiting microbial growth (Nasrin et al., 2018). Coatings may be produced from several components, including carbohydrates (starch, cellulose, alginates), proteins (gelatin, whey protein, casein, zein), and lipids (waxes, oils, fats). Consequently, systems like hydrogels, oleogels, or their combination as bigels may serve as edible coverings (Kanelaki et al., 2022).

Oleogels are soft, solid or solid-like substances produced by incorporating an oleogelator into liquid oil under suitable processing conditions. Oleogelators having a crystalline phase are known to concurrently organize into supramolecular structures exhibiting highly asymmetric morphologies akin to fibres or platelets. The asymmetric shape enhances the contact area among self-assembled structures, ultimately resulting in oleogelation (Co & Marangoni, 2012; Ramezani et al., 2024). As far as we have reached, there has been no direct utilization of oleogels as coating materials for food products. Plant waxes and other lipid-based materials were used as

composites in edible coatings. In one of them (Khorram et al., 2017), oranges were coated with gelatin, Persian gum and shellac. Shellac is a well-known oleogelator to prepare edible oleogels (Co & Marangoni, 2012). In another study (Motamedi et al., 2018), carnauba wax-nanoclay emulsion was used to coat a film on oranges. Likewise, β -sitosterol-corn oil oleogel was mixed with gelatin to control film water permeability (Xiao et al., 2019). Oyom et al. (2024) reported that oleogel-based coatings substantially reduced moisture loss and fat absorption in chicken nuggets, enhancing lightness (L) and a^* values without notable alterations in pH or textural characteristics. Since oleogels have not been directly used as edible coatings for fruits, this study would be essential to point out another use of the oleogels.

To our knowledge, the use of oleogels for preserving mandarin quality has not been investigated yet. The aim of this research was to assess the effectiveness of oleogels composed of sunflower oil and sunflower wax in a 90:10 weight ratio and that composed of sunflower oil, limonene, and sunflower wax in an 80:10:10 ratio to preserve mandarin from spoilage during a 30-day storage period at room temperature.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The mandarin fruits (Satsuma variety) used in this research were collected from a summer garden in the Edremit district (Balıkesir, Türkiye) and were promptly transferred to the laboratory. Sunflower oil (100 g product; 100 g fat, 10 g saturated fat, 33 g monounsaturated fat, 57 g polyunsaturated fat, 0 mg cholesterol, 0 g carbohydrate, 0 g protein) used for the preparation of oleogels was procured from Bıryağ, Trakya Birlik Oil Factory (Tekirdağ, Türkiye). Sunflower wax (6607L), used as an organogelator, was acquired from Kahlwax Co. (Kalh et al., Tritttau, Germany). Aromsa Besin Aroma Katkı Mad (Gebze, Kocaeli) provided liquid limonene. Hypet Media Plate Count Agar (PCA) Ready Medium, Hypet Media Plate Dextrose Agar (PDA) Ready Medium, and Sterile Dry Swab (Without Medium) components used for microbiological counts were acquired from DiaTek Diagnostic Products Technical Co.

(Istanbul, Türkiye). All additional chemicals, consumables, standards, and materials were purchased from Sigma Chem. Co. (St. Louis, USA), Merck (Darmstadt, Germany), and local enterprises.

Preparation of the oleogels as coating solutions

The two kinds of oleogels used for coating mandarin fruits were first made in batches of 500 grams. The first oleogel (SOO) was created using sunflower oil (SO) and sunflower wax (SW) oleogelator in a weight ratio of 90:10. In the second formulation (SOLO), sunflower oil, sunflower wax, and limonene (L) were combined in a weight ratio of 80:10:10. To manufacture the oleogels, the requisite quantity of sunflower oil

was measured in a 1 L beaker, followed by the addition of the specified amounts of sunflower wax. The mixture was agitated in a water bath maintained at 80°C to guarantee the complete melting of the wax and its uniform integration with the oil. In the formulation incorporating limonene, the measured limonene was included in the mixture after the melting process and well blended. The resulting homogenous liquid mixture was removed from the water bath and allowed to cool to room temperature autonomously. The oleogels that solidified upon cooling to room temperature were stored in the refrigerator overnight. The oleogels can be observed in Fig. 1.



Fig. 1. The sunflower oil-sunflower wax oleogel (SOO) and the sunflower oil-limonene-sunflower wax oleogel (SOLO) used in mandarin coatings.

Thermal and rheological assessment of the prepared oleogels

The thermal characteristics of the oleogels produced were evaluated using a Perkin-Elmer 4000 Series Differential Scanning Calorimeter (DSC) (Groningen, The Netherlands). The equipment was once calibrated using Indium and Zinc. Approximately 5-7 mg of each sample was deposited into aluminum pans and sealed. The temperature protocol included heating samples from 20 °C to 100 °C at a rate of 10 °C/min for complete melting, chilling samples to - 30 °C at the same rate and maintaining that temperature for 3 minutes to ensure complete crystallization, followed by reheating the samples to 100 °C at a

rate of 5 °C/min. This thermal cycling methodology, including our published findings, is often used in almost all oleogel research to ascertain crystallization and melting temperatures and enthalpies concurrently. The computations were performed using the Pyris 1 Manager Software (Yilmaz et al., 2021).

A DHR 2 rheometer (TA Instruments, USA) equipped with cross-hatched parallel plate geometry ($\Phi = 40$ mm, gap 0.9 ± 0.1 mm) and a Peltier system ($\pm 0.1^\circ\text{C}$) underneath the bottom plate was used to evaluate the rheological parameters of the oleogel samples. Amplitude

sweep tests (strain = 0.01–100%) were conducted at 10 °C with a frequency of 1 Hz for each oleogel sample to ascertain the linear viscoelastic region (LVR). The LVR was identified from the stress sweeps as a plateau in the storage (G') and loss (G'') modulus. Following the strain assessment inside the LVR, frequency sweep tests were conducted for each sample at 10 °C, with LVR strains identified by the amplitude sweep test (0.02–0.26%) and frequencies ranging from 0.1 to 100 Hz. A temperature ramp test was conducted from 0°C to 50°C at a rate of 1°C/min and a frequency of 1 Hz inside the linear viscoelastic zone. Each sample underwent three tests, and the findings were reported as average values (Yılmaz et al., 2021).

Coatings of mandarin fruits

Mandarins were randomly divided among three groups after washing and drying under tap water. The first set of samples was neither treated nor coated and served as the control treatment (C). A portion of the second sample group was coated by immersion in SOO (sunflower oil-sunflower wax oleogel). The third group was immersed in SOLO (sunflower oil-limonen-sunflower wax oleogel). The direct coating was administered by immersing the mandarins in each melted oleogel for about 10 seconds at 80 °C temperature, followed by one minute of drainage of excess coating before storage of the samples. The samples prepared were maintained at ambient temperature ($20 \pm 5^\circ\text{C}$) for one month. Measurements and analyses were conducted on 1st, 8th, 15th, 22nd, and 30th days of the storage period. Pictures of the samples were also taken during the storage period.

Mandarin analyses during the storage period

Peel hue

Five fruits were randomly picked from each group to assess the exterior (peel) colour diversity. The CIELab coordinates L^* (lightness), a^* (green-red component), and b^* (blue-yellow component) were calculated as the mean of three measurements per fruit using a Minolta CR400 (Minolta, Japan). The L^* , a^* , and b^* values were computed using the D65 illuminant by the CIELab scale (Strano et al., 2021).

Weight loss of the fruits

The reduction in fresh weight was calculated as a percentage by deducting the beginning weight from the final weight at designated sample intervals. Five fruits per replication were used for weight loss assessment (Ali et al., 2021).

Quantification of aerobic plate counts, total yeasts and molds

The aerobic plate counts (APC) and total yeasts and moulds (YM) for fresh mandarins were assessed using the methodology of Nam et al. (2019). Five grams of mandarin peels were shredded and combined with 45 mL of sterilized peptone water. Serial dilutions were prepared in peptone water and then plated on plate count agar and potato dextrose agar for aerobic plate count (APC) and yeast-mold (YM) enumeration, respectively (Difco Lab., Franklin Lakes, NJ, USA) for the enumeration of APC at 35 °C for 24 to 48 hours and YM at 25 °C for 5 to 7 days. The plates were incubated under the specified conditions. The colonies were quantified and represented as colony-forming units per gram (CFU/g). Plating and counting were conducted in triplicate to assure precision.

Assessment of total soluble solids (Brix), titratable acidity (TA), and pH

Randomly selected, four mandarin fruits were squeezed to get the fruit juice, and the juice was used for the pH and total soluble solid ($^\circ\text{Brix}$) measurements. A pH meter probe (PB-11) was put into the juice, and the pH value was read and recorded several times. An Abbe 5 refractometer (Bellingham and Stanley, UK) calibrated against ultrapure water was used to read the Brix value of the fruit juice at room temperature several times. The titratable acidity of the juice sample was assessed according to Kashyap et al. (2020) using titration with 0.1 N NaOH, reaching a pH endpoint of 8.2, as observed by a pH meter. It was confirmed that the burette contained no air before the titration commenced. The beaker was continually agitated with an electronic stirring bar while NaOH was gradually introduced to the solution. The data was presented as a percentage of citric acid.

Statistical analysis

In this study, mandarin coatings were conducted two times, and for each coating, the listed analyses were completed in triplicate. The data provided were the means and standard deviations of six measurements. Comparison of the treatment groups was achieved by the Analysis of Variance with means comparison of Tukey's test. Minitab ver. 16.1 (Minitab, 2010) software was used with a 95% level of confidence.

RESULTS AND DISCUSSION

Thermal and rheological properties of the oleogels used as coatings

This study assessed two oleogels (SOO and SOLO) prepared and used for mandarin coatings for DSC-determined thermal properties

(Table 1). In addition to the oleogels, the sunflower oil (SO) and sunflower wax (SW) used to create them were also analyzed. The melting peak temperatures of SO and SW were -18.26 and 67.78 °C and were quite in agreement with the literature (Yılmaz et al., 2021). The SOO oleogel, including 10% of wax, had a 61.78 °C peak melting temperature, while the SOLO oleogel, including 10% of each SW and limonene, had a 59.78 °C peak melting temperature. The presence of limonene caused a slight reduction in peak melting temperature. Fully melted oleogels started crystallizing at 51.51 and 49.99 °C, respectively (Table 1). Eventually, both oleogels were solid at room temperature, and the coated mandarins were stored.

Table 1. Thermal properties of the sunflower oil, sunflower wax, and the oleogels (SOO and SOLO) used in mandarin coatings.

	Crystallization			Melting		
	Onset _c (°C)	Peak (T _c , °C)	ΔH _c (J/g)	Onset _m (°C)	Peak (T _m , °C)	ΔH _m (J/g)
Sunflower Oil (SO)	-39.30 ± 0.5 ^{d*}	-35.22 ± 0.5 ^c	1.39 ± 0.5 ^d	-16.54 ± 0.5 ^c	-18.26 ± 0.2 ^c	-2.30 ± 0.5 ^a
Sunflower Wax (SW)	69.31 ± 0.2 ^a	78.34 ± 0.4 ^a	201.65 ± 0.2 ^a	73.81 ± 0.5 ^a	67.78 ± 0.5 ^a	-206.94 ± 0.2 ^d
Sunflower Oil Oleogel (SOO)	51.51 ± 0.2 ^b	65.07 ± 0.1 ^b	16.04 ± 0.2 ^c	63.34 ± 0.0 ^b	61.78 ± 0.0 ^b	-16.52 ± 0.2 ^b
Sunflower Oil-Limonen Oleogel (SOLO)	49.99 ± 0.5 ^c	64.72 ± 0.5 ^b	19.54 ± 0.0 ^b	63.74 ± 0.5 ^b	59.78 ± 0.5 ^b	-19.49 ± 0.0 ^c

*Small letters within each column indicate significant differences among the samples for the mean ± SD values by one-way analysis of variance and Tukey's test ($p \leq 0.05$).

The amplitude and frequency sweep test graphics of the oleogel samples are presented in Fig. 2. The amplitude tests were completed first to determine the linear viscoelastic region (LVR, the non-destructive deformation range) of each sample. All further rheological measurements were done within the LVR strains per the requirement of correct rheology. The LVR strains were 0.1% and 0.15% for SOO and SOLO samples. Further, the sinusoidal response signals (phase-shift angle) were between 0° and 45° during the amplitude tests, indicating an actual gel-like state. The amplitude sweep tests also suggested that the gel structure could be destroyed at around 0.9% and 1.0% oscillatory strains for SOLO and SOO samples since the crossover point ($G' = G''$) was observed (Mezger, 2014).

To understand the time-dependent behavior of the oleogels at LVR, oscillatory frequency sweep tests are completed by stepwise enhancement of angular frequency from 0.1 rad/s to 1000 rad/s (Fig. 2). Practically, frequency sweep tests provide information about the inner structure and behavior, and long-term stability for the gels (Mezger, 2014). Both samples showed higher storage moduli (G') values than loss moduli (G'') values throughout the applied frequency range. Consequently, both samples had true-gel and stable gel structures within the range. The G' component of gel viscosity indicates the solid-like properties of samples (elastic portion), while G'' indicates the liquid-like (viscous portion) properties. Further, the G'' / G' value is named the loss (damping) factor and describes the

viscoelastic behavior (Mezger, 2014). Consequently, the graphic in Fig. 2 shows that both samples had higher storage modulus (around 110 and 130 kPa) values than those of the loss modulus (around 100 and 101 kPa) for the SOLO and SOO samples, respectively. Both samples were clearly strong gels, and SOLO gel stiffness

was slightly higher than the SOO sample. The limonene component might have created additional network structures or enhanced wax crystal networks. Similar phenomena were reported for other wax oleogels (Yılmaz et al., 2021).

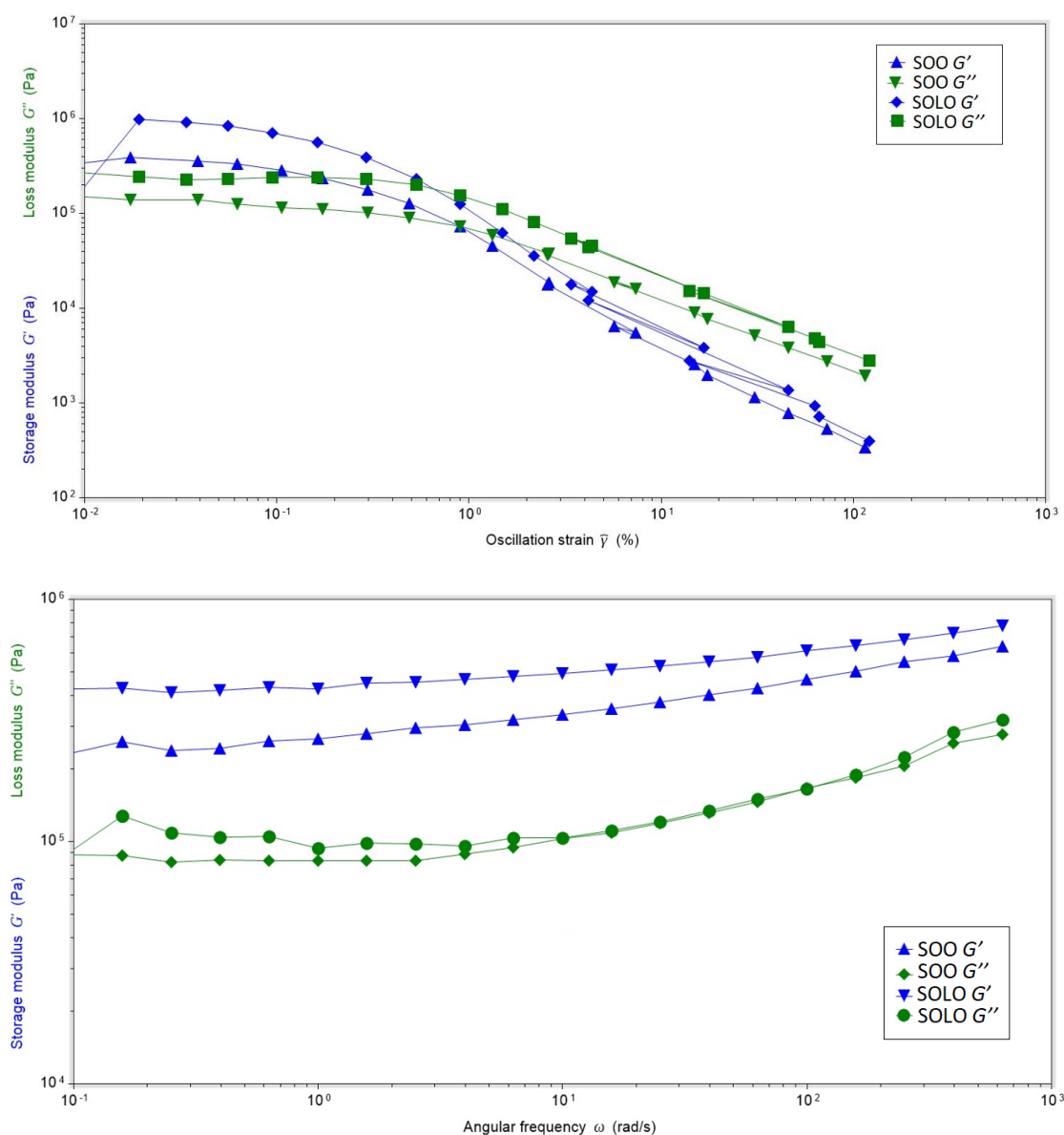


Fig. 2. The amplitude and frequency sweep graphics of the prepared oleogels used in mandarin coatings (SOO: sunflower oil-sunflower wax oleogel, SOLO: sunflower oil-limonene-sunflower wax oleogel).

Lastly, the temperature-ramp test graphics are given in Fig. 3. Both samples kept their gelled state intact from 5 to 50 °C, enhancing temperature, since within the range, the G' value was always higher than the G'' value. The SOO sample had around 140 kPa G' value at 5 °C and decreased to 105 kPa at 50 °C. However, at 50 °C, the G'' value was much lower at around 12 kPa. A similar situation existed for the SOLO

sample, but at the endpoint (50 °C), it had a 130 kPa G' , proving that the SOLO sample was stiffer at even elevated temperatures. None of the samples showed a crossover point, keeping their actual gel structure up to 50 °C surrounding temperatures. Consequently, oleogel-coated mandarins would not have any melting and drainage problems at room temperature.

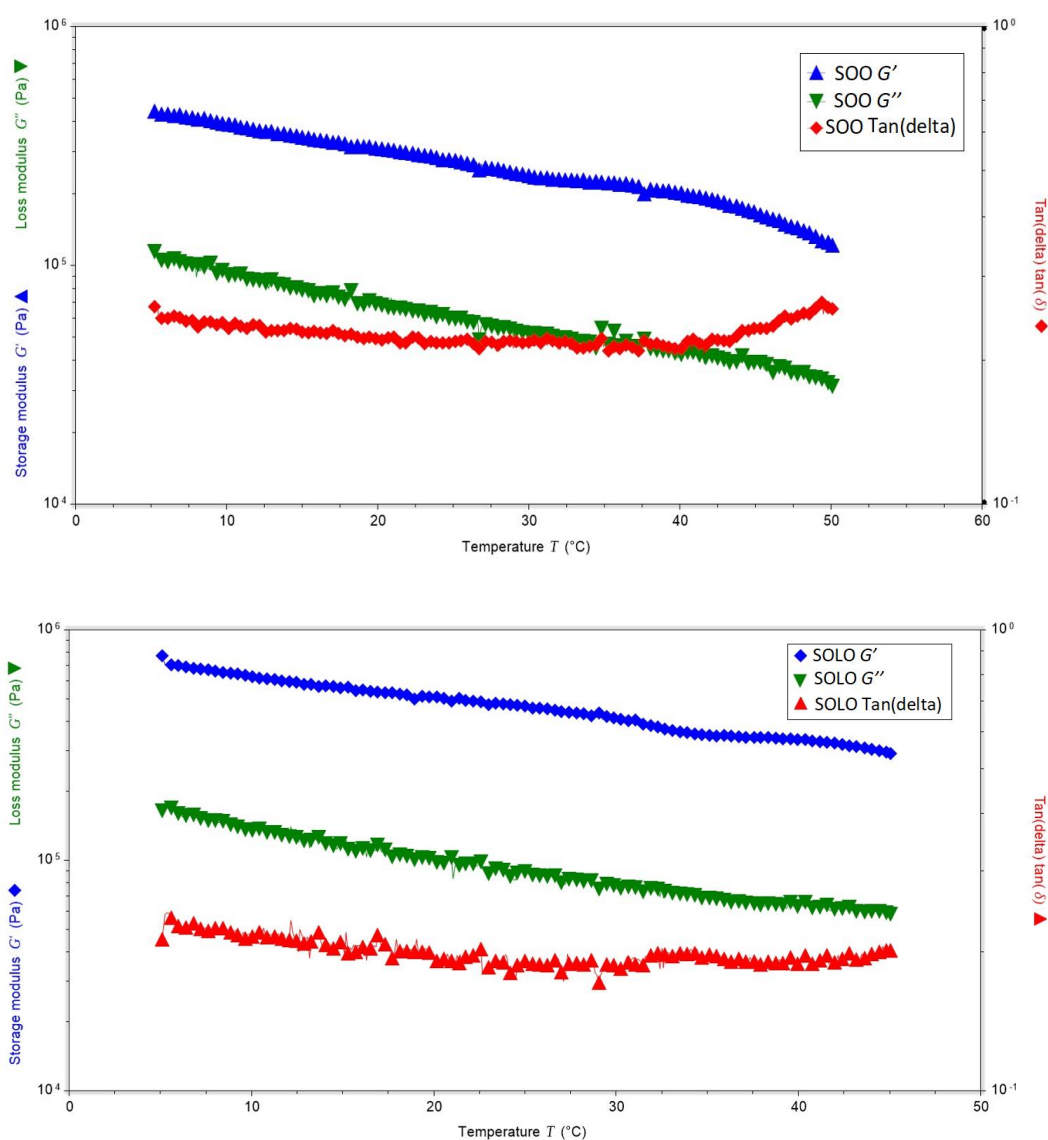


Fig. 3. The temperature ramp test graphics of the oleogels used in mandarin coatings (SOO: sunflower oil-sunflower wax oleogel, SOLO: sunflower oil-limonen-sunflower wax oleogel).

Colour values of the control and oleogel coated mandarins stored for a month

The development of fruit pigmentation is significantly influenced by environmental factors, including light and temperature; mandarin fruits also exemplify considerable variety in colour (Strano et al., 2021). The SOO and SOLO oleogels coated and control mandarins were stored for one month at room temperature (controlled by an air-conditioner strictly at $20 \pm 5^\circ\text{C}$), and their pictures were taken on the 1st, 8th, 15th, 22th, and 30th days (Fig. 4). Further, the peel colour values (L^* , a^* and b^*) were measured (Table 2). The surfaces of coated mandarins were clearly shiny on the first day due to the lipid-based coating. As the storage was prolonged, the oleogel-coated surface became dull due to the solidification of sunflower oil. Also, some crusting occurred. After 8 days, the control mandarins became darker, and their sizes were reduced, possibly due to excessive water loss (Fig. 4). The L^* levels in mandarins generally decline across all groups during storage. This trend is more pronounced in control groups but is detected at diminished levels in coated samples. The diminishing impact of reduced L^* values may be attributed to fruit dehydration (Hong et al., 2007) and an elevated respiratory rate (Bang et al., 2020) in control samples. The measured colour values agree with the observed facts in the picture (Fig. 4). The L^* values of samples on the first day were 61.32, 66.28, and 78.25 for the control, SOO, and SOLO-coated samples, respectively. The fresh oleogel coating was bright. As storage time extended, samples' L^* values decreased since the control sample had colour change by darkening, while oleogel-coated samples had a solid oleogel appearance dominating. All samples had positive a^* values indicating red components of the colour. Likewise, positive b^* values show the observed yellow colours of the mandarins. While the a^* values were usually decreased during storage, the b^* values were generally enhanced. Most importantly, there were some fluctuations in the colour values of the oleogel-coated samples. The reason for this was the crusting of the oleogel coating. After 8 days, the oleogel crusts started to crumble. These pictures and colour data proved that coated

oleogel could be thinner with lower oleogelator concentration. Consequently, experiments with wax oleogelators that are less than 10 wt% used could be suggested. Overall, the oleogel-coated mandarin samples kept their surface colour and shape better than the control sample (Fig. 4). As the storage period lingered, extensive wrinkling and darkening occurred in the control samples. It was also essential to follow the weight changes in the samples.

Weight loss values of the control and oleogel coated mandarins stored for a month

The weight loss values of control and oleogel-coated mandarin samples were summarized in Fig. 5. The loss of moisture often results in observable symptoms of wilting and/or wrinkling in a fresh product, eventually causing considerable economic losses (Ali et al., 2021). The weight loss of mandarin fruits significantly increased from the 8th to the 30th days, regardless of the coating and control groups (Fig. 5). Nonetheless, the augmentation in fresh weight loss of mandarin fruits was much greater in the control group compared to the coated groups. There were significant differences among the samples on each measurement day from 8th days towards 30th days. During the storage days, the control sample always had higher weight loss values than the SOO and SOLO-coated samples. The weight loss values of 13.49%, 29.89%, 41.81% and 49.51% were recorded at the 8th, 15th, 22th, and 30th days of storage for the control sample. For all measurement days, these values were significantly higher than the values for SOO and SOLO coated samples (3.16%, 13.52%, 29.17%, 38.09% and 5.59%, 13.63%, 20.58%, 26.72%, respectively). Further, weight loss values were the lowest in SOLO-coated samples. SOLO coating prevented weight loss more efficiently, possibly due to slowing the water evaporation rate. It was previously stated that the peak melting temperature of SOLO was lower than that of the SOO (Table 1), but SOLO was stiffer than SOO (Fig. 2). Further, the SOLO sample had better temperature resistance once heated (Fig. 3). Also, it could be observed from Fig. 4 that SOLO coated mandarins had a little less crusting. Since it included limonene in addition to sunflower oil

and wax, the stiffer and better coating ability might be due to the limonene. Further mechanistic studies can be suggested to clear this phenomenon. The reduction in fresh weight of coated fruits was likely reduced owing to the establishment of a semi-permeable barrier between mandarin fruits and their storage environment (Ali et al., 2021), as well as decreased

rates of respiration and transpiration (Baswal et al., 2020). These operations aim to decrease moisture from fresh fruit, eventually compromising citrus fruit quality (Haider et al., 2020). Consistent with our findings, Khorram et al. (2017) observed that coating treatments substantially mitigated weight loss in mandarin fruits.

STORAGE DAYS	CONTROL	SOO	SOLO
1			
8			
15			
22			
30			

Table 2. The color values of the control and oleogel coated mandarin samples during one month storage period.

Storage Day	Control Mandarin		
	L* Value	a* Value	b* Value
1	61.32 ± 1.02 ^{a*}	34.98 ± 0.90 ^a	58.15 ± 3.24 ^a
8	63.50 ± 5.45 ^a	31.64 ± 7.50 ^b	47.32 ± 9.63 ^a
15	51.56 ± 8.55 ^b	30.46 ± 8.25 ^b	45.79 ± 6.25 ^b
22	48.78 ± 4.95 ^b	27.59 ± 9.30 ^{bc}	39.38 ± 8.70 ^c
30	28.27 ± 9.02 ^c	28.10 ± 10.50 ^b	36.59 ± 10.30 ^c
	SOO Coated Mandarin		
	L* Value	a* Value	b* Value
1	66.28 ± 1.35 ^a	25.02 ± 1.05 ^a	41.96 ± 8.55 ^a
8	58.44 ± 7.44 ^b	15.18 ± 9.33 ^b	24.47 ± 12.15 ^b
15	56.99 ± 8.45 ^b	17.68 ± 8.55 ^b	23.09 ± 10.22 ^b
22	45.95 ± 10.00 ^b	9.78 ± 7.83 ^c	14.93 ± 5.65 ^c
30	55.80 ± 15.90 ^b	10.83 ± 9.55 ^c	20.75 ± 10.55 ^b
	SOLO Coated Mandarin		
	L* Value	a* Value	b* Value
1	78.25 ± 3.70 ^a	9.72 ± 3.20 ^b	12.72 ± 6.34 ^b
8	61.77 ± 4.90 ^b	22.09 ± 7.63 ^a	24.66 ± 20.03 ^a
15	57.23 ± 6.00 ^c	18.51 ± 10.04 ^a	26.98 ± 16.83 ^a
22	23.78 ± 3.15 ^d	10.55 ± 2.55 ^b	14.67 ± 2.80 ^b
30	56.05 ± 5.80 ^c	18.33 ± 10.10 ^a	24.05 ± 13.61 ^a

*Small letters within each column indicate significant differences among the samples for the mean ± SD values by one-way analysis of variance and Tukey's test ($p \leq 0.05$).

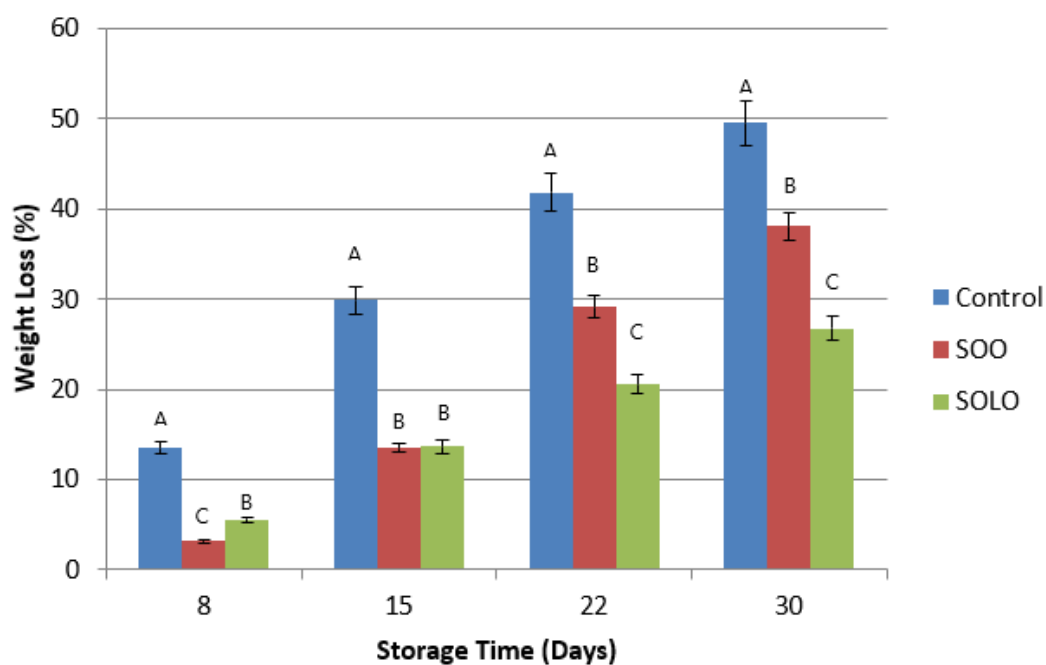


Fig. 5. The weight loss values of the control and oleogel coated mandarin samples during the storage period at room temperature (SOO: sunflower oil-sunflower wax oleogel, SOLO: sunflower oil-limonen-sunflower wax oleogel).

Aerobic plate counts, total yeasts and molds of the control and oleogel coated mandarins stored for a month

The microbiological quality of mandarins subjected to edible coatings during storage is shown in Table 3. Aerobic plate counts (APC), and yeasts and molds (YM) were quantified every 7 days throughout a 30-day storage period. The microbial burden of total viable count decreased at 8th and particularly on the 22nd days for the control group. The outer surface of the control group may have begun to desiccate, resulting in a reduced quantity of microorganisms during these drying phases. The total microbial load assessed from fruit peels indicated that the control group was statistically significant, differing from the other samples in all measures conducted at the various periods. SOO-coated samples had no microbial enumeration until the

22nd day and SOLO-coated samples had no count until the 30th days. Oleogel coating significantly enhanced the microbial quality of mandarins. As explained in the method sections, mandarins were dipped into melted oleogel at 80 °C and kept for 10 seconds before taking out and cooling to coat the surface. Even though the time was short, at 80 °C, a melted oleogel environment might kill all microorganisms. This operational benefit could be accounted for as a positive for oleogel coatings. Further, coating itself might slow down microbial proliferation due to limited oxygen access. Also, a much better protective effect of SOLO coating could be attributed to the limonene in the oleogel formulation. Limonene is well known for its anti-microbial activity (Riberio et al., 2023). Overall, oleogel coating for mandarins could be very beneficial in preventing microbial spoilage.

Table 3. The total viable, total fungi and yeast counts of the control and oleogel coated mandarins during the storage period.

Storage Day	Total Aerobic Plate Count (CFU/g)		
	Control Mandarin	SOO Coated Mandarin	SOLO Coated Mandarin
1	6800	-	-
8	4500	-	-
15	5000	-	-
22	2000 ^{a*}	50 ^b	-
30	3750 ^a	100 ^b	50 ^c
	Total Fungi/Yeast Count (CFU/g)		
	Control Mandarin	SOO Coated Mandarin	SOLO Coated Mandarin
1	Nct.	-	-
8	500000	-	-
15	150000	-	-
22	4000 ^a	50 ^b	-
30	4500 ^a	200 ^b	50 ^c

*Small letters within each row indicate significant differences among the samples for the mean $\pm$ SD values by one-way analysis of variance and Tukey's test ($p \leq 0.05$). Nct.: Countless

Total soluble solids (Brix), titratable acidity (TA), and pH of the fresh and control and oleogel coated mandarins stored for a month

Total soluble solids (TSS or Brix) are a crucial determinant of quality, primarily influencing sweetness and consumer acceptance of fruits (Selcuk & Erkan, 2015). The TSS of all groups shown in Table 4 decreased after storage. The fruit coated with SOLO exhibited a significantly higher TSS (7.65%) compared to the control (5.55%) and SOO-coated samples (6.17%) after

the completion of one month of storage. The fresh fruit TSS was measured as 14.9% at the beginning. TSS loss was significant in all samples, but the SOLO coating was better overall. The coating may alter the gas composition inside the fruit (oxygen and carbon dioxide), thereby influencing respiratory metabolism, postponing the synthesis and breakdown of carbohydrates, and slowing the microbial activity to reduce sugar usage in the fruit (Gao et al., 2018). It can be inferred that the SOLO coating effectively sealed

the pores/stomata and regulated the respiration process of fruits more efficiently than the SOO coating.

Table 4. Some physico-chemical measures of the fresh, and after 30 days of storage for the control and oleogel coated mandarines.

		Fresh Mandarin	After 30 Days of Storage		
			Control Mandarin	SOO Coated Mandarin	SOLO Coated Mandarin
Total Soluble Solids (%)		14.9 ± 0.01 ^{a*}	5.55 ± 0.00 ^d	6.17 ± 0.01 ^c	7.65 ± 0.00 ^b
Titrateable Acidity (% Citrate)		0.14 ± 0.01 ^a	0.12 ± 0.05 ^b	0.11 ± 0.04 ^c	0.11 ± 0.01 ^c
pH		4.33 ± 0.01 ^a	3.72 ± 0.01 ^b	3.64 ± 0.01 ^c	3.61 ± 0.01 ^d

*Small letters within each row indicate significant differences among the samples for the mean ± SD values by one-way analysis of variance and Tukey's test ($p \leq 0.05$).

The primary constituents of titrateable acidity (TA) are organic acids, which often serve as substrates in the enzymatic activities of respiration. Consequently, TA content is considered a significant indication of the respiration rate of fruits (Xu et al., 2018). After 30 days, significant alterations in TA were seen in both control (0.12% citrate) and coated fruits (0.11% citrate for each) relative to their original levels (0.14% citrate) in fresh fruits (Table 4). All coating treatments and the control significantly reduced

TA while prolonging the storage duration. The decrease in TA concentration while preserving citrus fruit may be attributed to using organic acids for energy generation. Acids may have been used for alcoholic fermentation in harvested citrus (Roongruangsri et al., 2013). Consequently, it may be inferred that coatings were ineffective in decelerating the degradation of organic acids during storage.

Fresh Mandarin

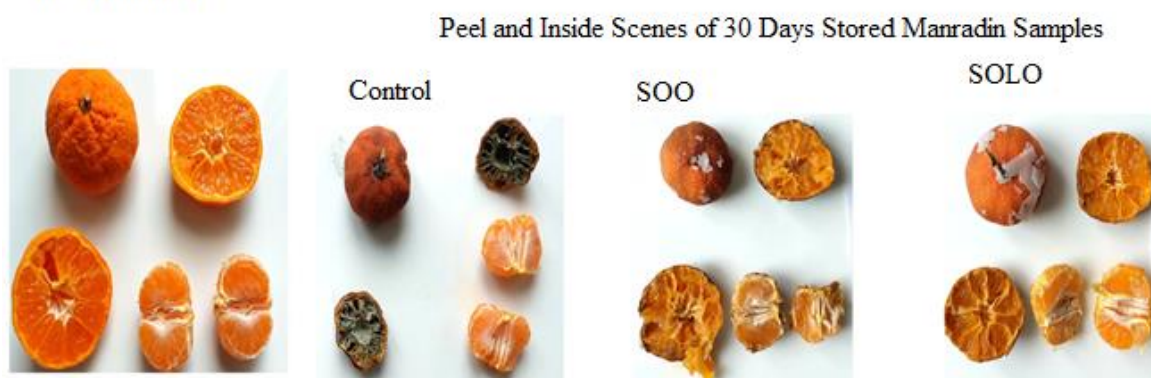


Fig. 6. The fruit peel and flesh scenes of the control and oleogels coated mandarin samples after 30 days of storage period (SOO: sunflower oil-sunflower wax oleogel, SOLO: sunflower oil-limonen-sunflower wax oleogel).

The impact of coating treatments on the pH of mandarin flesh during storage is also shown in Table 4. The initial pH and total acidity values were 4.33 and 0.14%, respectively. The findings of this investigation indicate that the coating treatments influenced the pH of the mandarin flesh in comparison to control samples. The pH values for coated samples ranged from 3.61 to 3.64 significantly lower than the fresh fruit and lower than the stored control sample ($p > 0.05$). Clearly, coatings have protected organic acids from degradation to provide a lower pH value. This situation might cause taste and aroma differences (Roongruangsri et al., 2013).

CONCLUSIONS

This study is a pioneer investigation of oleogel coatings on fresh mandarin fruits to prolong their shelf-life. Sunflower oil: sunflower wax (10 wt%) and sunflower oil: sunflower wax: limonene (10 wt% each) oleogels were used. For one month storage at room temperature, some indices were followed. Oleogel coatings preserved fruits from excessive moisture loss and colour changes. Oleogel coatings provided significant microbiological protection to mandarin fruits. After one-month, coated samples had lower total soluble solids and titratable acidity than fresh fruits, but the values were better than the control sample stored for one month. Overall, oleogel coatings for mandarin fruit prolonged the shelf-life to almost one month, which is considered an essential achievement. Further studies with different oleogel formulations and other oleogelator levels are suggested to improve the applicability of the technique.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Emin Yılmaz: supervision, project administration, writing-review & editing. Merve Karataş: investigation, resources, formal analysis. Mehmet Seckin Aday: visualization, writing-original draft.

REFERENCES

- Ali, S., Anjum, M.A., Ejaz, S., Hussain, S., Ercisli, S., Saleem, M.S., Sardar, H. (2021). Carboxymethyl cellulose coating delays chilling injury development and maintains the eating quality of 'Kinnow' mandarin fruits during low-temperature storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 168: 77-85. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.028
- Aygören, E. (2023) Ürün raporu: Turunçgiller 2023. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Bang, I.H., Lee, E.S., Lee, H.S., Min, S.C. (2020). Microbial decontamination system combines antimicrobial solution washing and atmospheric dielectric barrier discharge cold plasma treatment to preserve mandarins. *Postharvest Biology and Technology*, 162: 111102. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2019.111102
- Baswal, A., Dhaliwal, H., Singh, Z., Mahajan, B.V.C., Kalia, A., Gill, K.S. (2020). Influence of carboxymethylcellulose, chitosan and beeswax coatings on cold storage life and quality of Kinnow mandarin fruit. *Scientia Horticulturae*, 260: 108887. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108887>
- Co, E.D., Marangoni, A.G. (2012). Organogels: An alternative edible oil-structuring method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89:749-780. <https://doi.org/10.1007/s11746-012-2049-3>
- Gao, Y., Kan, C., Chen, M., Chen, C., Chen, Y., Fu, Y., Wan, C., Chen, J. (2018). Effects of chitosan-based coatings enriched with cinnamaldehyde on Mandarin fruit cv. Ponkan during room-temperature storage. *Coatings*, 8: 372. <https://doi.org/10.3390/coatings8100372>
- Haider, S.A., Ahmad, S., Khan, A.S., Anjum, M.A., Nasir, M., Naz, S. (2020). Effects of salicylic acid on postharvest fruit quality of "Kinnow" mandarin under cold storage. *Scientia Horticulturae*, 259: 108843. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108843>
- Hong, S.I., Lee, H.H., Kim, D. (2007). Effects of hot water treatment on the storage stability of satsuma mandarin as a postharvest decay control.

- Postharvest Biology and Technology*, 43: 271-279. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2006.09.008
- Kanelaki, A., Zampouni, K., Mourtzinis, I. (2022). Hydrogels, oleogels, and bagels are edible coatings of sardine fillets and delivery systems for rosemary extract. *Gels*, 8: 660. <https://doi.org/10.3390/gels8100660>
- Kashyap, K., Kashyap, D., Nitin, M., Banu, S. (2020). Characterizing the nutrient composition, physiological maturity, and effect of cold storage in Khasi mandarin (*Citrus et al.*). *International Journal of Fruit Science*, 20: 521–540. DOI: 10.1080/15538362.2019.1666334
- Khorram, F., Ramezani, A., Hosseini, S.M.H. (2017). Effect of different edible coatings on postharvest quality of 'Kinnow' mandarin. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11: 1827-1833. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9564-8>
- Mezger, T.G. (2014). *Applied Rheology*. Anton Paar GmbH, Austria. 191 pp. ISBN 973-3-9504016-0-8.
- Minitab. (2010). Minitab Statistical Software (Version 16.1). Minitab, Inc., State College, Pennsylvania, US.
- Motamedi, E., Nasiri, J., Malidarreh, T.R., Safari, M. (2018). Performance of carnauba wax-nano clay emulsion coatings on the 'Valencia' orange fruit postharvest quality. *Scientia Horticulturae*, 240: 170–178. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.06.002
- Nam, H.A., Ramakrishnan, S.R., Kwon, J.H. (2019). Effects of electron-beam irradiation on the quality characteristics of mandarin oranges (*Citrus unshiu* (Swingle) Marcov) during storage. *Food Chemistry*, 286: 338–345. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.02.009
- Nasrin, T., Islam, M., Rahman, M., Ullah, M. (2018). Evaluation of postharvest quality of edible coated mandarin at ambient storage. *International Journal of Agricultural Research* 8: 18-25. DOI: 10.3329/ijar.v8i1.38225
- Oyom, W., Mahmud, N., Islam, J. (2024). Enhancing the oxidative stability, physicochemical and sensory quality of deep-fat fried chicken nuggets using thyme essential oil-loaded oleogel coatings. *Progress in Organic Coatings*, 186: 107977. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2023.107977
- Ramezani, M., Salvia-Trujillo, L., Martín-Belloso, O. (2024). Modulating edible-oleogels physical and functional characteristics by controlling their microstructure. *Food & Function*, 15: 663-675. DOI: 10.1039/D3FO03491G
- Ribeiro, A.D., Cardoso, M.N.A., Freire, J.C.P. (2023). Antimicrobial activity of limonene: Integrative review. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas Medicinales y Aromáticas*, 22: 581 – 593. DOI: 10.37360/blacpma.23.22.5.42
- Rokaya, P.R., Baral, D.R., Gautam, D.M., Paudyal, K.P. (2016). Effect of postharvest treatments on quality and shelf life of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *American Journal of Plant Sciences*, 7: 1098-1105. DOI: 10.4236/ajps.2016.77105
- Roongruangsri, W., Rattanapanone, N., Leksawasdi, N. (2013). Influence of storage conditions on physico-chemical and biochemical of two tangerine cultivars. *Journal of Agricultural Science*, 5: 70. DOI: 10.5539/jas.v5n2p70
- Selcuk, N., Erkan, M. (2015). The effects of 1-MCP treatment on fruit quality of medlar fruit (*Eriobotrya et al.* cv. Istanbul) during long-term storage in the palliflex storage system. *Postharvest Biology and Technology*, 100: 81-90. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.09.018>
- Strano, M.C., Timpanaro, N., Allegra, M. (2021). Effect of ozonated water combined with sodium bicarbonate on microbial load and shelf life of cold stored clementine (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.). *Scientia Horticulturae*, 276: 109775. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109775
- Whangchai, K., Saengnil, K., Singkamanee, C. (2010). Effect of electrolyzed oxidizing water and continuous ozone exposure on the control of *Penicillium digitatum* on tangerine cv. 'Sai Nam Pung' during storage. *Crop Protection*, 29: 386–389. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.12.024>
- Xiao, J., Zhang, M., Wang, W., Teng, A., Liu, A., Ye, R., Liu, Y., Wang, K., Ding, J., Wu, X. (2019).

An attempt of using β -sitosterol-corn oil oleogels to improve water barrier properties of gelatin film. *Journal of Food Science*, 84: 1447- 1455. DOI: 10.1111/1750-3841.14621

Xu, D., Qin, H., Ren, D. (2018). Prolonged preservation of tangerine fruits using chitosan/montmorillonite composite coating. *Postharvest Biology and Technology*, 143: 50-57.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.04.013>

Yilmaz, E., Keskin Uslu, E., Öz, C. (2021). Oleogels of some plant waxes: Characterization and comparison with sunflower wax oleogel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98: 643-655. <https://doi.org/10.1002/aocs.12490>

MİKROENKAPSÜLE SU KEFİRİ: PROBİYOTİK STABİLİTE, DEPOLAMA VE SİNDİRİM SİSTEMİNDE CANLILIK ÜZERİNE ETKİSİ**Aysun KULUÇLU¹, Nilgün ÖZDEMİR², Tuğba KÖK TAŞ^{1*}**¹ Suleyman Demirel University, Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Isparta, Turkey² Ondokuz Mayıs University, Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Samsun, Turkey

Geliş /Received 15.06.2025; Kabul /Accepted: 15.10.2025; Online baskı /Published online: 04.11.2025

Kuluçlu, A., Özdemir, N., Kök Taş, T. (2025). Mikroenkapsüle su kefir: Probiyotik stabilite, depolama ve sindirim sisteminde canlılık üzerine etkisi. GIDA (2025) 50 (6) 1058-1076 doi: 10.15237/gida.GD25076

Kuluçlu, A., Özdemir, N., Kök Taş, T. (2025). Microencapsulated water kefir: Effect on probiotic stability, storage and survival in the gastrointestinal tract. GIDA (2025) 50 (6) 1058-1076 doi: 10.15237/gida.GD25076

ÖZ

Bu çalışmada ekstrüzyon tekniğiyle su kefir (SK) ve *Lactocaseibacillus casei* (LC) farklı taşıyıcı materyallerle kaplanarak, depolama süresince fizikokimyasal özelliklerinin ve gastrointestinal sistemde probiyotik canlılık düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Taşıyıcı materyal olarak aljinat-nişasta ve aljinat-jelatin kombinasyonları kullanılmıştır. Ekstrüzyon ile mikrokapsüle edilen organizmalar liyofilizasyonla kurutulmuş; kuru kapsüller +4°C ve -18°C'de 30 gün depolanarak fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve gastrointestinal canlılık analizlerine tabi tutulmuştur. Fizikokimyasal analizlerde kapsüllerin boyutları 2.56–3.13 mm, su aktiviteleri 0.28–0.35 olarak saptanmıştır. Depolama boyunca aljinat-jelatin kapsüller aljinat-nişasta kombinasyonuna kıyasla daha stabil bulunmuş, aljinat-nişasta ise daha yavaş salınım göstermiştir. Salınım testlerinde 37°C'de 120 dakikada en yüksek canlı hücre çıkışı gözlenmiş; aljinat-jelatin salınım verimliliği daha yüksek bulunmuştur. Simüle mide ve bağırsak ortamlarında probiyotik canlılığın özellikle bağırsak fazında azaldığı belirlenmiştir. Duyusal analizlerde kapsül eklenmiş ürünler görünüş, koku ve tat açısından panelistlerce olumlu değerlendirilmiştir. Sonuç olarak mikroenkapsülasyon su kefirinin probiyotik potansiyelini koruyarak fonksiyonel gıdalarda uygulanabilirliğini artırmaktadır. İlerleyen çalışmalarda farklı kaplama kombinasyonları ve teknikleri araştırılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Su kefir, mikroenkapsülasyon, kaplama materyalleri, gastrointestinal sistem

MICROENCAPSULATED WATER KEFIR: EFFECT ON PROBIOTIC STABILITY, STORAGE AND SURVIVAL IN THE GASTROINTESTINAL TRACT**ABSTRACT**

In this study, water kefir (SK) and *Lactocaseibacillus casei* (LC) were encapsulated with different carrier materials using the extrusion technique to evaluate physicochemical properties during storage and probiotic viability under simulated gastrointestinal conditions. Alginate-starch and alginate-gelatin combinations were applied as carriers. Encapsulated microorganisms were lyophilized, and dried capsules were stored at +4°C and -18°C for 30 days, followed by physicochemical, microbiological,

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ tugbakoktas@sdu.edu.tr

☎: (+90) 246 211 8055

Aysun Kuluçlu, ORCID no: 0000-0002-8161-704X

Nilgün Özdemir, ORCID no: 0000-0002-4517-9214

Tuğba Kök Taş, ORCID no: 0000-0001-8813-6479

and viability analyses. Capsule sizes ranged between 2.56–3.13 mm, while water activity was 0.28–0.35. During storage, alginate-gelatin capsules showed greater stability, whereas alginate-starch provided slower and more controlled release. In release tests, maximum viable cell counts were obtained at 37°C after 120 min, with higher release efficiency in alginate-gelatin. Simulated gastrointestinal assays indicated significantly reduced probiotic survival, particularly in the intestinal phase. Sensory evaluation revealed that capsule-enriched products were positively perceived by panelists. Overall, microencapsulation effectively preserved the probiotic potential of water kefir, supporting its promising application in functional foods.

Keywords: Water kefir, microencapsulation, coating materials, gastrointestinal system

GİRİŞ

İnsanlar probiyotik mikroorganizmaları genellikle çeşitli gıdalar aracılığıyla vücutlarına alırlar. Bu mikroorganizmaların sağlık üzerindeki olumlu etkilerini gösterebilmesi için günlük tüketim miktarının yeterli olması, probiyotik ürünün en az 10^6 KOB/g veya mL düzeyinde canlı bakteri içermesi gerekir (Hernandez-Mendoza vd., 2007). Ayrıca probiyotiklerin faydalı etkilerini ortaya çıkarabilmesi için düzenli tüketilmeleri, toksik olmamaları, mide ve safra asitlerine direnç göstermeleri ve bağırsak ortamına yeterli sayıda ulaşabilmeleri önemli kriterlerdir (Geniş ve Tuncer, 2019). Probiyotiklerin insan sağlığına çok sayıda yararlı etkisi bulunmakta; bu mikroorganizmaların taşıyıcı gıdası söz konusu olduğunda ise pH, tampon kapasitesi ve besleyici bileşim gibi faktörlerden dolayı ilk akla gelen grup süt ve süt ürünleridir. Ancak laktoz intoleransı bulunan ya da vegan beslenen bireyler için bu ürünlerin tüketimi mümkün olmamaktadır. Bu durum, probiyotik ihtiyacının bitkisel bazlı alternatiflerle karşılanmasına yönelik arayışları artırmış ve su kefirini bu açıdan cazip bir seçenek haline getirmiştir.

Su kefir; su, kuru meyve ve şeker karışımına su kefir danelerinin inoküle edilmesiyle elde edilen, geleneksel yollarla üretilen fermente bir içecektir (Gulitz vd., 2013; Laureys ve De Vuyst, 2014; Laureys vd., 2017; Marsh vd., 2013; Stadie vd., 2013). Karışımın oda sıcaklığında, anaerobik koşullar altında genellikle 24-36 saat fermente edilmesiyle oluşan bu içecek; hafif tatlı, asidik, alkollü, köpüklü ve meyvemsi aromaya sahip, sarımsı renkte bir üründür. Su kefir daneleri bünyesinde çok sayıda mikroorganizma bulunur. Bu fermentasyon sürecinde temel mikroorganizmalar; laktik asit bakterileri (*Lactilactobacillus hilgardii*, *Liquorilactobacillus nagelii*,

Lactilactobacillus casei) ve mayalar (*Saccharomyces cerevisiae*) olmak üzere farklı türlerden oluşur (Laureys ve De Vuyst, 2017). Mikroorganizmaların gelişimi ve metabolizması üzerinde su kefirine özgü koşullar (örneğin, oksijenin varlığı, mayaların ve asetik asit bakterilerinin etkisi) önemli rol oynar. Ayrıca, suyun içeriğinde yer alan kalsiyum iyonları ve tampon maddeler, su kefir taneciklerinin büyüme koşulları için gereklidir (Laureys ve De Vuyst, 2017).

Fermente ürünlerde, probiyotik mikroorganizmaların yeterli sayıda canlı kalmasını sağlamak önemli bir hedeftir. Bununla birlikte, mikroorganizmaların bağırsak sistemine ulaşana kadar geçirdikleri yolculukta depolama koşulları, mide ve safra asitlerine karşı dirençsizlik gibi çeşitli engellerle karşılaşmaktadır. Fermente ürünler bu açıdan bir avantaj olarak görünüyor olsa da probiyotik bakterilerin mide-bağırsak koşullarında hayatta kalabilmeleri için daha koruyucu teknolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu noktada mikroenkapsülasyon yöntemi, probiyotiklerin çeşitli stres faktörlerine karşı korunmasında ve kontrollü salınımında önemli bir alternatif sağlamaktadır. Mikroenkapsülasyon; katı, sıvı ya da gaz fazındaki gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücrelerin ya da diğer aktif maddelerin bir protein veya karbonhidrat bazlı kaplama materyaliyle kuşatılarak mikroskobik kapsüller oluşturulmasını ifade eder (Cho vd., 2003).

Mikroenkapsülasyon uygulamaları sayesinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığı ve stabilitesi artmakta, sindirim koşullarında hayatta kalma oranları iyileşmekte ve raf ömürleri uzamaktadır. Ayrıca bu teknik, probiyotik bakterilerin hedeflenen bölgede kontrollü şekilde salınmasını sağlamaktadır. Süt ve süt ürünlerinin probiyotiklerin canlılığını korumada etkin bir

ortam sunduğu bilinmesine karşın vegan bireyler için bu ürünlerin tüketilememesi, alternatif taşıyıcı matris arayışlarını gündeme getirmiştir (Manjunatha vd., 2024; How ve Pui 2022). Su kefiri bu açıdan uygun bir temel oluşturmakla birlikte, bu fermente içecekten elde edilen probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsüle edilmesiyle ürünün işlevselliği artırılabilir (Darvishzadeh ve Orsat, 2022). Bu yaklaşım sayesinde farklı gıda formülasyonlarında kullanılabilen, vegan tüketicilerin beslenmesine uygun, depolama ve tüketim esnasında daha dayanıklı probiyotik ürünler geliştirmek mümkün olacaktır.

Sonuç olarak, su kefiri kaynaklı mikroorganizmaların mikroenkapsülasyon teknolojisiyle korunarak çeşitli gıda matrislerine entegre edilmesi, probiyotiklerin biyoyararlanımını artırmaya ve bu sayede her tüketici grubuna hitap eden yenilikçi ürünlerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Bu doğrultuda, projenin amacı; su kefiri gibi geniş mikrobiyal çeşitliliğe sahip bir üründen elde edilen probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyon yoluyla hedefe ulaştırılmasını sağlamak ve vegan bireyler de dahil olmak üzere tüm tüketici profillerinin probiyotik alımını kolaylaştırarak alternatif kullanım alanları yaratmaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Su kefiri daneleri, İstanbul'da bulunan Canberk Maya'dan temin edilmiştir. Temin edilen su kefir danesinin mikrobiyolojik içerikleri; *Lactobacillus* spp. 5.42 log KOB/g, *Lactococcus* spp. 4.41 log KOB/g, asetik asit bakterileri 5.43 log KOB/g ve maya 5.46 log KOB/g olarak belirlenmiştir. *Lacticaseibacillus casei* (ATCC 393, NCDO 161, WDCM 00100) standart kültürü, Almanya'daki DSMZ firmasından sağlanmıştır. Enkapsülasyon işlemi için kullanılan jelatin ve aljinat Alfamol (Türkiye) firmasından, nişasta ise Dr. Oetker (Türkiye)'den tedarik edilmiştir. Duyusal analiz için Kellogg's (Türkiye) markalı kahvaltılık gevrek ve Ülker Tam Yağlı İçim Süt (Türkiye) kullanılmıştır. Mikrobiyolojik analizlerde besiyerleri Conda (İspanya) markasına ve diğer

tüm kimyasallar Sigma-Aldrich (Almanya) markasına aittir.

Su kefirinin (SK) hazırlanması

Su kefir kültürünü hazırlamak için 100 mL saf suya %2 şeker (sükroz), %2 kuru üzüm ve %2 su kefiri danesi eklenmiş, ardından oda sıcaklığında (25°C) 24 saat anaerobik koşullarda fermantasyona bırakılmıştır. İşlemin ardından su kefir daneleri ayrılarak elde edilen süzüntü deneylerde kullanılmıştır. Kullanılan su kefirinin pH değeri 4.6 ve toplam *Lactobacillus* spp. sayısı 6.2 log KOB/mL olarak tespit edilmiştir (Kaya vd., 2025).

Lacticaseibacillus casei (LC)'nin hazırlanması

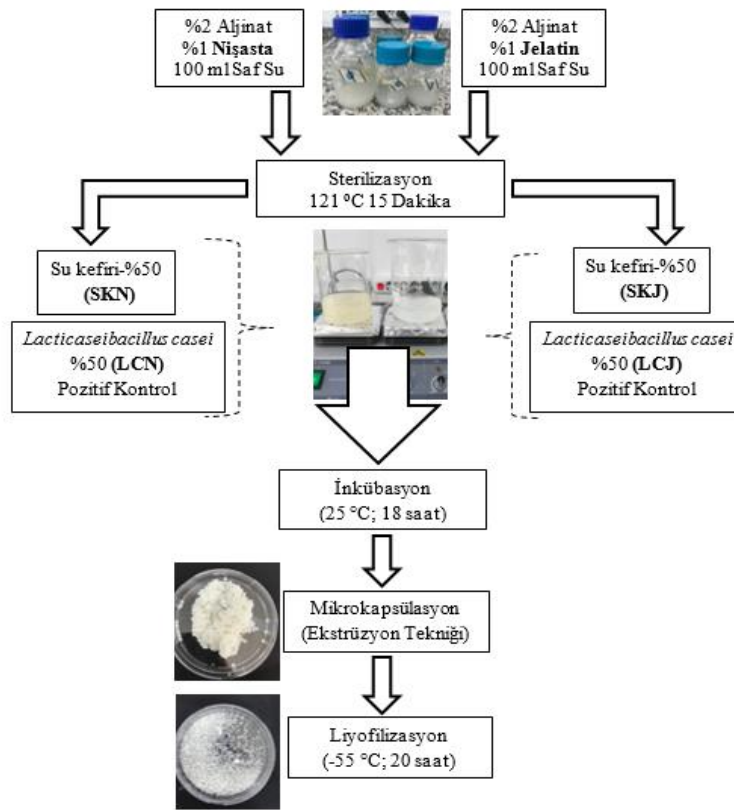
Pozitif kontrol grubunu oluşturmak için Süleyman Demirel Üniversitesi Süt Analizleri Laboratuvarı'nda -20°C'de olan stok kültürden 100 µL *L. casei* alınarak 990 µL MRS broth'a ekilmiş ve 37°C'de 48 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir. İnkübasyondan sonra aktif kültürden 1 mL alınıp 9 mL MRS broth'a aktararak 37°C'de 24 saat daha inkübasyon yapılmıştır. İnkübasyonun ardından bakteri çözeltisi 50 mL'lik steril tüplere aktarılmış, 4°C'de 4100 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek pelet elde edilmiştir. Üst faz atıldıktan sonra pelet fosfat tamponu (pH 7.0) kullanılarak yeniden süspansiyon edilmiştir. Süspansiyon vortexlenmiş, 1 mL alınarak diğer tüplere aktarılmış ve her tüpe 3 mL fosfat tamponu eklenerek vortexlenmiştir. Tüm tüplerdeki bakteri çözeltisi son olarak tek tüpte toplanarak yaklaşık 40 mL aktif bakteri süspansiyonu elde edilmiştir (Aydogdu vd., 2025).

Mikrokapsülasyon örneklerinin hazırlanması

Kaplama maddesi seçimi için farklı maddeler (jelatin, nişasta, kinoa) ve çeşitli konsantrasyonlar (%0.1, %0.5, %1.0, %2.0) kullanılarak ön deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda en uygun kaplama materyali kombinasyonlarının aljinat-nişasta ve aljinat-jelatin olduğuna karar verilmiştir (Şekil 1). Bu kapsamda 100 mL'lik %2 sodyum aljinat ve %1 jelatin çözeltisinden 50 mL hazırlanmış, içerisine 50 mL su kefiri ve *L. casei* kültürü (log 9 KOB/mL) eklenerek bir grup oluşturulmuştur. Aynı şekilde %2 sodyum aljinat

ve %1 nişasta çözeltisiyle hazırlanan 50 mL'lik çözeltiye de 50 mL su kefir ve *L. casei* kültürü eklenerek ikinci grup oluşturulmuştur (Çizelge 1). Her iki grup da 25°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İşlemin ardından ekstrüzyon yöntemiyle kapsüller hazırlanmış, bunun için tüm cam malzemeler ve 0.1 M CaCl₂ (kalsiyum klorür) çözeltisi 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Steril siringa kullanılarak 5 mL numune 0.1 M CaCl₂ çözeltisi içine 10 cm yükseklikten damlatılmış, manyetik karıştırıcıda (Staufen, Almanya) homojen şekilde karışması sağlanmış ve

kapsüller elde edilmiştir (Reid vd., 2005). Kapsüller, steril filtre kâğıdıyla süzildükten sonra tartılmıştır (Şekil 1). Ardından kapsüller steril petri kaplarında -18°C'de ön dondurma yapılmış, sonrasında liyofilizatörde (Xianou-12 N Freeze Dryer) -55°C'de 24 saat liyofilize edilmiştir. İşlemin sonunda kapsüller tekrar tartılarak ağırlık değişimleri kaydedilmiş (Şekil 1), ardından steril falkon tüplerine aktararak +4°C ve -18°C koşullarında 30 gün depolanmıştır. Bu çalışmada, iki farklı kaplama materyali ve iki farklı kültür kullanılarak dört farklı kapsül grubu elde edilmiştir.



Şekil 1. Mikroenkapsülasyon akış şeması

Figure 1. Microencapsulation flow chart

Çizelge 1. Enkapsülasyon bileşenlerinin oranları ve örneklerin kodlamaları

Table 1. Proportions of encapsulation components and coding of samples

Kapsül çeşitleri	Taşıyıcılar	Kullanılan Kültür Miktarı
SKN	Aljinat (%2)-Nişasta (%1)	Su kefir (%50)
LCN	Aljinat (%2)-Nişasta (%1)	<i>Lactocaseibacillus casei</i> (%50)
SKJ	Aljinat (%2)-Jelatin (%1)	Su kefir (%50)
LCJ	Aljinat (%2)-Jelatin (%1)	<i>Lactocaseibacillus casei</i> (%50)

Fizikokimyasal analizler

Kapsüllerin boyutları oda sıcaklığında bir kumpas (Piranha, Çin) yardımıyla ölçülmüş, her örnek grubundan rastgele seçilen beş kapsül için ölçümler yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir (Nadeem vd., 2011).

Kapsüllerin liyofilizasyon öncesi ve sonrasındaki ağırlıkları hassas teraziyle (Weightlab Instruments, Çin) ölçülmüş, elde edilen verim oranları % cinsinden hesaplanarak kaydedilmiştir (Nadeem vd., 2011).

Liyofilize edilmiş ve depolanan kapsüllerin nem oranı KERN DBS60-3 (Almanya) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Ölçüm için alüminyum kaplara 2.5 g kapsül örneği eklenmiş ve sabit değer elde edilinceye kadar beklenmiş, cihazın gösterdiği değer kaydedilmiştir (Sanprasert vd., 2025). Kapsüllerin su aktivitesi, Aqualab Dewpoint Water Activity Meter (4TE, ABD) cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Analiz için örnek cihazın örnek kabındaki işaret çizgisine kadar yerleştirilmiş ve cihazda sabit değer okunana kadar beklenmiş, ölçüm sonucu not edilmiştir. Ölçümler 20°C'de yapılmıştır (Rather vd., 2017; Nadeem vd., 2011).

Kapsüllerin renk ölçümü Minolta Chroma Meter (CR-400, Osaka, Japonya) cihazında L*, a*, b* renk sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Nadeem vd., 2011).

Hazırlanan kapsül çözeltilerinin pH değerleri, WTW (Almanya) marka pH-metre kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümden önce cihaz uygun tampon çözeltilerle kalibre edilmiştir. Hazırlanan örnekler steril falkon tüplerine aktarılmış ve pH ölçümleri yapılmıştır (Rather vd., 2017; Nadeem vd., 2011).

Kurutulmuş kapsüllerin yüzey morfolojileri Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan taramalı elektron mikroskobu (FEI Quanta 250 FEG, Oregon, ABD) kullanılarak incelenmiştir. Kapsüller vakum ortamında farklı büyütme oranlarında incelenerek SEM görüntüleri elde edilmiştir (Rather vd., 2017).

Mikrobiyolojik analizler

Yaş kapsüllerden 1 g, kuru kapsüllerden 0.1 g alınarak 9 mL'lik fizyolojik tuzlu su çözeltisi ilave edilmiş ve homojenize cihazı (Heidolph SilentCrusher M, Almanya) yardımı ile homojenize edilmiştir. Dilüsyonlardan 1 mL alınmış ve MRS agarda dökme plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Paralelli bir şekilde ekimi yapılan petriler 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir (Kaya vd. 2025). Yapılan analiz sonucunda hazırlanan kapsül örneklerinin salınım verimliliği Çizelge 4.'de belirtilen % verimlilik olarak hesaplanmıştır.

Mikroorganizma salınım testi

Kapsüllerden mikroorganizma salınımının belirlenebilmesi için her bir örnekten 0.1 g liyofilize kapsül tartılmış ve önceden sterilize edilmiş 9 mL 0.1 M fosfat tamponuna (KH₂PO₄, pH 7.2) eklenmiştir. Numuneler 37°C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon boyunca 0., 30., 60. ve 120. dakikalarda her tüpten 1 mL örnek alınmış, seri dilüsyonları hazırlanarak MRS agar besiyerine dökme plak yöntemiyle ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Analiz sonuçlarında kapsüllerdeki mikroorganizma salınım verimlilikleri, başlangıçtaki toplam canlı hücre sayısına oranlanarak yüzde (%) verimlilik şeklinde hesaplanmıştır (Rather vd. 2017).

Simüle mide ortamında kapsüllerdeki mikroorganizma sayımı

Kapsüllerin mide ortamında canlılığının korunmasını değerlendirmek için in vitro koşullarda simüle mide ortamı hazırlanmıştır. Bu amaçla 100 mL model mide ortamı için 0.8 g NaCl, 0.02 g KCl, 0.181 g Na₂HPO₄·2H₂O ve 0.025 g KH₂PO₄ tartılıp 100 mL saf suyla çözündürülmüştür. Hazırlanan çözeltinin pH değeri HCl kullanılarak 2.4'e ayarlanmış ve 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında çözeltinin pH'sı 2.2 olarak ölçülmüştür. Daha sonra, bu çözeltiden 7 mL'lik kısım steril bir cam tüpe alınmış ve içerisine 0.3 g pepsin eklenerek vortekste çözündürülmüştür. Bu karışım steril filtre yardımıyla 93 mL çözeltinin içine aktarılmıştır. Hazırlanan simüle mide ortamı steril cam tüplere paylaştırılmış, her tüpe 0.5 g kapsül eklenerek

37°C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince 0., 1. ve 2. saatlerde her tüpten 1 mL örnek alınarak seri dilüsyonlar hazırlanmış, ardından MRS agar ortamında dökme plak yöntemiyle ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübasyon uygulanmıştır. Analiz sonunda kapsüllerdeki mikroorganizma salınım verimliliği, başlangıç sayısına oranlanarak % verimlilik şeklinde ifade edilmiştir.

Simüle bağırsak ortamında kapsüllerdeki mikroorganizma sayımı

Kapsüllerin bağırsak ortamında canlılığının incelenebilmesi için in vitro koşullarda simüle bağırsak ortamı hazırlanmıştır. Bu amaçla 100 mL model bağırsak ortamı için 0.8 g NaCl, 0.02 g KCl, 0.181 g Na₂HPO₄·2H₂O ve 0.025 g KH₂PO₄ tartılıp 100 mL saf suyla çözündürülmüş, çözeltinin pH değeri NaOH kullanılarak 8.2'ye ayarlanmış ve 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrası çözeltinin pH'sı 8.0 olarak ölçülmüştür. Hazırlanan çözeltiden 20 mL alınıp steril cam şişeye aktarılmış, üzerine 0.5 g safra tuzu, 0.1 g tripsin ve 0.2 g pankreatin ilave edilerek vortekste karıştırıldıktan sonra steril filtreyle geri kalan 80 mL çözeltiyle birleştirilmiştir. Bu simüle bağırsak ortamı steril cam tüplere paylaştırılmış ve her tüpe 0.5 g kapsül eklenerek 37°C'de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süreç boyunca 0., 2. ve 4. saatlerde örneklerden 1 mL alınmış, seri dilüsyonlar hazırlanarak MRS agar ortamında dökme plak yöntemiyle ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Analiz sonunda kapsüllerdeki mikroorganizma salınım verimliliği, başlangıç değerlerine oranlanarak % verimlilik şeklinde belirlenmiştir (Krasaekoopt vd. 2004).

Veri Normalizasyonu ve Verimlilik Hesaplaması

DeneySEL verilerin karşılaştırılabilir hale getirilmesi için öncelikle yaş (Y) ve kuru (K) değerler normalize edilmiştir. Normalize etme işlemi, farklı başlangıç değerlerinden kaynaklanabilecek varyasyonları ortadan kaldırmak ve örnekler arasında adil bir karşılaştırma yapabilmek için gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla iki farklı normalizasyon yöntemi uygulanmıştır. Maksimum değer normalizasyonu için depolama

verimliliğinde değişken taşıyıcı hedef alınarak, aynı gruptaki örneklerin ortalaması alınmıştır. Simülasyon verimliliği hesabında ise değişken kültür hedef alınarak, aynı gruptaki örneklerin ortalaması alınmıştır. Çarpan hesaplanmıştır (Rather vd. 2017; Sanprasert vd., 2025).

$C_{ort} = Y_i / Y_{ort}$ (1): Ortalama değere göre okunan değerler (Kuru kapsül, simülasyon sonrası değerler) çarpına bölünerek normalize edilmiştir. $K_{norm} = K_i / C_{ort}$ (2): Bu normalizasyon işlemleri sonrasında verimlilik hesaplanmıştır.

$\eta_b = (K_{norm} / Y_{ort}) * 100$ (3): Bu yöntem sayesinde farklı başlangıç değerlerine sahip örnekler arasında doğrudan kıyaslama yapılabilir hale gelmiştir. Diğer verimlilik hesaplamaları da bu teori ile yapılmıştır.

Kapsüllerin üründe kullanımı ve duyuusal analizi

Granüller tartılıp plastik kaplara alınmıştır. %1 granül olacak şekilde üzerine soğuk süt eklenmiştir. Daha sonra kontrol grubuna kapsüller ilave edilmemiş, diğer grup için 0.2 g kapsül ilave edilmiştir. Bir tüketicinin probiyotik alması için o ürün içindeki miktar 10⁶ KOB/g olması gerektiğinden (Hernandez-Mendoza vd., 2007) kapsül oranı bu alım oranına göre hesaplanmıştır. Hazırlanan karışım panelistlere sunulmuştur. Bu çalışmada ürüne eklenen kapsüllerin kontrol ile farklılığı eşlenmiş kıyaslama testiyle incelenmiştir. Analize, Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim elemanları ve öğrencileri arasından seçilen 12 panelist katılmıştır. Her paneliste test için ortak bir saat dilimi belirlenmiş ve Altuğ-Onoğur ve Elmacı (2019) ekindeki tablolardan yararlanılarak eşlenmiş kıyaslama testi gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel analiz

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS (Versiyon 23.0) yazılımı kullanılmış, veriler tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile incelenmiş ve sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma testiyle değerlendirilmiştir ($P < 0.05$). İki grup arasındaki kıyaslamalar için ise Student's t-testi uygulanmış ve $P < 0.05$ istatistiksel açıdan önemli kabul edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Kapsül örneklerinin fiziko-kimyasal özellikleri

Ön denemelerde yapılan pH ölçüm sonuçlarına göre kapsülün yapısının küre şeklinde oluşması için pH değeri düşük (pH 4.0'ın altında) olmamalıdır. Düşük pH ile yapılan kapsüllerin yapı olarak düzensiz olduğu ve yumuşak olduğu tespit edilmiştir. Tüm gruplarda pH 4.45–4.60 aralığındadır. SKJ (jelatinli su kefir) sayısal olarak biraz daha düşük pH değeri gösteriyor (4.45), bu da fermentasyonun daha aktif olduğunu ve asit üretiminin yüksek olabileceğini gösterse de bu farklılık istatistiksel olarak örnekler arasında anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır ($P > 0.05$) (Çizelge 2). Hazırlanan kapsül solüsyonlarının pH değerleri oluşan kapsüllerin yapısını da etkilemektedir. Düşük pH koşullarında üretilen kapsüllerde form bozuklukları meydana gelmekte ve kapsüller tam anlamıyla oluşmadığından, hapsolmuş su miktarı artış göstermektedir (Kozlovskaya vd., 2006). Bu durum, dondurarak kurutma işlemi esnasında daha uzun bir süre gereksinimine yol açmaktadır. Kurutma işleminin mümkün olduğunca kısa sürede tamamlanması, kapsülün dış yapısının korunması açısından önemlidir. Çünkü kurutma süresi uzadıkça kapsül yüzeyindeki çatlaklar genişleyerek kapsülün olumsuz çevre koşullarına karşı koruyucu özelliğini azaltmaktadır. Literatürde, jelatinle kapsülleme sonrası bazı probiyotiklerin metabolik aktivitesinin korunduğu, dolayısıyla asit üretiminin sürdüğü belirtilmektedir (Gbassi ve Vandamme, 2012). Gül (2015) tarafından yapılan çalışmada, enkapsüle edilen hücreler sütlaç örneklerine eklenmiş ve depolama süresi sonunda en belirgin pH azalmasının (yaklaşık 0.31 birim) aljinat-jelatin kaplı kapsüllerin eklendiği örneklerde meydana geldiği bildirilmiştir. Bu durumun, söz konusu kaplamayla üretilen kapsüllerdeki canlı hücre sayısının yüksek olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada üretilen kapsüllerin boyutlarının 2.56-3.13 mm aralığında değiştiği ifade edilmiştir. Ekstrüzyon yöntemi ile elde edilen kapsüllerin boyutlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$) (Çizelge 2). Kaplamada kullanılan aljinat-jelatin kombinasyonun boyut üzerinde aljinat-nişasta

kombinasyonuna göre daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kapsüllerin morfolojik özellikleri incelendiğinde, aljinat-jelatin kombinasyonunun daha homojen ve kompakt bir yapı sağladığı, aljinat-nişasta kapsüllerde ise yüzeyde çatlak ve boşlukların olduğu gözlenmiştir. Bu durum, jelatinin kıvam artırıcı etkisinin kapsül bütünlüğünü koruduğunu göstermektedir. Literatürde benzer şekilde, jelatin katkısının kapsül dayanıklılığını artırdığına dair bulgular rapor edilmiştir (Li vd., 2009). Muthukumarasamy vd. (2006a) kaplama yönteminin emülsifikasyon ve ekstrüzyon tekniklerini kullanarak boyut üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Emülsifikasyon yöntemiyle ürettikleri kapsüllerin çapının 0.02–1 mm aralığında değiştiğini, ekstrüzyon yöntemiyle üretilen kapsüllerde ise bu değer 2–4 mm arasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, ekstrüzyon tekniğiyle elde edilen kapsüllerin daha düzenli ve küresel bir morfolojiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Sheu vd., (1993) mikroenkapsülasyon tekniği olarak emülsifikasyon tekniğini kullanmışlar ve elde ettikleri kapsüllerin boyutlarının 25-35 µm arasında olduğunu bildirmişlerdir. Jelatinle üretilen kapsüller genel olarak daha büyüktür, bu da jelatinin şişme kapasitesinden kaynaklanabilir. Literatürde; jelatin kapsüllerin sıvı olarak genişleme eğiliminde olduğu belirtilmektedir (Heidebach vd., 2010).

Kapsülasyon işlemi için hazırlanan karışımlarda kullanılan kaplama maddeleri ve kültür miktarları aynı olmasına rağmen kapsüllerin ağırlıklarında bazı farklılıklar görülmüştür. Aljinat-jelatin ile kaplanan SKJ örneği, aljinat-nişasta kaplamalı SKN örneğine kıyasla daha ağır bulunmuştur. Bu durumun, jelatinin kıvam artırıcı özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, aynı kültür örnekleri arasındaki ağırlık farklarının anlamlı olmadığı saptanmıştır ($P > 0.05$) (Çizelge 2). Kapsül örneklerinin yaş ve kuru hâlde ölçülen ağırlık değerleri ile ağırlık verimleri Çizelge 2'de sunulmuştur. En yüksek yaş ağırlık sırasıyla, SKJ (56.20 g) ve SKN (52.09 g) örnekleri su kefir ile yapılanlar daha nemlidir. En yüksek kuru ağırlık ise sırasıyla LCJ (2.25 g) ve LCN (1.92 g) daha

düşük olduğu belirlenmiştir. Su kefir kültürlerinin yüksek yaş ağırlığı, polisakkarit (örneğin kefiran) içeriğiyle ilişkili olabilir (Hertzler vd., 2020).

Jelatinli kapsüller (özellikle LCJ) daha fazla kuru madde içeriyor olabilir çünkü jelatin daha iyi bir taşıyıcı görevi görebilir.

Çizelge 2. Kapsül çeşitlerinin fizikokimyasal değerleri
Table 2. Physicochemical values of capsule types

Kapsül çeşitleri	pH	Yaş Ağırlık (g)	Kuru Ağırlık (g)	Verimlilik (%) $\eta = \frac{p_{norm}}{y_{norm}} * 100$	Boyut	Nem (%)	Su Aktivitesi
SKN	4.60 ± 0.30 ^a	52.09 ± 2.01 ^a	2.36 ± 0.08 ^a	4.52	2,56 ± 0,07 ^b	10,20 ± 0,87 ^{ab}	0,29 ± 0,03 ^b
LCN	4.55 ± 0.15 ^{ab}	36.23 ± 1.06 ^c	1.92 ± 0.05 ^b	5.28	2,84 ± 0,09 ^{ab}	9,82 ± 0,53 ^b	0,35 ± 0,02 ^a
SKJ	4.45 ± 0.35 ^b	56.20 ± 2.12 ^a	2.21 ± 0.11 ^{ab}	3.92	2,82 ± 0,17 ^{ab}	11,57 ± 0,73 ^a	0,29 ± 0,03 ^b
LCJ	4.60 ± 0.28 ^a	44.74 ± 1.53 ^b	2.25 ± 0.10 ^a	5.01	3,13 ± 0,16 ^a	10,77 ± 0,18 ^{ab}	0,28 ± 0,01 ^b
Kapsül çeşitleri	L*		a*		b*		
SKN	84.24 ± 7.11 ^a		0.62 ± 0.14 ^a		6.04 ± 1.40 ^a		
LCN	81.37 ± 2.04 ^a		1.63 ± 1.33 ^b		14.26 ± 2.72 ^c		
SKJ	88.68 ± 2.94 ^b		0.78 ± 0.80 ^a		10.83 ± 1.40 ^b		
LCJ	84.98 ± 1.00 ^a		1.42 ± 0.91 ^b		16.29 ± 1.11 ^c		

a,b: Örnekler kendi içinde değerlendirilmiş olup. farklı harfler ile belirtilen örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (P<0.05)

Kapsül ağırlıklarının % verimliliği 3.92-5.28 arasında değişmektedir. Dondurarak kurutma işlemi ile kapsüllerde bulunan su vakum altında süblimleştirilerek uzaklaştırılmıştır. *L. casei* ile yapılan kapsüller daha verimli olduğu, bakterinin nişastayla daha iyi uyum sağlamasıyla açıklanabilir. Literatürde *L. casei*'nin nişasta gibi polisakkaritlerle iyi kapsüle olduğu, jelatinle ise su içeriğinin artışı nedeniyle yapısal bozulma yaşanabileceği bildirilmiştir (Chen vd., 2017). Kapsülün hapsettiği hücre canlılığını raf ömrü boyunca koruyabilmesi için içerisinde bulunan su miktarının minimum düzeyde olması gerekmektedir (Pupa vd., 2021). Aljinat-nişasta kombinasyonu ile hazırlanan kapsüllerde (SKN ve LCN) % nem değeri sırasıyla 10.20 ve 9.82 bulunmuştur. Aljinat-jelatin kombinasyonu ile hazırlanan kapsüllerde (SKJ ve LCJ) % nem değeri sırasıyla 11.57 ve 10.77 bulunmuştur. Kullanılan kaplama materyallerinden aynı grup kültür örneklerinin % nem değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (P> 0.05) (Çizelge 2). Jelatin kapsüllerin nem içeriği daha yüksektir. Bu, jelatinin hidrofilik doğası ve su tutma kapasitesiyle ilişkilidir (Sanprasert vd., 2025). Nem oranı, raf ömrü açısından önemlidir; yüksek nem, mikrobiyal

büyümeye ve kapsül stabilitesine zarar verebilir (Tripathi ve Giri, 2014). Depolama süresi boyunca canlı mikroorganizma sayısını etkileyen çok sayıda faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında kapsüllerin depolandığı ortamda oksijen varlığı, depolama sıcaklığı, kapsüllerin kuru yapısından kaynaklanan düşük nem oranı (Morgan vd., 2006), kurutulmuş kapsüllerin nem içeriği, kullanılan kaplama materyallerinin kompozisyonu, kapsüllerin saklandığı ambalajın özelliği ve bu ambalajın ışık geçirgenliği gibi etkenler yer almaktadır (Meng vd., 2008). Nadeem vd. (2011) ve Saikia vd. (2015) tarafından yapılan çalışmalarda ise kaplama materyalleri, bu materyallerin oranları ve uygulanan kaplama yöntemlerinin kapsüllenmiş tozların nem içeriklerinde değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir.

Probiyotik mikroorganizma içeren kapsüllerde, canlı hücre sayısının korunabilmesi ve istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek için su aktivitesi önemli bir parametredir (Meng vd., 2008). Su aktivitesinin düşük seviyelerde tutulması mikroorganizmaların canlılığının sürdürülebilmesi açısından gereklidir. Ancak, su aktivitesini düşürmek için uygulanan yüksek sıcaklıklarda

yapılan kurutma işlemi, canlı mikroorganizma sayısını olumsuz etkileyebilmektedir (Li vd., 2011). Ayrıca depolama sıcaklığı ve depolama süresi de su aktivitesi üzerinde önemli rol oynamaktadır. Su aktivitesi düşük sıcaklıklarda depolanan örneklerde canlı hücre sayısını önemli ölçüde etkilemezken, oda sıcaklığı ve üzerindeki koşullarda depolanan kapsüllerde canlı mikroorganizma sayısında azalma görülebilmektedir (Jannah vd., 2022). Hazırlanan kapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.28-0.35 aralığında olduğu ve istatistiksel analiz sonuçlarına göre örnekler arasında önemli bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($P > 0.05$) (Çizelge 2). Kaplama maddesi olarak aljinat-jelatin kombinasyonu kullanılarak üretilen SKJ ve LCJ örneklerinde su aktivitesi daha stabil seyretmiştir. Bu bulgudan hareketle, su aktivitesinin korunması açısından aljinat-jelatin kombinasyonunun aljinat-niştasta kombinasyonuna kıyasla daha etkili olduğu söylenebilir.

Liyofilizasyon işlemi sonrası elde edilen kapsüllerin L^* değerleri 81.37-88.68 arasındadır. L^* değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık SKJ örneğinde olduğu ($P < 0.05$), ancak genel olarak kaplama materyallerinin L^* değerini etkilemediği belirlenmiştir (Çizelge 2). Elde edilen kapsüllerin a^* değerleri 0.06-1.83 arasında olduğu ve mikroenkapsülasyonda kullanılan farklı kaplama materyalleri a^* değerini etkilemediği gözlemlenmiştir (Çizelge 2). Kapsüllerin b^* değerleri 6.04-16.29 arasındadır ve istatistiksel olarak tüm örnekler arasında en yüksek değerler sırasıyla LCN ve LCJ örneklerinde belirlenmiş ($P < 0.05$) ve bu iki örnek arasında ise istatistiksel olarak farklılık yoktur ($P > 0.05$). Bu *L. casei*'nin b^* değerine etkisinin kaplama materyalinin etkisinden fazla olduğunu, hata bu örneklerde kaplama materyali arasındaki etkinin önemsiz olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan su kefir örneklerinde ise değerler *L. casei*'li örneklerden daha düşük ve en düşük değer SKN örneğinde görülmüştür. Bu durum tek mikroorganizma suşu yerine su kefir kullanıldığında kaplama materyali arasında farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya koymaktadır ($P < 0.05$) (Çizelge 3). Sonuçlara göre, kapsüllerdeki renk değişimleri kullanılan kültür ile ilişkili olduğu

düşünülmektedir. Kontrol grubu olarak *L. casei* suşu kullanılan örneklerin diğer örneklerden b değerine göre daha sarı renge sahip olduğu görülmektedir. Xu (2016) yaptığı çalışmada bu durumun sebebinin *L. casei*'nin kendi yapısından kaynaklandığını bildirmiştir. Gül (2015), yaptığı çalışmada mikroenkapsülasyon işleminde kullandığı kaplama materyallerinin L^* değeri üzerinde etkili olduğu sonucuna ulaşmıştır. Aynı çalışmada kaplama materyallerinin a^* değeri ve b^* değeri üzerinde etkisi olmadığı istatistik olarak belirlendiği için optimizasyona dâhil edilmemiştir. Genel olarak, renk üzerine kültürün etkisi kaplama materyalinden daha fazladır, sonucuna ulaşılabilir.

Kapsüllerin morfolojik yapıları

Çalışmada kullanılan iki farklı kültür ile farklı kaplama maddesi kullanılarak kaplanmış, kapsüller farklı büyütme ölçekleri kullanılarak SEM ile görüntülenmiştir. Kapsül içerisindeki 10000X-20000X büyütme ölçeğinde mikroorganizmanın görüntüleri Şekil 2.'de sunulmuştur. Aljinat-niştasta ve aljinat-jelatin kullanılarak gerçekleştirilen kaplama işlemi sonucunda elde edilen kapsüllerin yüzeyi homojen bir yapı göstermemekte, yer yer çatlaklar ve boşluklar içermektedir. Bunun sebebi ise hazırlanan kapsülün liyofilizasyon işlemi sırasında içindeki suyun tam olarak uzaklaşmasıdır. Kuruyan kapsüller yaş haline göre küçülmektedir ve pürüzsüz yuvarlak olan görüntüsünü kaybetmektedir. Kapsüllerde su kefirindeki *Lactobacillus* spp. ve *L. casei* suşunun varlıkları Şekil 2'de görülmektedir.

SEM mikrografları, serbest bakterilerin bulunmadığını göstermekte ve bu da mikrokapsül oluşumunu doğrulamaktadır. Mikrokapsüller, düzensiz yüzeylere sahip küresel morfolojiler göstermiş ve sürekli, sıkı yapıda olup boyut açısından farklılıklar göstermiştir. Yüzeydeki düzensizlik, mikrokapsüllerin lokalize alanlarında daha yüksek polimer konsantrasyonunu yansıtmaktadır (Fareez vd., 2015). Mikrokapsüllerin dış yüzeyleri, çatlak veya bozulma içermeyen duvarlarla kaplıdır. Rather vd. (2017) çalışmalarında, probiyotik hücrelerin etrafında sürekli bir kapsül yapısının oluştuğunu

da ortaya koymuştur. Sürekli yüzey ve gözeneksiz sıkı yapı, gastrointestinal sistemden geçiş sırasında asit ve safra difüzyonuna karşı daha güçlü fiziksel bariyer sağlar. Böylece probiyotik bakteri hücrelerini kapsül matrisinden kaçmaktan korur

(Muthukumarasamy vd, 2006b). Yoğun bir yüzey yapısı ve/veya daha sıkı bir yüzey, maddelerin difüzyonuna karşı fiziksel bir bariyer sağlar ve bu sayede işlem sırasında hücre canlılığını korur.

Çizelge 3. Farklı depolama koşullarında 1. ve 30. gün *Lactobacillus* spp. (log KOB/g) sayımı ve verimlilik yüzdeleri (%)

Table 3. *Lactobacillus* spp. (log cfu/g) count and productivity percentages (%) on the 1st and 30th days under different storage conditions

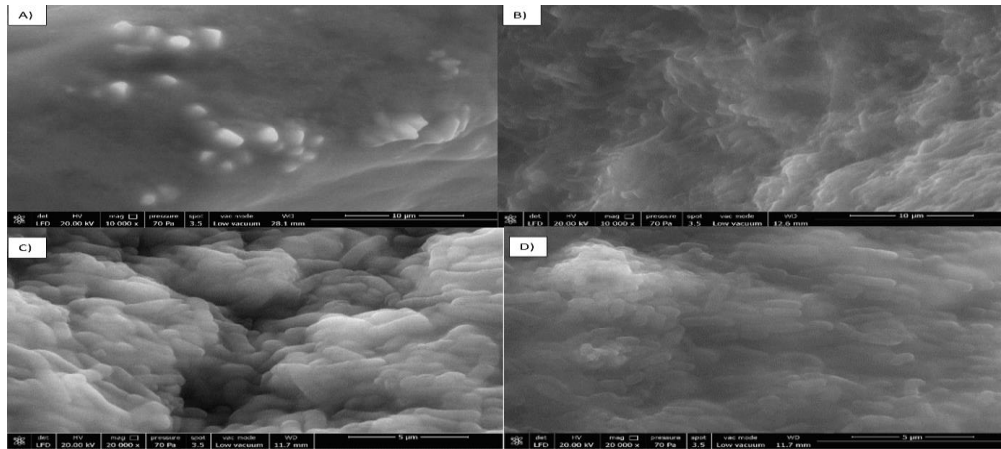
Kapsüllerin ilk üretim değerleri					
Kapsül çeşitleri	Yaş kapsül (Y) log KOB/mL	$C_{ort}=Y_i/Y_{ort}$	Kuru kapsül (K) log KOB/mL	$K_{norm}=K_i/C_{ort}$	Verimlilik $\eta_b=(K_{norm}/Y_{ort})*100$
SKN	6.06	0.73	5.84	8.01	96.37
LCN	9.47	1.14	8.68	7.62	91.66
SKJ	8.11	0.90	6.35	7.03	78.30
LCJ	9.35	1.04	8.04	7.72	85.33

Y_i : Yaş kapsül örneği. Y_{ort} : Yaş kapsüllerin ortalaması. C_{ort} : Yaş örnek çarpanı. K_i : Kuru kapsül örneği. K_{norm} : Kuru kapsül örneğinin normalize edilmiş değeri. η_b : Başlangıç verimi (%)

Kuru kapsüllerin 30 gün depolama sonrası değerleri

Kapsül çeşitleri	Verimlilik			Verimlilik		
	4°C log KOB/g	$K_{norm}=K_i/C_{ort}$	$\eta_4=(K_{norm}/Y_{ort})*100$	-18°C log KOB/g	$K_{norm}=K_i/C_{ort}$	$\eta_{-18}=(K_{norm}/Y_{ort})*100$
SKN	4.14	5.68	68.32	5.19	7.12	85.64
LCN	7.16	6.28	75.61	8.43	7.40	89.02
SKJ	4.52	5.01	55.73	6.07	6.72	74.85
LCJ	7.18	6.90	76.79	7.71	7.40	82.46

η_b : Başlangıç verimi (%). η_4 : +4 °C'de depolama verimi (%). η_{-18} : -18 °C'de depolama verimi (%) Kaplama materyali nişasta olan grup ortalaması: $Ni\text{şasta}_{ort}=7.765$. Kaplama materyali jelatin olan grup ortalaması: $Jelatin_{ort}=8.730$



Şekil 2. Farklı Kaplama İçinde Mikroenkapsülenmiş Hücrelerin Mikrografları (20000X)
(a:SKN, b:LCN c:SKJ ve d:LCJ)

Figure 2. Micrographs of Microencapsulated Cells in Different Coatings (20000X)
(a:SKN, b:LCN c:SKJ and d:LCJ)

Depolama süresince *Lactobacillus* spp. canlılık verimi

Hazırlanan kapsüllerin, kurutmadan önce (yaş kapsül) ve kurutmadan sonra mikrobiyolojik olarak ekimleri yapılmıştır. Liyofilizasyon işlemi sonrasında nişasta kullanılarak hazırlanan kapsüllerde *Lactobacillus* spp. sayısı ortalama 0.50 azalma, jelatin kullanılarak hazırlanan kapsüllerde *Lactobacillus* spp. sayısı ortalama 1.54 log KOB/g azalma görülmüştür. Liyofilizasyon işleminde bakteri sayılarında azalma olmaktadır, ancak diğer kurutma yöntemlerine ve/veya saklama yöntemlerine göre en iyi koruyucu işlem de bu işlemdir (Bootun vd. 2024). Bütün örnekler +4°C ve -18°C'de 30 gün depolanmıştır. Kaplama materyali olarak aljinat-nişasta kombinasyonu kullanılan SKN ve SKJ örneğinde; +4°C'de 30. gün depolama sonrası ilk güne göre *Lactobacillus* spp. sayısı sırasıyla 1.70 ve 1.83 log KOB/g azalma; -18°C'de 30. gün depolama sonrası ilk güne göre *Lactobacillus* spp. sayısı sırasıyla 0.65 ve 0.28 log KOB/g azalma olduğu belirlenmiştir. Tüm örnekler için -18°C'de depolama koşulunun verimlilik yüzdeleri daha yüksek olduğu Çizelge 3'de belirtilmektedir. Kaplama materyali olarak aljinat-nişasta kombinasyonu kullanılan LCN ve LCJ örneğinde; +4°C'de 30. gün depolama sonrası ilk güne göre *Lactobacillus* spp. sayısı sırasıyla 1.52 ve 0.86 log KOB/g azalma; -18°C'de 30. gün depolama sonrası ilk güne göre *Lactobacillus* spp. sayısı sırasıyla 0.25 ve 0.33 log KOB/g azalma olduğu belirlenmiştir.

Kurutma işleminden sonra kapsüllerde bulunan canlı *Lactobacillus* spp. sayısı kaplama materyaline ve kullanılan kültüre bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Çizelge 3). *Lactobacillus* spp. sayısı verimlilik yüzdelere göre, kurutma işlemine göre en yüksek SKN örneğine ait olduğu tespit edilmiştir. Nişastalı örneklerin, jelatinli örneklerle göre verimlilikleri daha yüksek olduğu görülmektedir. Depolamalara göre değerlendirildiğinde +4°C'de *L. casei* örneklerinin su kefir örneklerine göre verimlilik yüzdesi oldukça fazladır. *L. casei* suşunun +4°C'de 30 gün boyunca su kefirine göre daha yüksek oranda canlılığını koruduğu söylenebilir. Ayrıca *L. casei* için kullanılan kaplama materyallerinde verimlilik yüzdeleri çok yakındır. Depolamalara göre

değerlendirildiğinde -18°C'de *Lactobacillus* spp. sayısı verimlilik yüzdeleri +4°C'ye göre tüm örneklerde yüksektir. *L. casei*'li nişasta taşıyıcılı örnekte -18°C'de 30 gün depolanması *Lactobacillus* spp. sayısı verimlilik yüzdesi %89,02'dir bunun anlamı bu kaplama maddesi ile liyofilizasyon sonrası -18°C'de 30 gün depolama ile bakteri kaybı %10.98'dir. Ancak dikkate değer bir farklılık su kefirinde görülmektedir. Su kefir verimlilik yüzdeleri +4°C'de ortalama %62.02 iken -18°C'de % 80.25'dir. *L. casei*'li örneklerde ise verimlilik yüzdeleri +4°C'de ortalama %76.20 iken -18°C'de % 85.74'dür. Bu bilgilere göre depolama sıcaklığı su kefirini daha fazla etkilediği düşünülmüştür. Yapılan diğer çalışmalarda depolama sıcaklığındaki artışın mikroorganizma canlılık düzeylerini olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Hsiao vd., 2004; Simpson vd., 2005; Ranadheera vd., 2015). Kebary vd., (1998) *B. bifidum* ve *B. infantis*'i aljinat veya k-karagenan kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Oluşan kapsülleri buzlu süt içerisine ilave etmişlerdir ve 10 hafta boyunca -18°C'de depolamışlardır. Depolama süresi sonunda kapsüllerde bulunan canlı mikroorganizma sayısının % 43-44'den %50-60'a kadar yükseldiğini bildirmişlerdir. Picot ve Lacroix vd. (2004), mikroenkapsüle ettikleri canlı mikroorganizmaları yoğurda ilave ederek 28 gün boyunca +4°C'de depolanmıştır. Depolama sonucunda kapsülleme sırasında canlı mikroorganizma sayısındaki azalma 2.5 log KOB/g iken kontrol grubu (serbest halde ilave edilmiş mikroorganizma) ilave edilen yoğurtlarda 5.1 log KOB/g azalma belirtmişlerdir. Mikroenkapsüle işleminin +4°C'de canlılık düzeyini daha çok koruduğunu bildirmişlerdir. Kailasapathy (2006) farklı kaplama maddeleri kullanarak kapladığı probiyotik mikroorganizmaları yoğurda ilave etmiştir ve 7 hafta boyunca +4°C'de depolanmıştır. Depolama işlemi sonucunda kapsüllenmiş probiyotik mikroorganizma canlılığının serbest probiyotik mikroorganizma canlılığından yüksek olduğu sonucuna ulaşmıştır. Albertini vd. (2010), *L. acidophilus* ve *B. lactis*'i ekstrüzyon yöntemiyle kapsülleyerek kaplama materyali olarak aljinat kullanmışlardır. Elde ettikleri kapsülleri oda sıcaklığında altı ay boyunca depolamışlar ve depolama süresi sonunda canlılık oranlarını ilk ay

%88, ikinci ay %75, üçüncü ay ise %64 olarak belirlemişlerdir. Toplam depolama süresi sonunda ise canlı mikroorganizma sayısında yaklaşık %50 oranında bir azalma gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Xu vd. (2016) ise çalışmalarında serbest *L. casei* hücrelerini ve kapsüllenmiş *L. casei* hücrelerini +22, +4 ve -15°C sıcaklıklarda 84 gün boyunca depolamışlardır. Depolamanın 35 günlük süresi boyunca +4 ve -15 °C'de 7 log KOB/g olduğunu tespit etmişlerdir. Tüm numuneler arasında en yüksek hayatta kalma oranı (%66) -15°C'de depolanan örneklerde görülmüştür. Serbest halde depolanan *L. casei*'nin en iyi depolama sıcaklığının +4°C olduğunu bildirmişlerdir. Bunun sebebinin ise 0°C'nin altındaki sıcaklıkların hücre duvarında buz kristalleri oluşturarak hücre hasarına yol açması olduğu belirtilmiştir. Analiz süresi sonunda *L. casei*'nin canlı hücre sayısını koruması için kapsüllenmesini ve -15°C'de depolanmasını önermişlerdir.

Kapsüllerden mikroorganizma salınım testi

Enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyallerinin çözünme özelliklerinin, sıcaklık ve süreden etkilenerek içerdiği mikroorganizma sayısını değiştirdiği bilinmektedir. Enkapsülasyonda tercih edilen kaplama maddelerinin yapısından dolayı probiyotik mikroorganizmaların çapının büyük olması nedeniyle bu mikroorganizmaların salınımı güçleşmektedir. Bu sebeple, probiyotik mikroorganizmaların salınımını kolaylaştırmak için ya çözünme ortamına uygun kaplama materyali seçilmeli ya da çözünme koşulları kaplama materyaline göre uyarlanmalıdır (Cook vd., 2012). Ekstrüzyon yöntemiyle yürütülen bu çalışmada sabit pH ve sıcaklık koşullarında 30., 60. ve 120. dakika boyunca mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Bulgulara göre aljinat-nişasta kombinasyonu ile hazırlanan kapsüllerin mikroorganizma salınım oranlarının daha düşük olduğu görülmüştür (Çizelge 4A). Süre arttıkça mikroorganizmaların kapsülden salınarak ortama geçişinin arttığı belirlenmiştir. Örneğin, SKN örneğinde 30. dakikada 2.19 log KOB/g olan salınım, 120. dakikada 4.82 log KOB/g değerine ulaşmış; LCN örneğinde 30. dakikadaki 4.33 log KOB/g salınım, 120. dakikada 8.06 log

KOB/g'ye yükselmiştir. SKJ örneğinde 30. dakikada 2.81 log KOB/g iken 120. dakikada 5.95 log KOB/g, LCJ örneğinde ise 30. dakikada 5.06 log KOB/g olan değer 120. dakikada 8.01 log KOB/g seviyesine ulaşmıştır. Bu sonuçlar, aljinat-jelatinle kaplanmış örneklerde mikroorganizma salınımının aynı koşullar altında daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Kapsül örneklerinin pH 7.2'de, 37°C'de 120 dakika inkübasyona tabi tutulmasıyla elde edilen kapsül verimlilik oranları Çizelge 4A'da verilmiştir. Tüm örneklerde en yüksek verim 120. dakikada elde edilmiş, ancak kaplama materyali türüne göre salınım hızlarının değiştiği saptanmıştır. Aljinat-nişasta kullanılan kapsüllerde mikroorganizma salınımının daha yavaş gerçekleştiği belirlenmiş, bu durum insan sağlığı açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Çünkü tüketilen mikroorganizmaların etkin şekilde sindirim kanalının sonuna kadar canlı ulaşabilmesi için kontrollü salınım gereklidir (Fathi vd. 2021). Çizelge 4A'ya göre tüm kültürlerde salınım verimliliği süreyle birlikte artış göstermektedir. Aljinat-jelatinle kaplanan örneklerdeki salınım verimliliği, aljinat-nişasta ile kaplanan örneklerle kıyasla daha yüksektir. Çalışmada 120. dakikada en yüksek salınım değerlerine ulaşılmış, özellikle aljinat-jelatin kapsüllerde salınım verimliliğinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, probiyotiklerin tüketim sonrası gastrointestinal sistemde daha etkin şekilde açığa çıkabileceğini düşündürmektedir. Ancak aljinat-nişasta kapsüllerin daha yavaş salınım göstermesi, probiyotiklerin korunması açısından avantaj sağlayabilir. Nitekim probiyotiklerin bağırsığa kadar canlı ulaşabilmesi için midneyi mümkün olduğunca zarar görmeden geçmesi gerekmektedir (Kailasapathy, 2002). Gül (2015) yaptığı çalışmada ekstrüzyon ve emülsifikasyon tekniklerini kullanarak aljinat, aljinat-nişasta ve aljinat-jelatin kaplamalarının etkilerini incelemiş; ekstrüzyonla elde edilen aljinat-nişasta ve aljinat-jelatin kaplı kapsüllerin yalnızca aljinat kullanılarak yapılan kapsüllere kıyasla daha verimli mikroorganizma salınımı gösterdiğini bildirmiştir. Ayrıca Li vd. (2009), kaplama materyaline jelatin eklenmesinin mikroorganizma salınımına olumsuz etki etmediğini belirtmişlerdir.

Çizelge 4. Kapsül örneklerinden belirli sürede *Lactobacillus* spp. salınımının % verimliliği (A) ve simüle mide sıvı ve bağırsak sıvısı içerisinde kapsüllerden salınan *Lactobacillus* spp. sayısının % verimliliği (B)

Table 4. Percentage efficiency of *Lactobacillus* spp. release from capsule samples in a certain period of time (A) and Percentage efficiency of the number of *Lactobacillus* spp. released from the capsules in simulated gastric and intestinal fluid (B).

A) Kapsül örneklerinden belirli sürede <i>Lactobacillus</i> spp. salınımının % verimliliği						
Kap sül çeşit leri	N_0 (log KOB /g)	Süre (dk)	N (log KOB/g)	$C_{ort}=N_0/S.L_{ort}$ (Çarpan)	$N_{norm}=N/C_{ort}$ (Normalize değer)	$\eta_v=(N_{norm}/S.L_{ort})*100$ (Verimlilik)
SKN	5.84	30	2.19	0.958	2.286	37.500
		60	2.74		2.860	46.918
		120	4.82		5.030	82.534
LCN	8.68	30	4.33	1.038	4.170	49.885
		60	4.92		4.739	56.682
		120	8.06		7.763	92.857
SKJ	6.35	30	2.81	1.042	2.697	44.252
		60	4.24		4.070	66.772
		120	5.95		5.711	93.701
LCJ	8.04	30	5.06	0.962	5.261	62.935
		60	7.24		7.528	90.050
		120	8.01		8.329	99.627

N_0 : Örneklerin başlangıç değeri. N: Örneklerin belli sürelerdeki değeri. S_{ort} : Su kefirli örneklerin ortalaması. L_{ort} : L_{case} 'li örneklerin ortalaması. N_{norm} : Normalize değer. η_v : Verimlilik

B) Simüle mide sıvı ve bağırsak sıvısı içerisinde kapsüllerden salınan <i>Lactobacillus</i> spp. sayısının % verimliliği						
Mide Sıvısı						
N_0 (log KOB /g)	Süre (dk)	N (log KOB /g)	$C_{ort}=N_0/W.L_{ort}$ (Çarpan)	$N_{norm}=N/C_{ort}$ (Norm alize değer)	$\eta_v=(N_{norm}/W.L_{ort})*100$ (Verimlilik)	Süre (dk)
SKN	0	-	-	-	-	0
	1	5.50	0.958	5.740	94.18	2
	2	5.67	-	5.918	97.09	4
LCN	0	-	-	-	-	0
	1	-	1.038	-	-	2
	2	7.75	-	7.464	89.29	4
SKJ	0	-	-	-	-	0
	1	-	1.042	-	-	2
	2	6.10	-	5.855	96.06	4
LCJ	0	-	-	-	-	0
	1	7.24	0.962	7.528	90.05	2
	2	6.10	-	5.855	96.06	4

N_0 : Örneklerin başlangıç değeri. N: Örneklerin belli sürelerdeki değeri. S_{ort} : Su kefirli örneklerin ortalaması. L_{ort} : L_{case} 'li örneklerin ortalaması. N_{norm} : Normalize değer. η_v : Verimlilik

Simüle mide ve bağırsak sıvısında kapsüllerdeki canlı mikroorganizma sayısı

Farklı kapsül formülasyonlarının simüle mide ve bağırsak sıvılarında belirli süreler boyunca (dakika

cinsinden) canlı probiyotik sayılarının (log KOB/g) değişimini, bu değerlerin normalize edilmesini (N_{norm}) ve buna bağlı olarak verimliliklerinin (η_v) hesaplanmasını

içermektedir. SK örneğinde kültür olarak su kefiri kullanılmıştır. Kaplama materyali olarak aljinat-niştasta ve aljinat-jelatin kullanılarak iki farklı kaplama materyalinin model mide ve model bağırsak ortamındaki etkinlikleri incelenmiştir. Kapsül çeşitlerinin mide-bağırsak simülasyonuna girmeden önceki başlangıç canlılıkları birbirinden farklıdır. LCN ve LCJ kapsülleri, daha yüksek başlangıç probiyotik konsantrasyonuna sahiptir (8.68 ve 8.04 log KOB/g). SKN ve SKJ daha düşük başlangıç değerlerine sahiptir (5.84 ve 6.35 log KOB/g) (Çizelge 4B). Mide sıvısında dayanıklılık (0–2. dakika arası) değerlendirildiğinde, 1. dakikada; SKN ve LCJ mide sıvısında canlılıklarını yüksek oranda korumuştur. SKN: 94.2% verimlilik LCJ: 90.0% verimlilik LCN ve SKJ için 1. dakika verisi eksik olduğu için değerlendirme yapılamaz. 2. dakikada da SKJ örneği %96.1 verimlilik, LCJ örneği %91.4 verimlilikte mikroorganizmalar canlı kalmayı başarmışlardır. Tüm kapsül çeşitleri, mide ortamında 2 dakikalık sürede yüksek oranda canlı kalmayı başarmıştır (>89%). Bu, özellikle asit direnci açısından kapsülleme yöntemlerinin başarılı olduğunu gösterir. SKJ kapsülü, mide ortamında en yüksek verimliliği göstererek dikkat çekmektedir. Su kefiri kendi doğal ortamında (dak. pH 3.5) canlı kalabilme potansiyelinde olması sebebiyle, mide ortamında da kapsül formuyla yüksek verimlilik göstermiştir.

Bağırsak sıvısında dayanıklılık (2–4. dakika arası) değerlendirildiğinde; 2. dakikada LCN: 6.59 log KOB/g → %75.9 verimlilik, SKJ: 3.69 log KOB/g → %58.1 verimlilik ve LCJ: 4.44 log KOB/g → %55.2 verimlilik belirlenmiştir. 4. dakikada ise SKN: 4.18 log KOB/g → %71.6 verimlilik, LCN: 5.25 log KOB/g → %60.5 verimlilik, SKJ: 4.09 log KOB/g → %64.4 verimlilik ve LCJ: 4.30 log KOB/g → %53.5 verimlilik göstermiştir. Bağırsak ortamı, mideye kıyasla daha uzun süreli ve farklı pH yapısına sahip bir ortam olduğundan, kapsüllerin koruyuculuğu burada daha fazla sürdürülmüştür. LCN, bağırsak ortamında 2. dakikada en yüksek canlılığı göstermiştir ancak 4. dakikaya gelindiğinde azalma gözlemlenmiştir.

SKN, mide ortamında nispeten yüksek performans sergilerken, bağırsakta %71.6 canlılık verimliliği ile en iyi sonucu göstermiştir. Çizelge 4B'da bazı saatlerde mikroorganizma sayımı yapılmamıştır, bunun anlamı bakteriler ortamda o saatte salınmadığı kapsülün koruduğunu göstermektedir. 0. ve 1. saatlerde canlı hücre sayısının yüksek olmasının sebebi kaplamada kullanılan su kefiri mikroorganizmalarının kompleks yapıya sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü kompleks yapıda olan su kefirinde aside duyarlılıkları az olan türler canlı hücre geçişlerini engellemiştir. Su kefiri içeren aljinat-niştasta kapsülünün bağırsak ortamında 4. saat salındığını kapsül taşıyıcı olarak niştastanın olumlu olduğu yorumlanabilir. *L. casei* içeren kapsüllerde ise 0. dakikada bile bakterinin salınma başladığı görülmektedir. Kapsül çeşitliliği burada etken faktör olmamıştır. Bu bulgular, kapsül formülasyonlarının sadece başlangıç canlılıkları açısından değil, aynı zamanda fizyolojik sıvı simülasyonlarında canlı kalabilme kabiliyetlerine göre de değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Özellikle mide sıvısında başarılı olan kapsüller (SKJ, LCJ), bağırsak ortamında aynı performansı gösterememiştir. Bu da taşıyıcı matrisin pH toleransı ve çözünme özellikleri ile doğrudan ilişkilidir (Cook vd., 2012; Heidebach vd., 2010). Model bağırsak ortamına bırakılan kapsüllerin 4 saat sonra yapılan ekim sonuçlarına göre aljinat-niştasta ile kaplanan örneklerin canlılık düzeyleri daha yüksektir. Bunun sebebi bağırsak ortamının pH değerinin nötre yakın olmasıdır (Rashidinejad vd., 2022).

Probiyotik mikroorganizmaların canlılığını korumada en etkili yöntemlerden biri mikroenkapsülasyondur. Mikroenkapsülasyon uygulamasında, kaplama materyali seçimi yapılırken mikroorganizmaya uygunluk kadar, gastrointestinal sistemdeki enzimatik koşullara karşı direnç gösterme kapasitesi de göz önünde bulundurulmalıdır (Akbari vd., 2023). Tüm örnek gruplarında verim oranlarının, simüle mide sıvısına kıyasla simüle bağırsak ortamında daha düşük olduğu görülmüştür (Çizelge 4B). İnsanlar probiyotik mikroorganizmaları genellikle gıdalarla tüketmektedir. Ağız yoluyla alınan probiyotikler mide ve bağırsak boyunca ilerlemektedir.

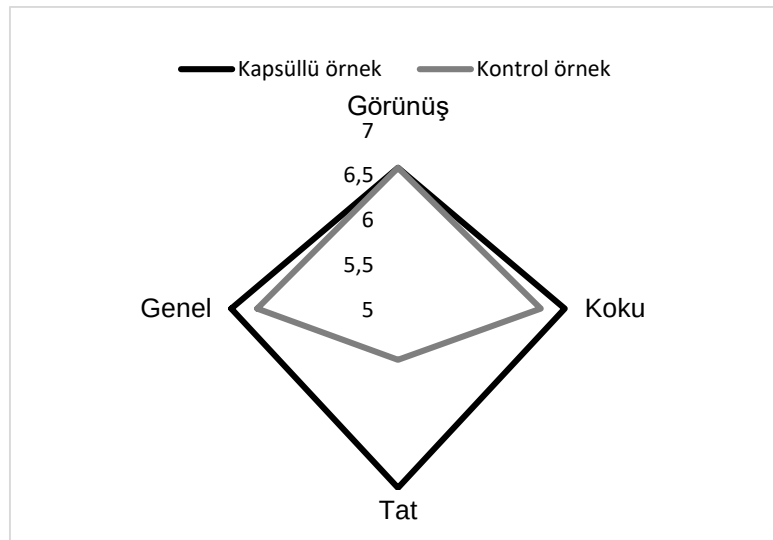
Probiyotik mikroorganizmaların mideden bağırsaklara ulaşma süresi yaklaşık 90 dakikadır (Berrada vd., 1991). İlk karşılaştıkları zorlu koşul mide ortamıdır ve mide pH'sının yaklaşık 1,5 olduğu bildirilmiştir (Khater vd., 2010). Probiyotik mikroorganizmaların gastrointestinal sisteme canlı şekilde ulaşabilme oranının düşük olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Dave ve Shah, 1997; Hamilton-Miller vd., 1999). Bu nedenle mikroenkapsülasyon, canlı hücre sayısını koruma açısından önemli bir uygulamadır; kapsüller, mikroorganizmaların çevresel stres faktörlerine karşı fiziksel koruma sağlayarak canlılığı artırır (Kailasapathy, 2002).

Bu çalışmada, kapsüller kuru formda olduğu için simüle mide ortamında ilk aşamada su çekerek şişmiş, ardından simüle bağırsak ortamına (pH 8) aktarıldığında kapsül içi ve dışı arasındaki pH farkına bağlı bir salınım gerçekleşmiştir. Kapsüllerin model mide ortamında bekletilme sürelerinde literatürde farklı uygulamalar bulunmaktadır. Bazı araştırmalarda kapsüller 90 dakika (Reid vd., 2005; Heidebach vd., 2009), bazılarında ise 120 dakika mide ortamında tutulmuştur (Sun ve Griffiths, 2000; Guerin vd., 2003). Santivarangkna vd. (2008), dondurma, dehidrasyon ve depolamanın probiyotik hücre zarının bütünlüğüne etkisini incelemiş; zarın pH gibi olumsuz koşullara karşı koruyucu rol

üstlendiğini ancak kurutma ve sonrasındaki rehidrasyonun hücre zarında hasar oluşturduğunu belirtmişlerdir. Kurutma işlemi esnasında hücredeki suyun uzaklaştırılması, hücre zarının akışkanlığını ve fizikokimyasal özelliklerini değiştirerek yapısında bozulmalara neden olur (Borst vd., 2000; Kim vd., 2008). Bu hasar, hücrelerin aside karşı direncini azaltarak gastrointestinal ortamda kısa sürede canlı hücre sayısında önemli azalmalara yol açar. Muthukumarasamy vd. (2006b), model mide koşullarında mikroorganizmayı en iyi koruyan kaplama materyalinin aljinat ve aljinat-niştasta kombinasyonu olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, kullanılan probiyotik mikroorganizma türüne göre kapsül kaplama materyali ve yönteminin değişebileceğini vurgulamışlardır.

Duyusal Değerlendirme

Panelistlerden elde edilen geri bildirimler doğrultusunda, kapsüller kullanılarak hazırlanan ürünler arasında görünüş, koku ve tat açısından önemli bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 3). Bu olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Genel olarak kapsül eklenmiş örnek panelistler tarafından beğenilmiştir (Şekil 3). Bu durumun, aljinatın iyonik yapısında bulunan tuzlardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür (Kailasapathy vd., 2004).



Şekil 3. Kapsülün üründeduyusal analizle değerlendirilmesi

Figure 3. Sensory analysis evaluation

SONUÇ

Probiyotik bakteriler insan sağlığı için son derece önemlidir. Ancak bu mikroorganizmaların olumsuz çevre koşullarında canlılığını sürdürememesi, gıda üretimindeki kullanım alanlarını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle probiyotik bakterilerin çeşitli olumsuz koşullara karşı korunmasında mikroenkapsülasyon etkili bir yöntemdir. Mikroenkapsüle edilen probiyotikler, hem üretim sürecinde hem de gastrointestinal sistemde canlılıklarını daha iyi koruyabilmektedir. Kullanılacak mikroenkapsülasyon teknikleri ve kaplama materyalleri hedeflenen bakterinin türüne göre değişiklik göstermektedir. Ayrıca kaplama yöntemi ve materyali, probiyotiklerin hayatta kalma süresi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Kaplama için kullanılan materyaller tek bir madde ya da birden fazla malzemenin kombinasyonu şeklinde uygulanabilir. Kullanılan kaplama materyalinin sadece fiziksel bir bariyer oluşturmadığını, aynı zamanda kimyasal yapısının sindirim sistemindeki çözünme dinamiklerini ve mikroorganizma salınım hızını belirlediğini göstermektedir. Aljinat, aside karşı koruyucu özellik sağlarken; nişasta kontrollü salınım katkıda bulunmuş, jelatin ise kapsül bütünlüğünü artırarak depolama stabilitesini desteklemiştir. Mikroenkapsülasyon sayesinde probiyotik bakterilerin hedeflenen zamanda salınabilmesi ve konağa yüksek oranda biyoyararlanım sağlaması beklenmektedir. Bununla birlikte, mikroenkapsülasyon teknolojisinde kullanılan kaplama materyali ve yöntemlerinden kaynaklanan bazı dezavantajlar nedeniyle enkapsüle edilmiş ürünler halen piyasada istenen düzeyde yer bulamamaktadır.

Literatürde su kefir için mikroenkapsülasyon çalışmaları oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada ise su kefirinin mikroenkapsülasyonu için ekstrüzyon tekniği tercih edilmiştir. Kaplama materyali olarak aljinat-nişasta ve aljinat-jelatin kombinasyonları denenmiş, analiz sonuçlarına göre en etkili kaplama materyalinin aljinat-nişasta olduğu belirlenmiştir. Su kefirinin mikroenkapsülasyonu üzerine gelecekte farklı mikroenkapsülasyon tekniklerinin ve kaplama materyali alternatiflerinin kullanılması, kapsülleme

verimliliğini artırarak uygulama alanlarını genişletebilecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar makale ile ilgili herhangi bir kişi veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZARLARIN KATKISI

Aysun Kuluçlu; kavramsallaştırma, laboratuvar analizleri, metodoloji ve yazma-orijinal taslak, *Nilgün Özdemir*; kavramsallaştırma, veri iyileştirme, görselleştirme, metodoloji ve doğrulama. *Tuğba Kök Taş*; supervizyon, kavramsallaştırma, veri iyileştirme, biçimsel analiz, doğrulama, görselleştirme ve fonlama aşamalarına katkı sağlamıştır. Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okumuş ve onaylamışlardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Proje Birimi FYL-2021-8438 nolu projesine finansman destek sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- Akbari, A., Gänzle, M.G., Wu, J. (2023). Cruciferin improves stress resistance and simulated gastrointestinal survival of probiotic *Limosilactobacillus reuteri* in the model encapsulation system. *Food Hydrocolloids for Health*, 3, 100118.
- Albertini, B., Vitali, B., Passerini, N., Cruciani, F., Di Sabatino, M., Rodriguez, L., Brigidi, P. (2010). Development of microparticulate systems for intestinal delivery of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 40(4), 359-366.
- Altuğ-Onoğur, T., Elmacı, Y. (2019). 4. Baskı. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Sidas Medya, İzmir.
- Aydoğdu, S., Özdemir, N., Kök Taş, T. (2025). Functional Burrata cheese enriched with *Lactocaseibacillus casei* ATCC 393: Insights into production, unique characteristics, and aromatic profile. *Mljekarstvo*, 75 (3), 160-173.

- Berrada, N., Lemeland, J.F., Laroche, G., Thouvenot, P., Piaia, M. (1991). Bifidobacterium from fermented milks: survival during gastric transit. *Journal of dairy science*, 74(2), 409-413.
- Borst, J.W., Visser, N.V., Kouptsova, O., Visser, A. J. (2000). Oxidation of unsaturated phospholipids in membrane bilayer mixtures is accompanied by membrane fluidity changes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1487(1), 61-73.
- Boontun, C., Vatanyoopaisarn, S., Phalakornkule, C., Domrongpakkaphan, V., Thitisak, P., Thaveetheptakul, P., Bamrungchue, N. (2024). Influence of protectant for encapsulation by freeze-drying and spray-drying techniques, and packaging environments on the stability of the probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain KMP-H9-01 during storage. *Drying Technology*, 42(4), 762-774
- Cho, Y.H., Shim, H.K., Park, J. (2003). Encapsulation of fish oil by an enzymatic gelation process using transglutaminase cross-linked proteins. *Journal of Food Science*, 68(9), 2717-2723.
- Cook, M.T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D. ve Khutoryanskiy, V.V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, 162(1), 56-67.
- Darvishzadeh, P., Orsat, V. (2022). Storage stability and *in vitro* digestion of microencapsulated Russian olive water kefir using spray-drying. *Food and Bioprocess Technology*, 15(1), 120-131.
- Dave, R.I., Shah, N.P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7(1), 31-41.
- Fathi, F., Saber-Riseh, R., Khodaygan, P. (2021). Survivability and controlled release of alginate-microencapsulated *Pseudomonas fluorescens* VUPF506 and their effects on biocontrol of *Rhizoctonia solani* on potato. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 627-634.
- Fareez, I.M., Lim, S.M., Mishra, R.K., Ramasamy, K. (2015). Chitosan coated alginate-xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of *Lactobacillus plantarum* LAB12. *International journal of biological macromolecules*, 72, 1419-1428.
- Gbassi, G.K., Vandamme, T., Ennahar, S., Marchioni, E., (2010). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp. in an alginate matrix coated with whey proteins. *Int J Food Microbiol*, 129: 103-105.
- Geniş, B., Tuncer, Y. (2019). Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan farklı kaplama materyalleri ve yöntemler. *Gıda*, 44(6) 1222-1236
- Gül, O., (2015). *Lactobacillus casei* Shirota'nın Çeşitli Yöntemlerle Mikroenkapsülasyonu, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 261 Sayfa, Samsun.
- Hamilton-Miller, J.M.T., Shah, S. Winkler, J.T. (1999). Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Public Health Nutrition*, 2(2), 223-229.
- Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U. (2009). Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food HydroColloids*, 23(7), 1670-1677.
- Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U. (2010). Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(7), 1-17.
- Hernandez-Mendoza, A., Robles, V.J., Angulo, J.O., De La Cruz, J., Garcia, H.S. (2007). Preparation of a whey-based probiotic product with *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium bifidum*. *Food Technology and Biotechnology*, 45(1), 27-31
- How, Y., Pui, L. (2021). Survivability of microencapsulated probiotics in nondairy beverages: A review. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7), e15641.
- Hsiao, H.C., Lian, W.C., Chou, C.C. (2004). Effect of packaging conditions and temperature on viability of microencapsulated bifidobacteria

- during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 134-139.
- Jannah, S.R., Rahayu, E.S., Yanti, R., Suroto, D.A., Wikandari, R. (2022). Study of Viability, Storage Stability, and Shelf Life of Probiotic Instant Coffee *Lactiplantibacillus plantarum* Subsp. *plantarum* Dad-13 in Vacuum and Nonvacuum Packaging at Different Storage Temperatures. *International Journal of Food Science*, 2022(1), 1663772.
- Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 3, 39-48.
- Kaya, Y., Akgün, H.A., Kök Taş T. (2025). Metagenomic analysis of microbial dynamics in water kefir grains: influence of soy protein on biomass growth and the development of an alternative beverage, *International Journal of Food Science and Technology*, 60,1, vva024 .
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 14(8), 737-743.
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT-Food Science and Technology*, 39(10), 1221-1227.
- Kebary, K.M.K., Hussein, S.A., Badawi, R.M. (1998). Improving viability of bifidobacterium and their effect on frozen ice milk. 319-337.
- Khater, K.A.A., Ali, M.A., Ahmed, E.A.M. (2010). Effect of encapsulation on some probiotic criteria. *Journal of American Science*, 6(10), 810-819.
- Kim, S.J., Cho, S.Y., Kim, S.H., Song, O.J., Shin, I.S., Cha, D.S., Park, H.J. (2008). Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 493-500.
- Kozlovskaya, V., Kharlampieva, E., Mansfield, M.L., Sukhishvili, S.A. (2006). Poly (methacrylic acid) hydrogel films and capsules: response to pH and ionic strength, and encapsulation of macromolecules. *Chemistry of materials*, 18(2), 328-336.
- Li, B., Tian, F., Liu, X., Zhao, J., Zhang, H., Chen, W. (2011). Effects of cryoprotectants on viability of *Lactobacillus reuteri* CICC6226. *Applied microbiology and biotechnology*, 92(3), 609-616.
- Li, X.Y., Chen, X.G., Cha, D.S., Park, H.J., Liu, C.S. (2009). Microencapsulation of a probiotic bacteria with alginate-gelatin and its properties. *Journal of Microencapsulation*, 26(4), 315-324.
- Manjunatha, V., Bhattacharjee, D., Flores, C. (2024). Unlocking Innovations: Exploring the Role of Kefir in Product Development. *Current Food Science and Technology Reports*, 2(2), 221-230.
- Meng, X.C., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Daly, C., Ross, R.P. (2008). Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. *Food Chemistry*, 106(4), 1406-1416.
- Morgan, C.A., Herman, N., White, P.A., Vesey, G. (2006). Preservation of micro-organisms by drying; a review. *Journal of microbiological methods*, 66(2), 183-193.
- Muthukumarasamy, P., Holley, R.A. (2006a). Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(2), 164-169.
- Muthukumarasamy, P., Allan-Wojtas, P., Holley, R.A. (2006b). Stability of *Lactobacillus reuteri* in different types of microCapsules. *Journal of food science*, 71(1), M20-M24.
- Nadeem, H.Ş., Torun, M., Özdemir, F. (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT-Food science and technology*, 44(7), 1626-1635.
- Picot, A., Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International dairy journal*, 14(6), 505-515.

- Pupa, P., Apiwatsiri, P., Sirichokchatchawan, W., Pirarat, N., Muangsin, N., Shah, A.A., Prapasarakul, N. (2021). The efficacy of three double-microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria. *Scientific Reports*, 11(1), 13753.
- Ranadheera, C.S., Evans, C.A., Adams, M.C., Baines, S.K. (2015). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 and *Propionibacterium jensenii* 702 by spray drying in goat's milk. *Small Ruminant Research*, 123(1), 155-159.
- Rashidinejad, A., Bahrami, A., Rehman, A., Rezaei, A., Babazadeh, A., Singh, H., Jafari, S.M. (2022). Co-encapsulation of probiotics with prebiotics and their application in functional/synbiotic dairy products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(9), 2470-2494.
- Rather, S.A., Akhter, R., Masoodi, F.A., Gani, A., Wani, S.M. (2017). Effect of double alginate microencapsulation on *in vitro* digestibility and thermal tolerance of *Lactobacillus plantarum* NCDC201 and *L. casei* NCDC297. *LWT-Food Science and Technology*, 83, 50-58.
- Reid, A., Vuilleumard, J.C., Britten, M., Arcand, Y., Farnworth, E., Champagne, C.P. (2005). Microentrapment of probiotic bacteria in a Ca (2+)-induced whey protein gel and effects on their viability in a dynamic gastro-intestinal model. *Journal of microencapsulation*, 22(6), 603-619.
- Sanprasert, S., Kumnerdsiri, P., Seubsai, A., Lueangiaroenkit, P., Pongsetkul, J., Indriani, S., ... Kingwascharapong, P. (2025). Techno-Functional, Rheological, and Physico-Chemical Properties of Gelatin Capsule By-Product for Future Functional Food Ingredients. *Foods*, 14(7), 1279.
- Santivarangkna, C., Higl, B., Foerst, P. (2008). Protection mechanisms of sugars during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures. *Food microbiology*, 25(3), 429-441.
- Sheu, T.Y., Marshall, R.T., Heymann, H. (1993). Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. *Journal of dairy science*, 76(7), 1902-1907.
- Xu, M., Gagné-Bourque, F., Dumont, M.J., Jabaji, S. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. *Journal of food engineering*, 168, 52-59.

BİBERİYE YAPRAĞI KAPLAMASININ BEYAZ PEYNİRDE FENOLİK MADDE, ANTİOKSİDAN AKTİVİTE VE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

**Hayri COŞKUN, Ercan SARICA*, Cemile AVCI,
Neslihan BEKDEMİR, Rümeyza KIR**

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

Geliş / Received 06.07.2025; Kabul / Accepted: 03.11.2025; Online baskı / Published online: 13.11.2025

Coşkun, H., Sarıca, E., Avcı, C., Bekdemir, N., Kır, R. (2025). Biberiye yaprağı kaplamasının beyaz peynirde fenolik madde, antioksidan aktivite ve bazı kalite özelliklerine etkisi. GIDA (2025) 50 (6) 1077-1090 doi: 10.15237/gida.GD25084

Coşkun, H., Sarıca, E., Avcı, C., Bekdemir, N., Kır, R. (2025). Effect of rosemary leaf coating on phenolic substances, antioxidant activity, and selected quality characteristics of white cheese. GIDA (2025) 50 (6) 1077-1090 doi: 10.15237/gida.GD25084

ÖZ

Bu çalışmada, biberiye yaprağı kullanılarak yapılan kaplamanın beyaz peynirin bazı kimyasal, mikrobiyolojik, fiziksel ve duyuşal özellikleri ile fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Üretilen peynir örneklerinin yarısı kontrol grubu olarak kullanılmış, diğer yarısı ise biberiye yaprakları ile kaplanmıştır. Her iki gruptaki örnekler, +4°C'de 30 gün süreyle depolanmış ve analiz edilmiştir. Peynirlerin biberiye ile kaplanması fenolik madde içeriğinde artış eğilimi göstermiştir, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0.05$). Biberiye kaplı örnekler (%49.90) kontrol grubuna (%16.40) göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir ($P<0.05$). Renk analizleri sonucunda, biberiye kaplı örneklerin L^* değerleri kontrol grubuna kıyasla daha düşük ($P<0.05$), a^* ($P<0.05$) ve b^* ($P>0.05$) değerleri ise daha yüksek bulunmuştur. Koliform ve maya-küf sayılarında gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($P>0.05$). Biberiye kaplı örnekler, özellikle tat ve aroma bakımından daha fazla tercih edilmiştir. Sonuç olarak, biberiye yaprağı ile kaplamanın peynirin fenolik madde, antioksidan aktivite, tat ve aroma özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir.

Anahtar kelimeler: Beyaz peynir, biberiye, kaplama, fenolik, antioksidan

EFFECT OF ROSEMARY LEAF COATING ON PHENOLIC SUBSTANCES, ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND SELECTED QUALITY CHARACTERISTICS OF WHITE CHEESE

ABSTRACT

This study investigated the effects of rosemary leaf coating on phenolic content, antioxidant activity, and chemical, microbiological, physical, and sensory properties of white cheese. Half of the total 20 samples served as control, and the rest were coated with rosemary leaves, stored at +4°C for 30 days,

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ercansarica@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000 / 5839

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

Ercan Sarıca; ORCID no: 0000-0002-8269-9403

Cemile Avcı; ORCID no: 0009-0000-4216-4298

Neslihan Bekdemir ORCID no: 0009-0009-4714-390X

Rümeyza Kır; ORCID no: 0009-0006-1501-7085

and the analyses were carried out. Although the rosemary coating on cheeses tended to increase the phenolic content, this increase was not found to be statistically significant ($P > 0.05$). Rosemary-coated samples (49.90%) showed higher antioxidant activity than the control group (16.40%) ($P < 0.05$). Color analysis showed lower L^* ($P < 0.05$) and higher a^* ($P < 0.05$) and b^* ($P > 0.05$) values in coated samples. No significant differences were found in coliform or yeast-mold counts ($P > 0.05$). Sensory tests revealed a higher preference for coated samples, especially in taste and aroma. Overall, rosemary coating positively influenced phenolic content, antioxidant activity, and sensory qualities of white cheese.

Keywords: Beyaz cheese, rosemary, coating, phenolic, antioxidant

GİRİŞ

Peynir, dünya genelinde farklı kültürel ve teknolojik uygulamalarla üretilen ve çeşitliliği oldukça fazla olan temel bir süt ürünüdür. Küresel süt üretiminin yaklaşık üçte biri peynir üretimine ayrılmaktadır. Dünya genelinde 4000'in üzerinde peynir çeşidi bulunmaktadır. Türkiye'de ise bu sayı yaklaşık 130 civarındadır ve en yaygın üretilen türler arasında beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniri yer almaktadır (Karateke, 2024). Özellikle beyaz peynir hem üretim hem de tüketim miktarı açısından önemli bir yere sahiptir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne (Anonim, 2015) göre beyaz peynir, "hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı peynir" olarak tanımlanmaktadır.

Peynir üretiminde bitki ve baharatların kullanımı, ürünün lezzetini, aromasını ve besin değerini artırmak amacıyla yaygın olarak tercih edilmektedir. Bununla birlikte, antimikrobiyal özelliklere sahip baharatlar, patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek ürünün raf ömrünü uzatabilmektedir. Bitki ve baharatlar, peynirin duyusal özelliklerini iyileştirerek tüketici beğenisini artırmaktadır. Özellikle yöresel peynir çeşitlerinde bu tür katkı maddeleri, geleneksel tatların oluşmasına katkı sağlamakta ve ürüne özgün bir karakter kazandırmaktadır (Coşkun, 2024). Son zamanlarda, fenolik maddeler gibi insan sağlığına faydaları olan biyoaktif bileşiklere olan ilgi artmaktadır (Himed-Idir vd., 2020). Bu doğrultuda, antioksidan aktiviteye sahip biyoaktif bileşiklerin önemli kaynakları arasında yer alan biberiye gibi aromatik bitkilerle gıdaların

zenginleştirilmesi önerilmektedir (Mahgoub vd., 2025).

Biberiye (*Salvia rosmarinus*, syn. *Rosmarinus officinalis*), Lamiaceae üyesi olan ve morfolojik olarak iğne şeklinde küçük yapraklara sahip aromatik bir bitkidir (Aziz vd., 2022). Türkiye'de "kuş dili" olarak da adlandırılan bu bitkinin, çalı formunda çok yıllık bir tür olduğu ve yapraklarının dört mevsim yeşil kaldığı bildirilmiştir. Doğal ortamında 2 metreye kadar uzayabilen bitkinin küçük yapılı, soluk mor veya mavimsi renkte çiçekler açtığı bildirilmiştir. Karakteristik kokusunu sağlayan yaprakları yılda üç ila dört kez hasat edilebilmektedir. Akdeniz kökenli olan bu bitkinin, çok yönlü kullanım alanları nedeniyle coğrafi sınırların ötesine geçtiği ve küresel ölçekte ilgi gördüğü rapor edilmiştir (Kırpık ve Özgüven, 2018; Aziz vd., 2022; Meziane vd., 2025). Biberiye hem doğal haliyle hem de organik ekstrakt olarak çeşitli gıda ürünlerinde yaygın şekilde kullanılmakta; kendine özgü duyusal nitelikleri sayesinde tüketiciler tarafından sıklıkla tercih edilmektedir (Marinho vd., 2015a). Hafif acımsı tada sahip olan yapraklarının, baharat ve uçucu yağ üretiminde değerlendirildiği bilinmektedir. Ayrıca gıdalarda doğal antioksidan ve koruyucu ajan olarak kullanıldığı, özellikle et ürünlerinde ve yağ oranı yüksek gıdalarda lipid oksidasyonunu engelleyerek ransidite oluşumunu önlediği vurgulanmaktadır (Çakır, 2018). Biberiyenin (yağ, ekstrakt veya yaprak formu) antioksidan kapasitesi, oksidasyon süreci sırasında oluşan serbest radikallerle reaksiyona giren karnosik asit, rosmarinik asit, karnosol, rosmanol, rosmarikinon ve rosmaridifenol gibi fenolik bileşiklerin varlığıyla ilişkilidir. Bu bileşikler, elektron vererek zincirleme oksidasyon reaksiyonunu kesintiye uğratmaktadır (Marinho vd., 2015b).

Peynir üretiminde biberiye kullanımına yönelik çeşitli çalışmalar, bu bitkinin hem fonksiyonel hem de mikrobiyolojik açıdan ürüne katkı sağladığını ortaya koymaktadır. Çakır (2018), taze kaşar peynirine artan oranlarda biberiye ilavesinin toplam fenolik madde içeriğini yükselttiğini; ancak renk değerlerinde azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Hamdy ve Hafaz (2018), biberiye tozu ilave edilen Ricotta peynirlerinde toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitenin arttığını, maya-küf gelişiminin ise kontrol örneklerine kıyasla daha da düştüğünü rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, Himed-İdir vd. (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada, farklı oranlarda biberiye tozu ve liyofilize biberiye ekstraktı ilave edilen taze peynirlerde toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitenin arttığı; pH, yağ ve protein içeriği üzerinde ise anlamlı bir etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir. Korkmaz (2011), Quark peynirine biberiye yağı ilavesi sonucunda koliform ve maya-küf sayılarında artış gözlemlerken, duyuusal değerlendirme puanlarının diğer örneklerle göre daha düşük olduğunu rapor etmiştir. Tomar ve Akarca (2019) tarafından yürütülen bir çalışmada, biberiye ekstraktı ile kaplanan kaşar peynirlerinde mikrobiyal yükün azaldığı ve biberiye ekstraktı ile kaplanan kaşar peynirlerinin, diğer örneklerle göre duyuusal açıdan daha yüksek puan aldığı ifade edilmiştir. Öte yandan, Uzundağ vd. (2025), biberiye uçucu yağı içeren yenilebilir film ile kaplanan taze peynir örneklerinde depolamanın 10. gününde bozulma belirtileri gözlemlenmişler; ancak bu örneklerde depolamanın 5. gününde yapılan duyuusal analizler sonucunda, film kaplı peynir örneklerinin tat, koku ve görünüm açısından tüketiciler tarafından beğenildiğini rapor etmişlerdir.

Literatürde yer alan araştırmalarda, farklı peynir türlerine biberiye ilavesinin toplam fenolik madde içeriğini ve antioksidan aktiviteyi artırdığı, mikrobiyal gelişimi sınırladığı ve genel ürün kalitesine olumlu katkılar sağladığı bildirilmektedir. Ancak, biberiye yaprağı ile kaplama işleminin beyaz peynir üzerindeki etkilerini inceleyen özgün bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda, bu çalışmada biberiye yaprağı ile yapılan kaplamanın beyaz

peynirin kimyasal (kuru madde, tuz, titrasyon asitliği), mikrobiyolojik (koliform ve maya-küf), fiziksel (renk değerleri) ve duyuusal özelliklerinin yanı sıra fonksiyonel bileşenleri (fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite) üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan inek sütü, Bolu ilinde faaliyet gösteren İkizler Süt İşletmesi'nden temin edilmiştir. Sütün ortalama kuru madde oranı %11.80, yağ oranı %3.4, pH değeri 6.40 ve titrasyon asitliği %0.18 olarak belirlenmiştir. Beyaz peynir üretiminde, ticari şirden peynir mayası ve mezofilik laktik asit bakterisi kültürü (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*; Maysa Gıda, İstanbul) kullanılmıştır. Kültür, süte ilave edilmeden önce steril süt ile aktive edilmiştir. Peynir kaplamasında kullanılan biberiye (*Salvia rosmarinus*), taze olarak Bolu'da yerel bir üreticiden temin edilmiştir.

Biberiye yapraklarının hazırlanması

Taze olarak temin edilen biberiye yaprakları saplarından elle sıyrılarak ayrılmıştır. Ayrılan yapraklar, üzerlerinde bulunabilecek toz-toprak vb. kirlerin uzaklaştırılması amacıyla musluk suyu ile yıkanmış ve ince ince doğranmıştır. Doğranmış biberiye yaprakları önceden steril edilerek soğutulmuş su ile ikinci kez yıkanmış ve bilahare oda sıcaklığında kurutulmuştur.

Beyaz peynir örneklerinin üretimi

Çiğ inek sütü, içindeki yabancı maddelerin uzaklaştırılması için süzme bezinden geçirilmiştir. Süt, 65°C'de 20 dakika süreyle pastörize edilmiş ve ardından mayalama sıcaklığına (34-35°C) soğutulmuştur. Mayalama sıcaklığına soğutulmuş süte, önceden hazırlanmış kalsiyum klorür çözeltisi (10g/100 L), starter kültür (%1.5) ve 90 dakika içinde pıhtılaştıracak şekilde hesaplanan miktarda peynir mayası ilave edilmiştir. Mayalama sonunda oluşan pıhtı, teleme bıçaklarıyla 1 cm³ boyutlarında kesilmiş ve telemeden peynir altı suyunun (PAS) uzaklaştırılması sağlanmıştır. Kenarlara yapışan teleme sıyrılarak hafifçe karıştırılmış, ardından pıhtının çökmesi için 15 dakika beklenmiştir. Takiben PAS uzaklaştırılmış

ve PAS akışı sona erene kadar baskılama işlemi uygulanmıştır. Baskılama sonrasında elde edilen peynir, $8 \times 10 \times 4.5$ cm boyutlarında kesilerek kalıplara ayrılmıştır. Kalıplar, %16 tuz konsantrasyonuna ve yaklaşık 17°C sıcaklığa sahip salamura içerisinde 4–5 saat bekletilmiştir. Salamura süresince her saat başı peynirin yeterli miktarda tuz alıp almadığı kontrol edilmiştir. Bu aşamada, peynirin pH'sının <6.00 olmasına ve peynir ile salamura pH'larının eşit olmasına dikkat edilmiştir. Salamuradan çıkarılan peynir kalıpları, yüzey suyunun uzaklaştırılması amacıyla bir gece boyunca buzdolabında bekletilmiştir.

Ertesi gün peynirler iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruba kaplama işlemi uygulanmamış ve kontrol grubu (K) olarak dikkate alınmıştır. İkinci grup peynirler daha önceden hazırlanmış biberiye yaprakları (B) ile kaplanmıştır (Şekil 1). Kaplama

işlemi sırasında, peynir yüzeyinin mümkün olduğunca tamamının biberiye yapraklarıyla örtülmesine özen gösterilmiştir. Her iki grup da şeffaf plastik ambalaj kaplarına (PET, Petking/Eltron Plastik, İstanbul; $9 \times 10 \times 5.5$ cm) yerleştirilmiş ve $+4^\circ\text{C}$ 'de 30 gün süreyle depolanmıştır (Coşkun, 2021). Depolamanın 1., 7., 14., 21. ve 30. günlerinde peynirlerden örnekler alınarak analiz edilmiştir. Biberiye kaplı peynirlerden örnek almadan önce yüzeylerindeki yapraklar aseptik şartlarda dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Çalışma iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Tekerrür üretimler dâhil olmak üzere, birinci ve ikinci gruplar onar örnekten oluşmuştur. Böylece çalışmada toplam 20 örnek üretilmiş ve depolama süresi boyunca analiz edilmiştir.



Şekil 1. Üretilen peynirler; K: Kontrol örneği, B: Biberiye yaprakları ile kaplı örnek

Figure 1. Cheese samples; K: Control sample, B: Rosemary leaf-coated sample

Analiz yöntemleri

Peynir örneklerinde kuru madde, kuru maddede tuz ve titrasyon asitliği tayini

Peynir örneklerinde kuru madde (%), tuz (%) ve titrasyon asitliği (%) analizleri, Kurt vd. (1996) tarafından bildirilen yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen tuz değerleri daha sonra kuru madde üzerinden yüzde tuz olarak ifade edilmiştir.

Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite tayini

Örneklerde toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite tayini, Akan vd. (2021) tarafından bildirilen yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Fenolik madde ve antioksidan aktivite analizlerinde kullanılmak üzere peynir örneklerinden metanol ekstraktları

hazırlanmıştır. Bunun için her örnekten 10 g tartılarak üzerine 10 mL metanol eklenmiş, karışım vorteks cihazında 5 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Daha sonra ekstraktlar buzdolabında 2 saat bekletilmiş, ardından 4°C 'de 8600 g kuvvetinde 30 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Elde edilen üst faz, Whatman No. 42 kâğıt filtreden süzülerek analizlerde kullanılmıştır. Antioksidan aktivitesi DPPH yöntemiyle belirlenmiştir. Metanolde hazırlanmış 0.2 mM DPPH çözeltisinden 4 mL, örnek ekstraktından 4 mL ile karıştırılmıştır. Karışımların absorbanans değerleri 517 nm dalga boyunda UV-1700 (Shimadzu, Japonya) spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Kontrol için aynı hacimde metanol kullanılmıştır. İnhibisyon yüzdesi Eşitlik 1 ile hesaplanmıştır:

% İnhibisyon = $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} * 100$,
A= absorbans (1)

Farklı konsantrasyonlarda troloks çözeltilerine karşılık gelen absorbans değerleri ile % inhibisyon kapasitesi belirlenerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Sonuçlar, ayrıca µg Troloks eşdeğeri/g peynir olarak ifade edilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocalteu metoduna göre belirlenmiştir. Metanol ekstraktından 1 mL alınarak, üzerine 10 kat seyreltilmiş Folin–Ciocalteu reaktifinden 5 mL ilave edilmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra %7.5’lik sodyum karbonat çözeltisinden 4 mL eklenmiş, karışımlar karanlık ortamda oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Absorbans değerleri 760 nm dalga boyunda, aynı spektrofotometre ile ölçülmüş ve sonuçlar, gallik asit standart eğrisi kullanılarak gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden ifade edilmiştir.

Renk tayini

Renk analizlerinde renk ölçüm cihazı CR-400 (Konica Minolta, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. Ölçümlerde CIE (Commission Internationale de l’Éclairage) sistemi esas alınmıştır. Buna göre L* (açıklık-koyuluk), a* (kırmızı-yeşil) ve b* (sarı-mavi) değerleri ölçülerek kaydedilmiştir. Cihaz her ölçüm öncesinde kalibre edilmiştir. Toplam renk değişimi (ΔE^*), Eşitlik 2 ile hesaplanmıştır:

$$\Delta E^* = [(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2]^{1/2} \quad (2)$$

Koliform ve maya-küf sayısı

Mikrobiyolojik analizlerde, koliform grup bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyeri kullanılmış ve örnekler 35°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, mor-kırmızı renkli koloniler sayılmıştır. Maya-küf sayımı ise Potato Dextrose Agar (PDA) kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla örnekler yayma plak yöntemiyle ekilmiş ve 25°C’de 120 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan tüm koloniler sayılmıştır (Kurt vd., 1996).

Duyusal analizler

Duyusal analizlerde örnekler “Kontrolle göre fark” testi uygulanmıştır (Metin, 1977). Bu testte,

panelistlerden biberiye ile kaplanmış peynir örneklerinin kontrol grubuna kıyasla duyuşal açıdan farklı olup olmadığını (“aynı”, “iyi” veya “kötü”) ve olası farkın derecesini (“fark yok”, “çok az farklı”, “farklı”, “oldukça farklı”) değerlendirmeleri istenmiştir. Duyusal değerlendirme, duyuşal analiz konusunda eğitim almış 7 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel analizler

Kontrol ve biberiye yaprakları ile kaplı peynir gruplarının analiz edilen özelliklerine ait ortalamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde t-testi kullanılmıştır. Depolama süresine bağlı değişimlerin değerlendirilmesinde ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde $P < 0.05$ değeri anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir (Devore ve Peck, 1993). İstatistiksel analizler, SPSS yazılımı (v.25.0; SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kuru madde, kuru maddede tuz ve titrasyon asitliği değerleri

Depolama süresi boyunca biberiye yaprakları ile kaplanmış peynir örneklerinin kuru madde, tuz ve titrasyon asitliği değerlerinde meydana gelen değişimler Çizelge 1’de sunulmuştur.

Çizelge 1’den de takip edileceği üzere, biberiye ile kaplı örneklerin genel ortalama kuru madde değeri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Nitekim bu farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). Gerek kontrol ve gerekse biberiye kaplı örneklerde kuru madde değerleri depolamanın 7. gününde yüksek çıkmıştır. Değişim biberiye kaplı örnekte önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Biberiye yaprağı ile kaplı örneklerin kuru madde değerlerinin genel olarak yüksek çıkması, biberiye yapraklarının peynirden nem çekmesiyle açıklanabilir. Her iki peynir örneğinde depolamanın 7. gününde kuru madde değerinin yüksek çıkması, peynir kitlesinden su ayrılmasına bağlanabilir. Sonraki dönemlerde örneklerdeki kuru madde değerleri hemen hemen stabil seyretmiştir. Araştırmadan elde edilen kuru madde değerleri, farklı baharat türleri kullanılarak

üretilen beyaz peynirlerde bildirilen genel ortalama değerden (%47.09) daha düşüktür (Deveci, 2016).

Çizelge 1. Peynir örneklerinin kuru madde, kuru maddede tuz ve titrasyon asitliği değerlerinde meydana gelen değişimler

Özellikler (%) Properties	Peynir grubu Cheese group	Depolama zamanı (Gün) Storage time (Days)					Genel Ortalama General mean
		1	7	14	21	30	
Kuru madde Dry matter	K	42.17 ±1.156 ^{ab}	43.44 ±0.770 ^a	41.58 ±0.083 ^b	42.31 ±0.484 ^{ab}	42.29 ±0.035 ^{ab}	42.36 ±0.803 ^B
	B	42.20 ±0.654 ^b	44.75 ±0.526 ^a	42.83 ±0.994 ^b	43.57 ±0.012 ^{ab}	43.13 ±0.599 ^{ab}	43.30 1.018 ^A
Kuru maddede tuz Salt content in dry matter	K	6.55 ±0.085 ^b	8.23 ±0.778 ^a	7.99 ±0.014 ^a	8.34 ±0.410 ^a	8.29 ±0.438 ^a	7.88 ±0.785 ^A
	B	6.45 ±0.120 ^b	7.93 ±0.184 ^a	8.49 ±0.233 ^a	8.35 0.841 ^a	7.83 ±0.113 ^a	7.81 ±0.821 ^A
Titrasyon asitliği Titratable acidity	K	0.81 0.037 ^a	0.77 0.012 ^{abc}	0.79 0.019 ^{ab}	0.71 0.049 ^{bc}	0.67 0.056 ^c	0.75 0.063 ^A
	B	0.80 0.049 ^a	0.77 0.004 ^a	0.78 0.056 ^a	0.58 0.037 ^b	0.56 0.095 ^b	0.70 0.117 ^A

a,b,c: Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0.05$). A,B: Her bir özelliğe ait genel ortalamalarda farklı harf taşıyan kontrol (K) ve biberiye kaplı örnekleri (B) birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0.05$).

a,b,c: Means in the same row with different letters differ significantly ($P < 0.05$); same letters indicate no difference ($P > 0.05$). A,B: In overall means for each property, control (K) and rosemary-coated (B) samples with different letters differ significantly ($P < 0.05$); same letters indicate no difference ($P > 0.05$).

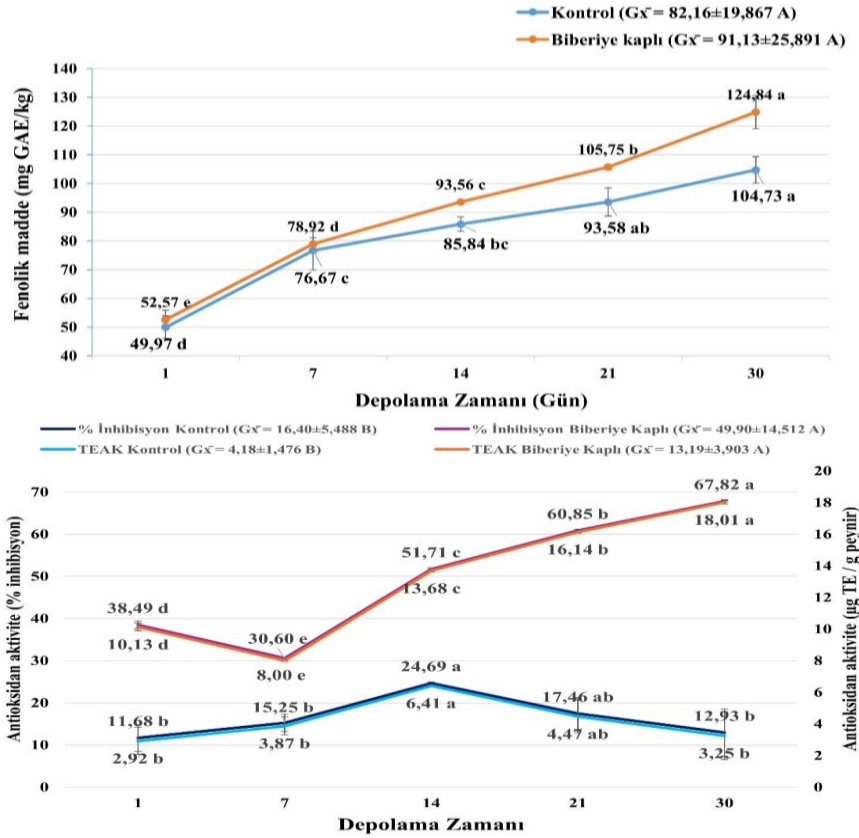
Biberiye yaprakları ile kaplanan beyaz peynirlerde depolama boyunca kuru maddede tuz oranı değerlerinde meydana gelen değişimler Çizelge 1’de gösterilmiştir. Çizelge 1’de görüldüğü üzere, kontrol örneği ile biberiye kaplı örneklerin genel ortalamaları arasında fark çıkmamıştır ($P > 0.05$). Kısaca, peynir örneklerini biberiye yaprağı ile kaplamanın örneklerin kuru maddede tuz değerlerine etkisi olmamıştır. Ancak, her iki örneğin kuru maddede tuz değerleri 7. güne kadar artış göstermiş ($P < 0.05$) ve sonraki dönemlerde önemli bir değişim göstermemiştir ($P > 0.05$). Kuru maddede tuz değerlerinin depolamanın 7. gününde hem biberiye kaplı hem de kontrol örneklerinde yüksek çıkması, peynir kitlesinden su ayrılması ile açıklanabilir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği’nde salamurada olgunlaştırılan peynirler için kuru maddede tuz oranı en çok %7.5 olarak belirlemiştir (Anonim, 2015). Örneklerin genel ortalama kuru maddede tuz değerleri, Peynir Tebliği’nde belirtilen değere yakındır.

Biberiye kaplı beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişimler Çizelge 1’de gösterilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü üzere, genel ortalama titrasyon asitliği değeri kontrol peynirine kıyasla (%0.75) biberiye kaplı örneklerde düşük (%0.70) bulunmuş, ancak bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Biberiye kaplı ve kontrol peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde, depolamanın 21. ve 30. günlerinde önemli düşüşler tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Bu düşüş, biberiye kaplı örneklerde daha belirgindir. Şekil 4 incelendiğinde, her iki grupta da maya ve küf sayılarında artış olduğu görülmektedir. Literatürde belirtildiği üzere, maya ve küfler peynirlerde depolama boyunca ortamdaki laktik asidi parçalayabilmektedir (Fan vd., 2023). Titrasyon asitliği değerlerindeki düşüşün, bu durumla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Elde edilen titrasyon asitliği değeri, Deveci (2016) tarafından bildirilen asitlik değerinden (%0.92) daha düşüktür.

Fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri

Biberiye kaplı beyaz peynir örneklerinde depolama boyunca toplam fenolik madde miktarındaki değişimler Şekil 2’te gösterilmiştir. Biberiye ile kaplanan örneklerde toplam fenolik madde miktarı ortalama 91.13 mg GAE/kg, kontrol grubunda ortalama 82.16 mg GAE/kg bulunmuştur. Ancak ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0.05$). Farkın önemsiz çıkması, biberiye yapraklarının yalnızca peynir yüzeyini kaplaması nedeniyle fenolik bileşiklerin peynirin iç kısımlarına yeterli düzeyde difüze olamamasından kaynaklanmış olabilir. Bununla birlikte, depolama boyunca biberiye kaplı örneklerde daha fazla olmak üzere her iki grupta

da fenolik madde miktarı artış göstermiştir ($P<0.05$). Biberiye kaplı peynir örneklerinde fenolik madde miktarının yüksek bulunması, biberiye yapraklarında bulunan fenolik bileşiklerin peynir matriksine nüfuz etmesi ile açıklanabilir (Güler, 2019). Benzer şekilde, depolama süresince her iki örnekte de fenolik madde miktarının arttığı, ayrıca bu artışın biberiye kaplı örneklerde daha yüksek olduğu Çakır (2018) tarafından da bildirilmiştir. Depolama sırasında ortamda bulunan bazı mikroorganizmaların fenolik bileşiklerin serbest kalmasını ve daha aktif formlara dönüşmesini sağlayabileceği ifade edilmektedir (Antoniewicz, 2021).



Şekil 2. Peynir örneklerinin fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinde meydana gelen değişimler (Gx̄: Ait olduğu peynir grubunun genel ortalama değeri, A,B: Genel ortalamalar arasındaki istatistiksel farkı ($P: 0.05$), a,b,c: Her bir örneğin depolama günleri arasındaki farkı ($P: 0.05$) göstermektedir)

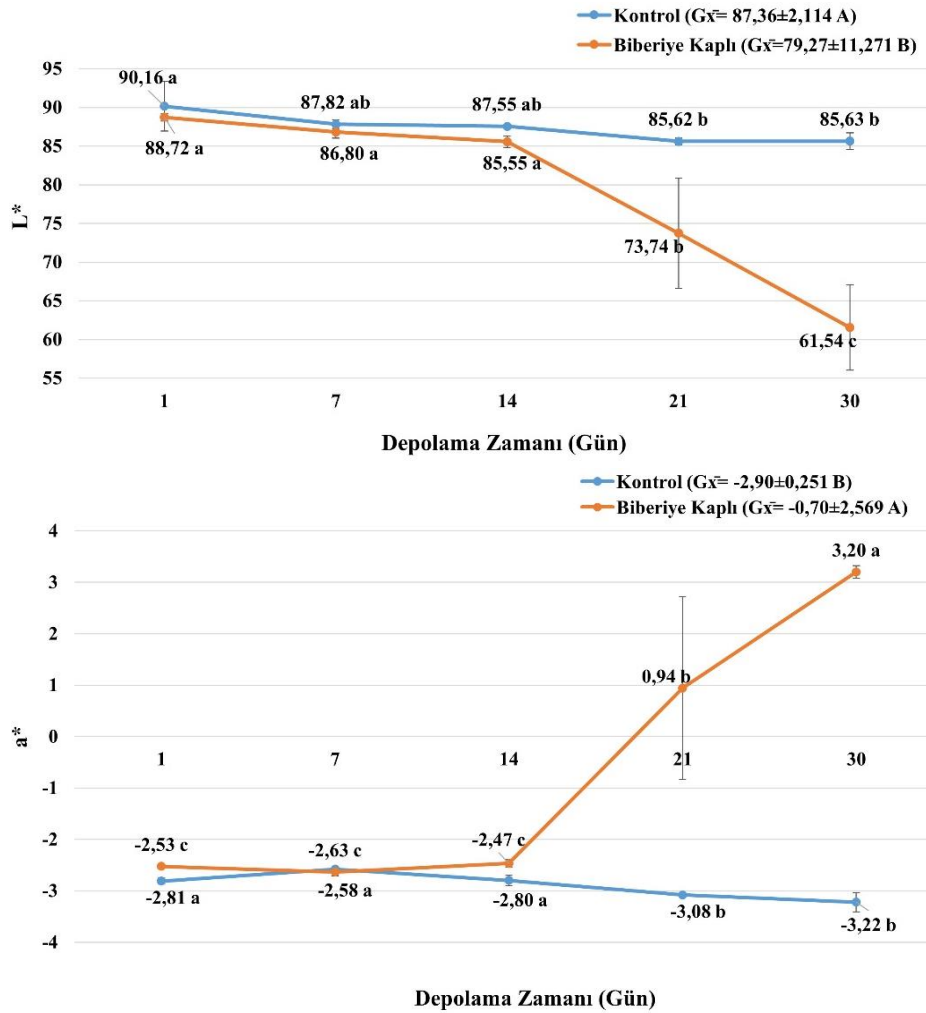
Figure 2. Changes in the phenolic content and antioxidant activity values of cheese samples (Gx̄: General average value of the corresponding cheese group; A,B: Statistical difference between general averages ($P: 0.05$); a,b,c: Difference between storage days of each sample ($P: 0.05$))

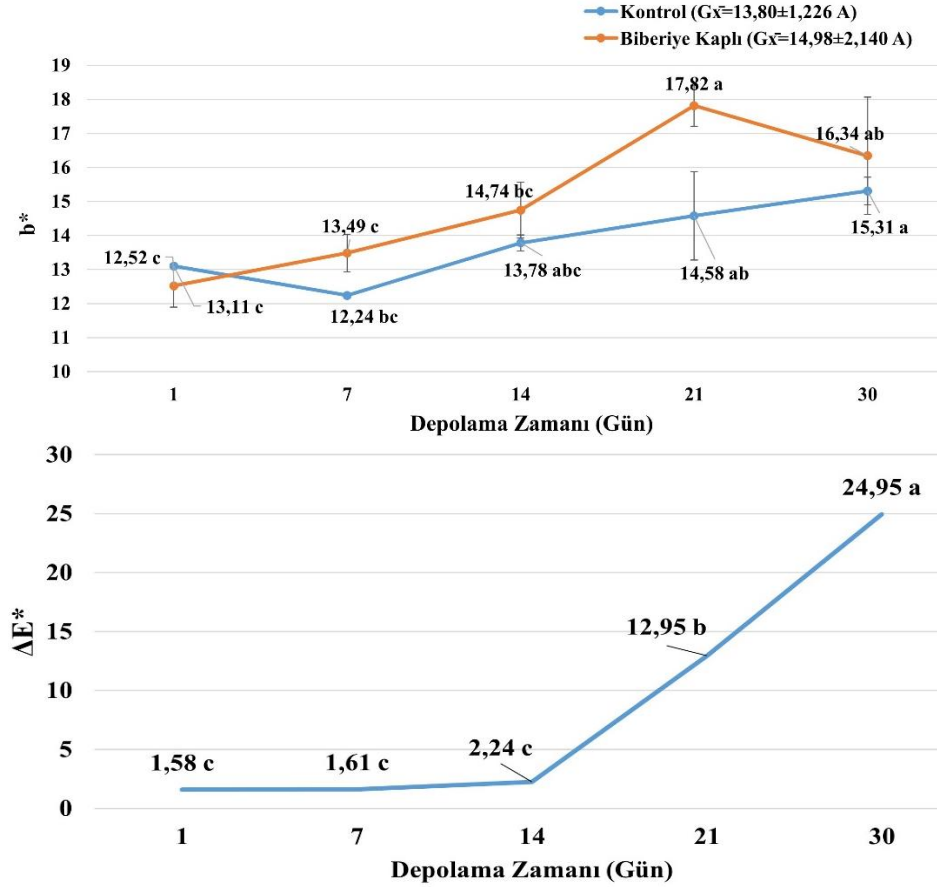
Biberiye yaprakları ile kaplanan peynir örneklerinde % inhibisyon ve Troloks eş değeri olarak antioksidan aktivite genel ortalama değeri (%49.90 ve 13.19 $\mu\text{g TE/g}$ peynir), kontrol peynirlerine göre (%16.40 ve 4.18 $\mu\text{g TE/g}$ peynir) oldukça yüksek bulunmuştur (Şekil 2). Bu fark, istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0.05$). Peynirlerin kaplanması için kullanılan biberiye yapraklarında antioksidan bileşikler bulunmaktadır (Güler, 2019). Dolayısıyla biberiye kaplı örneklerde antioksidan aktivitenin yüksek çıkması, kaplamada kullanılan biberiye yapraklarından kaynaklanmış olabilir. Depolama boyunca biberiye kaplı peynir örneklerinde

antioksidan aktivitede meydana gelen artış da önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bu artışın, zamana bağlı olarak biberiye yapraklarındaki antioksidan bileşiklerin peynir matrisine geçişinin hızlanmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Benzer bir sonuç, Çakır (2018) tarafından kaşar peynir örneklerinde de tespit edilmiştir.

Renk değerleri

Biberiye kaplı ve kontrol peynir örneklerinin depolama boyunca renk değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 3'te gösterilmiştir.





Şekil 3. Peynir örneklerinin renk (L^* , a^* , b^* ve ΔE^*) değerlerinde meydana gelen değişimler ($G\bar{x}$: Ait olduğu peynir grubunun genel ortalama değeri, A,B: Genel ortalamalar arasındaki istatistiksel farkı (P : 0.05), a,b,c: Her bir örneğin depolama günleri arasındaki farkı (P : 0.05) göstermektedir)

Figure 3. Changes in the color parameters (L^* , a^* , b^* , and ΔE^*) of cheese samples ($G\bar{x}$: General average value of the corresponding cheese group; A,B: Statistical difference between general averages (P : 0.05); a,b,c: Difference between storage days of each sample (P : 0.05))

Şekil 3'te görüldüğü üzere, genel ortalama L^* değerleri, biberiye kaplı örneklerle kıyasla kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Depolamanın ilk 14 gününde her iki grubun L^* değerleri birbirine yakın seyretmiş, ancak bu süreden sonra biberiye kaplı örneklerde L^* değerleri belirgin şekilde azalmıştır ($P<0.05$). Bu durumun, biberiye yapraklarının peynir yüzeyinden su çekerek peynire yapışması ve içerdiği renk bileşenlerini yüzeye aktarmasıyla açıklanabilir. Çakır (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da benzer bir sonuca ulaşılmış ve biberiye ilavesi yapılan kaşar peynirlerinde L^* değerinde azalma gözlemlenmiştir. Öte yandan, Uzundağ vd. (2025)

tarafından biberiye uçucu yağı içeren filmle kaplanan peynirlerde L^* değerlerinin depolama boyunca arttığı rapor edilmiştir. Bu farklılığın, kullanılan biberiye formu (yaprak ya da uçucu yağ) ile uygulanan kaplama yönteminden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Renk a^* değerleri açısından değerlendirildiğinde, biberiye kaplı örneklerde genel ortalamasının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$, Şekil 3). L^* değerlerinde meydana gelen değişimlere benzer şekilde, a^* değerleri depolamanın ilk 14 gününde iki grup arasında birbirine yakın seyretmiş, ancak takip eden günlerde biberiye kaplı örneklerde

yükselmiştir ($P<0.05$). Bu durum, kontrol örneklerinde yeşil rengin arttığını, biberiye kaplı peynirlerde ise kırmızı tonlarının belirginleştiğini göstermektedir. Biberiye yaprakları ile kaplanan örneklerde gözlenen kırmızılık artışı, zamanla yapraklardan peynire geçen renk pigmentleriyle açıklanmakta olup, bu durum peynir yüzeyinde gözlenen kahverengimsi tonlarla da ilişkilendirilmektedir. Bu sonuç, Çakır (2018) tarafından elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

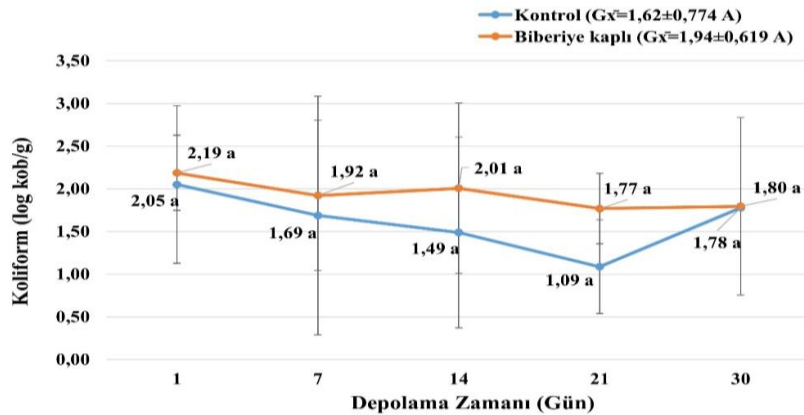
Biberiye yaprakları ile kaplanmış peynir örneklerinin genel ortalama b^* değerleri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($P>0.05$, Şekil 3). Depolama boyunca her iki grupta da b^* değerlerinde artış gözlenmiş; bu artış biberiye kaplı örneklerde daha fazla olmuştur ($P<0.05$). Yapılan bir çalışmada, farklı oranlarda biberiye ilave edilen kaşar peyniri örneklerinin b^* değerleri, kontrol örneklerine göre daha düşük çıkmıştır (Çakır, 2018). Bu farklılığın, biberiye'nin peynire temas şeklinin farklı olmasından; yani doğrudan ürüne ilave edilmesi ile yüzeysel kaplama şeklinde uygulanması gibi farklı uygulama yöntemlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

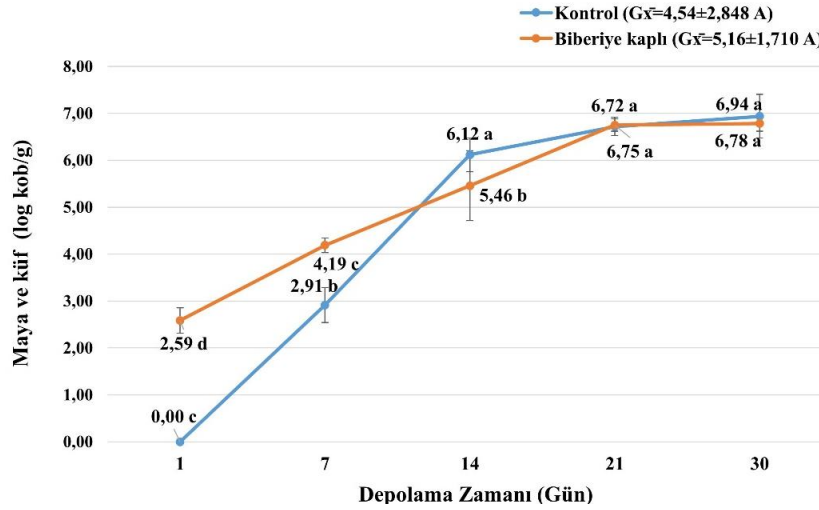
Depolama süresi boyunca, biberiye yapraklarıyla kaplanmış peynir örnekleri ile kontrol örnekleri arasındaki toplam renk değişimi (ΔE^*) artmıştır (Şekil 3). Bu artış, depolamanın ilk 14 gününde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Ancak değişim, 21. ve 30. günlerde

önemlidir ($P<0.05$). Toplam renk değişimi (ΔE^*); analitik olarak çok belirgin ($\Delta E^*>3$), belirgin ($1.5<\Delta E^*<3$) ve küçük fark ($1.5>\Delta E^*$) olarak sınıflandırılmıştır. ΔE^* değerinin 2'nin üzerinde olması, gözle görülebilir bir farklılık olduğunu göstermektedir (Pathere vd. 2013). Elde edilen sonuçlar, biberiye yaprağı kaplamasının peynirin görsel özelliklerini depolama süresince önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymuştur. Bu etki, depolamanın ilk 14 gününde belirgin, sonraki günlerde ise çok belirgin bir renk farklılığına neden olmuştur.

Koliform ve maya-küf sayıları

Biberiye yaprakları ile kaplanmış peynir örneklerinde koliform bakteri sayısında depolama boyunca meydana gelen değişimler Şekil 4'te sunulmuştur. Şekil 4 incelendiğinde, biberiye kaplı örneklerin genel ortalama koliform sayısı (1.94 log KOB/g), kontrol örneklerine (1.62 log KOB/g) göre daha yüksek bulunmuştur, ancak fark önemsizdir ($P>0.05$). Her iki grupta da koliform bakteri sayıları genel olarak düşük seviyelerdedir (<2 log KOB/g). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde peynirlerde koliform bakteri sayısına ilişkin spesifik bir limit bulunmamaktadır (Anonim, 2025). Depolama süresi boyunca her iki örnekte de koliform sayılarında düşüş gözlenmiştir ($P>0.05$). Elde edilen bulgular doğrultusunda, peyniri biberiye yaprağı ile kaplamanın peynirde koliform bakteri sayısı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı söylenebilir.





Şekil 4. Peynir örneklerinin koliform ve maya-küf değerlerinde meydana gelen değişimler ($G\bar{x}$: Ait olduğu peynir grubunun genel ortalama değeri, A,B: Genel ortalamalar arasındaki istatistiksel farkı (P : 0.05), a,b,c: Her bir örneğin depolama günleri arasındaki farkı (P : 0.05) göstermektedir)

Figure 4. Changes in coliform and yeast–mold counts of cheese samples ($G\bar{x}$: General average value of the corresponding cheese group; A,B: Statistical difference between general averages (P : 0.05); a,b,c: Difference between storage days of each sample (P : 0.05))

Şekil 4’te görüldüğü üzere, biberiye kaplı örneklerin genel ortalama maya-küf sayıları, kontrol örneklerine göre yüksektir; ancak bu istatistiksel olarak önemli değildir ($P>0.05$). Kontrol grubunda depolamanın başında maya-küf gelişimi olmamış, ancak 7. günden itibaren artış meydana gelmiştir ($P<0.05$). Sayı 21. günden itibaren ise stabil kalmıştır ($P>0.05$). Biberiye kaplı örneklerde maya-küf sayıları başlangıçta kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmış ve 21. güne kadar artış göstermiştir ($P<0.05$). Sayı 30. günde stabil ($P>0.05$) hale gelmiştir. Her iki grup örnekte de 21. ve 30. günlerde maya-küf sayıları birbirine oldukça yakın bulunmuştur. Netice olarak biberiye kaplı örneklerde başlangıçta maya-küf sayısı daha yüksek çıkmış olsa da depolama sonunda kontrol grubuna yakın çıkmıştır. Sonuçta biberiye ile kaplamanın maya-küf sayısını önemli ölçüde etkilemediği söylenebilir. Tomar ve Akarca (2019) tarafından yürütülen bir çalışmada, biberiye ekstraktı ile kaplanan kaşar peyniri örneklerinde ve kontrol peynirinde depolama boyunca maya-küf sayılarında artış tespit edilmiştir. Ancak kontrol örneklerindeki maya-küf sayısı, biberiye ekstraktı ile kaplanan örneklerle kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın, özellikle biberiye uçucu yağı içeren filmle yapılan kaplama

işleminin mikrobiyal gelişimi sınırlayıcı etkisinden kaynaklanmış olabilir.

Duyusal özellikler

Biberiye ile kaplanmış beyaz peynir örneklerinin kontrol grubuyla karşılaştırmalı duyu analizi sonuçları Çizelge 2’de sunulmuştur. Çizelgede yer alan veriler, 7 eğitimli panelistin iki bağımsız tekrarda yaptığı değerlendirmelerin toplamını ($n=14$) temsil etmektedir. Ayrıca kontrol grubuyla karşılaştırıldığında panelistlerin “aynı”, “iyi ve “kötü” şeklindeki değerlendirmelerinin en yüksek tercih sayıları çizelgede belirtilmiştir.

Çizelge, panelistlerin biberiye yaprakları ile kaplanmış örnekleri kontrol grubuna kıyasla renk ve görünüş açısından daha “kötü” olarak değerlendirdiğini göstermektedir. Renk ve görünüme ilişkin bu olumsuzluklar, depolama süresinin ilerlemesiyle daha da belirgin hale gelmiştir. Depolamanın 21. ve 30. günlerinde “kötü” değerlendirmesi yapan panelistler, biberiye kaplı örnekler ile kontrol örnekleri arasındaki farkı “oldukça farklı” olarak ifade etmiştir. Renk parametresine ilişkin olumsuz değerlendirmeler, peynir yüzeyine yapışan biberiye yapraklarından geçen renk pigmentlerinin neden olduğu

kahverengimsi tonlarla ilişkilendirilmektedir. Buna karşın, yapı ve kıvam, koku ile tat ve aroma parametreleri bakımından biberiye kaplı örnekleri kontrol grubuna göre daha iyi bulan panelist sayısı yüksektir. Özellikle tat ve aroma özellikleri bakımından depolama süresi boyunca tüm panelistlerin biberiye kaplı örnekleri tercih ettiği gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular, biberiye yaprağı kaplamanın, beyaz peynirin duysal özellikleri üzerinde renk parametresi dışında olumlu etkiler sağladığını göstermektedir. Hamdy ve Hafaz (2018) tarafından yürütülen bir çalışmada, Ricotta peynirine %0.5 oranında biberiye tozu ve %1 oranında taze sarımsak ilavesi, kontrol grubuna kıyasla tüm duysal özelliklerde daha yüksek puanlarla değerlendirilmiştir. Çakır (2018) tarafından

yapılan bir çalışmada, %0.75 oranında biberiye ilave edilen kaşar peynirlerinin, kontrol örneklerine kıyasla görünüş dışında doku, lezzet ve genel beğeni açısından daha yüksek puan aldığı bildirilmiştir. Daha düşük oranda (%0.50) biberiye ilave edilen kaşar peynirleri ise yalnızca lezzet değerlendirmesinde kontrol grubundan daha yüksek puan almıştır. Buna karşılık, %1 oranında biberiye ilavesi, tüm duysal özellikler açısından panelistler tarafından en düşük puanlarla değerlendirilmiştir. Himed-İdir vd. (2020) tarafından yürütülen çalışmada, taze peynire farklı oranlarda biberiye tozu ve liyofilize biberiye ekstraktı ilave edilen örnekler, özellikle aroma, koku ve ağızda kalan tat açısından kontrol grubuna kıyasla daha yüksek puanlar almıştır.

Çizelge 2. Duyusal özellikler bakımından biberiye yaprağı ile kaplanmış peynir örneklerini panelist tercih sayıları (n=14*)

Table 2. Panelist preferences for rosemary leaf-coated cheese samples in terms of sensory attributes (n=14*)

Duyusal özellikler <i>Sensory attributes</i>	Kontrolle göre tercih durumu <i>Preference versus control</i>	Depolama zamanı (Gün) <i>Storage time (days)</i>				
		1	7	14	21	30
Renk ve görünüş <i>Color and appearance</i>	Kötü <i>Poor</i>	6	7	8	11	12
Yapı ve kıvam <i>Texture and consistency</i>	İyi <i>Good</i>	7	11	7	7	3
Tat ve aroma <i>Taste and aroma</i>	İyi <i>Good</i>	14	14	14	14	13
Koku <i>Odor</i>	İyi <i>Good</i>	8	10	12	8	5

*: Çizelgede yer alan her bir sayı, 1. ve 2. tekerrürde üretilen örnekleri analiz eden panelistlerin tercih sayılarının toplamını göstermektedir.

*: Each number in the table represents the total number of preferences of the panelists who analyzed the samples produced in the 1st and 2nd repetitions.

SONUÇ

Bu çalışmada, biberiye yaprağı ile kaplamanın beyaz peynirin bazı özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, biberiye yaprağı ile kaplama, peynir örneklerinde kuru madde, titrasyon asitliği ve tuz değerlerini etkilememiş; ancak antioksidan aktivite, fenolik madde, renk, mikrobiyolojik ve duysal özellikleri etkilemiştir. Çalışma sadece beyaz peynir üzerinde yürütülmüştür. Doğrudan baharat veya bitki yaprakları ile kaplamanın diğer peynirlerde de uygulanması yönünde çalışmalar yapılabilir. Böylece kaplama yöntemi hakkında daha

kapsayıcı bilgiler ortaya konabilir. Sonuç olarak, biberiye yaprağı ile kaplamanın beyaz peynir üretiminde fonksiyonel ve duysal özellikleri geliştirmeye yönelik uygulanabilir bir yöntem olduğu söylenebilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Çalışmanın tasarlanması, peynir örneklerinin üretimi, laboratuvar analizlerinin gerçekleştirilmesi, metodoloji, bulguların değerlendirilmesi ve makalenin yazımı aşamalarının tamamında tüm yazarların katkısı olmuştur.

TEŞEKKÜR

Çalışmada kullanılan inek sütünü karşılayan ve Bolu'da faaliyet gösteren İkizler Süt A.Ş.'ye teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Akan, A., Yerlikaya, O., Akpınar, A., Karagözlü, C., Kınık, Ö., Uysal, H.R. (2021). The effect of various herbs and packaging material on antioxidant activity and colour parameters of whey (Lor) cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 74(3): 554-563, doi: /10.1111/1471-0307.12778

Anonim (2015). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (2015/6). Tarım ve Orman Bakanlığı. 8 Şubat 2015 tarih ve 29261 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Anonim (2025). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Tarım ve Orman Bakanlığı. 13 Şubat 2025 tarih ve 32812 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Antoniewicz, J., Kochman, J., Jakubczyk, K., Janda-Milczarek, K. (2021). The influence of time and storage conditions on the antioxidant potential and total phenolic content in homemade grape vinegars. *Molecules*, 26 (24): 7616, doi: 10.3390/molecules26247616.

Aziz, E., Batool, R., Akhtar, W., Shahzad, T., Malik, A., Shah, M.A., Iqbal, S., Rauf, A., Zengin, G., Bouyahya, A., Rebezov, M., Dutta, N., Khan, M.U., Khayrullin, M., Babaeva, M., Goncharov, A., Shariati, M.A., Thiruvengadam, M. (2022). Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications. *South African Journal of Botany*, 151(2022):3-18, doi.org/10.1016/j.sajb.2021.09.026.

Coşkun, H. (2024). *Otlu peynir*. Astana Yayınları, Ankara, Türkiye, 116 s. ISBN: 978-625-6501-96-6.

Coşkun, H. (2021). *Peynir teknolojisi*. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, Türkiye, 168 s. ISBN: 978-605-5267-75-9.

Çakır, Z.Y. (2018). Antioksidan aktiviteye sahip bazı baharatların taze kaşar peynirinde kullanımı. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Manisa, Türkiye, 140 s.

Deveci, F. (2016). Beyaz peynir üretiminde kullanılan farklı baharat türlerinin olgunlaşmaya etkilerinin araştırılması. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ordu, Türkiye, 98 s.

Devore, J., Peck, R. (1993). *Statistics: The exploration and analysis of data*. Duxbury Press, An imprint of Wadsworth Publishing Company, California, USA. ISBN: 978053-419-61-4-1.

Fan, X., Rivera Flores, V.K., DeMarsh, T.A., deRiancho, D.L., Alcaine, S.D. (2023). Aerobic cultivation of mucor species enables the deacidification of yogurt acid whey and the production of fungal oil. *Foods*, 12, 1784, doi: 10.3390/foods12091784.

Güler, H.D. (2019). Biberiye, fesleğen, kekik, nane ve stevyanın toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi üzerine kurutma yöntemlerinin etkisi. Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bursa, Türkiye, 64 s.

Hamdy, S.M., Hafaz, Y.M. (2018). The combined effect of dried rosemary, thyme and basil with fresh garlic on quality characteristics of Ricotta cheese during storage. *Egyptian Journal of Food Science*, 46(1): 125-132.

Himed-Idir, H., Mouhoubi, K., Siar, E., Boudries, H., Mansouri, H., Adjeroud, N., Madani, K., Boulekbache-Makhlouf, L. (2020). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) supplementation on fresh cheese: Physicochemical properties, antioxidant potential, and sensory attributes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021;45:e15057, doi: 10.1111/jfpp.15057.

- Karateke, Y.İ. (2024). Taze ve olgunlaştırılmış beyaz peynir örneklerinin antioksidan içerikleri ve bazı fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Burdur, Türkiye, 59 s.
- Kırpık, M., Özgüven, M. (2018). Farklı kökenli *Rosmarinus officinalis* L. (Biberiye) bitkilerinin verim ve uçucu yağları üzerinde araştırmalar. *ADYÜTAYAM*, 6(2):46-54.
- Korkmaz, Z. (2011). Quark peyniri üretiminde bazı aromatik bitki yağlarının kullanımı üzerine bir araştırma. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Afyon, Türkiye, 105 s.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1996). *Süt ve mamülleri muayene ve analiz metotları rehberi*. Genişletilmiş 6. Baskı, No: 252/D, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum.
- Mahgoub, S., Qattan, S.Y.A., Barakat, R., Abdelfatah, H., Alshehry, G., Alhassani, W.E., Alqurashi, A.F., Salem, S.H. (2025). Effect of rosemary and thyme (*Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus vulgaris* L.) ethanolic extracts on foodborne pathogens, physicochemical properties and improving the safety of cottage cheese with antioxidant, and antibacterial activities. *Applied Food Research*, 5(2025):101020, doi.org/10.1016/j.afres.2025.101020.
- Marinho, M.T., Zielinski, A.A.F., Demiate, I.M., Bersot, L.S., Granato, D., Nogueira, A. (2015a). Ripened semihard cheese covered with lard and dehydrated rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves: processing, characterization, and quality traits. *Journal of Food Science*, 80(9): 2045-2054, doi:10.1111/1750-3841.12988.
- Marinho, M.T., Bersot, L.S., Nogueira, A., Colman, T.A.D., Schnitzler, E. (2015b). Antioxidant effect of dehydrated rosemary leaves in ripened semi-hard cheese: A study using coupled TG-DSC-FTIR (EGA). *LWT – Food Science and Technology*, 63(2015):1023-1028, doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.108.
- Metin, M. (1977). *Süt ve mamullerinde kalite kontrolü*. Ankara Ticaret Borsası Yayınları, Ankara, Türkiye, 352 s.
- Meziane, H., Zraibi, L., Albusayr, R., Bitari, A., Oussaid, A., Hamouti, B., Touzani, R. (2025). *Rosmarinus officinalis* Linn.: unveiling its multifaceted nature in nutrition, diverse applications, and advanced extraction methods. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 11:9-37, doi.org/10.1007/s43994-024-00144-y.
- Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said F.A.J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technology*, 6:36-60, doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9.
- Tomar, O., Akarca, G. (2019). Farklı bitki ekstraktlarıyla kaplamanın kaşar peynirlerinin mikrobiyolojik ve duyu kaliteleri üzerine etkileri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (15): 86-95, doi: 10.31590/ejosat.502693.
- Uzundağ, D., Can, Ö.P., Göksel Saraç, M. (2025). Extending the shelf life of unsalted white cheese produced for special dietary preferences: role of essential oils and coating. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 29(1), 191-204. doi: 10.29050/harranziraat.1586115.

**A NATURAL FOOD FORTIFICATION APPROACH TO REDUCE IRON-POLYPHENOL COMPLEX FORMATION:
ORANGE PEEL-ADDED BLACK TEA**

Nada BAWADI¹, Bahar Tuba FINDIK², Hilal YILDIZ^{1*}

¹Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Food Engineering, Nevşehir, Türkiye

²Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry, Nevşehir, Türkiye

Received /Geliş: 21.07.2025; Accepted /Kabul: 03.11.2025; Published online /Online baskı: 13.11.2025

Bawadi, N., Fındık, B. T., Yıldız, H. (2025). *A natural food fortification approach to reduce iron-polyphenol complex formation: Orange peel-added black tea*. GIDA (2025) 50 (6) 1091-1104 doi: 10.15237/gida.GD25094

Bawadi, N., Fındık, B. T., Yıldız, H. (2025). Demir-polifenol kompleksi oluşumunu azaltmaya yönelik doğal bir gıda zenginleştirme yaklaşımı: Portakal kabuğu katkılı siyah çay. GIDA (2025) 50 (6) 1091-1104 doi: 10.15237/gida.GD25094

ABSTRACT

This study aims to develop a novel functional beverage through a food-to-food fortification strategy to reduce the prevalence of iron deficiency. Hot and cold infusions were prepared with varying orange peel concentrations. The addition of orange peel to black tea prevented the iron-polyphenol complex formation by up to 70%, while tea pH significantly affected iron-binding capacity. The antioxidant activity and total polyphenol content of hot infusions were found to be higher than cold infusions. Addition of orange peel to tea samples decreased the antioxidant activity of tea according to 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assays, while hydroxyl radical scavenging activity increased. Sensory evaluation revealed that black tea containing 12% orange peel was the most promising sample, based on consumer acceptance. These findings highlight the potential of orange peel-fortified functional tea as a promising strategy for combating iron deficiency while preserving the characteristic sensory qualities of traditional tea.

Keywords: Black tea, orange peel, inhibition of iron-polyphenol complex, antioxidant activity, total polyphenol content, sensory analysis

**DEMİR-POLİFENOL KOMPLEKSİ OLUŞUMUNU AZALTMAYA YÖNELİK
DOĞAL BİR GIDA ZENGİNLEŞTİRME YAKLAŞIMI: PORTAKAL KABUĞU
KATKILI SİYAH ÇAY**

ÖZ

Bu çalışma, demir eksikliği prevalansını azaltmak için gıdadan gıdaya zenginleştirme stratejisi yoluyla yeni bir fonksiyonel içecek geliştirmeyi amaçlamaktadır. Farklı portakal kabuğu konsantrasyonları kullanılarak sıcak ve soğuk infüzyonlar hazırlanmıştır. Siyah çaya portakal kabuğu ilavesi, demir-polifenol kompleksinin oluşumunu %70'e kadar önlerken, çayın pH değeri demir bağlama kapasitesini

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: hilalyildiz@nevsehir.edu.tr

☎: (+90) 384 228 1000/15034

☎: (+90) 384 228 1123

Nada Bawadi; ORCID no: 0009-0008-4514-5795

Bahar Tuba Fındık; ORCID no: 0000-0002-0030-4106

Hilal Yıldız; ORCID no: 0000-0002-7966-455X

önemli ölçüde etkilemiştir. Sıcak infüzyonların antioksidan aktivitesi ve toplam polifenol içeriği soğuk infüzyonlardan daha yüksek bulunmuştur. Çay örneklerine portakal kabuğu eklenmesi, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ve 2,2'-azino-bis(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) yöntemlerine göre çayın antioksidan aktivitesini azaltırken, hidroksil radikali süpürme yöntemine göre ise antioksidan aktivitesini artırmıştır. Duyusal analizler ise tüm örnekler arasından %12 portakal kabuğu içeren siyah çayın tüketici kabulü açısından en umut verici örnek olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, geleneksel çayın karakteristik duyusal özelliklerini korurken demir eksikliğiyle mücadele için umut verici bir strateji olarak portakal kabuğu ile zenginleştirilmiş fonksiyonel çayın potansiyelini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: Siyah çay, portakal kabuğu, demir-polifenol kompleksi inhibisyonu, antioksidan aktivite, toplam polifenol içeriği, duyusal analiz

INTRODUCTION

Iron is an essential micronutrient necessary for vital metabolic functions, including oxygen and electron transport, as well as the synthesis of deoxyribonucleic acid (DNA) and neurotransmitters. Due to its involvement in these processes, iron deficiency is the most common comorbidity, causing not only anemia, but also impairments in cardiac and skeletal muscle function, as well as oxygen consumption (Anghel et al., 2025). Despite its crucial role in many cellular reactions, iron deficiency is the most common micronutrient disorder worldwide, affecting 25-30% of the population (Kumar et al., 2022). The primary approaches to treat iron deficiency have focused on iron-fortified foods and iron-supplemented diets. However, these approaches have only modestly reduced the global prevalence of iron deficiency over the last three decades. This is primarily because consumers do not accept the treatments well due to negative side effects, such as unpleasant sensory changes when consuming iron-fortified products and adverse gastrointestinal effects from iron supplementation (Burns et al., 2025). Therefore, to address this widespread issue, there is a need for novel and practical food-based strategies that improve iron utilization, alongside micronutrient-rich dietary recommendations, which are accessible to consumers across all socioeconomic levels.

Tea, produced from the buds, leaves and tender stems of the *Camelia sinensis* (L.) plant, is one of the most commonly preferred non-alcoholic beverages worldwide. The reasons for the high demand for tea are its fragrance, distinctive aroma, and low cost. Tea also exhibits high

antioxidant activity due to its phytochemical nature, which is particularly rich in polyphenols (Ding et al., 2025). Fresh tea leaves contain high concentrations of various compounds, including flavonoids, flavonols, anthocyanin glycosides, and phenolic acids (Li et al., 2024). Tannins, which are also tea polyphenols, are an anti-nutritional factor with the potential to complex with iron in the gastrointestinal lumen, inhibit iron absorption and cause iron deficiency anemia (Dueik et al., 2017; Zhang et al., 2023). Therefore, the fact that about 85% of total tea consumption occurs in developing countries contributes significantly to the prevalence of iron deficiency. Due to its widespread consumption, affordability, and accessibility, black tea is a promising intervention strategy for improving iron bioavailability by minimizing the impact of anti-nutritional factors (Nyakundi et al., 2024).

Orange peel, a byproduct of orange processing industry, contains various bioactive compounds, and constitutes an underutilized source of value-added compounds (Ortiz-Sanchez et al., 2024). Orange peel consists of a complex matrix of biochemical components, including soluble sugars, starches, and dietary fibers (notably cellulose, hemicellulose, lignin, and pectin), as well as minor components such as ash, fat, and protein (Zhou et al., 2023). In addition to these macronutrients, orange peel contains various organic acids, notably citric, malic, malonic, and oxalic acids, as well as micronutrients, including vitamin C (ascorbic acid) (Kelebek et al., 2009). It also includes simple sugars such as glucose, fructose, and sucrose, while its structural cell wall is predominantly composed of insoluble polysaccharides, particularly cellulose,

hemicellulose, and pectin (Pandiarajan et al., 2018). Although the utilization of this bioactive-rich edible waste remains relatively limited, orange peel has demonstrated diverse applications across several fields. It is utilized in culinary preparations for its distinctive flavor and aroma, incorporated into animal feed for its nutritional content, employed as compost to enhance soil quality, and used as a natural air freshener. Additionally, it is gaining attention in the formulation of skincare products, functional foods and beverages, and herbal teas, owing to its rich phytochemical and antioxidant profile (Mamma and Christakopoulos, 2014; Revathi et al., 2025). Given its unique composition and functional properties, orange peel represents a valuable resource for future food innovation and sustainable food waste valorization strategies.

In light of the increasing need for sustainable and food-based strategies to combat iron deficiency anemia, this study developed a functional black tea product enriched with orange peel to inhibit iron–polyphenol complexation, thereby reducing the risk of iron deficiency anemia, with high consumer acceptance observed. For this aim, black tea samples containing different concentrations of freeze-dried orange peel (3%, 6%, 9%, 12%, 24%, and 48%) were infused at two different temperatures (cold and hot). All samples were then evaluated for inhibition of iron–polyphenol complexation, antioxidant activity, and total polyphenol content. Moreover, the

sensory evaluation of all tea samples was conducted to gain deeper insights into consumer acceptance.

MATERIAL AND METHOD

Materials

Black tea and orange were purchased from markets and local grocery stores in Nevşehir, Türkiye.

Freeze-drying of orange peels (lyophilization)

The oranges were first washed upon arrival at the lab, then dried using paper towels, and their peels were separated. These peels were then lyophilised using a freeze-dryer (FDU-8612, Operon Co., Ltd., Gimpo, Korea) until the moisture content was below 10%. The samples were then stored in glass jars in a clean, dry environment until analysis.

Preparation of orange peel added black tea

Dried orange peel was ground using a laboratory blender (Waring Commercial Blender, USA) and added to the black tea at concentrations of 3%, 6%, 9%, 12%, 24%, and 48% (w/w) to produce functional tea. To ensure sample homogeneity during tea production, each formulation was individually prepared by accurately weighing 4 grams of the mixture, in accordance with the target concentrations. Table 1 presents the properties of the tea samples along with their corresponding codes.

Table 1. Codes and characteristics of tea samples

Codes	Characteristics
BT	100% Black Tea
OPT	100% Freeze-dried Orange peel
BTOPT ₃	3% Freeze-dried Orange peel + 97% Black Tea
BTOPT ₆	6% Freeze-dried Orange peel + 94% Black Tea
BTOPT ₉	9% Freeze-dried Orange peel + 91% Black Tea
BTOPT ₁₂	12% Freeze-dried Orange peel + 88% Black Tea
BTOPT ₂₄	24% Freeze-dried Orange peel + 76% Black Tea
BTOPT ₄₈	48% Freeze-dried Orange peel + 52% Black Tea

Infusion of tea samples

Tea infusions were prepared using two distinct infusion methods, each conducted at different temperatures and infusion times (Dasdemir et al., 2023). For both cold and hot infusions, 4 grams of each prepared tea sample were mixed with 400 mL of deionized water. Cold infusions were prepared at 20 ± 2 °C with continuous shaking in an orbital shaker for two hours, whereas hot infusions were prepared by steeping the samples in deionized water at 100 °C for 7 minutes. Following the infusion, all tea samples were first filtered through ordinary filter paper, followed by Whatman No:1 filter paper. All the infusions were stored at -80 °C until analysis.

pH measurements of tea infusions

The pH of the tea samples was measured using a Thermo Scientific Orion 4-Star Desktop Digital pH meter. Standard solutions (Orion™ pH Buffer Solution, Boston, USA) with known pH values of 4, 7 and 10 were used at room temperature for calibration. The temperature was controlled simultaneously during the pH measurements.

Evaluation of the effect of orange peel addition on iron–polyphenol complex formation in tea infusions

The iron-binding ability of the tea infusions was measured, following the protocol of Dasdemir et al. (2023) and McGee and Diosady (2018) (Dasdemir et al., 2023; McGee and Diosady, 2018b). Ferrous sulfate was added as the iron source to each tea infusion to achieve a final concentration of 0.3 mmol/L. The mixtures were then allowed to stand for 5 minutes to ensure completion of the reaction. The formation of iron–polyphenol complexes was monitored by measuring absorbance at 570 nm using a UV-Visible spectrophotometer (PerkinElmer Lambda 25, Massachusetts, USA). A blank without ferrous sulfate was prepared for each sample and accounted for background absorbance. Furthermore, to investigate the influence of pH effect on the iron–polyphenol complexation, the pH of the samples was adjusted to 2.5 and 7.5, and the measurements were repeated under the same conditions. All measurements were

conducted in triplicate. The results are presented as relative inhibition percentages. The formation of the iron-polyphenol complex in the hot BT infusion was taken as 100%, and the iron-binding activity of the other samples was calculated based on their absorbance values relative to this reference. The percentage inhibition was calculated by subtracting the relative binding percentage from 100%.

Evaluation of the radical scavenging activity of tea infusions

To evaluate the antioxidant activities of the functional tea samples, assays including DPPH, ABTS, and hydroxyl radical scavenging were employed (Dasdemir et al., 2023; Tarannum et al., 2023). Ascorbic acid, butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT) and Trolox were used as standard references. All methods were carried out in 3 replicates. The antioxidant activities of the samples were expressed as IC₅₀ values (µg/mL) for the DPPH and ABTS assays, while hydroxyl radical scavenging activity was reported as percentage inhibition (%).

Evaluation of total polyphenol content (TPC) of the tea infusions

To measure the TPC of the tea infusions, the Folin–Ciocalteu method described by Ciniviz and Yıldız (2020) was used, and the outcomes were expressed as µg of gallic acid equivalents per liter (Ciniviz and Yıldız, 2020)

Descriptive Evaluation of the Sensory Properties of Tea Infusions

A panel of 12 people evaluated the sensory properties of the hot infusions using a 5-point hedonic test. Panelists were selected from among Nevşehir Hacı Bektaş Veli University students and staff, taking into account those who consume tea daily. Panelists were informed about the sensory evaluation prior to the session. The tea infusion was prepared using tea bags including two grams of each tea mixtures to meet the standard amount of tea bag content. Each tea bag was placed in a glass cup, which was then filled with hot water. The cups were left to steep for five minutes before being served to the panelist. Eight

different tea samples were given to the panelists, who were asked to smell the tea infusions before tasting. To reduce the impact of taste transitions between samples, panelists were provided with water and crackers.

Each sample was evaluated on a scale ranging from 1 (very poor) to 5 (excellent) based on five sensory attributes (aroma, brightness, colour, smell and astringency) and three optional descriptors (citrusy, floral, and woody notes), as well as overall acceptability (Polat et al., 2022).

Statistical analysis

Data are given as mean values $\pm$ standard error based on three replicates. The effects of different factors were assessed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan's multiple range test for mean comparisons. Differences with p -values under 0.05 were interpreted as statistically meaningful. Additionally, paired samples t -tests were conducted to evaluate any significant differences between the two infusion methods for each tea sample. SPSS Statistics software version 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for all statistical analyses. Data analysis and graphical representations were carried out using OriginPro (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The effect of orange peel addition on iron–polyphenol complex formation in tea infusions

The results of iron–polyphenol complexation inhibition by the addition of lyophilized orange peel in tea infusions are presented in Figure 1. The data indicated that the infusion temperature significantly influenced iron–polyphenol complexation. Taking the iron-binding capacity of the hot infusion as 100%, the corresponding cold infusion of the same tea sample bound only 62.64% of the iron. In the hot infusion containing 100% orange peel (OPT), complex formation was measured at 3.57%, whereas in the cold infusion, it was 2.42%. The addition of orange peel to black tea (BT) was found to inhibit iron–polyphenol complexation; increasing the orange peel content

to 48% resulted in 54.28% inhibition in hot infusion and 70.43% inhibition in cold infusion. A statistically significant difference was observed between the inhibition effects of hot and cold infusions at equivalent orange peel concentrations ($p < 0.001$). The iron-binding capacity of tea infusions is influenced by the polyphenol content. An increase in total polyphenol content was detected with hot infusion, as illustrated in Figure 6, consistent with the reduced iron–polyphenol complexation. The natural pH of the tea infusions was measured and the values are presented in Table 2. To determine the effect of different pH levels on the inhibition of iron–polyphenol complexation by the addition of orange peel to BT, the pH of the tea infusions was adjusted to 2.5 and 7.5. The influence of pH on iron–polyphenol complexation is illustrated in Figure 2.

At pH 2.5, the highest iron–polyphenol complexation was observed in the hot infusion of the tea sample containing 3% orange peel (86.69%). The extent of complex formation decreased progressively with increasing concentration of orange peel and was entirely (100%) inhibited at 24% and 48% orange peel addition. A similar trend was observed in the cold infusion, where complete inhibition (100%) of iron–polyphenol complexation was achieved at 12%, 24%, and 48% orange peel concentrations. At pH 7.5, the highest iron–polyphenol complexation in hot-infused tea was measured with 3% orange peel (96.11%), and complex formation decreased as the orange peel concentration increased. Specifically, with 48% orange peel addition, complex formation declined to 53.69%, corresponding to an inhibition ratio of 46.31%. In cold-infused tea samples, the increase in polyphenol–iron complexation at alkaline pH was markedly reduced. Compared to the hot infusion, iron–polyphenol complexation in 3% orange peel cold-infused tea was measured at 67.57%, resulting in 32.43% inhibition of iron binding. When the orange peel content was raised to 48%, complex formation further decreased to 39.00%, with an inhibition ratio reaching 61%.

The results demonstrated that the iron-binding capacity of tea was influenced by pH, with

increasing pH values promoting greater iron–polyphenol complexation. The oxidation state of iron is influenced by pH, which in turn affects the formation of iron–polyphenol complexes. At low pH levels, most iron exists in the ferrous (Fe^{2+}) state, which exhibits weak binding affinity to polyphenols. Conversely, the ferric (Fe^{3+}) form, which predominates at higher pH due to its redox potential, favors stronger complexation with phenolic compounds. Additionally, at pH 7,

phenolic hydroxyl groups tend to deprotonate, further facilitating iron–polyphenol complexation. This pH-dependent effect varies according to the specific chemical structures of the phenolic compounds involved (Ding et al., 2025; McGee and Diosady, 2018a). Orange peel addition inhibited iron–polyphenol complexation across all three tested pH levels, regardless of pH. The highest inhibition was determined at the samples' natural pH and under cold infusion conditions.

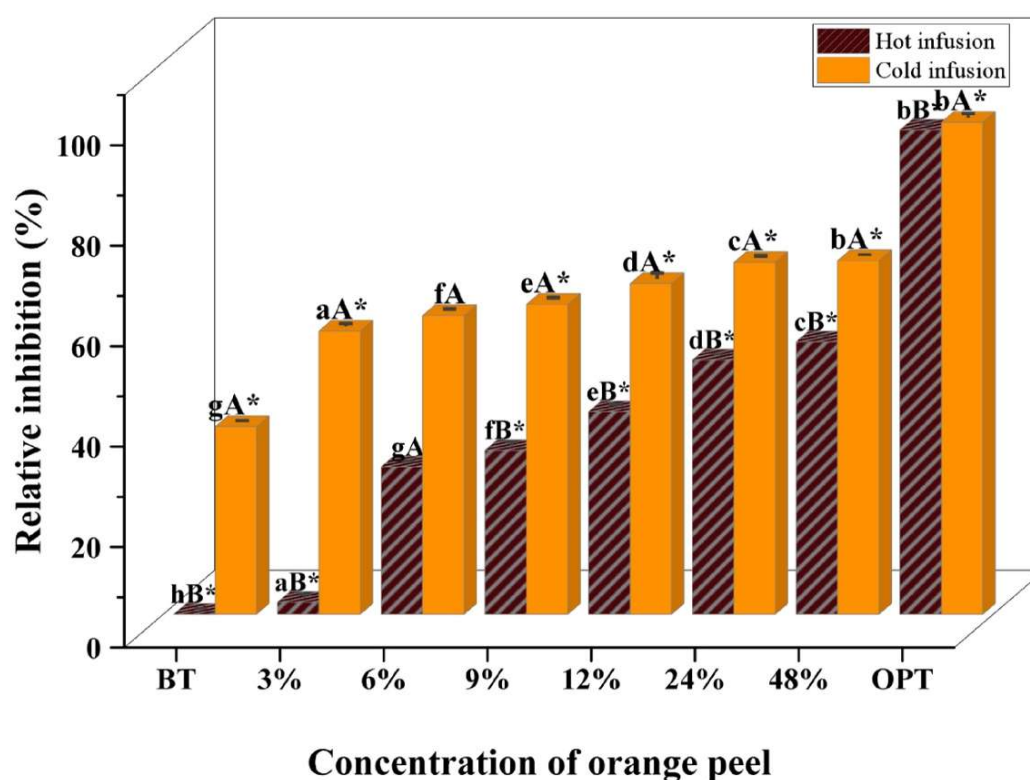


Figure 1. Relative inhibition percentages of iron–polyphenol complex formation in black tea supplemented with various concentrations of orange peel. Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation ($n = 3$). Lowercase letters indicate statistically significant differences among samples within the same infusion type ($p < 0.001$), while uppercase letters denote significant differences between infusion types under comparable conditions ($*p < .001$; $p < 0.05$). BT, OPT, BTOPT₃, BTOPT₆, BTOPT₉, BTOPT₁₂, BTOPT₂₄, BTOPT₄₈ -as presented in Table 1.

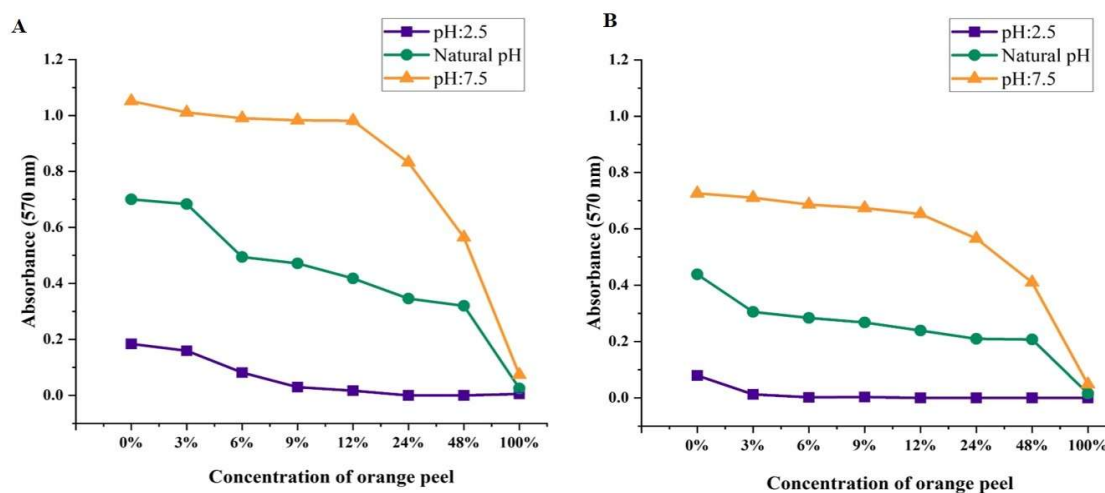


Figure 2. Influence of pH on the formation of iron–polyphenol complexes in black tea infusions: (A) hot infusion; (B) cold infusion. Results are shown as mean $\pm$ standard deviation ($n = 3$).

Table 2. Natural pH of tea infusions

Codes	pH	
	Hot Infusion	Cold Infusion
BT	5.43 $\pm$ 0.01	5.35 $\pm$ 0.03
OPT	5.65 $\pm$ 0.02	5.43 $\pm$ 0.24
BTOPT ₃	5.47 $\pm$ 0.02	5.24 $\pm$ 0.01
BTOPT ₆	5.47 $\pm$ 0.02	5.34 $\pm$ 0.23
BTOPT ₉	5.38 $\pm$ 0.10	5.39 $\pm$ 0.13
BTOPT ₁₂	5.35 $\pm$ 0.07	5.35 $\pm$ 0.16
BTOPT ₂₄	5.50 $\pm$ 0.01	5.45 $\pm$ 0.15
BTOPT ₄₈	5.56 $\pm$ 0.01	5.42 $\pm$ 0.19

The results are presented as the mean $\pm$ standard deviations of three replicates.

BT, OPT, BTOPT₃, BTOPT₆, BTOPT₉, BTOPT₁₂, BTOPT₂₄, BTOPT₄₈ -as presented in Table 1.

In the present study, the natural pH values of orange peel infusions (approximately 5.65–5.43) and BT infusions (approximately 5.43–5.35) were found to be similar (Table 2). Consequently, the addition of orange peel to BT did not significantly alter the pH of the resulting tea blends (Table 2). This finding confirms that the inhibition of iron–polyphenol complexation observed upon orange peel addition was not attributable to a decrease in pH. Moreover, the natural pH of the orange peel used as a raw material closely matched that of BT. Sensory analysis further revealed that key sensory attributes, particularly color, remained unaffected at orange peel concentrations up to 9%. These results indicate that orange peel is a suitable

material both for the production of functional BT aimed at preventing iron–polyphenol complexation and for contributing to sustainable waste management through valorization of citrus by-products.

Antioxidant activity of tea infusions

Antioxidant activities of tea infusions were evaluated using DPPH, ABTS and hydroxyl radical scavenging methods. The results are presented in Figures 3, 4 and 5. AA, BHA, BHT, and Trolox were used as standards.

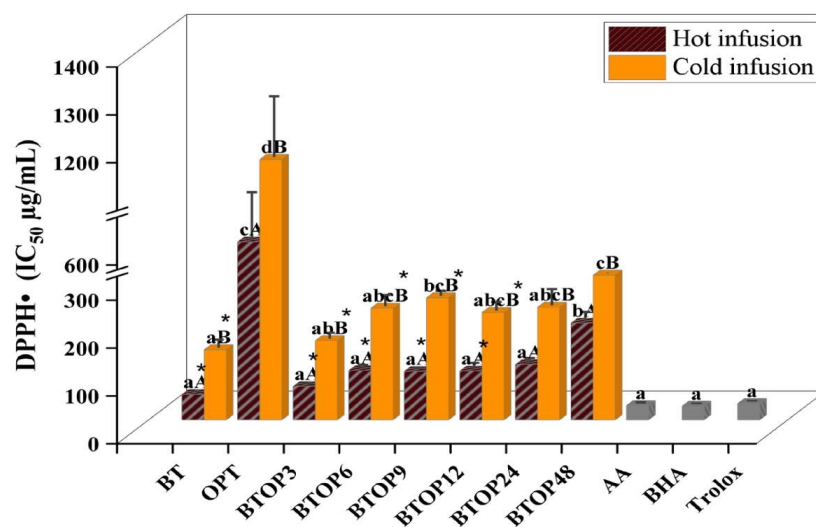


Figure 3. Antioxidant activities of tea samples were evaluated using the DPPH assay. The gray bars correspond to reference antioxidants (BHA, BHT, and ascorbic acid), orange bars represent hot tea infusions, and striped brown bars represent cold infusions. Lowercase letters indicate statistically significant differences among samples within the same infusion type, while uppercase letters denote significant differences between infusion types under comparable conditions (* $p < .001$; $p < 0.05$). BT, OPT, BTOPT₃, BTOPT₆, BTOPT₉, BTOPT₁₂, BTOPT₂₄, BTOPT₄₈ -as presented in Table 1.

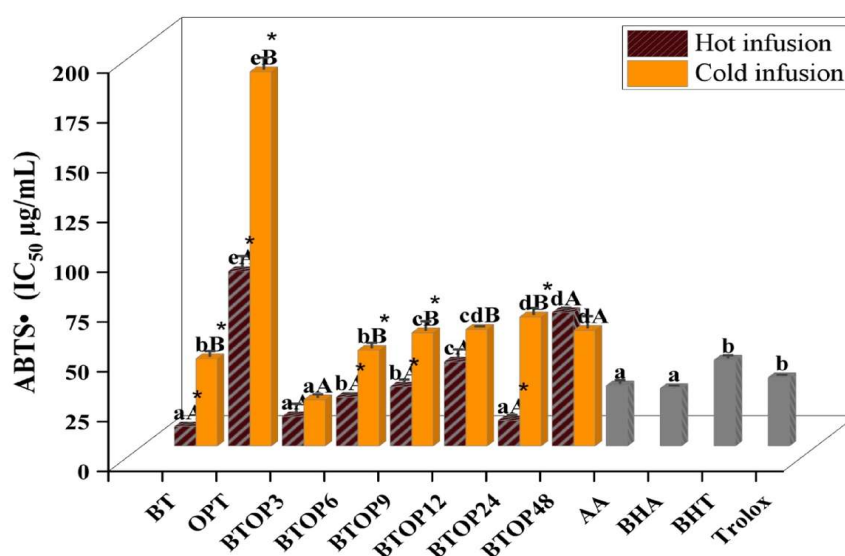


Figure 4. Antioxidant activities of tea samples were evaluated using the ABTS assay. The gray bars correspond to reference antioxidants (BHA, BHT, Trolox, and ascorbic acid), orange bars represent hot tea infusions, and striped brown bars represent cold infusions. Lowercase letters indicate statistically significant differences among samples within the same infusion type, while uppercase letters denote significant differences between infusion types under comparable conditions (* $p < .001$; $p < 0.05$). BT, OPT, BTOPT₃, BTOPT₆, BTOPT₉, BTOPT₁₂, BTOPT₂₄, BTOPT₄₈ -as presented in Table 1.

the study, including AA (19.66 $\mu\text{g/mL}$), BHA (20.64 $\mu\text{g/mL}$), BHT (43.13 $\mu\text{g/mL}$), and Trolox (41.51 $\mu\text{g/mL}$). The antioxidant activity of OPT infusions was measured at 87.70 $\mu\text{g/mL}$ for the hot infusion and 187.92 $\mu\text{g/mL}$ for the cold infusion. Furthermore, the hot infusions of tea samples with added orange peel (except at the 48% concentration) demonstrated antioxidant activities comparable to or exceeding those of the standard antioxidants according to the ABTS assay.

Analysis of hydroxyl radical scavenging activity revealed that the highest activity was observed in the hot infusion of OPT, indicating that the antioxidant capacity of all tea samples increased following the addition of orange peel to BT. Conversely, in cold infusions, the antioxidant activities of both OPT and BT were comparable, resulting in no statistically significant changes in activity with increasing orange peel concentration ($p > 0.05$). Compared to the results from DPPH and ABTS radical scavenging assays, hydroxyl radical scavenging activity in cold infusions was notably higher in some samples, highlighting the differential sensitivity of antioxidant assays to infusion conditions and sample composition.

Total polyphenol content (TPC) of tea infusions

TPC of tea infusions is presented in Figure 6. When the results are examined, it is seen that the TPC of hot infusions (71.38-257.88 mg GAE/L) is significantly higher than that of cold infusions (68.88-153.88 mg GAE/L) ($p < 0.001$), which is consistent with the literature. Studies conducted by Kelebek (2016) and Dasdemir et al. (2023) also reported that the TPC values obtained from hot infusions of black tea were higher than those obtained from cold infusions (Dasdemir et al., 2023; Kelebek, 2016). The TPC content of pure black tea was determined to be 227.40 mg GAE/L in the hot infusion, whereas it was 153.88 mg GAE/L in the cold infusion. On the other hand, the TPC content of pure orange peel was found to be 71.38 mg GAE/L in the hot infusion and 68.88 mg GAE/L in the cold infusion. In the case of blended teas, while an increase in TPC values compared to pure black tea was observed in hot infusions prepared with 3%, 6%, 9%, and 12% orange peel addition, in cold infusions, the TPC values of the blended teas decreased as the concentration of orange peel increased. In a study, the highest TPC value was detected in pure black tea, while the addition of blueberry to black tea resulted in lower TPC values in the blended teas compared to pure black tea (Dasdemir et al., 2023).

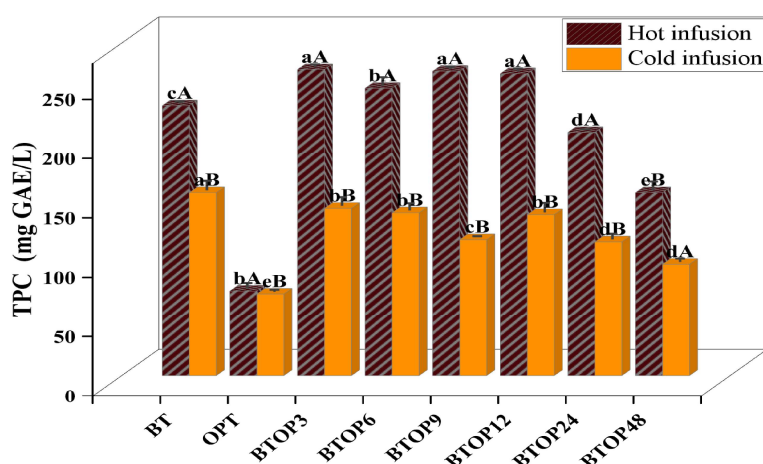


Figure 6. Comparison of polyphenol content in tea samples. Lowercase letters indicate statistically significant differences among samples within the same infusion type ($p < 0.001$), while uppercase letters denote significant differences between infusion types under comparable conditions ($p < 0.001$). BT, OPT, BTOP₃, BTOP₆, BTOP₉, BTOP₁₂, BTOP₂₄, BTOP₄₈ -as presented in Table 1.

Descriptive Evaluation of the Sensory Properties of Tea Infusions

Sensory analysis was performed to identify the optimal composition of BT with added orange peel that aligns with average consumer preferences. Twelve panelists evaluated BT, OPT, and BT with varying concentrations of orange peel using a five-point hedonic scale. The sensory attributes assessed included aroma, astringency,

color, shine, smell, citrusy, floral, woody notes, and overall acceptability, rated from 1 (very poor) to 5 (excellent). The results, presented in Figure 7, indicated that the addition of orange peel significantly affected shine ($p < 0.05$), citrusy character ($p < 0.001$), and floral character ($p < 0.001$) scores. However, no significant effects were observed on aroma, color, astringency, odor, woody notes, or overall acceptability ($p > 0.05$).

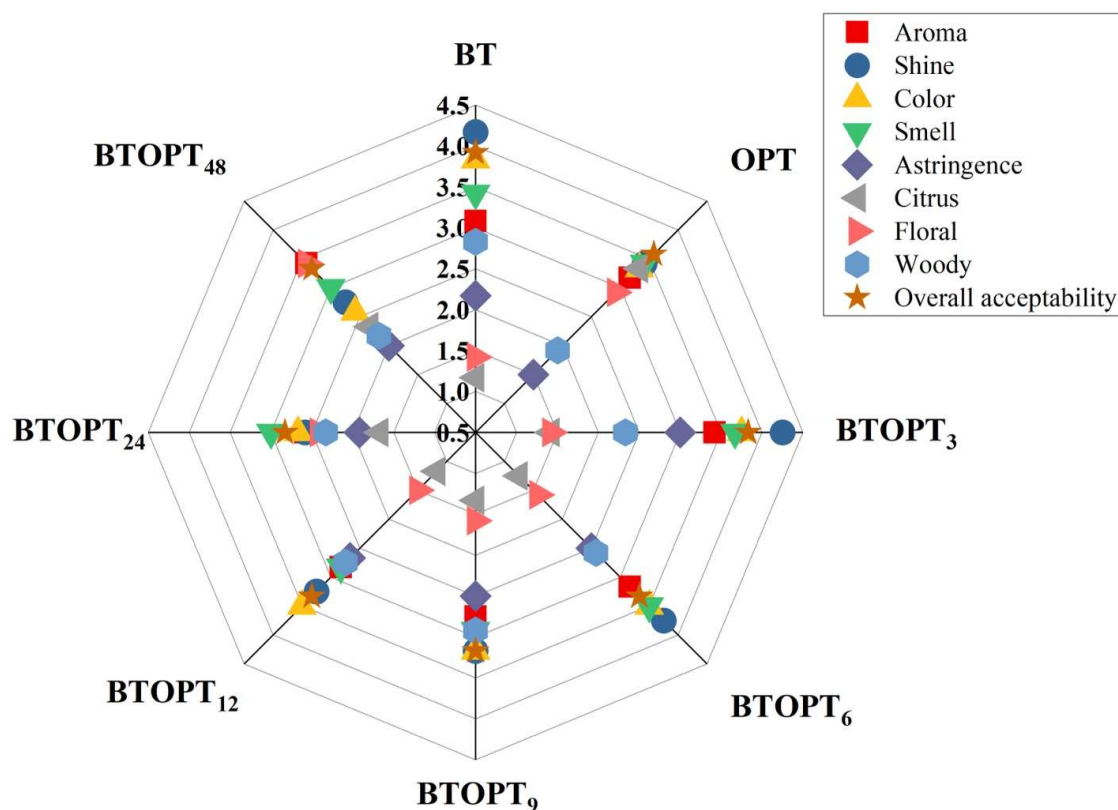


Figure 7. Radar chart illustrating the hedonic sensory evaluation of eight tea samples. The results are shown as mean scores. BT, OPT, BTOPT₃, BTOPT₆, BTOPT₉, BTOPT₁₂, BTOPT₂₄, BTOPT₄₈ -as presented in Table 1.

The sensory evaluation results suggested that adding orange peel to BT enhances shine, citrus, and floral notes, which contribute to the beverage's perceived freshness and complexity. The substantial rise in citrusy and floral character scores (BTOPT₂₄ and BTOPT₄₈) is consistent with the presence of known aromatic compounds in orange peel, such as limonene and flavonoids, that can positively impact flavor profiles. Notably,

the absence of substantial alterations in aroma, color, astringency, odor, woody notes, and overall acceptability suggests that the addition of orange peel up to the tested concentrations does not negatively impact the fundamental sensory qualities or consumer acceptance of BT.

These results show that orange peel can be added to BT to improve its sensory properties without

reducing its quality. From a product development perspective, this suggests the potential to create functional and flavorful tea blends that meet consumer preferences while adding value through the enrichment of natural ingredients. Furthermore, maintaining overall acceptability while enhancing specific sensory traits supports the feasibility of using orange peel as a sustainable additive that contributes to waste valorization and environmental benefits.

CONCLUSION

This study showed that adding lyophilized orange peel to black tea effectively inhibited iron-polyphenol complex formation (up to 70% at natural pH), depending on the infusion temperature. Notably, the highest inhibition occurred under cold infusion conditions, and the effect was observed to be independent of pH. Antioxidant assessments indicated that hot infusions of black tea combined with orange peel exhibited potent radical scavenging activity, in many cases surpassing that of standard antioxidants, though results varied depending on the assay applied. Sensory analysis revealed that the addition of orange peel (up to a 12% concentration) did not negatively impact the overall sensory quality of the tea, maintaining consumer acceptability. The developed functional tea not only mitigates iron-polyphenol complex formation, which may improve the effective utilization of iron, but also promotes the sustainable use of orange peel, a by-product of food processing. These findings support future studies aimed at optimizing formulations and exploring commercial opportunities for value-added tea products enriched with fruit-derived functional components.

CONFLICT OF INTEREST

The author(s) declares no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Nada Bawadi: Formal analysis. Bahar Tuba Findik: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing-original draft. Hilal Yıldız: Supervision, Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing-

original draft. All authors approved the final manuscript and accepted to be held responsible for the content.

ACKNOWLEDGEMENTS

We gratefully acknowledge the financial support provided by TÜBİTAK (The Scientific and Technological Research Council of Türkiye) through the 2209-A University Student Research Program.

REFERENCES

- Anghel, L., Dinu, C., Patraş, D., Ciubară, A., Chiscop, I. (2025). Iron Deficiency Treatment in Heart Failure—Challenges and Therapeutic Solutions. In *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 14, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/jcm14092934>
- Burns, J. L., Miller, C. H., Fontaine-Bisson, B., Connor, K. L. (2025). Iron deficiency and iron deficiency anaemia in women of reproductive age: Sex- and gender-based risk factors and inequities. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 90, 127684. <https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2025.127684>
- Ciniviz, M., Yıldız, H. (2020). Determination of phenolic acid profiles by HPLC in lacto-fermented fruits and vegetables (pickle): Effect of pulp and juice portions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14542>
- Dasdemir, Y., Findik, B. T., Yıldız, H., Birisci, E. (2023). Blueberry-added black tea: Effects of infusion temperature, drying method, fruit concentration on the iron-polyphenol complex formation, polyphenols profile, antioxidant activity, and sensory properties. *Food Chemistry*, 410, 135463. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.135463>
- Ding, F., Liu, Z., Luo, J., Yang, T., Dai, Y., Zhang, T., Fang, S., Li, Q., Yang, X., Pan, K., Shen, Q. (2025). Dynamic evolution and formation mechanisms of aroma compounds in Qianmei 502 black tea during processing: insights from transcriptomic and metabolomic analyses. *LWT*,

- 228, 118124. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2025.118124>
- Dueik, V., Chen, B. K., Diosady, L. L. (2017). Iron-Polyphenol Interaction Reduces Iron Bioavailability in Fortified Tea: Competing Complexation to Ensure Iron Bioavailability. *Journal of Food Quality*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2017/1805047>
- Horžić, D., Komes, D., Belščak, A., Ganić, K. K., Iveković, D., Karlović, D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chemistry*, 115(2), 441–448. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.12.022>
- Jayasekera, S., Molan, A. L., Garg, M., Moughan, P. J. (2011). Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented Sri Lankan tea. *Food Chemistry*, 125(2), 536–541. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.09.045>
- Kelebek, H. (2016). LC-DAD–ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in Turkish black tea: Effect of infusion time and temperature. *Food Chemistry*, 204, 227–238. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.02.132>
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., Cabaroğlu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 91(2), 187–192. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2008.10.008>
- Kumar, A., Sharma, E., Marley, A., Samaan, M. A., Brookes, M. J. (2022). Iron deficiency anaemia: Pathophysiology, assessment, practical management. In *BMJ Open Gastroenterology* (Vol. 9, Issue 1). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/bmjgast-2021-000759>
- Li, N., Xu, J., Zhao, Y., Zhao, M., Liu, Z., Wang, K., Huang, J., Zhu, M. (2024). The influence of processing methods on polyphenol profiling of tea leaves from the same large-leaf cultivar (*Camellia sinensis* var. *assamica* cv. Yunkang-10): nontargeted/targeted polyphenomics and electronic sensory analysis. *Food Chemistry*, 460, 140515. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2024.140515>
- Mamma, D., Christakopoulos, P. (2014). Biotransformation of Citrus By-Products into Value Added Products. In *Waste and Biomass Valorization* (Vol. 5, Issue 4, pp. 529–549). Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/s12649-013-9250-y>
- McGee, E. J. T., Diosady, L. L. (2018a). Development of Spectrophotometric Quantification Method of Iron-Polyphenol Complex in Iron-Fortified Black Tea at Relevant pH Levels. *Food Analytical Methods*, 11(6), 1645–1655. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1147-8>
- McGee, E. J. T., Diosady, L. L. (2018b). Prevention of iron-polyphenol complex formation by chelation in black tea. *LWT*, 89, 756–762. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.11.041>
- Nyakundi, P. N., Kiio, J., Munyaka, A. W., Galgalo, D. A., Lohner, S. (2024). Consumption Pattern of Tea Is Associated with Serum Ferritin Levels of Women of Childbearing Age in Nandi County, Kenya: A Cross-Sectional Study. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 80(2), 109–116. <https://doi.org/10.1159/000536196>
- Ortiz-Sanchez, M., Cardona Alzate, C. A., Solarte-Toro, J. C. (2024). Orange Peel Waste as a Source of Bioactive Compounds and Valuable Products: Insights Based on Chemical Composition and Biorefining. In *Biomass (Switzerland)* (Vol. 4, Issue 1, pp. 107–131). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/biomass4010006>
- Pandiarajan, A., Kamaraj, R., Vasudevan, S., Vasudevan, S. (2018). OPAC (orange peel activated carbon) derived from waste orange peel for the adsorption of chlorophenoxyacetic acid herbicides from water: Adsorption isotherm, kinetic modelling and thermodynamic studies. *Bioresour Technol*, 261, 329–341. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.04.005>

- Polat, A., Kalcıoğlu, Z., Müezzinoğlu, N. (2022). Effect of infusion time on black tea quality, mineral content and sensory properties prepared using traditional Turkish infusion method. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 29, 100559. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100559>
- Revathi, V., Bora, S., Afzia, N., Ghosh, T. (2025). Orange peel composition, biopolymer extraction, and applications in paper and packaging sector: A review. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 43, 101908. <https://doi.org/10.1016/J.SCP.2025.101908>
- Tarannum, N., Hossain, T. J., Ali, F., Das, T., Dhar, K., Nafiz, I. H. (2023). Antioxidant, antimicrobial and emulsification properties of exopolysaccharides from lactic acid bacteria of bovine milk: Insights from biochemical and genomic analysis. *LWT*, 186, 115263. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2023.115263>
- Zhang, L., Guan, Q., Jiang, J., Khan, M. S. (2023). Tannin complexation with metal ions and its implication on human health, environment and industry: An overview. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127485. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.127485>
- Zhou, L., Luo, J., Xie, Q., Huang, L., Shen, D., Li, G. (2023). Dietary Fiber from Navel Orange Peel Prepared by Enzymatic and Ultrasound-Assisted Deep Eutectic Solvents: Physicochemical and Prebiotic Properties. *Foods*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/foods12102007>

**ÇİLEK SUYUNDAN FENOLİKLERİN VE ANTOSİYANİNLERİN
ULTRAFİLTRASYON İLE KONSANTRASYONU:
HACİM AZALTMA FAKTÖRÜ VE MEMBRAN AYIRMA SINIRININ ETKİSİ**
Aslı ARSLAN KULCAN*

Akdeniz Üniversitesi, Finike Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received 31.07.2025; Kabul / Accepted: 03.11.2025; Online baskı / Published online: 13.11.2025

Arslan Kulcan, A. (2025). Çilek suyundan fenoliklerin ve antosiyaninlerin ultrafiltrasyon ile konsantrasyonu: Hacim azaltma faktörü ve membran ayırma sınırının etkisi. GIDA (2025) 50 (6) 1105-1119 doi: 10.15237/ gida.GD25100

Arslan Kulcan, A. (2025). Concentration of phenolics and anthocyanins from strawberry juice by ultrafiltration: Influence of volume reduction factor and membrane cut-off rate. GIDA (2025) 50 (6) 1105-1119 doi: 10.15237/ gida.GD25100

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, çilek suyundaki fenolik bileşiklerin ve antosiyaninlerin ayrılması ve zenginleştirilmesinde ultrafiltrasyon prosesinin kullanım olanaklarını incelemektir. Bu amaçla 2 kDa ve 5 kDa ayırma sınırına sahip filtreler kullanılmıştır. Ultrafiltrasyon işleminde hacim azaltma faktörünün (VRF) artışıyla permeat akıları azalırken, fenolik bileşenlerin ve antosiyaninlerin konsantrasyon faktörü ve rejeksiyonu artmıştır. Çilek suyunun biyoaktif bileşenler açısından zenginleştirilmesinde 2 kDa ayırma sınırına sahip filtre daha etkili bulunmuştur. 2 kDa' luk filtrede VRF değeri 10' a ulaştığında suda çözünen kuru maddenin, fenoliklerin ve antosiyaninlerin konsantrasyon faktörü sırasıyla 1.26, 3.10 ve 5.08 olmuştur. Membran rejeksiyon oranları ise sırasıyla %11.88, %78.55 ve %95.26 olarak hesaplanmıştır. Çilek suyundan fenoliklerin ve antosiyaninlerin retentat fraksiyonunda seçici olarak ayrıldığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ultrafiltrasyon, çilek suyu, antosiyanin, fenolik bileşik

**CONCENTRATION OF PHENOLICS AND ANTHOCYANINS FROM
STRAWBERRY JUICE BY ULTRAFILTRATION: INFLUENCE OF VOLUME
REDUCTION FACTOR AND MEMBRANE CUT-OFF RATE**

ABSTRACT

The objective of the present study was to examine the potential of employing ultrafiltration as a method for the separation and enrichment of phenolic compounds and anthocyanins in strawberry juice. For this purpose, filters with cut-off rates of 2 kDa and 5 kDa were utilised. In the ultrafiltration process, as the volume reduction factor (VRF) increased, permeate flows decreased, while the concentration factor and rejection of phenolic compounds and anthocyanins increased. The filter with a cut-off rate of 2 kDa was found to be more effective in enriching strawberry juice with bioactive components. As the VRF value attained 10 in the 2 kDa filter, the concentration factors for soluble solids, phenolics and anthocyanins were 1.26, 3.10 and 5.08, respectively. Membrane rejection rates were calculated as 11.88%, 78.55% and 95.26%, respectively. It has been determined that phenolics and anthocyanins are selectively separated in the retentate fraction from strawberry juice.

Keywords: Ultrafiltration, strawberry juice, anthocyanin, phenolic compound

* Sorumlu yazar/Corresponding author:

✉: asliarslan@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 855 36 69

Aslı Arslan Kulcan; ORCID no: 0000-0002-1934-5530

GİRİŞ

Son yıllarda sağlıklı yaşam tarzına yönelik artan farkındalık, bireylerin fonksiyonel özelliklere sahip, sağlıkla ilişkilendirilen gıdalara olan ilgisini önemli ölçüde artırmıştır. Fonksiyonel gıdalar, temel besin içeriğinin ötesinde fizyolojik fayda sağlayan bileşenler içeren ürünler olarak tanımlanmakta ve bu özellikleriyle gıda endüstrisinde hızla büyüyen bir pazar segmenti oluşturmaktadır (Granato vd., 2020). Özellikle meyve ve sebzeler, vitaminler, mineraller ve diyet liflerinin yanı sıra polifenoller ve antosiyaninler gibi biyoaktif bileşikler açısından zengin içerikleriyle ön plana çıkmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001; Del Rio vd., 2013).

Epidemiyolojik çalışmalar, meyve ve sebze tüketiminin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve yaşa bağlı dejeneratif hastalıkların önlenmesinde koruyucu bir rol oynayabileceğini ortaya koymuştur (Liu, 2013). Bu bağlamda, meyve suları gibi işlenmiş ürünlerin yalnızca besleyici değil, aynı zamanda işlevsel faydalar sağlayacak şekilde zenginleştirilmesi, hem endüstri hem de tüketici açısından önem kazanmıştır. Gıda endüstrisi, tüketici eğilimine uyum sağlamak için gıda ürünlerini, büyük ölçüde klinik olarak kanıtlanmış fizyolojik işlevi olan biyoaktifler ekleyerek yeniden formüle etmektedir (Day vd., 2009).

Çilek, hoşça giden lezzeti, aroması ve besinsel değeri nedeniyle hem taze tüketimde hem de işlenmiş ürünlerde yaygın olarak kullanılan bir meyvedir. Türkiye, dünya genelinde üst sıralarda yer alan önemli bir çilek üreticisi konumundadır. 2024 yılında üretilen çilek miktarı yaklaşık 606 bin ton olarak raporlanmış olup, bu üretim hacmi Türkiye'yi dünya üretiminde ilk dört ülke arasında konumlandırmaktadır (Anonim, 2025). Küresel çilek pazarı büyüklüğü 2023 yılında yaklaşık 20.22 milyar ABD doları değerindeyken, pazardaki büyümenin yıllık %6.4 oranında devam etmesi ve 2032 yılına kadar yaklaşık 35.35 milyar ABD dolarına ulaşması beklenmektedir (Anonim, 2023). İşlenmiş çilek ürünleri (püre, konsantre, reçel ve dondurulmuş ürünler vb.) ise 2024 yılı itibarıyla 10.9 milyar ABD doları büyüklüğünde bir pazara sahipken ve bu pazarın 2030 yılına

kadar 18.3 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anonim, 2024). Gıda ve içecek endüstrisinde çilek bazlı ürünler, süt ürünleri (meyveli yoğurt, smoothie, milkshake, vb.), fırın ürünleri, tatlılar, soslar, konsantre içecekler ve püre formunda olmak üzere çok yönlü kullanım alanı bulmaktadır. Bu verilere dayanarak, çilekli ürünlerin gıda sektöründe kayda değer bir ekonomik hacme sahip olduğu açıkça görülmektedir. Bu doğrultuda, çilek gibi fenolik bileşen ve antosiyanin içeriği yüksek meyvelerin işlenmesi ve biyoaktif bileşenler bakımından konsantre edilmesi, fonksiyonel gıda ve içecek üretiminde dikkate değer bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir.

Antosiyaninler son zamanlarda fonksiyonel gıdalar ve diyet takviyeleri geliştirmek için umut verici nutrasötik bileşenler olarak görülmektedir. Antosiyaninler, flavonoid grubu içinde yer alan ve birçok kırmızı, mor ve mavi meyveye rengini veren suda çözünebilen pigmentlerdir. Bu bileşikler yalnızca görsel estetik sağlamakla kalmayıp, antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinogenik, antihipertansif ve antimikrobiyal etkileriyle sağlık açısından çok yönlü faydalar sağlamaktadırlar (He ve Giusti, 2010; Khoo vd., 2017). Ayrıca, reaktif oksijen türlerini (ROS) etkisiz hale getirme kapasiteleriyle oksidatif stresin azaltılmasında önemli roller üstlenirler. Bu nedenle, antosiyaninlerin stabilitesi ve biyoyararlılığı göz önünde bulundurularak işleme teknolojilerinin seçimi büyük önem taşır.

Meyve sularının işlenmesinde geleneksel berraklaştırma tekniklerinin yerini, son yıllarda mikrofiltrasyon (MF) ve ultrafiltrasyon (UF) gibi membran ayırma teknolojileri almaktadır. Ultrafiltrasyon, düşük sıcaklıkta, kimyasal madde ilavesine ihtiyaç duymadan, kolloidal partiküllerin ve büyük moleküllerin uzaklaştırılması yoluyla meyve suyunu berraklaştırabilen, basınç güdümlü ve seçici bir ayırma tekniğidir. 1–50 nm por boyutuna veya 1.000–500.000 Da moleküler ağırlık aralığına sahip membranlar sayesinde proteinler, pektinler, polifenoller gibi bileşenler seçici biçimde ayrılabilir. Bu sayede hem istenmeyen bulanıklık kaynağı maddeler giderilebilmekte hem de hedeflenen biyoaktif

bileşenler retentat kısmında zenginleştirilebilmektedir (Girard ve Fukumoto 2000; Vaillant vd., 2001; Cassano vd., 2007a). Ultrafiltrasyonun bir diğer avantajı, ısıya duyarlı bileşiklerin korunarak işlenmesidir. Özellikle antosiyaninler ve fenolik bileşikler gibi bileşenler, ısı işlemleri sırasında kolaylıkla bozulabildiğinden, düşük sıcaklıkla çalışan bu tip membran prosesleri biyolojik aktivitenin korunmasında kritik rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda, membran filtrasyon tekniklerinin polifenoller ve antosiyaninler gibi ısıya duyarlı doğal bileşenleri verimli bir şekilde geri kazanmak için kullanılabileceği rapor edilmiştir (Arend vd., 2017; Avram vd., 2017; Conidi vd., 2017). Literatürde nar, böğürtlen, kan portakalı ve üzüm gibi antosiyanin açısından zengin meyveler üzerine yürütülen çalışmalar, ultrafiltrasyonun hem berraklaştırma hem de fenolik bileşiklerin korunmasında etkili olduğunu göstermiştir (Vaillant vd., 2001; Cassano vd., 2007a; Toker vd., 2014; Conidi vd., 2017). Bununla birlikte, bu araştırmalar çoğunlukla tek bir membran tipi veya tekil bir parametreye (örneğin sadece membran ayırma sınırı ya da sadece hacim azaltma faktörü) odaklanmıştır. Çilek suyu özelinde ise, farklı membran ayırma sınırı değerleri ve hacim azaltma faktörlerinin birlikte fenolik bileşikler ve antosiyaninlerin konsantrasyonu üzerindeki etkisi sistematik olarak incelenmemiştir.

Bu çalışmanın amacı, çilek suyunun ultrafiltrasyon prosesiyle işlenerek toplam fenolik madde ve antosiyanin içeriği açısından zenginleştirilmesini sağlamak ve farklı ayırma sınırı değerine sahip (2 kDa ve 5 kDa) membranların farklı hacim azaltma faktörleri altında performansını değerlendirmektir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, benzer meyveler üzerine yapılmış araştırmalarla karşılaştırmalı bir perspektif sunmakta ve çilek suyunda biyoaktif zenginleştirme potansiyelini ortaya koymaktadır. Bunun yanı sıra bu çalışmanın yalnızca çilek suyu işleme teknolojisine değil, aynı zamanda fonksiyonel gıda üretiminde ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerin korunması ve zenginleştirilmesine yönelik proses optimizasyonuna da bilimsel katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Analizlerde kullanılan galik asit standardı (Sigma-Aldrich, ABD), Folin-Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, asetonitril, potasyum klorür ve sodyum asetat Merck' ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Çilek suyunun elde edilmesinde kullanılan çilek suyu konsantresi ise Meykon Meyve ve Kaynak Suları San. ve Tic. A.Ş.' den (Antalya, Türkiye) sağlanmıştır.

Çilek Suyunun Ultrafiltrasyonu

Ultrafiltrasyonda kullanılan çilek suyu (8° Brix), 68° Brix konsantreden demineralize su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Ultrafiltrasyon (UF) denemeleri laboratuvar tipi ultrafiltrasyon sisteminde (Sartorius, Göttingen, Almanya) 2 ve 5 kDa membran ayırma sınırına sahip Hydrosart filtreler (Sartorius AG, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan ekipman, sirkülasyon için 323 model bir peristaltik pompa (Watson-Marlow, Wilmington, MA, ABD) ve giriş (P₁) ve çıkış (P₂) basınçlarını ölçmek için iki manometreden oluşmaktadır. Çalışmada kullanılan filtreler 1000 cm² ayırma alanına ve en fazla 4 bar basınca kadar dayanabilme özelliğine sahiptir. Tüm denemeler ortam sıcaklığında (25°C±2) kesikli konsantrasyon modunda yapılmıştır. Giriş ve çıkış basınçları sırasıyla 2.5 ve 0.5 bar olarak ayarlanmıştır. UF denemelerinden elde edilen permeat ve retentat numuneleri amber renkli şişelere doldurulmuş ve analize kadar 4°C' de saklanmıştır.

Filtrelerin saf su geçirgenliği değerleri sabit sıcaklıkta (25 °C) uygulanan transmembran basıncına (TMP) karşılık hesaplanan su akış debisi (J) grafiğinde elde edilen eğrinin eğim değeri olarak belirlenmiştir. Transmembran basıncı ve akış debisi değerleri ise sırasıyla aşağıda yer alan Eşitlik [1] ve [2] vasıtasıyla hesaplanmıştır.

$$TMP = \frac{P_1 + P_2}{2} \quad [1]$$

Denklemden P₁ besleme (giriş) basıncı (bar), P₂ ise retentat (çıkış) basıncı (bar) olarak gösterilmiştir. Saf su akışı (J), sabit TMP ve sıcaklık değerlerinde, membran yüzey alanı boyunca belirli bir sürede toplanan permeat hacminin ölçülmesiyle belirlenmiştir.

$$J = \frac{V_p}{A \times t} \quad [2]$$

Burada V_p , t sürede A yüzey alanına sahip membrandan geçirilen permeat hacmidir.

Denemelere başlamadan önce sabit sıcaklıkta (25°C) uygulanan farklı basınç değerlerine (TMP) karşılık filtrelerin saf su akışı (J) ölçülerek elde edilen grafikten saf su geçirgenliği (WP_0) hesaplanmıştır. Çilek suyunun ultrafiltrasyonundan sonra saf su akışı (WP_1) tekrar ölçülmüştür. Ardından temizlik prosedürü kapsamında, filtre 30 dakika boyunca demineralize su ile durulanmış ve 50°C' de 1 saat boyunca 1N sodyum hidroksit çözeltisi ile temizleme işlemine tabi tutulmuştur. Bundan sonra, demineralize su ile son durulama uygulanmış ve saf su akışı tekrar ölçülmüştür (WP_2). Kirlenme indeksi (FI), aşağıda yer alan Eşitlik [3]' e göre meyve suyu filtrasyonundan önce ve sonra saf su geçirgenliği karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

$$FI (\%) = [1 - (WP_1/WP_0)] \times 100 \quad [3]$$

Burada WP_1 çilek suyu filtrasyonundan sonraki saf su geçirgenliği ve WP_0 kullanılmamış membranın saf su geçirgenliğidir.

Temizleme etkinliği ise (CE) Eşitlik [4]' e göre hesaplanmıştır:

$$CE (\%) = (WP_2/WP_0) \times 100 \quad [4]$$

Burada WP_2 kimyasal temizlik sonrası saf su geçirgenliği ve WP_0 kullanılmamış membranın saf su geçirgenliğidir.

Ayrıca ultrafiltrasyon sırasında uygulanan hacim azaltma faktörü değerleri (hacim redüksiyonu) (VRF) aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (Eşitlik [5]).

$$VRF = V_f / (V_f - V_p) \quad [5]$$

Burada, V_f ve V_p sırasıyla ilk hacim (besleme) ve membrandan geçen permeat hacmini göstermektedir.

Bir membranın ayırma kabiliyeti, çözünen madde rejeksiyon oranı (R_j) cinsinden belirlenebilir. Bu çalışmada analiz edilen bileşikler için, membranın

rejeksiyon oranı aşağıda verilen Eşitlik [6] aracılığıyla hesaplanmıştır.

$$R_j (\%) = (1 - (C_p/C_f)) \times 100 \quad [6]$$

Burada C_f ve C_p sırasıyla besleme ve permeat konsantrasyonudur. R_j membran tarafından tutulan çözünen madde oranını ölçmektedir (Díaz-Reinoso vd., 2009).

Çalışma kapsamında analiz edilen bileşiklerin ultrafiltrasyon sonucu ne düzeyde konsantre edildiğini ifade eden konsantrasyon faktörü değerinin (CF) hesaplanmasında ise, aşağıda verilen Eşitlik [7] kullanılmıştır:

$$CF = \frac{C_r}{C_f} \quad [7]$$

Burada C_r , retentatta bulunan bileşenin konsantrasyonu; C_f , besleme çözeltisinde bulunan bileşenin konsantrasyonudur (Dushkova vd., 2022).

Suda Çözünen Kuru Madde (SÇKM) Miktarı Tayini
Suda çözünen kuru madde miktarı (% Brix) dijital refraktometre (Atago, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler 25°C±0.5' de gerçekleştirilmiştir.

Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı Tayini
Örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir (Spanos ve Wrolstad 1992). Bu amaçla, uygun oranda seyreltilmiş örnekten 0.5 mL alınarak üzerine önce 2.5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu ayırıcı (Merck, Almanya) eklenmiş ve daha sonra 5 dak bekletilmiştir. Süre sonrasında karışıma 2 mL %7.5'lik Na_2CO_3 (Merck, Almanya) çözeltisi eklenerek, elde edilen yeni karışım vorteksle karıştırılıp 5 dak 50°C' ye ayarlı su banyosunda daha sonra da 10 dak karanlık ortamda bekletilmiştir. Spektrofotometrede (Thermo Scientific Evolution 201, ABD) 760 nm dalga boyunda yapılan okumalarda ölçülen absorbans değerleri kaydedilmiştir. Standart gallik asit (Sigma Aldrich, ABD) çözeltileriyle hazırlanan kurveden yararlanılarak miktar tayinleri yapılmıştır. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L olarak ifade edilmiştir.

Toplam Monomerik Antosiyanin (TMA) Tayini

Örneklerin toplam monomerik antosiyanin içeriği pH diferansiyel yöntemine göre belirlenmiştir (Lee vd., 2005). Bu amaçla örnekler pH değeri 1.0 (0.025 M potasyum klorid) ve 4.5 (0.4 M sodyum asetat) olan tampon çözeltiler kullanılarak belirlenen oranda seyreltilmiştir. Elde edilen örneklerin absorbans değerleri spektrofotometre kullanılarak (Thermo Scientific Evolution 201, ABD) 520 nm ve 700 nm dalga boylarında, 1 cm tabaka kalınlığında olan tek kullanımlık spektrofotometre küvetlerinde (Brand GmbH, Postfach, Wertheim, Almanya) ölçülerek toplam antosiyanin miktarı pelargonidin-3-glukozid eşdeğeri (mg/L) olarak hesaplanmıştır (Eşitlik 8). Pelargonidin-3-glukozid, çilekte baskın antosiyanin olarak bildirilmektedir (Aaby vd., 2005).

$$\text{Toplam monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)} = \frac{A \times MW \times SF \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad [8]$$

Burada;

A (absorbans değeri) = ($A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$) pH 1.0 – ($A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$) pH 4.5

MW (pelargonidin-3-glukozidin molekül ağırlığı) = 433.2 g/mol

SF; seyreltme faktörü, ϵ ; molar absorpsiyon katsayısı = 22400 (pelargonidin-3-glukozid için)

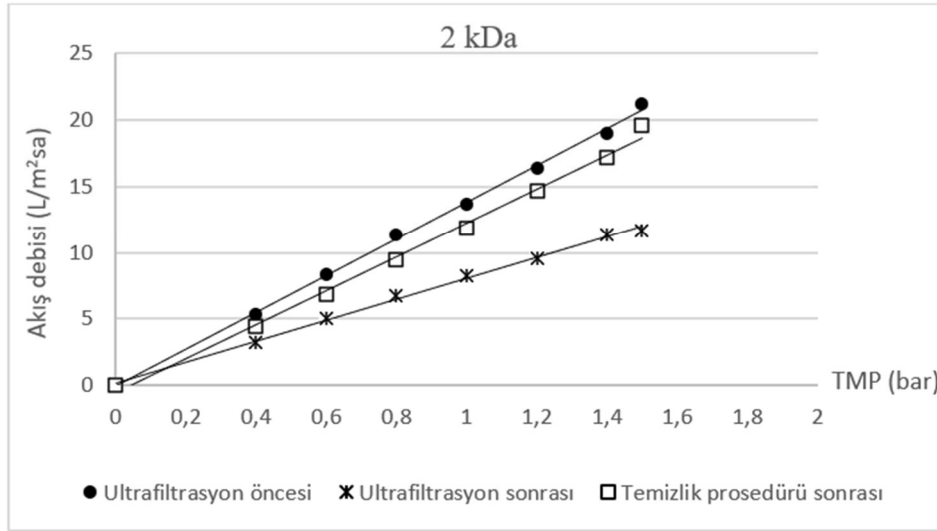
İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler SAS yazılımı, Versiyon 7 (SAS Institute Inc., Cary, NC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ultrafiltrasyon denemeleri iki tekerrür halinde gerçekleştirilmiş ve tüm analizler iki paralelli olarak yapılmıştır. İncelenen tüm parametrelerin sonuçları ($n = 4$) ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuş ve 0.05 anlamlılık düzeyinde varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur.

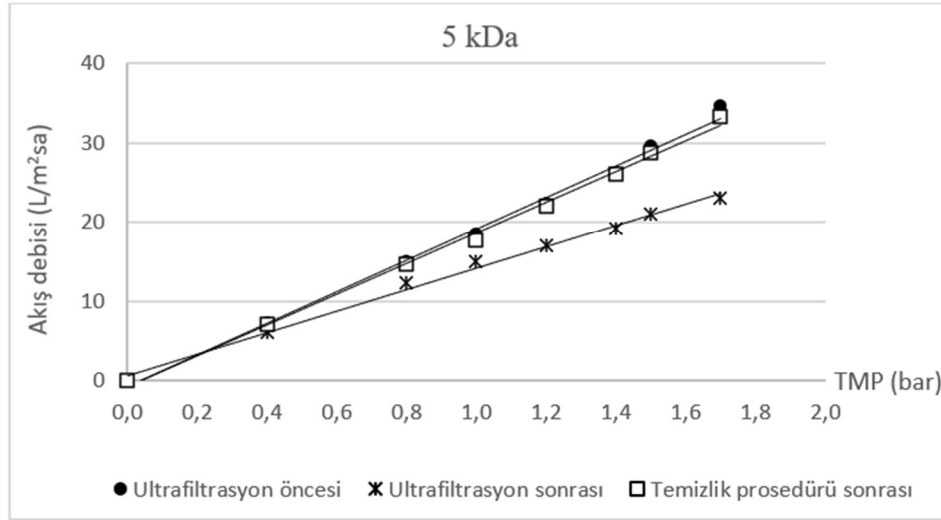
BULGULAR VE TARTIŞMA**Membran Filtrelerin Akış Performansı**

Şekil 1' de, çilek suyunun ultrafiltrasyonunda kullanılan 2 kDa ve 5 kDa ayırma sınırına sahip membran filtreler için transmembran basıncına (TMP) karşılık saf su akışının değişimi gösterilmiştir. Sonuçlar, her iki filtre için de saf su akışının incelenen TMP değerleri aralığında TMP ile doğrusal olarak arttığını göstermektedir.

(a)



(b)



Şekil 1. Çilek suyunun 2 kDa (a) ve 5 kDa (b) ayırma sınırına sahip filtreler ile ultrafiltrasyonunda transmembran basıncına karşılık saf su akışının değişimi

Figure 1. Change in pure water flux corresponding to transmembrane pressure during ultrafiltration of strawberry juice using filters with cut-off rates of 2 kDa (a) and 5 kDa (b)

Grafiklerde yer alan eğim çizgilerinin denklemleri kullanılarak temizleme işleminden önce ve sonra membranın saf su geçirgenliği, kirlenme indeksi (FI) ve temizleme etkinliği (CE) hesaplanmıştır (Çizelge 1). 2 kDa ayırma sınırına sahip filtrenin su geçirgenliğinde çilek suyunun UF' inden sonra %44 oranında azalma tespit edilirken, ayırma sınırı 5 kDa olduğunda bu değer %32' ye düşmüştür. Ultrafiltrasyon işleminde kullanılan filtrenin

ayırma sınırının artması kirlenme indeksinin azalmasına neden olmuştur. Uygulanan temizlik prosedürü sonrasında kullanılan iki filtrenin saf su geçirgenliği değerlerinde önemli düzeyde iyileşme gerçekleştirilmiş ve 2 ve 5 kDa filtrelerde sırasıyla, başlangıç saf su geçirgenliğinin %96' sına ve %97' sine ulaşılmıştır. 5 kDa' luk filtre gözenek çapı daha büyük olduğundan daha az tıkanmaya uğramış ve daha etkin temizlenebilmiştir.

Çizelge 1. Çilek suyunun ultrafiltrasyonunda membranların su geçirgenliği (WP), kirlenme indeksi (FI) ve temizleme etkinliği (CE) değerleri

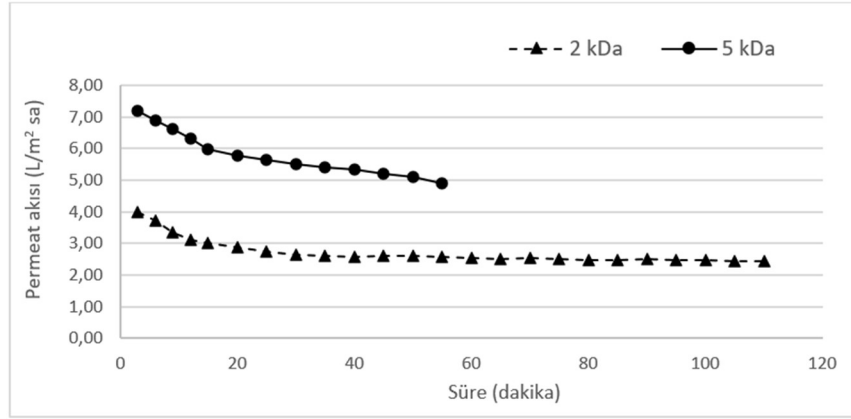
Table 1. Water permeability (WP), fouling index (FI), and cleaning efficiency (CE) values of membranes in the ultrafiltration of strawberry juice

	2 kDa	5 kDa
WP ₀ (L/m ² sabar)	13.88	19.89
WP ₁ (L/m ² sabar)	7.71	13.51
WP ₂ (L/m ² sabar)	13.32	19.39
FI (%)	44.44	32.10
CE (%)	95.96	97.47

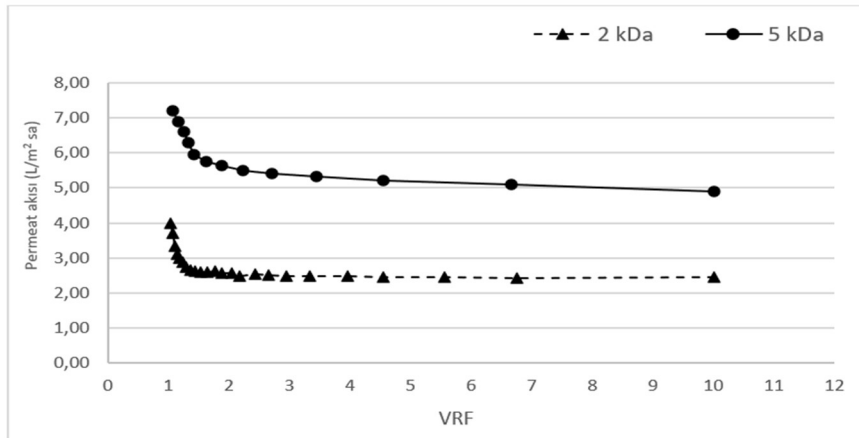
Literatürde farklı özelliklere sahip membran filtrelerle yapılan çalışmalarda beklenildiği üzere aynı yapıdaki membranlarda daha büyük gözenek boyutlarına veya ayırma sınırına sahip olanların daha yüksek permeat akısı sağladığı görülmektedir (Acosta vd., 2014; Dushkova vd., 2025). Bunun yanı sıra permeat akısının sadece transmembran basıncı tarafından etkilenmediği, aynı zamanda membran materyali, membranın yapısı ve çözünen maddeler ile membran arasındaki farklı etkileşimlerden de etkilenebileceği bildirilmiştir (Conidi vd., 2017; Yammine vd., 2019).

Zamana bağlı olarak permeat akısının değişimi Şekil 2’de, hacim redüksiyon faktörü (VRF) ile permeat akısı arasındaki ilişki ise Şekil 3’te sunulmuştur. 2 kDa filtrenin başlangıçta 4 L/m²sa

olan permeat akısı, nihai VRF değeri olan 10’ a ulaşıldığında %39 oranında azalarak 2.44 L/m²sa’ e düşmüştür. 5 kDa’ luk filtre ise 2 kDa’ luk filtreye kıyasla ultrafiltrasyon başlangıcında daha yüksek bir permeat akısına sahipken (7.20 L/m²sa), permeat akısı işlem boyunca azalarak VRF değeri 10 olduğunda 4.91 L/m²sa’ e kadar düşmüştür. Bu durum, literatürde membran yüzeyinde oluşan konsantrasyon polarizasyonu ve jel tabakalarının permeat akısını düşürdüğünü belirten çalışmalarla uyumludur (Cassano vd., 2018; Conidi vd., 2020). Koschuh vd. (2005) tarafından yürütülen çalışmada ise farklı membran filtreler kullanılarak gerçekleştirilen UF/NF proseslerinde VRF artışıyla birlikte permeat akısının azaldığı rapor edilmiştir.



Şekil 2. Zamana bağlı olarak permeat akısının değişimi
Figure 2. Change in permeate flux over time



Şekil 3. VRF'nin permeat akısı üzerindeki etkisi
Figure 3. Effect of VRF on permeate flux

Ultrafiltrasyon Prosesinin Çilek Suyunun Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

Çizelge 2, UF prosesinde farklı VRF değerlerinde elde edilen permeat ve retentat fraksiyonlarında ölçülen toplam fenolik madde (TFM), toplam monomerik antosiyanin (TMA) ve suda çözünen kuru madde (SÇKM) miktarlarını göstermektedir. Çizelgeden anlaşıldığı üzere, uygulanan her

koşulda beslemeden permeata geçen madde miktarı, retentatta tutulandan daha düşük bulunmuştur. Ayrıca permeat fraksiyonlarının tüm parametrelerde anlamlı ölçüde düşük değerlere sahip olması, antosiyaninlerin ve fenolik bileşiklerin büyük kısmının membran tarafından tutulduğunu ve permeat fazına geçmediğini göstermektedir.

Çizelge 2. 2 ve 5 kDa filtreler ile ultrafiltrasyon sonrası çilek suyunun suda çözünen kuru madde (%), toplam fenolik (mg GAE/L) ve toplam antosiyanin (mg/L) miktarlarının değişimi

Table 2. Changes in soluble solids (%), total phenolic (mg GAE/L), and total anthocyanin (mg/L) contents of strawberry juice after ultrafiltration with 2 and 5 kDa filters

Ultrafiltrasyon			Suda çözünen kuru madde (% Brix)	TFM (mg GAE/L)	TMA (mg/L)
Ayırma sınırı	VRF	Fraksiyon			
Besleme			8.00 ^f ±0.00	784.29 ^e ±14.28	15.77 ^f ±0.26
2 kDa	2.5	permeat	7.50 ^g ±0.01	187.84 ^f ±7.23	0.98 ^g ±0.00
		retentat	8.00 ^f ±0.01	782.05 ^e ±4.91	18.15 ^f ±0.18
	5	permeat	7.20 ^h ±0.00	177.66 ^f ±2.23	0.96 ^g ±0.01
		retentat	9.40 ^c ±0.00	1726.61 ^e ±15.18	41.58 ^c ±1.75
	10	permeat	7.05 ⁱ ±0.05	168.20 ^f ±3.84	0.86 ^g ±0.01
		retentat	10.05 ^a ±0.05	2425.71 ^a ±73.22	80.19 ^a ±0.18
5 kDa	2.5	permeat	7.15 ^h ±0.05	235.69 ^f ±4.35	1.91 ^g ±0.09
		retentat	8.60 ^e ±0.01	1335.27 ^d ±11.16	27.87 ^e ±0.30
	5	permeat	7.15 ^h ±0.05	240.27 ^f ±0.23	1.80 ^g ±0.06
		retentat	9.20 ^d ±0.01	1743.08 ^c ±36.83	33.80 ^d ±1.78
	10	permeat	7.20 ^h ±0.00	249.31 ^f ±4.13	1.97 ^g ±0.06
		retentat	9.60 ^b ±0.01	2062.28 ^b ±56.92	48.65 ^b ±1.22

Aynı sütunda farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($P<0.05$).

Statistically significant differences are indicated by different letters in the same column ($P<0.05$).

Ultrafiltrasyon prosesi sonrasında elde edilen retentat fraksiyonlarında, kullanılan filtre ayırma sınırının 2 kDa ve VRF değerinin 10 olduğu koşulda TFM (2425.71 mg GAE/L), TMA (80.19 mg/L) ve SÇKM (10.05 %) içeriklerinin en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Fenolik bileşiklerin büyük bölümü membran tarafından tutulmuştur. Retentatların toplam fenolik madde miktarının, besleme (784.29 mg GAE/L) ile karşılaştırıldığında UF işleminden etkilendiği ve 2 kDa filtre ayırma sınırının daha

yüksek konsantrasyon sağladığı görülmektedir. Bu durum, 2 kDa' nın fenolik bileşikler açısından daha seçici olduğunu göstermektedir. VRF değerindeki artışın TFM miktarını istatistiksel olarak önemli düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 2 kDa' luk filtre ile yapılan işlemde VRF 2.5, 5 ve 10 değerlerinde retentatlardaki TFM miktarı sırasıyla 782.05, 1726.61 ve 2425.71 mg GAE/L olarak ölçülmüştür.

Toplam monomerik antosiyanin miktarı açısından incelendiğinde de VRF değerinin artışı ile

retentatlarda konsantrasyonun arttığı tespit edilmiştir. Ultrafiltrasyon sistemine beslenen çilek suyunun başlangıç antosiyanin içeriği 15.77 mg/L iken, VRF değeri 10 olduğunda 2 kDa membran (80.19 mg/L), 5 kDa membrana (48.65 mg/L) kıyasla daha iyi retensiyon sağlamıştır. Bu da ayırma sınırı azaldıkça daha etkili bir zenginleştirme gerçekleştiği anlamına gelmektedir.

Ultrafiltrasyonun SÇKM miktarı üzerine etkisine bakıldığında 2 kDa filtrede farklı VRF değerlerinde elde edilen permeatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı seviyede ($P<0.05$) fark varken, 5 kDa filtrede ise değişen VRF değerlerine karşılık permeatlar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir. Besleme örneğinin SÇKM miktarı %8.00 olup, permeat fraksiyonlarında SÇKM miktarı genellikle daha düşük (%7.05–%7.50 arasında) bulunmuştur.

Retentatlarda ise her iki filtre için de VRF değerinin artmasıyla istatistiksel olarak artış göstermiştir ($P<0.05$). En yüksek SÇKM miktarı, 2 kDa filtrenin VRF değeri 10 olan retentatında (%10.05) elde edilmiştir. Retentatlarda SÇKM miktarının artışı, suyun uzaklaştırılmasına ve çözünmüş katıların konsantre edilmesine bağlıdır.

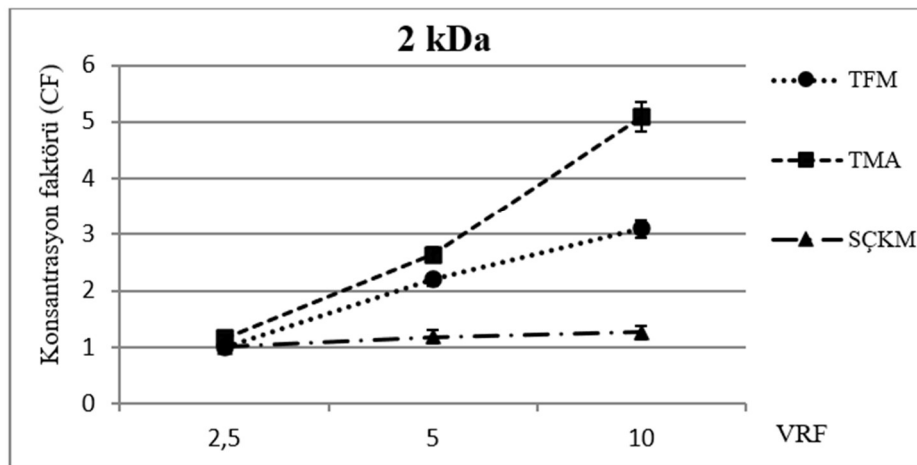
Literatürde yer alan çalışmalar değerlendirildiğinde bu çalışmada elde edilen bulguları destekleyen sonuçların rapor edildiği

görülmektedir. Dushkova vd. (2025) tarafından gerçekleştirilen çalışmada gül yağı damıtma işlemi sonrası açığa çıkan atık sudan fenoliklerin ultrafiltrasyon ile geri kazanımı için 1 kDa, 10 kDa ve 25 kDa ayırma sınırında poliakrilonitril membran filtreler kullanılmıştır. Ultrafiltrasyon sırasında fenolik bileşiklerin, test edilen tüm membranlardan elde edilen retentatlarda VRF değeri 2' den 8' e yükseldikçe artış gösterdiği, en yüksek fenolik bileşen miktarına ise 1 kDa membran kullanıldığında ulaşıldığı bildirilmiştir. Benzer sonuçlar Tokar vd. (2014) tarafından kan portakal suyunda elde edilmiş olup, membranın ayırma sınırı azaldıkça fenolik bileşenler, antosiyaninler ve suda çözünür kuru madde miktarlarının permeat fraksiyonunda azalıp retentat fraksiyonunda arttığı bulunmuştur.

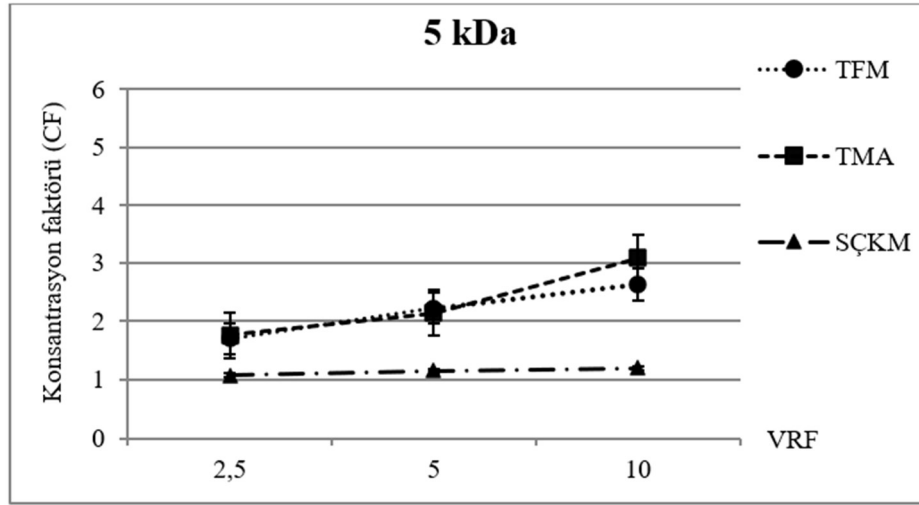
Konsantrasyon Faktörü

Çilek suyunun ultrafiltrasyonu sırasında uygulanan hacim azaltma faktörüne (VRF) bağlı olarak analiz edilen bileşenlerin konsantrasyon faktörünün (CF) değişimi Şekil 4 'te gösterilmiştir. VRF değerinin artması fenolik bileşikler açısından konsantrasyon faktörünü artmıştır. 2 kDa membran filtre ile uygulanan proses aşamasında uygulanan VRF değerleri 2.5, 5 ve 10 olduğunda fenolik bileşiklerin konsantrasyon faktörü sırasıyla 1.0 kat, 2.2 kat ve 3.1 kat olurken, 5 kDa membran filtre kullanıldığında konsantrasyon faktörü sırasıyla 1.7 kat, 2.2 kat ve 2.6 kat olmuştur.

(a)



(b)



Şekil 4. Çilek suyunun ultrafiltrasyonu sırasında hacim azaltma faktörünün (VRF), toplam fenolik madde (TFM), toplam antosiyanin (TMA) ve suda çözünen kuru maddenin (SÇKM) konsantrasyon faktörü (CF) üzerindeki etkileri

Figure 4. Effects of volume reduction factor (VRF) on the concentration factor (CF) of total phenolic matter (TFM), total anthocyanin (TMA) and soluble solids (SÇKM) during ultrafiltration of strawberry juice

Toplam monomerik antosiyaninlerin konsantrasyon faktörü VRF 2.5 iken 5 kDa filtrede (1.8 kat), 2 kDa filtreden (1.2 kat) daha yüksek bulunmuştur. Ancak hacim azaltma faktörünün artışıyla (VRF 5' ten VRF 10' a) 5 kDa filtrede konsantrasyon faktörü sırasıyla 2.1 kat ve 3.1 kat artarken, 2 kDa filtrede sırasıyla 2.6 kat ve 5.1 kat artmıştır. Antosiyaninler açısından en fazla zenginleşmenin sağlandığı konsantrasyon faktörü (5.1 kat) 2kDa filtre ile VRF 10 değerinde yapılan ultrafiltrasyon işlemiyle sağlanmıştır.

Hacim redüksiyonu 2.5 iken suda çözünen kuru madde miktarı 2 kDa membran filtrenin retentat kısmında aynı kalmış, dolayısıyla konsantrasyon faktörü 1 olarak bulunmuştur. Hacim redüksiyonu 5 ve 10 olduğunda ise suda çözünen kuru madde miktarının konsantrasyon faktörü sırasıyla 1.18 ve 1.26 olmuştur. 5 kDa membran filtre ile yapılan ultrafiltrasyonda ise VRF' nin artışıyla konsantrasyon faktörü sırasıyla 1.1 kat, 1.2 kat ve 1.2 kat olarak bulunmuştur. Suda çözünen kuru madde miktarının konsantrasyon faktörü düşüken fenolik bileşenlerin ve antosiyaninlerin konsantrasyon faktörünün

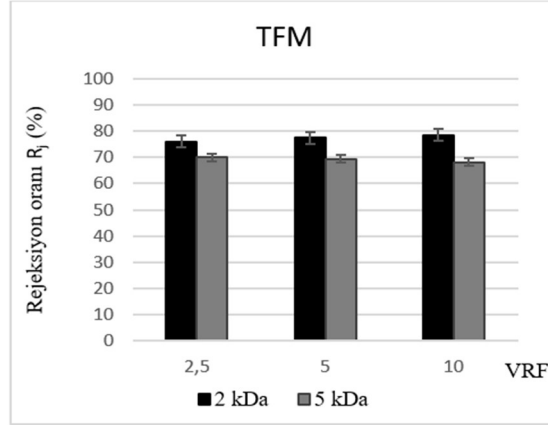
yüksek olması filtrenin bu bileşikler açısından seçici davrandığını göstermektedir.

Geri Kazanım Oranı (Membran Rejeksiyonu)

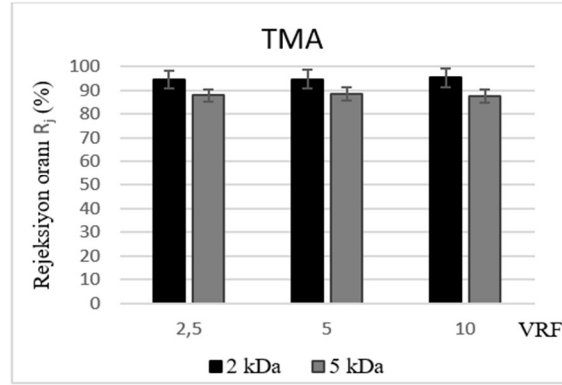
UF denemelerinden elde edilen çilek suyu konsantratları için kullanılan filtrelerin toplam fenolik, toplam antosiyanin ve suda çözünen kuru madde açısından rejeksiyon oranları (R_i) hesaplanmıştır. Değişen VRF değerlerine karşılık toplam fenolik, toplam antosiyanin ve suda çözünen kuru madde miktarının ulaştığı rejeksiyon oranı değerleri Şekil 5' te sunulmuştur.

Kullanılan filtreler ayırma sınırı açısından kıyaslandığında 2 kDa membran filtre ile SÇKM %6.25 - %11.88 aralığında rejeksiyon gösterirken, fenolik bileşenler %76.05 - %78.55 arasında, antosiyaninler %94.60 - %95.26 rejeksiyon göstermiştir. 5 kDa membran filtre kullanıldığında ise gözenek çapı büyüdüğü için SÇKM (%10.00-%10.63), TFM (%68.21-%69.95) ve TMA (%87.51-%88.59) açısından 2 kDa filtreye göre daha düşük rejeksiyon oranları gerçekleşmiştir.

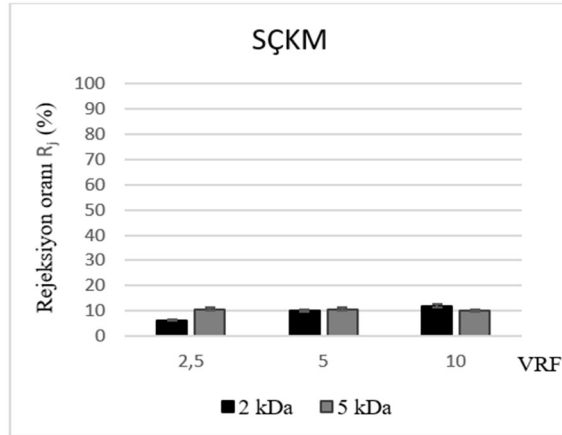
(a)



(b)



(c)



şekil 5. ilek suyunun ultrafiltrasyonu sırasında toplam fenolik madde (TFM) (a), toplam antosiyanin (TMA) (b) ve suda çözünen kuru maddenin (SÇKM) (c) rejeksiyon oranının (R_j) hacim azaltma faktörüne (VRF) bağlı olarak değişimi

Figure 5. Changes in rejection ratio (R_j) of total phenolic matter (TFM) (a), total anthocyanin (TMA) (b) and soluble solids (SÇKM) (c) during ultrafiltration of strawberry juice depending on volume reduction factor (VRF)

Dolayısıyla 2 kDa filtre ile yapılan UF, fenolik bileşenlerin ve antosiyaninlerin geri kazanımı açısından daha etkili bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan her iki filtre için artan VRF ile birlikte bileşenlerin rejeksiyon oranları da yükselmiştir. Farklı VRF değerlerinde alınan sonuçlar karşılaştırıldığında, fenolik bileşikler açısından rejeksiyon oranlarının birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. Çilek suyunun 2 kDa ayırma sınırına sahip filtre ile ultrafiltrasyonunda, VRF değerleri 2.5, 5 ve 10 iken alınan örneklerde fenolik maddelerin rejeksiyon oranları sırasıyla %76.05, %77.35 ve %78.5 olurken, 5 kDa filtre ile işlem yapıldığında sırasıyla % 69.95, %69.36 ve %68.21 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, filtrelerin toplam antosiyaninlere yönelik rejeksiyonu da VRF' ye bağlı olarak önemli düzeyde değişmemiş ve 2.5, 5 ve 10 VRF değerleri için sırasıyla 2 kDa filtrede %94.60, %94.71 ve %95.26 olurken, 5 kDa filtrede %87.89, %88.59 ve %87.51 olmuştur. Analiz edilen parametreler için 2 kDa filtre ile ultrafiltrasyon işleminde VRF değeri 10 olduğunda bileşenlerin rejeksiyon oranı en yüksek bulunmuştur.

Arend vd. (2017) tarafından çilek suyunun nanofiltrasyonu üzerine yapılan çalışmada, hakim antosiyanin olarak tespit edilen pelargonidin-3-O-glikozit için %95'e varan yüksek rejeksiyon sağlanmıştır. Rapor edilen sonuçlar bu çalışmada belirlenen %94–95 TMA rejeksiyonuyla uyumludur. Bu çalışmada elde edilen TMA (%94–95) ve TFM (%76–78) rejeksiyon oranları, antosiyaninlerin moleküler yapısının 2 kDa membran filtre tarafından daha iyi tutulduğunu göstermektedir. Roda-Serrat vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada siyah havuç suyunun nanofiltrasyonunda kullanılan membran filtre (poliamid, 600-800 Da) antosiyaninleri %98 rejeksiyon oranıyla başarılı bir şekilde tutarken, suda çözünen kuru maddenin rejeksiyon oranı %65 olmuştur. Cassano vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen nanofiltrasyon çalışmalarında TFM için %70–90 arasında, TMA için ise %90' ın üzerinde rejeksiyon oranları bildirilmiştir. Literatürde benzer şekilde, Cisse vd. (2011), hibiskus (rosella) (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktının ultrafiltrasyonunda membran ayırma sınırı 20 kDa veya daha az olan tüm

membranların, hibiskus ekstraktının antosiyaninlerini konsantre etmek için etkili olduğunu bildirmiştir. 3 MPa transmembran basıncında, 1 ile 20 kDa arasındaki UF membranları antosiyaninleri %80' in üzerinde tutmuştur.

Acosta vd. (2014) tarafından böğürtlen suyu üzerinde yapılan çalışmada antosiyaninlerin tutulma oranı 0.5 MPa transmembran basıncında UP150 membran (150 kDa) için %60, 3 MPa transmembran basıncında UP005 membran (5 kDa) için %99 arasında değişmiştir. Toplam antosiyaninlerin tutulma oranı, test edilen ultrafiltrasyon membranlarının ayırma sınırı azaldıkça doğrusal olarak artmıştır. Meyve suyunun UF işleminde daha düşük ayırma sınırına sahip membranlarla fenolik bileşiklerin permeat geçişinin büyük ölçüde engellendiğini ve retentatta yoğunlaştığını bildirmiştir. Endüstriyel gül yağı distilasyonu prosesinde açığa çıkan atık suyun UF işlemine tabi tutulduğu bir başka çalışmada ise incelenen membranlar karşılaştırıldığında, 1 kDa membranın VRF 8 değerinde fenolik bileşikler (%42.10), fenolik asitler (%42.94) ve flavonoidler (%41.58) için en yüksek rejeksiyon oranını sağladığı, bunu 10 kDa ve 25 kDa membranların izlediği belirlenmiştir (Dushkova vd., 2025).

Yapılan çalışmalarda membranların tutma (rejeksiyon) özellikleri üzerine; sterik etkiler, membran ve çözünen maddeler arasındaki etkileşimler veya meyve suyundaki farklı kimyasal gruplar arasındaki etkileşimler gibi makromoleküler agregatların oluşumuyla sonuçlanan parametrelerin de etkili olduğu bildirilmiştir (Siebert vd., 1996). UF sisteminde incelenen bileşiklerin kütle dengesi değerlendirildiğinde, çözünen madde-membran etkileşimi ve bunun sonucunda membran yüzeyinde veya gözenek içinde çözünen maddenin adsorpsiyonu sistemdeki kayıpların nedenleri olarak rapor edilmiştir (Liu vd., 2018). Buna ek olarak, özellikle oksidasyona duyarlı bileşiklerin kaybında, meyve suyunun UF çevriminde sürekli olarak geri döndürülmesinin neden olduğu oksidasyonun da etkili olduğu bildirilmektedir (Cassano vd., 2007b).

SONUÇ

Bu çalışmada, çilek suyunun 2 kDa ve 5 kDa ayırma sınırına sahip membran filtreler kullanılarak ultrafiltrasyon yöntemiyle işlenmesi sonucunda, fenolik bileşikler ve antosiyaninler açısından önemli düzeyde zenginleştirme sağlanmıştır. Yapılan analizler, hacim reduksiyon faktörü değerinin artmasıyla birlikte permeat akılarının azaldığını, retentatlarda ise TFM ve TMA miktarlarında anlamlı seviyede artış sağlandığını göstermiştir.

Genel olarak fenolik bileşiklerin ve antosiyaninlerin zenginleştirilmesi için 2 kDa ayırma sınırına sahip filtre daha başarılı bulunmuştur. 2 kDa' luk filtrede hacim reduksiyon faktörü 10' a ulaştığında toplam fenolik madde ve toplam monomerik antosiyaninlerin konsantrasyon faktörleri sırasıyla 3.1 kat ve 5.1 kat olmuştur. Proses sırasında permeat akısı, konsantrasyon ve ayırma etkinliği hacim reduksiyon faktörünün değişiminden önemli düzeyde etkilenmiştir. Bu koşullarda TFM için %78.55 ve TMA için %95.26 olmak üzere yüksek rejeksiyon değerlerine ulaşılmıştır. Bu sonuçlar, çilek suyunun biyoaktif bileşenler yönünden zenginleştirilmesinde ultrafiltrasyonun etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca 2 kDa' luk membranın antosiyaninler açısından gösterdiği yüksek seçicilik, fonksiyonel içecek ve doğal antioksidan ürün geliştirme potansiyelini artırmaktadır.

Özellikle düşük enerji gereksinimi, kimyasal girdi kullanılmaması ve termal işlemlere kıyasla renk-aroma korunumu gibi avantajları sayesinde UF sistemleri, endüstriyel ölçekte uygulanabilir bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Bu kapsamda ilerleyen çalışmalarda UF prosesi ile zenginleştirilmiş retentat fraksiyonlarının fonksiyonel gıda üretiminde kullanım olanaklarının araştırılabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya materyal desteği sağlayan Meykon Meyve ve Kaynak Suları San. ve Tic. A.Ş.' ye teşekkür ederim.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bu makalede yazar, başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKÇA

- Aaby, K., Skrede, G., Wrolstad, R. E. (2005). Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4032-4040.
- Acosta, O., Vaillant, F., Pérez, A. M., Dornier, M. (2014). Potential of ultrafiltration for separation and purification of ellagitannins in blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl.) juice. *Separation and Purification Technology*, 125: 120-125.
- Anonim (2023). Zion Market Research. *Strawberry Market Size, Share, Growth and Forecast to 2032*. <https://www.zionmarketresearch.com/report/strawberry-market>
- Anonim (2024). Strategy MRC. *Global Processing Strawberry Market Report*. <https://www.strategymrc.com/report/processin-g-strawberry-market>
- Anonim (2025). Stat Agri. *Çilek İstatistikleri*. <https://www.statagri.com/cilek-istatistikleri/>
- Arend, G. D., Adorno, W. T., Rezzadori, K., Di Luccio, M., Chaves, V. C., Reginatto, F. H., Petrus, J. C. C. (2017). Concentration of phenolic compounds from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch) juice by nanofiltration membrane. *Journal of Food Engineering*, 201: 36-41.
- Avram, A. M., Morin, P., Brownmiller, C., Howard, L. R., Sengupta, A., Wickramasinghe, S. R. (2017). Concentrations of polyphenols from blueberry pomace extract using nanofiltration. *Food and Bioproducts Processing*, 106: 91-101.
- Cassano, A., Conidi, C., Ruby-Figueroa, R., Castro-Muñoz, R. (2018). Nanofiltration and tight ultrafiltration membranes for the recovery of polyphenols from agro-food by-products. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2): 351.
- Cassano, A., Donato, L., Drioli, E. (2007b). Ultrafiltration of kiwifruit juice: Operating

- parameters, juice quality and membrane fouling. *Journal of Food Engineering*, 79(2): 613-621.
- Cassano, A., Marchio, M., Drioli, E. (2007a). Clarification of blood orange juice by ultrafiltration: analyses of operating parameters, membrane fouling and juice quality. *Desalination*, 212(1-3): 15-27.
- Cissé, M., Vaillant, F., Pallet, D., Dornier, M. (2011). Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Food Research International*, 44(9): 2607-2614.
- Conidi, C., Cassano, A., Caiazzo, F., Drioli, E. (2017). Separation and purification of phenolic compounds from pomegranate juice by ultrafiltration and nanofiltration membranes. *Journal of Food Engineering*, 195: 1-13.
- Conidi, C., Castro-Muñoz, R., Cassano, A. (2020). Membrane-based operations in the fruit juice processing industry: A review. *Beverages*, 6(1): 18.
- Day, L., Seymour, R. B., Pitts, K. F., Konczak, I., Lundin, L. (2009). Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Sciences & Technology*, 20: 338-395.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A. (2013). Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14): 1818-1892.
- Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H., Parajó, J. C. (2009). Ultra- and nanofiltration of aqueous extracts from distilled fermented grape pomace. *Journal of Food Engineering*, 91(4): 587-593.
- Dushkova, M., Mihalev, K., Dinchev, A., Vasilev, K., Georgiev, D., Terziyska, M. (2022). Concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice and extract using ultrafiltration. *Membranes*, 12(11): 1032.
- Dushkova, M., Mitova, M., Bakardzhiyski, I., Miteva-Petrova, M., Menkov, N. (2025). Application of Ultrafiltration for Recovery of Bioactive Phenolic Compounds from Rose Wastewater. *Applied Sciences*, 15(4): 2040.
- Girard, B., Fukumoto, L. R. (2000). Membrane processing of fruit juices and beverages: a review. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 40(2): 91-157.
- Granato, D., Barba, F. J., Bursac Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11(1): 93-118.
- He, J., Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1): 163-187.
- Kaur, C., Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium’s health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36(7): 703-725.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1): 1361779.
- Koschuh, W., Thang, V. H., Krasteva, S., Novalin, S., Kulbe, K. D. (2005). Flux and retention behaviour of nanofiltration and fine ultrafiltration membranes in filtrating juice from a green biorefinery: a membrane screening. *Journal of Membrane Science*, 261(1-2): 121-128.
- Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88: 1269-1278.
- Liu, R. H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition*, 4(3): 384S-392S.
- Liu, Y. L., Wang, X. M., Yang, H. W., Xie, Y. F. (2018). Quantifying the influence of solute-membrane interactions on adsorption and rejection of pharmaceuticals by NF/RO membranes. *Journal of Membrane Science*, 551: 37-46.

- Roda-Serrat, M. C., Schytt-Nielsen, J. F., Braekevelt, S., Dzhanzeftova, T., Joernsgaard, B., Norddahl, B., Errico, M. (2021). Processing of black carrot juice by nanofiltration and forward osmosis. *Chemical Engineering Transactions*, 87: 547-552.
- Siebert, K. J., Troukhanova, N. V., Lynn, P. Y. (1996). Nature of polyphenol– protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1): 80-85.
- Toker, R., Karhan, M., Tetik, N., Turhan, I., Oziyici, H. R. (2014). Effect of ultrafiltration and concentration processes on the physical and chemical composition of blood orange juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3): 1321-1329.
- Vaillant, F., Millan, A., Dornier, M., Decloux, M., Reynes, M. (2001). Strategy for economical optimisation of the clarification of pulpy fruit juices using crossflow microfiltration. *Journal of Food Engineering*, 48(1): 83-90.
- Yammine, S., Rabagliato, R., Vitrac, X., Peuchot, M. M., Ghidossi, R. (2019). Selecting ultrafiltration membranes for fractionation of high added value compounds from grape pomace extracts. *Oeno One*, 53(3): 487-497.

AFET VE ACİL DURUMLARDA KULLANILAN GIDA TASARIMLARININ İNCELENMESİ

Berkan EREN*, Eda GÜNEŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Konya

Geliş /Received 28.07.2025; Kabul /Accepted: 27.10.2025; Online baskı /Published online: 13.11.2025

Eren, B., Güneş, E. (2025). Afet ve acil durumlarda kullanılan gıda tasarımlarının incelenmesi. GIDA (2025) 50 (6) 1120-1136 doi: 10.15237/gida.GD25097

Eren, B., Güneş, E. (2025). *An analysis of food designs used in disasters and emergencies*. GIDA (2025) 50 (6) 1120-1136 doi: 10.15237/gida.GD25097

ÖZ

Afet ve acil durum gıdaları, doğal afetler, salgınlar, savaşlar ve diğer insani kriz durumlarında bireylerin temel beslenme ihtiyaçlarını karşılayarak hayatta kalmasını sağlayan stratejik gıda kaynaklarıdır. Bu gıdalar aynı zamanda afetlerden etkilenen toplumlarda sıkça karşılaşılan yetersiz beslenme riskinin azaltılmasında da kritik rol oynamaktadır. Bu çalışmanın amacı, uluslararası düzeyde yaşanan afet ve kriz durumlarında hayati rol oynayan acil durum gıdalarının üretimine yönelik gerçekleştirilen tasarımları sistematik inceleme yöntemiyle değerlendirmektir. Bu kapsamda, çalışmanın genel akışında PRISMA-P akış diyagramı önerileri temel alınmıştır. 01-05 Haziran 2025 tarihleri arasında Web of Science veri tabanı üzerinden yapılan tarama sonucunda, sistematik incelemeye dahil edilmesi uygun bulunan 13 çalışma belirlenmiştir. Araştırmanın bulguları, afet ve acil durum gıdalarının çoğunlukla buğday, mısır, mangrov ve fasulye türleri gibi yerel bitkisel unlardan oluştuğunu ortaya koymaktadır. Çalışmanın, gelecekteki olası afet ve acil durumlarda gıda güvencesinin sağlanmasına yönelik geliştirilecek gıda politikalarına ışık tutması hedeflenmektedir.

Anahtar sözcükler: Doğal afet, acil durum gıdası, gıda güvenesi

AN ANALYSIS OF FOOD DESIGNS USED IN DISASTERS AND EMERGENCIES

ABSTRACT

Disaster and emergency foods are strategic food sources that enable individuals to survive by meeting their basic nutritional needs during natural disasters, epidemics, wars, and other humanitarian crises. These foods also play a critical role in reducing the risk of malnutrition, which is often encountered in communities affected by disasters. The aim of this study is to systematically evaluate designs for the production of emergency foods, which play a vital role in international disasters and crisis situations. In this context, the PRISMA-P flow diagram recommendations were used as a basis for the general flow of the study. A search conducted on the Web of Science database between 1 and 5 June 2025 identified 13 studies suitable for inclusion in the systematic review. The findings of the research reveal that disaster and emergency foods mostly consist of local plant-based flours such as wheat, corn, mangrove, and bean types. The study aims to shed light on food policies to be developed to ensure food security in future potential disasters and emergencies.

Keywords: Natural disaster, emergency food product, food security

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: berkaneren.academic@gmail.com

Berkan Eren; ORCID no: 0009-0006-3695-3817

Eda Güneş; ORCID no: 0000-0001-7422-9375

GİRİŞ

Doğal afetler ve jeopolitik çatışmalar gibi felaketler gıda sistemleri üzerindeki yıkıcı etkileriyle toplumun gıda güvenliğini tehdit etmekte ve yetersiz beslenmeye yol açmaktadır (Bahwere, 2014; McGuire, 2015; Levkoe ve Strutt, 2024). Özellikle 1999 yılı ve sonrasında Dünya üzerinde önemli felaketler meydana gelmiştir. 1999 Marmara depremlerinde (Barka, 1999), 2004 Hint Okyanusu tsunamisinde (Kathiresan ve Rajendran, 2005), 2005 Katrina kasırgasında (Brunkard vd., 2008), 2010 Pakistan sel felaketinde (Kirsch vd., 2012), Covid-19 salgınında (Williamson vd., 2020), 2022 Avrupa sıcak hava dalgasında (Ballester vd., 2023) ve Kahramanmaraş depremleri (Hussain vd., 2023) gibi felaketlerde binlerce kişi hayatını kaybetmiştir.

Doğal afetlerin dünya genelinde hem şiddeti hem de sıklığı artış göstermektedir (Çakmak vd., 2018; Morganstein ve Ursano, 2020). Uluslararası Acil Durum Veri Tabanı tarafından yayımlanan 2023 yılı raporuna göre, yalnızca bu yıl içinde kaydedilen 399 afetin 86 binden fazla kişinin ölümüne neden olduğu ve 93 milyondan fazla insanı etkilediği belirlenmiştir. Özellikle Türkiye ve Suriye’de meydana gelen depremler ile Endonezya’daki şiddetli kuraklık yılın en yıkıcı afetleri arasında yer almıştır (EM-DAT, 2023). Başka bir rapor son on yılın ortalama verilerine dayanarak, her yıl dünya genelinde doğal afetler nedeniyle yaşamını yitiren kişi sayısının yaklaşık 40.000 ila 50.000 arasında olduğunu ve bu sayının küresel ölümlerin yaklaşık %0.1’ine karşılık geldiğini ortaya koymaktadır (Ritchie vd., 2022).

Afet durumunda gelişen sağlık sorunlarının temel nedenlerinden biri akut dönemde gıda kıtlığı ve ilerleyen dönemde yetersiz beslenmedir (Yılmaz, 2012; Lieber vd., 2022). Dolayısıyla olası afet ve acil durum senaryolarında beslenme hizmetleri; hızlı, etkin ve kaynakların verimli kullanımına dayalı planlamalarla yürütülmelidir (Aycan vd., 2002; Sumarto vd., 2023). Afetlerden etkilenen bireylerin ölüm oranlarını en aza indirmek için, kriz döneminin erken aşamalarında yüksek kaliteli ve besleyici gıda desteği sağlanması hayati önem taşımaktadır (Sheibani vd., 2018). Colón-Ramos

vd. (2019) tarafından, 2017’de Maria Kasırgası sonrası Porto Riko’da yapılan çalışmada, afetzedelere dağıtılan gıdaların çoğunun düşük lifli, yüksek sodyum, doymuş yağ ve ilave şeker içerdiği; bu nedenle sağlıklı beslenme ilkelerini karşılamadığı görülmüştür. Benzer şekilde Aldemir (2023) tarafından yapılan çalışmada da 2023 Kahramanmaraş depremi sonrası gıda yardımlarının bölgeye geç ulaştığı, koordinasyon eksikliği nedeniyle israf yaşandığı ve afetzedelerin beslenme tercihlerinin göz önünde bulundurulmadığı belirtilmiştir. Aynı deprem kapsamında Atasoy vd. (2024) tarafından yapılan çalışmada ise, afet sonrası gıda ve beslenme ortamında özellikle sunulan yiyecek-içecek çeşitliliği, yemek hazırlama ve gıda güvenliği uygulamalarında önemli eksiklikler olduğu raporlanmıştır.

Bu çalışmada, olası afet durumlarında kullanılmak üzere tasarlanan acil durum gıdası (EFP) tasarımlarına yönelik çalışmaların sistematik incelemeye tabi tutulması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, laboratuvar koşullarında tasarlanan acil durum gıdalarının, besin bileşenleri ve besin öğelerine de yer verilmiştir. Çalışmanın, her geçen yıl ölümlere sebebiyet veren afet durumları için kullanılabilir gıda tasarımlarının sistematik olarak incelenmesiyle, afet riski taşıyan bölgelerdeki yerel halka ve acil beslenme hizmetlerine katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

Afet ve Acil Durumlarda Beslenme Hizmeti

Afetler, temelde insan ve doğa kaynaklı olmak üzere, yavaş ya da ani bir şekilde gelişen; fiziksel, ekonomik ya da sosyal kayıplara yol açan; yaşamı ciddi biçimde kesintiye uğratan ve toplumun kendi imkânlarıyla başa çıkmakta zorlandığı olaylar olarak tanımlanmaktadır. Türkiye, coğrafi konumu gereği doğal afetlerin sık yaşandığı riskli bir bölgede yer almaktadır. Küresel Risk Endeksi raporuna göre Türkiye, 191 ülke arasında 45. sırada; 5.0 endeks puanı ile de yüksek risk grubunda bulunmaktadır (AFAD, 2018).

Doğal afetler ve acil durumlar gıda tedarikinde aksamalara yol açarak toplum beslenmesini olumsuz etkilemekte ve ölüm oranlarının artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle,

beslenme konusu acil durum yönetiminde kritik bir halk sağlığı sorunu olarak öne çıkmaktadır. Dolayısıyla olası bir acil durumda öncelikli hedef, yetersiz beslenmeye bağlı hastalık ve ölümlerin önlenmesi olmalıdır (Singh, 2010). Afet ve acil durumlarda beslenme hizmeti temel olarak kısa ve uzun dönem olmak üzere iki bölümde gerçekleşmektedir. Kısa dönem beslenme hizmeti, felaketin ilk 72 saatinde sağlanan hizmettir. Bu süreçte, kolay temin edilebilen, dayanıklı ve yüksek enerjili gıdalar aktif rol oynamaktadır. Uzun dönem beslenme hizmeti ise, felaketin 72 saat sonrasında itibaren hazırlama ve pişirme gereksinimlerini kapsayan bir beslenme hizmeti sürecidir (Öztürk ve Koçak, 2017). Örneğin 6 Şubat 2023 tarihinde Kahramanmaraş merkezli olarak gerçekleşen depremin ilk günlerinde acil durum gıdası olarak kuru gıdalar, bisküviler, krakerler vb. tüketilirken; depremin ilerleyen günlerinde Sahra mutfakları olarak adlandırılan mobil mutfaklarda sıcak yemek üretimi gerçekleştirilmiştir (Aldemir, 2023).

Afet yönetiminin başarısı, yerel kaynaklara dayalı gıda ürünlerinin etkin biçimde kullanılmasıyla doğrudan ilişkilidir. Nitekim hammaddelerin yerel kaynaklı olması, yardım kuruluşlarının ürünleri daha hızlı ve etkin bir şekilde halka ulaştırabilmesi açısından önemlidir. Ayrıca, yerel hammaddelerle üretim yapılabilmesi hem dışa bağımlılığı azaltmakta hem de ürünlerin ekonomik değerini artırarak tedarik zincirinde esneklik sağlamaktadır (Anandito vd., 2016; Sumarto vd., 2023).

Afet ve acil durum gıdalarının yerel kültüre uygun olması, bölgede kolaylıkla temin edilebilen ve uygun maliyetli hammaddelerle üretilebilmesi, yerel halkın beslenme ihtiyaçlarını karşılayacak besin değeri ve kaliteye sahip olması açısından önemlidir (Sumarto vd., 2023). Bu nedenle, afetlerin bir sonucu olarak yetersiz beslenme ile mücadele eden toplumlarda yenilebilir yabani bitkilerin tüketildiği gözlemlenmektedir. Yenilebilir yabani bitkiler geleneksel toplumlarda gıda çeşitliliğinin güvence altına alınmasında ve sağlığın geliştirilmesinde rol oynamaktadır (Jeambey vd., 2009).

Birçok araştırma, yenilebilir yabani bitkilerin kıtlık, afet ve savaş koşullarında hayatta kalmayı destekleyen önemli yerel kaynaklar olduğunu ortaya koymaktadır (Sulaiman vd., 2023). Örneğin Etiyopya'da yaşanan kıtlık, kuraklık ve savaş dönemlerinde (Getahun, 1974), II. Dünya Savaşı sırasında Hollanda'da yaşanan gıda kıtlığında (Vorstenbosch vd., 2017), Bosna Savaşı'nda ve Balkan Savaşları'nda (Redzic, 2010; Redžić ve Ferrier, 2014), 1971-1972 yıllarında Zanzibar'ın Pemba Adası'nda yaşanan kıtlık döneminde (Walsh, 2009) yerel halk yenilebilir yabani bitkileri tüketerek hayatta kalmıştır. Bu nedenle etnobotanik bilimi Kaua'i Bildirgesi'nde "hayatta kalma bilimi" olarak tanımlanmıştır (Prance, 2007). Dolayısıyla acil durum gıdası tasarımlarının temelini de bitkisel unlar oluşturmaktadır (Hadiningsih vd., 2023; Fatmah, 2024).

Acil durumlarda beslenme hizmetlerinin; doğru zamanda, doğru yerde, güvenli, besleyici, kaliteli ve yerel halkın kültürel alışkanlıklarına uygun şekilde sunulması büyük önem taşımaktadır (Bounie vd., 2020). Bu süreçte, bebekler, çocuklar, hamile kadınlar ve yaşlılar gibi özel beslenme gereksinimi olan grupların ihtiyaçlarının da dikkate alınması gerekmektedir (Gribble, 2018; Fatmah vd., 2021; Hayudanti vd., 2022). Türkiye'de 2023 yılında meydana gelen deprem sonrası yapılan bir araştırmada, afetzedelerin yemeklerin kendi yöresel damak tatlarına uygun olmamasından dolayı olumsuz geri bildirimlerde bulundukları; ancak porsiyon miktarlarının yeterli, sunulan yemeklerin ise çeşitli, besleyici ve doyurucu olduğu belirlenmiştir (Aldemir, 2023). Aynı depreme yönelik Kaçar vd. (2024) tarafından yürütülen başka bir çalışmada ise, özellikle sığınma evlerinde yaşayan hamile bireylerin protein, vitamin ve mineral gibi temel makro besin öğeleri açısından yetersiz beslendikleri tespit edilmiştir. Bu bulgular, afet ve acil durumlarda özel gereksinimi olan bireyler için beslenme hizmetlerinin titizlikle planlanması gerektiğini açıkça ortaya koymaktadır.

Acil Durum Rasyonları

Acil durum rasyonları, olası bir afet veya acil durumda gönüllü bireyler, yardım kuruluşları ya da hükümetler aracılığıyla afetlerden etkilenen

topluluklara dağıtılan yardım gıdalarıdır. Bu gıdalar, aynı zamanda askeri birliklere, savaş veya afetlerden etkilenmiş mültecilere ve yerinden edilmiş kişilere de ulaştırılmaktadır. Acil durum rasyonlarının temel amacı, yetersiz beslenmeyi önlemek ve hayatta kalmayı destekleyecek düzeyde enerji sağlamaktır (Schofield ve Mason, 1996; Mohammadian vd., 2021). Bu amaç doğrultusunda tasarlanan acil durum rasyonları; lipit bazlı besin takviyeleri (Lipid-based Nutrient Supplements, LNS), mikronutrient tozları (Micronutrient Powders, MNP), güçlendirilmiş karışık gıdalar (Fortified Blended Foods, FBFs), yüksek enerjili bisküviler (High Energy Biscuits, HEBs), kompakt gıda barları (Compact Food Bars, CFBs), yemeye hazır yemek (Meal, Ready-to-Eat, MRE) ve acil durum gıda ürünü (Emergency Food Products, EFP) gibi ürünlerden oluşmaktadır (Duclercq, 2014; V. Hadi vd., 2018; Sheibani vd., 2018).

Lipit bazlı besin takviyeleri (LNS), enerjinin çoğunun yağlardan karşılandığı ürünlerin genel adıdır. Bu ürünlerin temel maddeleri bitkisel yağ, süt tozu, öğütülmüş fındık veya soya, şeker ve mikro besin karışımlarıdır (Wagh ve Deore, 2015). Tüketim amacı ise yetersiz beslenmenin önlenmesidir. Kullanıma hazır gıdalar (Ready-to-Use Foods, RUFs) lipit bazlı gıdalar olarak da ifade edilmektedir (Chaparro ve Dewey, 2010; Huybregts vd., 2012; Arimond vd., 2015; Wagh ve Deore, 2015).

Kullanıma hazır terapötik gıda (RUTF) olarak adlandırılan büyük doz LNS (LQ-LNS), günde 180-200 gram olarak, şiddetli akut yetersiz beslenme vakalarının (SAM) tedavisinde kullanılmaktadır (Arimond vd., 2015). Karışımın temel maddeleri süt tozu, fıstık ezmesi, bitkisel yağ ve şeker ile vitamin, tuz ve minerallerdir. Kullanımı su veya meyve suyu gibi sıvılarla seyreltilmesini ya da pişirilmesini gerektirmemektedir. Ayrıca mikrobiyal kontaminasyona karşı da dirençli ürün tipidir (Santini vd., 2013). Ürünün maliyeti yüksektir. Bu nedenle yetersiz beslenmenin görüldüğü toplumlara sivil toplum kuruluşları ya da yerel hükümetler tarafından dağıtımı gerçekleştirilmektedir (Manary, 2006).

Kullanıma hazır takviye edici gıda (RUSF) olarak adlandırılan orta doz LNS (MQ LNS), yaklaşık 45-90 gramlık dozlarla, orta şiddetli akut yetersiz beslenmenin (MAM) tedavisi için tasarlanmıştır. Ayrıca gıda güvensizliğine sahip toplumlarda görülen yetersiz beslenmenin önlenmesi için de kullanılmaktadır (Arimond vd., 2015). Tek başına ya da lapa gibi diğer yiyeceklerle karıştırılarak tüketilebilir. Su eklenmesine gerek yoktur. Ayrıca ürünün kendisi sahip olduğu minimum su içeriği ile mikrobiyal kontaminasyona karşı dirençlidir (Ahmed vd., 2014). RUTF ürünlerinden farkı, günlük enerji ve besin gereksinimlerinin yalnızca bir kısmını sağlamasıdır (Duclercq, 2014). Küçük doz LNS (SQ-LNS) ise yaklaşık 20 gramlık günlük dozlarla, evde hazırlanan yerel gıdaların besin değerini artırmak ve bebek ile annelerin diyetini desteklemek amacıyla tasarlanmıştır (Arimond vd., 2015).

Mikronutrient tozları (MNP), hazır yiyeceklerle eklenebilen, toz formunda kapsüllenmiş vitamin ve minerallerdir. Bu ürünler, hedef popülasyonların günlük önerilen en az iki ya da daha fazla vitamin ve mineral ihtiyacını karşılamak üzere tasarlanmıştır (De-Regil vd., 2013; Salam vd., 2013). Güçlendirilmiş karışık gıdalar (fortified blended foods, FBFs), sorgum, mısır, darı ve diğer tahılların yanı sıra mikro besinler, bitkisel yağ, şeker ve süt tozu içerebilen; su eklenerek 5-15 dakika arasında pişirilen ve lapa şeklinde hazırlanan besin karışımlarıdır. Bu karışımlar dört temel türe ayrılmaktadır: Mısır-Soya Karışımı Plus (CSB+) (LaGrone vd., 2012), Süper Tahıl Plus (SC+) (Kampstra vd., 2018), Sorgum-Soya Karışımı (SSB) (Joseph vd., 2025) ve Sorgum-Börülce Karışımı (SCB) (Delimont vd., 2017). Bu gıdaların temel kullanım amacı, özellikle yetersiz beslenen anne ve çocuklara protein ve enerji desteği sağlamaktır (Delimont vd., 2017; Regier vd., 2019).

Acil durumların ilk aşamalarında uygun pişirme ortamı ve ekipman bulunmadığından, hazırlık gerektirmeyen gıdalar tercih edilmektedir (2001; Singh, 2010). Bu nedenle yüksek enerjili bisküviler (HEB), kompakt gıda barları (CFB) ve yemeye hazır yemekler (MRE) sıkça kullanılmaktadır. HEB'ler, vitamin ve minerallerle zenginleştirilmiş,

fırınlanmış, tüketime hazır ürünlerdir (Hossain, 2018; Niroula, 2019). CFB ve MRE'ler ise doğal afetler ve askeri operasyonlarda yaygın olarak kullanılan gıdalardır (Hadi vd., 2018).

Acil durumlarda kullanılacak gıdaların yalnızca enerji ve besin öğelerini karşılaması yeterli değildir; aynı zamanda belirli standartlara da uymaları gerekmektedir. Bu bağlamda, Ulusal Bilim Akademileri Tıp Enstitüsü (IOM) tarafından görevlendirilen bir komite tarafından doğal afetler ve acil durumlar sırasında, kalıcı bir gıda sistemi kurulana dek tek başına kullanılabilecek acil durum gıda ürünü (EFP) olarak da adlandırılan acil durum rasyon barı üretimi için gerekli standartları özetleyen bir rapor yayımlanmıştır. Bu ürünlerin güvenli, lezzetli, taşınabilir, kolay tüketilebilir ve besin açısından yeterli olması gerekmektedir (Zoumas vd., 2002).

Acil durum gıda ürünleri (EFP) sel, deprem, kuraklık, yangın ve savaş gibi afetlerde veya askeri amaçlarla kullanılan, genellikle bisküvi veya bar formunda tasarlanan, doğrudan tüketilebilen ürünlerdir. Bu ürünler olası bir acil durumun ilk on beş gününde bireylerin hayatta kalmasını sağlayarak ölüm oranlarının azaltılmasını amaçlamaktadır. Dolayısıyla terapötik bir ürün değildir (Zoumas vd., 2002). Afet koşullarında mevcut kısıtlamalar, tek tip ve çeşitlilikten yoksun bir beslenmeyi zorunlu kılmaktadır. Ancak bu durum uzun vadede çeşitli sağlık sorunlarına yol açabileceğinden dikkat edilmelidir (Ainehvand vd., 2019; Mengesha vd., 2021).

Yüksek karbonhidrat ve protein içeriğine sahip olan acil durum gıda ürünleri, sıkıştırılmış yapıları ve uzun raf ömürleri sayesinde pratik bir çözüm sunmaktadır. Pişirilmeden, doğrudan kullanılabilmeleri sayesinde afetlerde hayat kurtarıcı rol oynamaktadır (Anandito vd., 2016). Acil durum gıda ürünlerinin afet durumlarında yaşlı bireyler için özel bir önemi vardır. Afet sırasında yaşlılar, dejeneratif hastalıklar, enfeksiyon riskleri ve stres gibi çoklu kırılabilirlik faktörlerine maruz kalmaktadır. Bu bağlamda, dağıtımı kolay, pişirme gerektirmeyen ve dayanıklı bir gıda formuna sahip olan bu ürünler, yaşlı bireylerin gıda güvenliğini sağlamasında da etkili

bir araç olarak öne çıkmaktadır (Fatmah vd., 2021).

Acil durum gıdaları genellikle bisküvi ve bar formunda tasarlanmaktadır. Ürünlerin temel hammaddeyi ise kurutulmuş süt ve tahıl karışımlarıdır (Hasan ve Putri, 2020). Ayrıca form olarak 6 aydan büyük tüm bireylerin tüketebileceği bir şekilde, sulandırılabilir bir yapıda olması istenilmektedir. Süt katıları, genellikle protein ihtiyacının karşılanması amacıyla kullanılmaktadır. Ürünün süt katıları içermesi durumunda bir miktar laktoz ilave edilmelidir. Ancak bu miktar 1000 kcal başına 17 gramı aşmayacak düzeyde olmalıdır (Zoumas vd., 2002). Yaşar ve Çiftçi (2025) tarafından yapılan bir çalışmada, acil durum gıdalarının büyük çoğunluğunun soya fasulyesi ikamesi içerdiği ifade edilmiştir. Bu durumun nedeni olarak, soya fasulyesinin diğer baklagil türleri arasında bilinen en yüksek protein (%40); en yüksek ikinci yağ (%20) oranına sahip olması (Hettiarachchy ve Kalapathy, 1997) ve gıda güvenliğini sağlama potansiyeli taşımasıdır (Dilawari vd., 2022; İslam vd., 2022).

Acil durum gıdalarının besin profili afet sonrası dönemde bireylerin temel enerji ve besin ögesi ihtiyaçlarını karşılamayı hedefleyici şekilde olmalıdır. Dolayısıyla bir acil durum gıdası kişi başına günlük en az 2100 kcal olmalıdır. Bütün bir paket ise minimum 4.660 kcal içermelidir (Zoumas vd., 2002). Bununla birlikte 50 gramlık (233-250 kcal) bir acil durum gıdası %35-45 yağ, %10-15 protein ve %40-50 karbonhidrat ihtiva etmelidir (Hasan ve Putri, 2020; Afifah vd., 2022). Ürün içerisinde kullanılacak yağ ürünlerinin kaynağı domuz yağı, don yağı, diğer hayvansal yağlar olmamalıdır. Ayrıca acil durum gıdalarının nem içeriği %9.5'ten ve su aktivitesi %0.6'dan fazla olmamalı; dolayısıyla 24-36 aylık bir raf ömrünü sağlaması gerekmektedir (Zoumas vd., 2002). Bu durumun sebebi, düşük su içeriğinin mikroorganizmaların büyüme hızını engelleyerek ürünün raf ömrünü uzatmasıdır (Liu vd., 2009; Alp ve Bulantekin, 2021).

Acil durum gıdalarının paket tasarımları, ürün tasarımı kadar önem taşımaktadır. Nitekim paketleme, gıdaların çevresel kirlilik etkenlerinden

korunmasını ve raf ömrünün uzatılmasını sağlamaktadır (Han vd., 2018). Bu kapsamda çeşitli acil durum gıdası paketleri tasarlanmıştır. Fu vd. (2024) tarafından yüksek nemli ortamlarda acil durum gıdalarının korunmasına yönelik olarak, yüksek oksijen bariyer özelliğine sahip çift katmanlı polivinil alkol kaplamalı polietilen kompozit filmler tasarlanmıştır. Ghorbani vd. (2021) tarafından nar kabuğu özütüyle fonksiyonel pektin bazlı antimikrobiyal kaplamalar geliştirmiştir. Benzer şekilde Yekta vd. (2024) tarafından da kırmızı üzümden elde edilen antosiyaninleri içeren biyolojik olarak parçalanabilir filmler tasarlanmıştır. EFP raporuna göre paket tasarımlarının, havadan atılmaya uygun bir şekilde olması beklenmektedir (Zoumas vd., 2002).

MATERYAL VE METOT

Acil durum gıdalarına yönelik mevcut araştırmaları değerlendirmek ve sentezlemek amacıyla bu çalışmada sistematik derleme yöntemi tercih edilmiştir. Sistematik derleme, belirli bir araştırma problemini yanıtlamak üzere önceden tanımlanmış sorular doğrultusunda birincil araştırmaların sonuçlarını açık ve yeniden üretilebilir yöntemlerle değerlendiren ve birleştiren bir yaklaşımdır (Pati ve Lorusso, 2018; Carrera-Rivera vd., 2022). Bu yöntemin temel aşamaları; araştırma sorularının belirlenmesi, dahil etme ve hariç tutma ölçütlerinin saptanması, ilgili konuya ilişkin literatür taramasının yapılması, dahil etme ve hariç tutma ölçütleri çerçevesinde araştırmaya dahil edilecek çalışmaların seçilmesi, verilerin toplanması ve analizi ile elde edilen sonuçların yorumlanarak raporlanmasından oluşmaktadır (Gough vd., 2012; Cinar vd., 2019).

Sistematik derleme, bir araştırma alanındaki mevcut bilgilerin kapsamlı bir şekilde özetlenmesine olanak tanırken, farklı araştırmalardan elde edilen verilerin birleştirilerek yeni ve bütünlükli sonuçların oluşturulmasını sağlar. Ayrıca, farklı kanıt türlerinin bir araya getirilmesiyle daha kapsamlı bir analiz yapılabilir (Burns ve Grove, 2010; Snilstveit vd., 2012). Ancak, sistematik incelemelerin raporlama kalitesindeki farklılıklar, okuyucuların bu çalışmaların güçlü ve zayıf yönlerini

değerlendirmesini zorlaştırabilmektedir. Bu bağlamda çalışma, bu tür zorlukların önüne geçmesi, aynı zamanda kapsamlı ve yapılandırılmış bir inceleme sunması amacıyla PRISMA önerilerine (Liberati vd., 2009) uygun şekilde yürütülmüştür. Yirmi yedi maddelik bir kontrol listesi ve dört aşamalı bir akış diyagramı sunan PRISMA önerileri, sistematik incelemelerin ve meta-analizlerin raporlanmasına rehberlik ederken eleştirel değerlendirme için de önemli bir kaynak sunmaktadır (Moher vd., 2009).

Sistematik derleme çalışmaları, araştırmacılar tarafından belirlenen araştırma sorularına cevap verme amacı taşımaktadır. Çalışmanın üzerinde yoğunlaştığı temel araştırma sorusu “*Afet ve acil durum koşullarında tüketilmek üzere tasarlanan acil durum gıdaları nelerdir?*” olarak belirlenmiştir.

Araştırmacılar tarafından belirlenen araştırma sorularının cevaplarını bulmak üzere 01.06.2025 ve 05.06.2025 tarihleri arasında Web of Science veri tabanı üzerinden sistematik tarama gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın evrenini Web of Science veri tabanındaki çalışmalar oluştururken örneklemini ise 1999-2025 yılları arasında belirlenen anahtar sözcükler kapsamında yayımlanmış araştırma makaleleri oluşturmuştur. Anahtar sözcüklerin belirlenmesinde, literatürde afet ve acil durum gıdalarını tanımlayan terimler temel alınmıştır. Bu doğrultuda, “*emergency food**” teriminin araştırma sorusuna cevap veren çalışmaları ortaya çıkardığı tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında dahil etme kriterleri olarak; acil durum gıdası (özellikle doğal afet odağında) tasarımına odaklanan Web of Science veri tabanında yer alan araştırma makaleleri temel alınmıştır. Ayrıca çalışmanın tartışma bölümünde araştırma makalesi olmayan diğer türlere de yer verilmiştir. Ürün tasarımlarıyla ilgili olarak birden fazla formülasyon sonucuna sahip çalışmalarda, genel beğenisi en yüksek olan ürün incelemeye dahil edilmiştir. Bununla birlikte her çalışmada her besin değerinden bahsedilmemektedir. Bu nedenle besin değerine yönelik en az bir niceliği belirten ilgili tüm çalışmalar incelemeye dahil edilmiştir. Belirli bir gıda tasarımı üzerine odaklanmayan çalışmalar ile tıbbi amaçlı

kullanılan, özel beslenme gereksinimlerini hedefleyen RUTF ve RUSF ürünlerini konu alan çalışmalar kapsam dışı bırakılmıştır.

Yapılan tarama sonucunda 597 sonuca ulaşılmıştır. Yazarlar tarafından ulaşılan

makalelerin özet bölümleri tek tek okunarak incelenmiştir. Dahil etme ve hariç tutma ölçütleri doğrultusunda, araştırmaya dahil edilen çalışma sayısı 13 olarak tespit edilmiştir. Tablo 1’de çalışmanın PRISMA akış diyagramına göre tasarımı yer almaktadır.

Çizelge 1. Çalışmanın Tasarımı

Table 1. Design of the Study

Sistematik İnceleme Basamakları (<i>Systematic Review Steps</i>)	Bulgular (<i>Findings</i>)
Literatür Taraması (<i>Literature Review</i>)	Web of Science (n=597) (<i>Web of Science (n=597)</i>)
Belirlenen Yıl Aralığı İçinde Kalan Çalışmalar (<i>Studies Within the Specified Year Range</i>)	1999-2025 (n=517)
Belirlenen Akademik Tür Kapsamında Olan Çalışmalar (<i>Studies Within the Scope of the Specified Academic Genre</i>)	Araştırma Makaleleri (n=486) (<i>Research Articles (n=486)</i>)
Temel Araştırma Sorusuna Yanıt Veren Çalışmalar (<i>Studies that Answer the Basic Research Question</i>)	EFP Tasarımları (n=13) (<i>EFP Designs (n=13)</i>)
Sistematik İncelemeye Dahil Edilen Toplam Çalışma Sayısı (<i>Total Number of Studies Included in the Systematic Review</i>)	(n=13)

BULGULAR

Çizelge 2’de “Afet ve acil durum koşullarında tüketilmek üzere tasarlanan acil durum gıdaları

nelerdir?” araştırma sorusunun cevaplandığı çalışmalar yer almaktadır.

Çizelge 2. EFP Tasarımları

Table 2. EFP Designs

İçindekiler (<i>Ingredients</i>)	Besin Öğeleri (<i>Nutritional Components</i>)	Referans (<i>Reference</i>)
Mısır unu, balık protein hidrolizati, tuz, Hindistan cevizi yağı, su (<i>maize flour, fish protein hydrolysate, salt, coconut oil, water</i>).	50 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %45.97 Protein (<i>Protein</i>): %15.62 Yağ (<i>Fat</i>): %34.93 Enerji (<i>Energy</i>): 232.57 kcal Su (<i>Water</i>): %2.0 Kül (<i>Ash</i>): %1.48	Resti vd., 2024
Mangrov unu, kılıç fasulyesi unu, tereyağı, yumurta, şeker, buğday, çikolata, çilek, portakal (<i>mangrove flour, sword bean flour, butter, eggs, sugar, wheat, chocolate, strawberry, orange</i>).	50 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %24.7 Protein (<i>Protein</i>): %5.8 Yağ (<i>Fat</i>): %12.5 Enerji (<i>Energy</i>): 234.2 kcal	Fatmah, 2024
Deniz yosunu, odun elması (<i>Limonia acidissima</i> L.), soya tozu, şeker, stevia, toz jelatin, sitrik asit (<i>seaweed, wood apple (Limonia acidissima</i> L.), <i>soy powder, sugar, stevia, powdered gelatin, citric acid</i>).	100 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %2.20 Protein (<i>Protein</i>): %37.54 Yağ (<i>Fat</i>): %27.03 Enerji (<i>Energy</i>): %402.20 kcal Su (<i>Water</i>): %30.51 Kül (<i>Ash</i>): %2.73	Afifah vd., 2023

Manyok unu, kırmızı fasulye unu, yağsız süt tozu, margarin, şeker, su (<i>cassava flour, red bean flour, skimmed milk powder, margarine, sugar, water</i>).	100 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %62.84 Protein (<i>Protein</i>): %9.81 Yağ (<i>Fat</i>): %19.37 Enerji (<i>Energy</i>): 464.93 kcal Su (<i>Water</i>): %5.46 Kül (<i>Ash</i>): %2.52	Hadiningsih vd., 2023
Lindur meyvesi unu (<i>B. gymnorhiza L.</i>), soya fasulyesi unu, yapışkan pirinç unu, Hindistan cevizi, yağ, şeker, tuz (<i>lindur fruit flour (B. gymnorhiza L.), soybean flour, glutinous rice flour, coconut, oil, sugar, salt</i>).	50 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %30 Protein (<i>Protein</i>): %4.4 Yağ (<i>Fat</i>): %6.3 Enerji (<i>Energy</i>): 251.5 kcal Su (<i>Water</i>): %4.03 Kül (<i>Ash</i>): %1.84 Lif (<i>Fiber</i>): %15.79	Afifah vd., 2022
Buğday unu, kırmızı fasulye unu, protein izolatı, hidrojenize bitkisel yağ, şeker, kabartma tozu, yumurta (<i>wheat flour, red bean flour, protein isolate, hydrogenated vegetable oil, sugar, baking powder, eggs</i>).	100 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %57.20 Protein (<i>Protein</i>): %12.34 Yağ (<i>Fat</i>): %25.43 Enerji (<i>Energy</i>): 507,03 kcal Nem (<i>Moisture</i>): %4.15 Kül (<i>Ash</i>): %0.41 Lif (<i>Fiber</i>): %0.46	Hayat vd., 2022
Mangrov unu, brokoli unu, soya fasulyesi unu, buğday unu, tereyağı, yumurta, şeker (<i>mangrove flour, broccoli flour, soybean flour, wheat flour, butter, eggs, sugar</i>).	50 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %30.2 Protein (<i>Protein</i>): %1.9 Yağ (<i>Fat</i>): %12.1 Enerji (<i>Energy</i>): 246 kcal	Fatmah vd., 2021
Balkabağı unu (<i>Cucurbita moschata d.</i>), balık unu (<i>Stolephorus commersini</i>), buğday unu (<i>pumpkin flour (Cucurbita moschata d.), fish meal (Stolephorus commersini), wheat flour</i>).	100 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %54.40 Protein (<i>Protein</i>): %24.32 Yağ (<i>Fat</i>): %9.49 Enerji (<i>Energy</i>): 490 kcal Nem (<i>Moisture</i>): %7.95 Kül (<i>Ash</i>): %1.79	Canti vd., 2021
Mısır unu, soya fasulyesi unu, tempeh unu, tam yağlı süt tozu, pudra şekeri, yemeklik yağ (<i>corn flour, soybean flour, tempeh flour, whole milk powder, powdered sugar, cooking oil</i>).	50 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %23-35 Protein (<i>Protein</i>): %7.9-8.1 Yağ (<i>Fat</i>): %9.1-11.9 Enerji (<i>Energy</i>): 233 kcal Aw (<i>Aw</i>): %0.94-0.96	Aini vd., 2018
Mung fasulyesi unu, muz, yumurta, şeker, tuz, margarin, yağsız süt, un (<i>mung bean flour, banana, egg, sugar, salt, margarine, skim milk, flour</i>).	100 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %36.06 Protein (<i>Protein</i>): %11.69 Yağ (<i>Fat</i>): %10.86 Su (<i>Water</i>): %36.53 Kül (<i>Ash</i>): %2.60	Nurhayati vd., 2018
Soya fasulyesi unu, tam yağlı süt tozu, ayçiçeği yağı, yulaf, toz şeker, susam, tuz (<i>soybean flour, whole milk powder, sunflower oil, oats, granulated sugar, sesame, salt</i>).	439 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): 158 g Protein (<i>Protein</i>): 70 g Yağ (<i>Fat</i>): 196 g Enerji (<i>Energy</i>): 2194 kcal Lif (<i>Fiber</i>): 18 g	Sheibani vd., 2018

Beyaz darı unu (<i>Panicum milliaceum</i> L.), kırmızı fasulye unu (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.), şeker, margarin, süt kreması, süt, su (<i>White millet flour</i> (<i>Panicum milliaceum</i> L.), <i>red bean flour</i> (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.), <i>sugar, margarine, milk cream, milk, water</i>).	100 g Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>): %42.26 Protein (<i>Protein</i>): %10.99 Yağ (<i>Fat</i>): %35.39 Enerji (<i>Energy</i>): 233.80 kcal Su (<i>Water</i>): %16.45 Kül (<i>Ash</i>): %1.45 Aw (<i>Aw</i>): 0.81	(Anandito vd., 2016)
İzole soya proteini, lesitin, un, kuru malt tozu, soya proteini konsantresi, kısmen hidrojenize soya fasulyesi yağı, selüloz, mısır şurubu, kristalin fruktoz, vitamin ve mineral karışımı (<i>isolated soy protein, lecithin, flour, dry malt powder, soy protein concentrate, partially hydrogenated soybean oil, cellulose, corn syrup, crystalline fructose, vitamin and mineral blend</i>).	50 g Protein (<i>Protein</i>): %18.39 Yağ (<i>Fat</i>): %24.9 Su (<i>Water</i>): %0.461 Nem (<i>Moisture</i>): %5.27 Kül (<i>Ash</i>): %4.81	Brisske vd., 2004

Araştırmacılar tarafından geliştirilen acil durum gıda ürünleri yerel toplulukların acil durum gıda ihtiyaçlarının karşılanmasında büyük rol oynamaktadır. Acil durum gıda ürünü (EFP) raporuna göre, belirlenen standartlarda geliştirilecek olan prototipler, uluslararası bir nitelikte olmalıdır. Nitekim bu durum olası afet veya kriz senaryolarında farklı coğrafyalarda ve kültürel yapılarda uygulanabilirliğin sağlanması açısından büyük önem taşımaktadır. Ayrıca belirlenen standartlara olan uygunluk, ürünlerin afet bölgelerine gönderilmesinde lojistik kolaylık ve kabul edilebilirlik açısından da kritik bir rol oynamaktadır (Zoumas vd., 2002).

TARTIŞMA

Bu sistematik incelemede Web of Science veri tabanı üzerinden “*emergency food**” anahtar kelimesi temel alınmıştır. Veri tabanı bu kavramı içeren başlığında, özetinde ve anahtar kelimelerinde yer veren tüm çalışmaları ortaya koymuştur. Araştırmacılar tarafından geliştirilen ilk EFP tasarımları, genellikle soya bazlı ürün formülasyonlarını içermiştir. Brisske vd. (2004) tarafından yapılan çalışma, EFP raporunun yayımlanmasının ardından yapılan ilk prototip çalışmalarından biridir. Bu yönüyle alandaki sonraki araştırmalara temel teşkil etmiştir. Geliştirilen farklı formülasyonlar; besin grupları açısından çeşitlilik göstermekte olup mısır unu, buğday unu, soya fasulyesi unu ve çeşitli meyve-sebze unlarının kullanımıyla zenginleştirilmiştir.

Hadiningsih vd. (2023) tarafından geliştirilen ürünün karbonhidrat oranı bakımından en yüksek değere (%62.84, 100g) sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu ürünün temel malzemeleri arasında manyok unu ve kırmızı fasulye unu yer almaktadır. Karbonhidrat açısından en düşük değere (%2.20, 100g) sahip olan ürün ise Afifah vd. (2023) tarafından geliştirilmiştir. Deniz yosunu ve soya tozu içeren bu ürün aynı zamanda en yüksek protein oranına (%37.54, 100g) sahiptir. Yağ içeriği bakımından en yüksek değer (%35.39) (Anandito vd., 2016) tarafından geliştirilen beyaz darı ve kırmızı fasulye içeren formülasyonda görülmüştür. (Hayat vd., 2022) tarafından geliştirilen ürün ise en yüksek enerji değerine (507.03 kcal, 100g) sahiptir. Bu ürün buğday unu, kırmızı fasulye ve protein izolatu ihtiva etmektedir.

Araştırmacının dahil etme ve hariç tutma kriterleri gereğince bazı çalışmalar kapsam dışında tutulmuştur. Örneğin Siva ve Anderson (2023) tarafından lignoselülozik biyokütlelerin acil durum gıdası olarak potansiyeli incelenmiştir. Nurhayati ve Alfian (2017) tarafından ise afet koşullarında kullanılmak üzere edamame yeşil fasulyesi bazlı acil durum gıda ürünü desteği geliştirilmiştir. Bu çalışmalar da dahil etme ve hariç tutma kriterlerini karşılamaması sebebiyle kapsam dışında tutulmuştur. Ayrıca EFP ürünleri terapötik ve tıbbi kullanım amacı taşıyan ürünlerden ayrılmaktadır (Zoumas vd., 2002). Dolayısıyla terapötik kullanımı öncelikli amaç edinen acil durum gıda ürünlerine yönelik çalışmalar da (Hadi vd., 2022; Yanti vd., 2023;

Reggi vd., 2024; Yu vd., 2025) kapsam dışı bırakılmıştır.

Araştırma makaleleri haricinde, araştırma sorusuna yanıt veren 11 adet bildiri çalışması da bulunmaktadır. Bu çalışmalarda geliştirilen EFP tasarımlarında tatlı patates, maş fasulyesi, soya fasulyesi (Darniadi vd., 2012), muz çiçeği ve istiridye mantarı (Bridha vd., 2024), moringa unu, soya fasulyesi unu ve muz unu (Hasan ve Putri, 2020), manyok nişastası ve ton balığı unu (Hasbullah vd., 2019), kurutulmuş mung fasulyesi filizi (Mahendradatta vd., 2020), darı unu ve yılanbaşı balığı (Anandito vd., 2018) gibi çeşitli yerel ve besleyici bileşenler kullanılmıştır. Buna ek olarak, peynir altı suyu protein konsantresi temelli farklı EFP tasarımları da literatürde yer almaktadır (Khairunnisa vd., 2018; Sunyoto vd., 2019; Hayati vd., 2020; Pradipta ve Andoyo, 2020; Shalihah vd., 2020). Bu çalışmalar, farklı coğrafyalarda yerel gıda kaynaklarının değerlendirilerek farklı EFP tasarımlarının gerçekleştirilebileceğini ortaya koymaktadır.

SONUÇ

Afetler yalnızca deprem, sel, çığ, yangın, kuraklık, heyelan ve kasırga gibi doğa kaynaklı olaylarla sınırlı değildir. Aynı zamanda salgın hastalıklar ve savaşlar gibi insan kaynaklı veya karmaşık krizler de afet kapsamında değerlendirilmektedir. Olası bir afet durumunda bireylerin önceliği, hayatta kalma güdüsünün etkisiyle mevcut tüm imkânları değerlendirmek olmaktadır. Ancak afetin büyüklüğü ve süresi, özellikle gıda tedariki ve beslenme gibi temel yaşam ihtiyaçlarında ciddi kısıtlamalara yol açabilmektedir. Bu bağlamda, afetten etkilenen tüm bireylerin, özellikle de bebekler, çocuklar, hamile ve emziren kadınlar ile yaşlılar gibi hassas grupların yeterli ve dengeli beslenmeye erişimi büyük önem taşımaktadır.

Dünya genelinde insanlık yararına faaliyet gösteren hayır kurumları, sivil toplum kuruluşları, yerel topluluklar ve hükümetler tarafından afet dönemlerinde çeşitli ürünlerle gıda yardımları sağlanmaktadır. Bu yardımlar arasında özellikle yetersiz beslenmeye mücadele amacıyla geliştirilen lipit bazlı besin takviyeleri (LNS) önemli bir yer tutmaktadır. Ancak, hâlihazırda

kullanılan acil durum gıdaları, uluslararası düzeyde ortak bir standarda sahip değildir. Bu eksikliğe yanıt olarak, Ulusal Bilim Akademileri Tıp Enstitüsü (IOM) tarafından görevlendirilen bir komite tarafından standart Acil Durum Gıda Ürünü (EFP) raporu hazırlanmıştır. Bu raporun temel amacı, olası afet ve acil durumlarda, etkilenen bireylerin en az 15 gün süreyle tüketebileceği, yeterli enerji ve dengeli besin öğeleri içeren, uzun raf ömrüne sahip ve tek rasyon kaynağı olabilecek bir ürün standardı oluşturmaktır.

Bu çalışmada, acil durum gıdası geliştiren araştırmaların sistematik bir incelemesi amaçlanmıştır. Web of Science veri tabanında “*emergency food**” anahtar sözcüğüyle gerçekleştirilen tarama sonucunda, 13 çalışmanın standart Acil Durum Gıdası (EFP) raporunun temel alınarak hazırlandığı tespit edilmiştir. İncelenen bu çalışmaların büyük çoğunluğunda, geliştirilen ürünlerin ilgili ülkenin yerel hammaddelerine dayandığı görülmektedir. Bu durum, yerel kaynakların etkin kullanımı açısından olumlu olmakla birlikte, ürünlerin evrensel ölçekte kullanılabilirliğini sınırlayabilmektedir. Gelecek çalışmalarda, özellikle bebekler, çocuklar, yaşlılar, hamile ve emziren kadınlar gibi hassas grupların özel beslenme gereksinimlerinin dikkate alınması büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda, gluten, laktoz ve histamin intoleransı gibi yaygın besin intoleranslarına uygun, alerjen içermeyen acil durum gıdalarının geliştirilmesi, afet anlarında toplumun tüm kesimlerinin gıda güvencesinin sağlanmasına katkı sağlayacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

YAZARLARIN KATKISI

Yazarlar çalışmanın her aşamasında katkıda bulunmuştur.

KAYNAKLAR

AFAD (2018). Türkiye’de afet yönetimi ve doğa kaynaklı afet istatistikleri. Disaster management and natural disaster statistics in Turkey.

- https://www.afad.gov.tr/kurumlar/afad.gov.tr/35429/xfiles/Turkiye_de_Afetler.pdf
- Afifah, D. N., Ayustaningwarno, F., Rahmawati, A., Cantikatmaka, D. N., Wigati, N., Noer, E. R., Widyastuti, N., Wijayanti, H. S., Sugianto, D. N., Ningrum, Y. P. A. (2023). Characteristics of wood apple (*Limonia acidissima* L.) and soybean powder jelly for emergency food alternatives. *Scientific Reports*, 13(1), 15161.
- Afifah, D. N., Ningrum, Y. P. A., Syahidah, T., Nuryanto, N., Ayustaningwarno, F., Sugianto, D. N. (2022). Nutrient content, organoleptic quality, and shelf life of sagon substitute from lindur (*bruguiera gymnorhiza* L.) and soybean flour (*glycine max* L.), as an alternative emergency food. *Frontiers in Nutrition*, 9, 878539.
- Ahmed, T., Choudhury, N., Hossain, M. I., Tansuphoom, N., Islam, M. M., De Pee, S., Steiger, G., Fuli, R., Sarker, S. A. M., Parveen, M., West, K. P., Christian, P. (2014). Development and acceptability testing of ready-to-use supplementary food made from locally available food ingredients in Bangladesh. *BMC Pediatrics*, 14(1), 164. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-14-164>
- Ainehvand, S., Raeissi, P., Ravaghi, H., Maleki, M. (2019). The characteristic features of emergency food in national level natural disaster response programs: A qualitative study. *Journal of Education and Health Promotion*, 8(1), 58.
- Aini, N., Prihananto, V., Wijonarko, G., Sustriawan, B., Dinayati, M., Aprianti, F. (2018). Formulation and characterization of emergency food based on instan corn flour supplemented by instan tempeh (or soybean) flour. *International Food Research Journal*, 25(1). [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(01\)%202018/\(38\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(01)%202018/(38).pdf)
- Aldemir, T. (2023). Doğal afetler sonrası afetzedelerin beslenmesi: 2023 Kahramanmaraş depremi örneği. *Avrasya Sosyal ve Ekonomi Araştırmaları Dergisi*, 10(4), 686-701.
- Alp, D., Bulantekin, Ö. (2021). The microbiological quality of various foods dried by applying different drying methods: A review. *European Food Research and Technology*, 247(6), 1333-1343. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03731-z>
- Anandito, R. B. K., Kurniawan, S. R., Nurhartadi, E. (2018). Formulation of emergency food in biscuit-form made from proso millet flour (*Panicum miliaceum*) and snakehead fish (*Channa striata*)-tempeh flour koya. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 116(1), 012015. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/116/1/012015/meta>
- Anandito, R. B. K., Siswanti, S., Nurhartadi, E., Hapsari, R. (2016). Formulasi pangan darurat berbentuk food bars berbasis tepung millet putih (*Panicum milliaceum* L.) dan tepung kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.). *AgriTech*, 36(1), 23-29.
- Arimond, M., Zeilani, M., Jungjohann, S., Brown, K. H., Ashorn, P., Allen, L. H., Dewey, K. G. (2015). Considerations in developing lipid-based nutrient supplements for prevention of undernutrition: Experience from the International Lipid-Based Nutrient Supplements (iLiNS) Project. *Maternal & Child Nutrition*, 11, 31-61. <https://doi.org/10.1111/mcn.12049>
- Atasoy, Z. B. K., Kurt, S. C., Beckerman-Hsu, J., Soyunen, S., Kalyoncu, M. F., Kaptanoglu, A. (2024). Evaluation of the emergency nutrition response in Malatya after Türkiye-Syria earthquake. *British Journal of Nutrition*, 131(7), 1244-1258.
- Aycan, S., Toprak, İ., Yüksel, B., Özer, H., Çakır, B. (2002). Afet durumlarında beslenme hizmetleri. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü.
- Bahwere, P. (2014). Severe Acute Malnutrition during Emergencies: Burden, Management, and Gaps. *Food and Nutrition Bulletin*, 35(2_suppl1), S47-S51. <https://doi.org/10.1177/15648265140352S107>
- Ballester, J., Quijal-Zamorano, M., Méndez Turrubiates, R. F., Pegenaute, F., Herrmann, F. R., Robine, J. M., Basagaña, X., Tonne, C., Antó, J. M., Achebak, H. (2023). Heat-related mortality in Europe during the summer of 2022. *Nature Medicine*, 29(7), 1857-1866.

- Barka, A. (1999). The 17 August 1999 Izmit Earthquake. *Science*, 285(5435), 1858-1859. <https://doi.org/10.1126/science.285.5435.1858>
- Bounie, D., Arcot, J., Cole, M., Egal, F., Juliano, P., Mejia, C., Rosa, D., Sellaheva, J. (2020). The role of food science and technology in humanitarian response. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 367-375.
- Bridha, R. L., Putri, D. P., Priatini, W., Sabila, S. S., Tsaniah, I., Insani, H. M. (2024). Banana blossom as a local resource-based emergency food innovation fusion food product. E3S Web of Conferences, 600, 01004.
- Brisske, L. K., Lee, S. -Y., Klein, B. P., Cadwallader, K. R. (2004). Development of a prototype high-energy, nutrient-dense food product for emergency relief. *Journal of Food Science*, 69(9). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09950.x>
- Brunkard, J., Namulanda, G., Ratard, R. (2008). Hurricane katrina deaths, louisiana, 2005. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness*, 2(4), 215-223.
- Burns, N., Grove, S. K. (2010). Understanding nursing research-eBook: Building an evidence-based practice. Elsevier Health Sciences.
- Canti, M., Hadi, T. C., Lestari, D. (2021). Instant noodles from pumpkin (*Cucurbita moschata* D.) and anchovy flour (*Stolephorus commersini*) as an alternative emergency food. *Jurnal Gizi Pangan*, 16(1), 37-44.
- Carrera-Rivera, A., Ochoa, W., Larrinaga, F., Lasa, G. (2022). How-to conduct a systematic literature review: A quick guide for computer science research. *MethodsX*, 9, 101895.
- Chaparro, C. M., Dewey, K. G. (2010). Use of lipid-based nutrient supplements (LNS) to improve the nutrient adequacy of general food distribution rations for vulnerable sub-groups in emergency settings. *Maternal & Child Nutrition*, 6(1), 1-69. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8709.2009.00224.x>
- Cinar, E., Trott, P., Simms, C. (2019). A systematic review of barriers to public sector innovation process. *Public Management Review*, 21(2), 264-290. <https://doi.org/10.1080/14719037.2018.1473477>
- Colón-Ramos, U., Roess, A. A., Robien, K., Marghella, P. D., Waldman, R. J., Merrigan, K. A. (2019). Foods distributed during federal disaster relief response in Puerto Rico after Hurricane María did not fully meet federal nutrition recommendations. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 119(11), 1903-1915.
- Çakmak, H., Ocaktan, M. E., Akdur, R. (2018). Doğal afetler, eşitsizlikler ve sağlık sonuçları. A. Akın (Ed.), *Eşitsizlikler ve sağlık sonuçları* içinde (ss. 88-94). Türkiye Klinikleri, Ankara.
- Darniadi, S., Adiandri, R. S., Hidayah, N. (2012, September). *Optimizing formula of composite flour-based snack bar for emergency food product (EFP)*. In *II Asia Pacific Symposium on Postharvest Research Education and Extension: APS2012* 1011, 251-258. International Society for Horticultural Science. https://www.actahort.org/books/1011/1011_3_0.htm
- Delimont, N. M., Fiorentino, N. M., Opoku-Acheampong, A. B., Joseph, M. V., Guo, Q., Alavi, S., Lindshield, B. L. (2017). Newly formulated, protein quality-enhanced, extruded sorghum-, cowpea-, corn-, soya-, sugar-and oil-containing fortified-blended foods lead to adequate vitamin A and iron outcomes and improved growth compared with non-extruded CSB+ in rats. *Journal of Nutritional Science*, 6, e18.
- De-Regil, L. M., Suchdev, P. S., Vist, G. E., Waller, S., Peña-Rosas, J. P. (2013). Home fortification of foods with multiple micronutrient powders for health and nutrition in children under two years of age (Review). *Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal*, 8(1), 112-201. <https://doi.org/10.1002/ebch.1895>
- Dilawari, R., Kaur, N., Priyadarshi, N., Prakash, I., Patra, A., Mehta, S., Singh, B., Jain, P., Islam, M. A. (2022). Soybean: A Key Player for Global Food Security. S. H. Wani, N. U. R. Sofi, M. A. Bhat, F. Lin (Ed.), *Soybean Improvement* içinde (ss. 1-46). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-12232-3_1

- Duclercq, M.-P. (2014, December). *Production of ready-to-use food (RUF): An overview of the steps and challenges involved in the "local" production of RUF* [Teknik Özet]. CMAM Forum. <https://cmamforum.org/Pool/Resources/Local-production-RUF-Overview-steps-and-challenges-Dec-2014.pdf>
- EM-DAT (2023). 2023 Disasters in numbers. The International Disaster Database. https://files.emdat.be/reports/2023_EMDAT_report.pdf
- Fatmah, F. (2024). Mangrove sword bean food bar as the emergency food product for children under the age of five due to landslides. *IDRiM Journal*, 14(1), 197-211. <https://doi.org/10.5595/001c.116627>
- Fatmah, F., Utomo, S. W., Lestari, F. (2021). Broccoli-soybean-mangrove food bar as an emergency food for older people during natural disaster. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(7), 3686.
- Fu, Y., Wang, J., Huang, S., Duan, F. (2024). High oxygen barrier property of polyethylene composite films with bilayer polyvinyl alcohol coating for emergency foods in high-humidity environments. *Journal of Applied Polymer Science*, 141(16), e55251. <https://doi.org/10.1002/app.55251>
- Getahun, A. (1974). The role of wild plants in the native diet in Ethiopia. *Agro-Ecosystems*, 1, 45-56.
- Ghorbani, E., Dabbagh Moghaddam, A., Sharifan, A., Kiani, H. (2021). Emergency food product packaging by pectin-based antimicrobial coatings functionalized by pomegranate Peel extracts. *Journal of Food Quality*, 2021(1), 6631021.
- Gough, D., Thomas, J., Oliver, S. (2012). Clarifying differences between review designs and methods. *Systematic Reviews*, 1(1), 28. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-1-28>
- Gribble, K. (2018). Supporting the Most Vulnerable Through Appropriate Infant and Young Child Feeding in Emergencies. *Journal of Human Lactation*, 34(1), 40-46. <https://doi.org/10.1177/0890334417741469>
- Hadi, S., Amani, R., Tehrani, M. M., Hadi, V., Hejri, S., Askari, G. (2022). Ready-to-use therapeutic food (RUTF) formulations with functional food and nutrient density for the treatment of malnutrition in crisis. *International Journal of Preventive Medicine*, 13(1), 16.
- Hadi, V., Norouzy, A., Tehrani, M. M., Nematy, M., Hadi, S. (2018). Properties of compact food bars: A review study. *Journal of Nutrition, Fasting & Health*, 6(3).
- Hadiningsih, N., Nuraeni, I., Listianasari, Y. (2023). Formulation of emergency food bars made from cassava flour and red bean flour. *Jurnal Gizi Dan Pangan*, 18(Supp. 1), 84-86.
- Han, J., Ruiz-Garcia, L., Qian, J., Yang, X. (2018). Food Packaging: A comprehensive review and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 860-877. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12343>
- Hasan, N. W., Putri, T. P. (2020). Preparation of cookies from banana flour, soy flour, and Moringa leaf flour as an emergency food product. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 486(1), 012059. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/486/1/012059/meta>
- Hasbullah, H., Rasulu, H., Albaar, N., Mansour, N. A. A. (2020). The use of fishing tuna flour fortification modified tapioca starch in emergency food product. H. Rasulu, B. T. W. Putra, A. S. Nurdin (Eds.), *Proceedings of the 5th International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources (FANRES 2019)* içinde (ss. 251-253). Advances in Engineering Research.
- Hayat, I., Ahmad, A., Rafique, N., Rafiq, S., Bashir, S., Ijaz, R., Qayyum, S. (2022). Quality attributes of cookies enriched with functional protein isolate from red kidney beans. *Czech Journal of Food Sciences*, 40(5), 367-374. <https://doi.org/10.17221/243/2021-CJFS>
- Hayati, H. D., Wulandari, E., Andoyo, R. (2020). Optimization of biscuit formula based on denaturated whey protein concentrate and sweet potato flour in some protein and mineral concentrations. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 443(1), 012068.

- <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/443/1/012068/meta>
- Hayudanti, D., Ethisari, R. K., Alistina, A. D., Laili, R. D. (2022). Management of pregnant women's nutrition in disaster emergencies in indonesia: A systematic review. *International Journal of Advancement in Life Sciences Research*, 19-26.
- Hettiarachchy, N., Kalapathy, U. (1997). Soybean protein products. K. Liu (Ed.), *Soybeans* içinde (ss. 379-411). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1763-4_8
- Hossain, A. (2018). Quality assessment of high energy biscuits (HEB) products in bangladesh in the framework of process capability analysis. *International Journal of Modern Computation, Information and Communication Technology*, 69-82.
- Hussain, E., Kalaycıoğlu, S., Milliner, C. W., Çakir, Z. (2023). Preconditioning the 2023 Kahramanmaraş (Türkiye) earthquake disaster. *Nature Reviews Earth & Environment*, 4(5), 287-289.
- Huybregts, L., Houngbé, F., Salpéteur, C., Brown, R., Roberfroid, D., Ait-Aissa, M., Kolsteren, P. (2012). The effect of adding ready-to-use supplementary food to a general food distribution on child nutritional status and morbidity: a cluster-randomized controlled trial. *PLoS Medicine*, 9(9), e1001313. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001313>
- Islam, M. S., Muhyidiyn, I., Islam, M. R., Hasan, M. K., Hafeez, A. G., Hosen, M. M., Saneoka, H., Ueda, A., Liu, L., Naz, M. (2022). Soybean and sustainable agriculture for food security. T. Ohyama, Y. Takahashi, N. Ohtake, T. Sato, S. Tanabata (Ed.), *Soybean - recent advances in research and applications* içinde. IntechOpen. <https://www.intechopen.com/chapters/81069>
- Jeambey, Z., Johns, T., Talhouk, S., Batal, M. (2009). Perceived health and medicinal properties of six species of wild edible plants in north-east Lebanon. *Public Health Nutrition*, 12(10), 1902-1911.
- Joseph, M., Guo, Q., Lindshield, B., Adedeji, A. A., Alavi, S. (2025). Characterization of extruded sorghum-soy blends to develop pre-cooked and nutritionally dense fortified blended foods. *Foods*, 14(5), 779.
- Kaçar, H. K., Kaçar, Ö. F., Kose, T., Avery, A. (2024). The food and nutritional insecurity experienced by pregnant women living in shelters following the 2023 earthquakes in Türkiye. *International Journal of Disaster Risk Reduction*, 114, 104987.
- Kampstra, N. A., Van Hoan, N., Koenders, D. J. P. C., Schoop, R., Broersen, B. C., Mouquet-Rivier, C., Traoré, T., Bruins, M. J., De Pee, S. (2018). Energy and nutrient intake increased by 47–67% when amylase was added to fortified blended foods-A study among 12- to 35-month-old Burkinabe children. *Maternal & Child Nutrition*, 14(1), e12459. <https://doi.org/10.1111/mcn.12459>
- Kathiresan, K., Rajendran, N. (2005). Coastal mangrove forests mitigated tsunami. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 65(3), 601-606.
- Khairunnisa, S., Andoyo, R., Marta, H., Saripudin, G. L. U. (2018). Process optimization of emergency food originated from denatured whey protein concentrate and dried sweet potato puree. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 157(1), 012032. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/157/1/012032/meta>
- Kirsch, T. D., Wadhwani, C., Sauer, L., Doocy, S., Catlett, C. (2012). Impact of the 2010 Pakistan floods on rural and urban populations at six months. *PLoS Currents*, 4, e4fdfb212d2432.
- LaGrone, L. N., Trehan, I., Meuli, G. J., Wang, R. J., Thakwalakwa, C., Maleta, K., Manary, M. J. (2012). A novel fortified blended flour, corn-soy blend 'plus-plus,' is not inferior to lipid-based ready-to-use supplementary foods for the treatment of moderate acute malnutrition in Malawian children. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(1), 212-219.
- Levkoe, C. Z., Strutt, C. (2024). Creating a municipal-level emergency food plan: Lessons from Thunder Bay, Ontario. *Journal of Agriculture, Food Systems, and Community Development*, 13(4), 19-34. <https://doi.org/10.5304/jafscd.2024.134.016>

- Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P. C., Ioannidis, J. P., Clarke, M., Devereaux, P. J., Kleijnen, J., Moher, D. (2009). The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: Explanation and elaboration. *Bmj*, 339. <https://www.bmj.com/content/339/bmj.b2700.abstract>
- Lieber, M., Chin-Hong, P., Kelly, K., Dandu, M., Weiser, S. D. (2022). A systematic review and meta-analysis assessing the impact of droughts, flooding, and climate variability on malnutrition. *Global Public Health*, 17(1), 68-82. <https://doi.org/10.1080/17441692.2020.1860247>
- Liu, X., Zhou, P., Tran, A., Labuza, T. P. (2009). Effects of polyols on the stability of whey proteins in intermediate-moisture food model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2339-2345. <https://doi.org/10.1021/jf802789y>
- Mahendradatta, M., Laga, A., Nurhisna, N. I. U. (2020). Study of snack bar combination of banana flour (*Musa paradisiaca*) and mung bean blending as emergency food. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 486(1), 012054. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/486/1/012054/meta>
- Manary, M. J. (2006). Local production and provision of ready-to-use therapeutic food (RUTF) spread for the treatment of severe childhood malnutrition. *Food and Nutrition Bulletin*, 27(3 Suppl), S83-S89. <https://doi.org/10.1177/15648265060273S305>
- McGuire, S. (2015). FAO, IFAD, and WFP. The state of food insecurity in the world 2015: Meeting the 2015 international hunger targets: taking stock of uneven progress. Rome: FAO, 2015. *Advances in Nutrition*, 6(5), 623-624.
- Mengesha, A., Hailu, S., Birhane, M., Belay, M. M. (2021). The prevalence of stunting and associated factors among children under five years of age in southern Ethiopia: Community based cross-sectional study. *Annals of Global Health*, 87(1), 111.
- Mohammadian, M., Dabbagh Moghaddam, A., Almasi, L., Bohlooli, S., Sharifan, A. (2021). The enrichment of emergency food rations with complexes made of curcumin/queretin-whey protein nanofibrils to improve their antioxidant activity. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*, 4(1), 63-68.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *Bmj*, 339. <https://www.bmj.com/content/339/bmj.b2535.short>
- Morganstein, J. C., Ursano, R. J. (2020). Ecological disasters and mental health: Causes, consequences, and interventions. *Frontiers in Psychiatry*, 11, 1.
- Niroula, A. (2019). Preparation and shelf life study of high energy biscuits [Doktora Tezi]. <http://202.45.146.37:8080/jspui/handle/123456789/108>
- Nurhayati, N., Alfian, A. R. (2017). Quality characteristics of natural edamame jam without preservative ingredient as supplementary of emergency food. *Advanced Science Letters*, 23(12), 11793-11796.
- Nurhayati, N., Maryanto, M., Gandaningarum, L. (2018). Sensory and chemical characteristics of bar cookies made from mung bean flour and ripe plantain var Raja as emergency food. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 41(3), 1413-1422. <http://www.pertanika.upm.edu.my/>
- Öztürk, İ., Koçak, Ç. (2017). Türk Kızılayı afetlerde beslenme kılavuzu. Ankara: Türk Kızılayı.
- Pati, D., Lorusso, L. N. (2018). How to Write a Systematic Review of the Literature. *HERD: Health Environments Research & Design Journal*, 11(1), 15-30. <https://doi.org/10.1177/1937586717747384>
- Pradipta, D. R. E., Andoyo, R. (2020). Optimization formulation of high protein biscuit made from denaturated whey protein concentrate and sweet potato flour supplemented with mineral as emergency food. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 443(1), 012066. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/443/1/012066/meta>

- Prance, G. T. (2007). Ethnobotany, the science of survival: A declaration from Kaua'i. *Economic Botany*, 61(1), 1-2. <https://doi.org/10.1007/BF02862367>
- Redzic, S. (2010). Wild medicinal plants and their usage in traditional human therapy (Southern Bosnia and Herzegovina, W. Balkan). *J Med Plants Res*, 4(11), 1003-1027.
- Redžić, S., Ferrier, J. (2014). The Use of Wild Plants for Human Nutrition During a War: Eastern Bosnia (Western Balkans). A. Pieroni, C. L. Quave (Ed.), *Ethnobotany and biocultural diversities in the Balkans* içinde (ss. 149-182). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1492-0_9
- Reggi, D., Alessio, G., Ndereyimana, A., Minuti, A., Spigno, G., Bertoni, G. (2024). Ready-to-use supplementary-food biscuit production with low-cost ingredients for malnourished children in Sub-Saharan Africa. *Foods*, 13(11), 1614. <https://doi.org/10.3390/foods13111614>
- Regier, G. K., Lindshield, B. L., Lilja, N. K. (2019). Nutrient Cost-Effectiveness of Fortified Blended Food Aid Products. *Food and Nutrition Bulletin*, 40(3), 326-339. <https://doi.org/10.1177/0379572119846331>
- Resti, N., Ayustaningwarno, F., Nuryanto, N., Chasanah, E., Purwani, E. Y., Zhu, F., Sudarmawan, I., Afifah, D. N. (2024). Physicochemical quality of dry noodles from maize flour and fish protein hydrolyzate (Mizepi) as a potential emergency food. *Food Production, Processing and Nutrition*, 6(1), 92. <https://doi.org/10.1186/s43014-024-00266-0>
- Ritchie, H., Rosado, P. Roser, M. (2022). How many people die from disasters, and how are these impacts changing over time? Our world in data. <https://ourworldindata.org/natural-disasters>
- Salam, R. A., MacPhail, C., Das, J. K., Bhutta, Z. A. (2013). Effectiveness of Micronutrient Powders (MNP) in women and children. *BMC Public Health*, 13(S3), S22. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-S3-S22>
- Santini, A., Novellino, E., Armini, V., Ritieni, A. (2013). State of the art of Ready-to-Use Therapeutic Food: A tool for nutraceuticals addition to foodstuff. *Food Chemistry*, 140(4), 843-849.
- Schofield, E. C., Mason, J. B. (1996). Setting and evaluating the energy content of emergency rations. *Disasters*, 20(3), 248-260. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7717.1996.tb01037.x>
- Shalihah, A. N., Andoyo, R., Wulandari, E. (2020). Optimation of microorganism level of semi-solid emergency food based on denatured whey protein concentrate (WPC) with different mineral concentration and sterilization levels. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 443(1), 012069. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/443/1/012069>
- Sheibani, E., Dabbagh Moghaddam, A., Sharifan, A., Afshari, Z. (2018). Linear programming: An alternative approach for developing formulations for emergency food products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1444-1452. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8612>
- Singh, S. N. (2010). Nutrition in emergencies: Issues involved in ensuring proper nutrition in post-chemical, biological, radiological, and nuclear disaster. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2(3), 248-252.
- Siva, N., Anderson, C. T. (2023). Assessing lignocellulosic biomass as a source of emergency foods. *Current Research in Food Science*, 7, 100586.
- Snilstveit, B., Oliver, S., Vojtkova, M. (2012). Narrative approaches to systematic review and synthesis of evidence for international development policy and practice. *Journal of Development Effectiveness*, 4(3), 409-429. <https://doi.org/10.1080/19439342.2012.710641>
- Sulaiman, N., Verner, V., Polesny, Z. (2023). Socioeconomic dimensions of wild food plant use during the conflict in Syria. *Economic Botany*, 77(3), 267-281. <https://doi.org/10.1007/s12231-023-09579-6>
- Sumarto, S., Radiati, A., Aprianty, D., Nuraeni, I., Karimah, I. (2023). Development of emergency food products from various flour of cereals, tubers, pulses, and local freshwater fish from

- Indonesia. *Asian Journal of Engineering, Social and Health*, 2(3), 171-187.
- Sunyoto, M., Andoyo, R., Masitoh, E. (2019). Characteristics of high protein snack bar made of modified sweet potato flour. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 347(1), 012064. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/347/1/012064/meta>
- Vorstenbosch, T., De Zwarte, I., Duistermaat, L., Van Andel, T. (2017). Famine food of vegetal origin consumed in the Netherlands during World War II. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0190-7>
- Wagh, V. D., Deore, B. R. (2015). Ready to use therapeutic food (RUTF): An overview. *Advances in Life Sciences and Health*, 2(1), 1-15.
- Walsh, M. (2009). The use of wild and cultivated plants as famine foods on Pemba Island, Zanzibar. *Études Océan Indien*, 42-43, 217-241.
- Williamson, E. J., Walker, A. J., Bhaskaran, K., Bacon, S., Bates, C., Morton, C. E., Curtis, H. J., Mehrkar, A., Evans, D., Inglesby, P. (2020). OpenSAFELY: Factors associated with COVID-19 death in 17 million patients. *Nature*, 584(7821), 430.
- Yanti, Violina, V., Putri, C. E., Lay, B. W. (2023). Branched chain amino acid content and antioxidant activity of mung bean tempeh powder for developing oral nutrition supplements. *Foods*, 12(14), 2789. <https://doi.org/10.3390/foods12142789>
- Yaşar, K., Çiftçi, B. E. (2025). Disaster and emergency foods: Development and nutritional strategies. *Gıda Bilimi ve Mühendisliği Araştırmaları*, 4(1), 29-39.
- Yekta, R., Moghaddam, A. D., Hosseini, H., Sharifan, A., Hadi, S., Hosseini-Shokouh, S.-J. (2024). Effect of using biodegradable film constituting red grape anthocyanins as a novel packaging on the qualitative attributes of emergency food bars during storage. *Food Science & Nutrition*, 12(4), 2702-2723. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3951>
- Yılmaz, A. (2012). Türkiye’de afetlerde karşılaşılan sorunlar. *Manas Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 1(1), 61-81.
- Yu, D., Liu, J., Ju, B., Chen, Y., Sun, H. (2025). Fabrication and characterization of algal oil-loaded Pickering emulsion gels stabilized by whey protein isolate/starch complex as an emergency food. *International Journal of Biological Macromolecules*, 309, 142782.
- Zoumas, B. L., Armstrong, L. E., Backstrand, J. E., Chenoweth, W. E., Chinachoti, P., Klein, B. P., Lane, H. W., Marsh, K. S., Tolvanen, M. (2002). *High-energy, nutrient-dense emergency relief food product*. Washington, DC: Academy Press.

KURUTULMUŞ KARADUT (*MORUS NIGRA*) VE ŞIRASININ BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ, FENOLİK PROFİLİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI*

Memnune ŞENGÜL¹, Oğuzhan YAVAŞ^{2}, İsa Arslan KARAKÜTÜK³**

¹Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

²Erzurum Büyükşehir Belediyesi, Esker A.Ş., Erzurum, Türkiye

³Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Geliş /Received 30.06.2025; Kabul /Accepted: 03.11.2025; Online baskı /Published online: 20.11.2025

Şengül M., Yavaş, O., Karakütük, İ. A. (2025). Kurutulmuş karadut (*Morus nigra*) ve şirasının bazı fizikokimyasal özellikleri, fenolik profili, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin karşılaştırılması. GIDA (2025) 50 (6) 1137-1150 doi: 10.15237/ gida.GD25082

Şengül M., Yavaş, O., Karakütük, İ. A. (2025). Comparison of some physicochemical properties, phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity of dried black mulberry (*Morus nigra*) and its syrup. GIDA (2025) 50 (6) 1137-1150 doi: 10.15237/ gida.GD25082

ÖZ

Bu çalışmada kurutulmuş karadut ve ondan üretilen şıranın bazı fizikokimyasal özellikleri, toplam fenolik ve toplam antosiyanin madde miktarı, fenolik profili, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Renk parametrelerinden L* (açıklık-koyuluk) değerinin, şırada meyveden daha yüksek (18.24-12.21) olduğu belirlenmişken, a* (kırmızı-yeşil) (0.72-1.64), b* (sarı- mavi) (1.72-3.96), C* (renk doygunluğu) (1.87-4.30) değerlerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca şıranın toplam kül, pH, toplam fenolik madde miktarı ile DPPH· ve ABTS+· yöntemleriyle belirlenen antioksidan aktivitesinin kurutulmuş karadut meyvesinden daha yüksek, fakat titrasyon asitliği, indirgen şeker, sakkaroz, toplam şeker, 5-hidroksimetilfurfural (HMF) ve toplam antosiyanin miktarlarının ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak elde edilen şıranın düşük şeker içeriği, yüksek fenolik madde ve antioksidan aktivite göstermesi nedeniyle fonksiyonel bir gıda olarak tüketilebilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, fenolik profil, karadut (*Morus nigra*), şıra

COMPARISON OF SOME PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES, PHENOLIC PROFILE, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF DRIED BLACK MULBERRY (*MORUS NIGRA*) AND ITS SYRUP

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine some physicochemical properties of the dried black mulberry and the syrup produced from it, as well as to evaluate their total phenolic and anthocyanin contents, phenolic profiles, antioxidant and antimicrobial activities. While the L* (lightness-darkness) value from the color parameters was determined to be higher in syrup than in fruit (18.24-12.21), the a*

* Bu çalışma, Oğuzhan Yavaş'ın Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde kabul edilen yüksek lisans tezinin bir kısmıdır / This paper is a part of Oğuzhan Yavaş's MS thesis accepted at Atatürk University.

**Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: oguzhanyavas91@gmail.com

☎: (+90) 531 369 3437

Memnune Şengül; ORCID no: 0000-0003-3909-2523

Oğuzhan Yavaş; ORCID no: 0000-0003-1578-6328

İsa Arslan Karakütük; ORCID no: 0000-0002-0317-2882

(red-green) (0.72-1.64), b* (yellow-blue) (1.72-3.96), C* (color saturation) (1.87-4.30) values were determined to be lower. Also it was determined that the total ash, pH, total phenolic content and antioxidant activity determined by DPPH• and ABTS+• methods of the syrup were higher than those of dried black mulberry, but the titratable acidity, reducing sugar, sucrose, total sugar, 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and total anthocyanin amounts were lower. As a result, the syrup obtained can be consumed as a functional food due to its low sugar content, high phenolic content and antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant activity, antimicrobial activity, phenolic profile, black mulberry (*Morus nigra*), syrup

GİRİŞ

Üzümsü meyvelerden biri olan dut meyvesi farklı iklim, sıcaklık ve toprak şartlarına adaptasyon kabiliyeti yüksek tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yetişen meyvesinden ve yaprağından yararlanılabilen 73 cinsi ve 100 kadar türü olan bir meyvedir (Erdoğan ve Pırlak, 2005). Halk arasında karadut olarak bilinen *Morus* cinsinin *Moraceae* ailesinin bir üyesi olan karadut (*Morus nigra*) ise ülkemizde yetiştirilen sulu ve yumuşak bir meyvedir (Koyuncu, 2004; Özgen et al., 2009). Anavatanı Çin, Japonya ve Hindistan olan karadut, Akdeniz ülkeleri, ABD, Rusya, Suudi Arabistan ve Asya ülkelerinde de yetiştirilme şartları bulmuştur (Sernikli ve Kadakal, 2020). Karadutun meyvesinden, yaprağından ve ağacından faydalanılabilmektedir. Bazı bölgelerde geçim kaynağı olarak görülen ipek böcekçiliği için yetiştirilen karadut ülkemizde ise daha çok meyvesi için yetiştirilmektedir (Ercisli, 2004). Biyoaktif bileşenlerden olan fenolik maddelerce zengin olması ve iyi bir antioksidan kaynağı olmasının yanı sıra günlük alınması gereken C vitaminini yeterli düzeyde içermesi, organik asit, vitamin ve minerallerce de zengin olması karadutun önemini artırmıştır (Hepsağ et al., 2012). Karadutun, serinletici ve iştah artırıcı özelliğinin yanı sıra ateş ve kan basıncını düşürücü, balgam söktürücü ve kan şekerini düşürücü etki gösterdiği ayrıca antosiyanin bakımından zengin bir meyve olduğu için kalp-damar hastalıkları ve sindirim sistemi kanser tiplerinde de koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır (Chen et al., 2006; Gungor ve Sengul, 2008; Sernikli, 2015).

Karadutun kısa sürede bozulması ve yumuşak bir tekstüre sahip olmasından ötürü hasadı, taşınması ve pazarlanmasında zorluklar ortaya çıkmaktadır. Raf ömrü çok kısa olan karadut konsantre,

pekmez, marmelat, reçel ve şurup gibi ürünlere işlenerek; dondurularak dondurma, reçel, meyve suyu, meyveli yoğurt üretiminde kullanılarak daha fazla endüstriyel ürünlerde değerlendirilme imkânı bulmaktadır (Erdoğan ve Pırlak, 2005; Özgen et al., 2009).

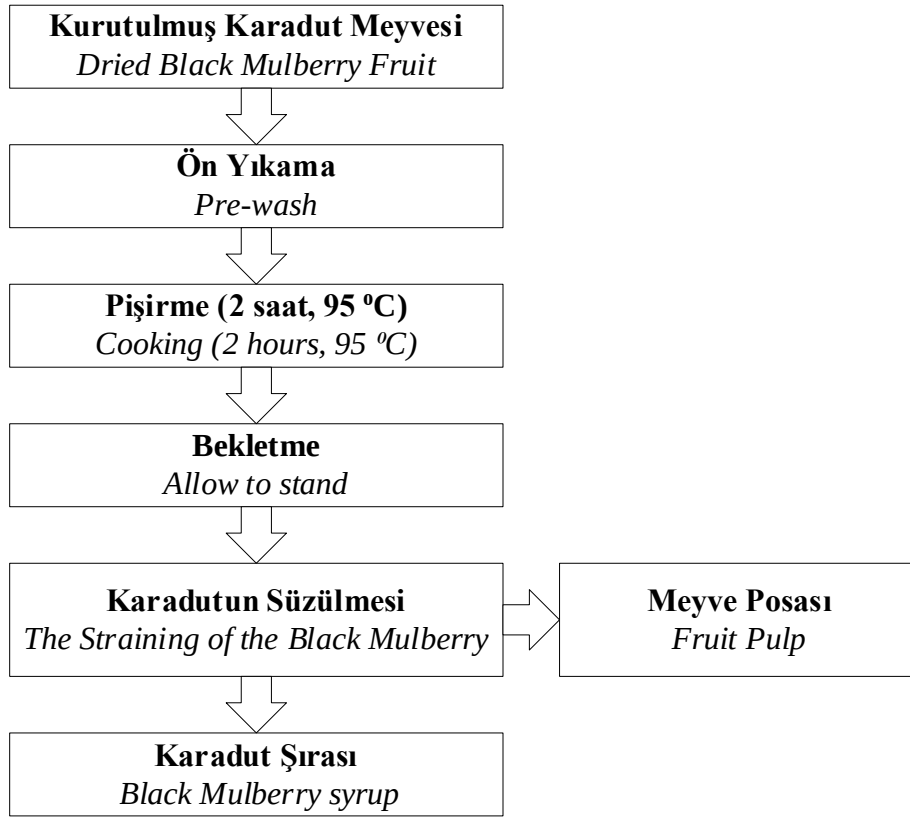
Kuru ve sofralık değerlendirilen dutların dışında kalanların ürüne dönüştürülmesi için sırası alınmalıdır. Meyvelere bazı işlemler uygulanarak sıra üretilmektedir. Şıra, fermentasyon sürecinden geçmesi ve tatlandırıcı eklenmemesinden dolayı şurup ve şerbetten farklı bir içecektir. Yapılan bu çalışmada da kurutulmuş karadutun ve bu meyveden elde edilen şıranın bazı fizikokimyasal özellikleri, toplam fenolik ve antosiyanin madde miktarı, fenolik profili, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitesinde meydana gelen değişimlerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada Artvin ili Yusufeli ilçesi piyasasından temin edilen geleneksel yöntemlerle kurutulmuş kara dut kullanılmıştır. Geleneksel yöntemle kurutma işlemi, dut üreticisi tarafından kara dutun temiz bir bez üzerine serilerek, 3-7 gün süreyle güneşte kurutulmasıyla gerçekleştirilmiştir. Şıra, kuru dutlar kullanılarak Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Meyve ve Sebze İşleme Laboratuvarı'nda üretilmiştir.

Karadut şırası üretimi

Çelik tencereye kuru karadut ve su (2 L su/1 kg kuru dut) konularak 95 °C'de 2 saat pişirilmiştir. Ardından pişirilmiş dutlar, oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra bez torbalara konulup preslenerek karadut şırası elde edilmiştir. Şekil 1'de karadut şırası üretim akış şeması verilmiştir.



Şekil 1. Karadut şırası üretim akış şeması (Boranbayeva et al., 2014)

Figure 1. Black mulberry syrup production flow chart

Fizikokimyasal analizler

Kurutulmuş karadut ve şıra örneklerinde pH, titrasyon asitliği, kül, suda çözünür kuru madde (SÇKM), volumetrik Lane-Eynon metodu ile sakkaroz, indirgen şeker ve toplam şeker miktarı, spektrofotometrik yöntemle 5- hidroksi metil furfural (HMF) miktarı (Cemeroğlu, 2013), kolorimetre (Chroma Meter, CR- 200, Japan) ile L*, a*, b* değerleri belirlenmiş ve bu değerler kullanılarak C* ve H° değerleri hesaplanmıştır (Ercisli et al., 2011; Turfan, 2008; Zor ve Şengül, 2020).

Toplam antosiyanin tayini için ekstraksiyon hazırlanması

Toplam antosiyanin tayini ekstraksiyonu için Wrolstad (1993)'ın uyguladığı pH diferansiyel yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Plastik tüplere kurutulmuş karaduttan 12.5 g, şıradan 12.5 ml aktararak üzerleri asitlendirilmiş metanol ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda (HI 190M, HANNA) tüpler 3 dakika

karıştırıldıktan sonra soğutmalı santrifüjde (Hettich Mikro 22 R, Germany) 15 dakika 6000 rpm'de 4 °C'de santrifüj edilmiştir. Örneklerde renk açılması son bulana kadar bu işlem tekrarlanmış ve ardından adi filtre kağıdıyla süzölmüştür. Ekstraktlar analiz edilinceye kadar - 20 °C'de muhafaza edilmişlerdir.

Toplam antosiyanin tayini

Ekstraktlardan 1 ml alınarak potasyum klorür (pH 1.0) ve ardından sodyum asetat (pH 4.5) tamponlarıyla karıştırılarak 50 ml'ye tamamlanıp 30 dakika bekletildikten sonra 515 nm ve 700 nm'de UV-Vis (PG Instruments, TV60) spektrofotometrede absorbsanları ölçölmüştür. Sonuçlar mg/L olarak belirtilmiş ve antosiyanin miktarı aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2011).

$$A = A_{515} - A_{700} \text{ pH (1.0)} - (A_{515} - A_{700}) \text{ pH (4.5)}$$

$$\text{Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı (mg/L)} = \frac{A \times MA \times SF \times 1000}{\epsilon \times L}$$

Formülde; A= Absorbans Farkı, MA= Molekül ağırlığı, SF= Seyreltme faktörü, ϵ = Molar absorbans ve L = Okuma küvetinin tabaka kalınlığı (L= 1 cm) ifade etmektedir.

Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde tayini için ekstrakt hazırlanması

Ekstraksiyon için kuru dut örneğinden 25 gr, sıradan 25 ml alınarak üzerlerine %90'lık etanol-su (90:10) 75 ml ilave edilip Orbital karıştırıcıda (Orbital Shaker SSL1, UK) 6 saat 210 rpm'de karıştırılmıştır. Ardından Whatman No: 1 filtre kağıdından süzülen karışımda bulunan etanol rotary vakum evaporatör (Heidolph Laborota 4000 Efficient, Germany) yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra kalan kısım tüplere alınarak saf suyla 25 ml'ye tamamlanmıştır. Ekstraktlar -20 °C'de analizler yapılincaya kadar muhafaza edilmişlerdir (Sengül et al., 2012).

Toplam fenolik madde tayini

Ekstrakttan 10 ml alınarak üzerine %90 etanol-su karışımından 10 ml eklendi ve orbital karıştırıcıda (Orbital Shaker SSL1, UK) 30 dakika karıştırılmıştır. Bu karışımdan 1 ml alınarak üzerine 46 ml saf su ve 1 ml Folin-Ciocalteu ilave edilerek 3 dakika bekletilmiştir. Ardından %2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 3 ml eklenerek 210 rpm'de 2 saat orbital karıştırıcıda (Orbital Shaker SSL1, UK) karıştırılmıştır. Örneklerin absorbans değerleri UV-Vis (PG Instruments, TV60) 760 nm dalga boyunda spektrofotometrede belirlenmiştir. Numunelerin fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (µg GAE/mg) cinsinden belirlenmiştir (Gülçin et al., 2002).

DPPH• yöntemiyle antioksidan aktivite tayini

Ekstraktlardan ayrı ayrı tüplere 10, 20 ve 30 µL alınarak her bir tüp etanolle toplamda 2000 µL'ye tamamlanmıştır. Ardından üzerlerine DPPH• radikalinden 500 µL eklenerek karanlık ortamda 30 dakika inkübasyona bırakılmışlardır. Örneklerin absorbansları bu sürenin sonunda spektrofotometrede 517 nm'de okunmuştur.

Antioksidan standart eğri grafiği için DPPH• radikalinden (100 µL - 1000 µL) tüplere alınmış ve üzerleri etanolle 2500 µL'ye tamamlanmıştır. Ardından tüpler 30 dakika oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletilmiş ve absorbans değerleri UV-Vis (PG Instruments, TV60) spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda okunmuştur. DPPH• inhibisyonu aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{DPPH}\cdot} - A_{\text{ÖRNEK}}}{A_{\text{DPPH}\cdot}} \times 100$$

Formülde; A_{ÖRNEK}: Örnek çözeltisinin absorbans değerini, A_{DPPH•}: DPPH• çözeltisinin absorbans değerini ifade etmektedir.

Antioksidanların farklı konsantrasyonlarına karşı hesaplanan %inhibisyon değerleri ile %50 inhibisyonuna sebep olan konsantrasyonu saptanmış ve sonuçlar IC₅₀ (µg/ml) olarak belirtilmiştir (Huang et al., 2005).

ABTS+• yöntemiyle antioksidan aktivite tayini

ABTS+• yöntemiyle antioksidan aktivite Köksal et al. (2009)'a göre belirlenmiştir. Tüplere kuru karadut ve sıra ekstraktlarından 10-20-30 µl eklenerek etanol ile her bir tüp 1500 µl'ye tamamlanmış daha sonra ABTS+• radikal çözeltisinden tüplere 0.5'er ml aktarılacak yarım saat karanlık bir ortamda inkübe edilmiştir. Etanol kör olarak kullanılmış ve absorbanslar 734 nm'de belirlenmiştir. Kontrol: 0.5 ml ABTS+• 1.5 ml etanolden oluşturulmuştur. Standart antioksidanlarla (BHA, BHT, troloks ve α-tokoferol) örnekler karşılaştırılmıştır. Ölçülen absorbans değerleri ile %inhibisyon aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır (Kaur and Kapoor, 2002).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{ABTS}+\cdot} - A_{\text{ÖRNEK}}}{A_{\text{ABTS}+\cdot}} \times 100$$

Formülde; A_{ÖRNEK}= Örneğin absorbans değerini, A_{ABTS+•} = ABTS+• çözeltisinin absorbans değerini ifade etmektedir.

Fenolik madde profili ve antimikrobiyel aktivite analizi için ekstrakt hazırlanması

Fenolik madde profili için ekstraksiyon işlemi Coklar and Akbulut (2017)'a göre gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş karaduttan 5 g, sıradan 5 ml alınarak üzerlerine %80'lik metanol-su (80:20) karışımından 25 ml eklenip orbital karıştırıcıda (Orbital Shaker SSL1, UK) 2 saat karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler 4 °C'de 10 dakika 5180 rpm'de soğutmalı santrifüjde (Hettich Mikro 22 R, Germany) santrifüjleme işlemine tabi tutulduktan sonra Whatman No:1 filtre kâğıdıyla süzümüştür. Bu işleme örnekler renksizleşinceye kadar devam edilmiştir. Elde edilen süzüntü içindeki metanol rotary vakum evaporatör (Heidolph Laborota 4000 Efficient, Germany) ile uzaklaştırıldıktan sonra ekstraktlar -20 °C'de analiz yapılana kadar muhafaza edilmişlerdir.

HPLC ile fenolik madde profili analizi

Bu analiz için sep-pak C₁₈ kartuş ve vakum manifold (Supelco) kullanılmıştır. Manifold vasıtasıyla kartuştan sırasıyla metanol (5 ml), HCl 0.01 N (5 ml), ekstrakt (1 ml) ve 0.01 N HCl (1 ml) geçirildikten sonra 5'er ml metanol 2 defa geçirilerek balona aktarılmıştır. Daha sonra metanol, 35 °C ve 85 rpm'de rotary vakum evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Son durumda balona 250 µl metanol iki kez eklenerek, 0.45 µm membran filtrelerden geçirilmiş ve 1 ml'lik HPLC viallerine alınarak HPLC cihazına yerleştirilmiştir. Ters faz C₁₈ kolonu (5 µm parça iriliği, 250 x 4.6 mm) kullanılmıştır (Coklar ve Akbulut, 2017).

Antimikrobiyel aktivite tayini

Antimikrobiyel aktivite analizinde test edilen mikroorganizmalar, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiş ve kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak sonuçlar belirlenmiştir (Altundağ, 2007). Bakteriler, mayalar ve küfler için hazırlanan süspansiyonlardan her birinden 100'er µL alınarak; bakteriler için Nutrient Agar, mayalar ve küfler için ise Potato Dextrose Agar besiyerlerinin yüzeyine steril drigalski spatülleri yardımıyla homojen şekilde yayılmıştır. Ardından, ekstraktlar

ve antibiyotiklerin uygulanabilmesi amacıyla, petriler üzerinde birbirine eşit uzaklıkta ve 5 mm çapında olacak şekilde toplam sekiz adet kuyucuk açılmıştır. Ortadaki kuyucuklara pozitif kontrol olarak bakterilerde Ofloxacin, mayalar ve küflerde ise Amphotericin B'den 20 µL; negatif kontrol olarak DMSO'dan 20 µL eklenmiştir. Diğer kuyucuklara ise hazırlanmış ekstrakt örneklerinden 20'şer µL yerleştirilmiştir.

Analizde örneklerin antimikrobiyel aktiviteleri *Saccharomyces cerevisiae* (BC 6541), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Aspergillus niger* (ATCC 16888), *Candida albicans* (ATCC 1223), *Escherichia coli* (BC 1402), *Bacillus cereus* (ATCC 33019), *Penicillium roqueforti* (BC 111), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)'a karşı test edilmiştir.

Araştırmada test edilen mikroorganizmaların tanısı (Bergey, 1994), Klasik Tanımlama Testleri ve Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi ile doğrulanmıştır.

İstatistiksel analizler

Araştırmada 2 örnekte (kurutulmuş karadut ve sıra) analizler 3 paralelli olarak tam şansa bağlı deneme planına göre gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları IBM SPSS Statistics 22 paket programı kullanılarak gruplar arasındaki farklılığı belirlemek için t testi kullanılmıştır. Değişkenler arasında Pearson korelasyon analizi uygulanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Fizikokimyasal özellikler

Kurutulmuş karadut ve sıranın bazı fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Araştırmada, örnek çeşidinin L*, a*, b*, C* değerlerinde istatistiki olarak çok önemli seviyede etkili olduğu tespit edilmiştir (p<0.01). Karadutta L* değeri 12.21, sırada ise 18.24 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Meyvenin işlenmesi sırasında su ilavesinin, L* değerinde artış meydana getirdiği yani rengin açılmasına sebep olduğu düşünülmektedir. CIE (L*a*b*) uluslararası renk tanımlama sistemine göre L* değeri (0 -koyu ve 100 -parlak, açık) parlaklık derecesini göstermektedir (Özen, 2008; Polatoğlu, 2013). Kurutulmuş karadut ve sırada L* değerinin sıfıra

yakın olması bu ürünlerin koyu renkte olduğunu göstermektedir. Erbay (2011), yaptığı çalışmada L* değerini ham sırada pastörize edilmiş şıraya göre daha düşük olarak belirlemiştir. (Dincer et al., 2016), ise L* değerini şıraya 17.51 olarak belirlemişken farklı yöntemler kullanarak elde ettiği karadut konsantrlerinde ise L* değerini 17.57 ve 17.60 olarak belirlemişlerdir. Çapanoğlu

ve Boyacıoğlu (2009), meyve ve ürünlerinin bileşiminin iklim koşullarından, ürüne işleme sırasında uygulanan ısı işlem ve süresinden, depolama süresi ve ortam sıcaklığından ve ışık gibi faktörlerden etkilendiğini belirtmişlerdir. Yaptığımız araştırma sonuçları ile önceki araştırma sonuçları benzerlik göstermektedir.

Çizelge 1. Kurutulmuş karadutun ve şırasının bazı fizikokimyasal özellikleri
Table 1. Some physicochemical properties of dried black mulberry and its syrup

Özellikler Features	N	Ürün Çeşitleri Product Types		Önem Seviyesi Significance Level
		Kurutulmuş Karadut Dried Black Mulberry	Şıra Syrup	
L*	3	12.21±1.13 ^b	18.24±0.5 ^a	**
a*	3	+1.64±0.34 ^a	+0.72±0.01 ^b	**
b*	3	+3.96±0.29 ^a	+1.72±0.08 ^b	**
C*	3	4.30±0.15 ^a	1.87±0.08 ^b	**
H ^o	3	67.40±0.15 ^a	67.21±0.15 ^a	ns
Suda çözünür kuru madde (%) Water-soluble dry matter (%)		-	19.90	-
Kül (%) Ash (%)	3	4.39±0.15 ^a	4.96±0.15 ^a	ns
pH	3	5.47±0.18 ^b	5.78±0.03 ^a	**
Titrasyon asitliği (%) Titratable acidity (%)	3	1.30±0.09 ^a	0.24±0.00 ^b	**
İndirgen şeker (g/100g) Reducing sugar (g/100g)	3	83.40±0.95 ^a	12.93±0.39 ^b	**
Sakkaroz (g/100g) Sucrose (g/100g)	3	4.01±0.96 ^a	0.97±0.24 ^b	**
Toplam şeker (g/100g) Total sugar (g/100g)	3	87.41±2.47 ^a	13.90±0.18 ^b	**
HMF (mg/kg)	3	1.50±1.05 ^a	1.31±0.89 ^a	ns

Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı satırdaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır.

Means with the different letter within a row are significantly different

*p<0.05 düzeyinde önemli, **p<0.01 düzeyinde çok önemli, ns: önemsiz

*p<0.05 level is significant, **p<0.01 level is highly significant, ns: not significant

Şıranın a* değeri +0.72, kurutulmuş karadutun ise +1.64 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Bu duruma uygulanan ısı işlem ve diğer faktörlerin etkisiyle meyveye rengini veren antosiyaninlerin parçalanmasının sebep olduğu düşünülmektedir. Isıl işlem gören gıdalarda a* değerinde meydana gelen azalmalara, uygulanan sıcaklığın derecesi ve süresinin, ortamdaki oksijenin varlığının ve ışık gibi faktörlerin neden olduğu belirtilmiştir (Cavalcanti et al., 2011; Kalt, 2005; Perucka and

Materska, 2007; Sernikli, 2015). Dincer et al. (2016), şıraya a* değerini + 0.17 olarak belirlemişlerken; karadut konsantrisinde bu değer azaldığını tespit etmişlerdir. Erceyes (2014), vişne suyu konsantrisi üretimi sırasında a* değerinde azalma olduğunu belirlemiştir. Uzuner (2008), nar suyuna ısı işlem uygulandığında a* değerinde azalma meydana geldiğini tespit etmiştir. Örneklerin b* değeri şıraya +1.72, meyvede +3.96 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Benzer şekilde önceki çalışmalarda da Erceyes (2014), vişne suyu konsantresi üretiminde; Uzuner (2008), nar suyunun pastörizasyonunda b* değerinde azalma olduğunu saptamışlardır.

C* değerinin sırada (1.87) meyveden (4.30) daha düşük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). C* değeri renk düzleminin 0 noktasında rengin matlığını ifade ederken, bu noktadan uzaklaştıkça ise rengin parlaklığının arttığını ifade etmektedir (Özen, 2008). Şıra üretimi sonucunda C* değerinde a* ve b* değerlerindeki azalmalara paralel olarak düşüş gerçekleşmiş olup, bu azalma rengin matlaştığını göstermektedir. Erbay (2011), karadut ham suyuna pastörizasyon uygulanması ile, Erceyes (2014), vişne suyunun konsantreye işlenmesiyle C* değerlerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Sonuçlar, yaptığımız çalışmanın literatür ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Örneklerde H° değerinin 67.21-67.40 arasında değiştiği, sırada meyveye göre azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1 incelendiğinde kurutulmuş karadut ve sıranın sırasıyla pH değeri 5.47-5.78, titrasyon asitliği ise %1.30-0.24 olarak belirlenmiş, sıranın titrasyon asitliğinin meyveden daha düşük ve pH değerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu duruma şıra üretimi sırasında ortama ilave edilen suyun nispi bir azalma meydana getirerek sebep olduğu düşünülmektedir. Daha önceki çalışmalarda Erbay (2011), sıranın karadut konsantresine işlenmesiyle pH değerinin azaldığını saptamıştır. Dincer et al. (2016), sırada pH değerini 3.74, farklı yöntemlerle üretilen karadut konsantresinde ise 3.63 ve 3.73 olarak tespit ederken, Boranbayeva (2011), sırada 3.91 olarak tespit ettiği pH değerinin konsantrede 3.29'a düştüğünü belirlemiştir. Örneklerin indirgen şeker miktarları meyvede 83.40 g/100g, sırada 12.93 g/100g olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Üretim sırasında su ilavesi nedeniyle kuru meyveye göre sıranın indirgen şeker içeriği azalmıştır. İndirgen şekerler diğer taraftan da şıra üretimi sırasında gerçekleşen Maillard reaksiyonuna katılmaktadırlar. Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarından olan Maillard reaksiyonu, gıdalardaki indirgen şekerler

ile serbest aminoasitlerin, proteinlerin ya da peptitlerin serbest amino grupları arasında oluşmaktadır (Yıldız et al., 2010).

Kurutulmuş karadutta sakkaroz miktarının 4.01 g/100g, sırada 0.97 g/100g olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Şıra üretilirken ortama su ilave edilmesiyle ve ısı uygulamasıyla gerçekleşen inversiyon sebebiyle sırada sakkaroz miktarında azalma olduğu düşünülmektedir. Şekerli gıdaların üretimi esnasında sakkaroz miktarı ortamın sıcaklığına ve asitliğine bağlı olarak inversiyona uğramakta ve azalmaktadır (Karataş and Şengül, 2018). Araştırmada toplam şeker miktarı kurutulmuş karadutta (87.41 g/100g) sıradan (13.90 g/100g) daha yüksek olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Kurutulmuş karaduttan şıra elde edilirken sakkaroz ve indirgen şeker miktarında meydana gelen azalmaya bağlı olarak toplam şeker miktarında da azalma meydana gelmiştir.

Örneklerin HMF miktarı kurutulmuş karadutta ve sırada sırasıyla 1.50 mg/kg ve 1.31 mg/L olarak tespit edilmiş olup, sırada HMF miktarının daha düşük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Boranbayeva (2011), HMF miktarını sırada 45.70 mg/L, karadut konsantresinde 93.22 mg/kg olarak saptamıştır. Hepsağ et al. (2016), yaptıkları çalışmada farklı tür dut örneklerinde HMF değerlerinin 6,77- 36,15 aralığında olduğunu tespit etmişlerdir.

Toplam antosiyanin, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite

Kurutulmuş karadutun ve sırasının toplam fenolik madde ve toplam antosiyanin miktarları ve antioksidan aktivitesi Çizelge 2'de verilmiştir.

Toplam antosiyanin miktarının meyveye göre (165.60 mg/L) sırada (162.54 mg/L) azaldığı ancak bu farklılığın istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$). Toplam antosiyanin miktarındaki bu azalmanın, uygulanan ısıl işleme ve pH değerindeki değişimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Gıdalardaki antosiyaninlerin miktarının, gıdanın kimyasal bileşimi, sıcaklık, şekerlerin varlığı, oksijen, pH, askorbik asit, ışık, kopigmentler, ekstraksiyon işlemlerindeki farklılıklar ve ekstraksiyon etkinliği

gibi faktörlerden etkilendiği belirtilmiştir (Cavalcanti et al., 2011; Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2009; Erbay, 2011; Sernikli, 2015).

Çizelge 2. Kurutulmuş karadutun ve şırasının toplam fenolik madde ve toplam antosiyanin miktarları
Table 2. Total phenolic content and total anthocyanin amounts of dried black mulberry and its syrup

Özellikler Features	N	Ürün Çeşitleri Product Types		Standart Antioksidanlar Standard Antioxidants		Önem Seviyesi Importance Level
		Kurutulmuş Karadut Dried Black Mulberry	Şıra Syrup	Troloks	α-Tokoferol	
Toplam antosiyanin (mg/L) Total anthocyanin (mg/L)	3	165.60±0.23 ^a	162.54±0.14 ^a	-	-	ns
Toplam fenolik madde (µg GAE/mg) Total phenolic content (µg GAE/mg)	3	281.99±2.62 ^b	754.02±33.72 ^a	-	-	**
DPPH· IC ₅₀ (µg/ml)	3	22.35±0.35 ^a	17.61±1.66 ^b	9.35	12.96	**
ABTS+· IC ₅₀ (µg/ml)	3	8.94±0.35 ^a	8.08±0.027 ^a	7.78	7.81	ns

Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı satırdaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır

Means with the different letter within a row are significantly different

*p<0.05 düzeyinde önemli, **p<0.01 düzeyinde çok önemli, ns: önemsiz

*p<0.05 level is significance, **p<0.01 level is highly significance, ns: not significance

Yapılan çalışmada toplam fenolik madde miktarı kurutulmuş karadutta ve şırasında sırasıyla 281.99-754.02 µg GAE/mg olarak belirlenmiştir. Şırada toplam fenolik madde miktarı meyveden daha yüksek olarak saptanmıştır (Çizelge 2). Fenolik madde miktarında tespit edilen artışın şıra üretimi sırasında uygulanan ısı işlem ile parçalanmış hücre duvarından ortama fenolik maddelerin daha iyi geçişinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Lo Scalzo et al. (2004) ve Hartmann et al. (2008), ısı işlem uygulamaları sonucunda toplam fenolik madde miktarında görülen değişimin; hücre duvarının parçalanması sonucunda fenolik bileşiklerin ortaya çıkışından, proses sırasında uygulanan ısı işlemin etkisi ile suda çözünebilen fenolik bileşiklerin ortaya çıkışından, indirgen şekerler ve serbest halde bulunan amino asitler arasında Maillard reaksiyonu sonucu oluşan bileşiklerden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Gecer et al. (2016), toplam fenolik madde miktarının meyvenin olgunluk durumuna, hasat dönemine, depolama koşullarına ve tüketim öncesi ısı işlem uygulamalarına (pişirme) gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini bildirmişlerdir. Boranbayeva (2011), şıraya ısı işlem uygulayarak elde ettiği karadut konsantresinde toplam fenolik madde miktarının yükseldiğini saptamıştır.

Örneklerin antioksidan aktivitesi DPPH· ve ABTS+· yöntemleriyle belirlenmiş ve IC₅₀ değeri (radikalin %50'sinin inhibisyonunu sağlayan miktar) ile hesaplanmıştır. IC₅₀ değeri ile antioksidan aktivite ters orantılıdır (Cemeroğlu, 2010). DPPH· radikal giderme aktivitesi IC₅₀ değeri 17.61 µg/ml (şıra)- 22.35 µg/ml (kurutulmuş karadut) olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Antioksidan aktivitede meydana gelen

artışa ısı işlem sonucu oluşan Maillard reaksiyon ürünlerinin antioksidan etki göstermeleri, düşük molekül ağırlıklı fenolik bileşiklerin serbest kalarak antioksidan aktivite göstermeleri, meyvenin suyunun çıkması sırasında antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin çözünürlüklerinin artmasının neden olduğu düşünülebilir. Yıldız et al. (2010), Maillard reaksiyonu ürünlerinin antioksidan özellikler bakımından faydalı etkilerinin olduğunu saptamışlardır. Baltacıoğlu ve Doğanay (2021), yaptıkları çalışmada ısı işlemi antioksidan aktivitede artış meydana getirdiğini belirtmişlerdir. ABTS+• yöntemiyle belirlenen IC₅₀ değeri 8.08 µg/ml (şıra), 8.94 µg/ml

(kurutulmuş karadut) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Kurutulmuş karadutun ve şıranın antioksidan aktiviteleri Troloks ve α-Tokoferol'e göre daha düşük olarak tespit edilmiştir. Meyvenin işlenmesiyle antioksidan aktivite de artmıştır. Bu artışa, ısı işlemin etkisiyle Maillard reaksiyonu ürünlerinin oluşumunun veya polimerizasyon reaksiyonlarının antioksidan özellikte bileşikler oluşturmalarının sebep olabileceği düşünülmektedir (Tomaş, 2013).

Kurutulmuş karadutun ve şıranın fenolik madde profilleri Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Kurutulmuş karadutun ve şırasının fenolik madde profili
Table 3. Phenolic content profile of dried black mulberry and its syrup

Fenolik Maddeler (µg/ml) Phenolic Compounds (µg/ml)	Örnek Çeşidi Sample Type	
	Kurutulmuş Karadut Dried Black Mulberry	Şıra Syrup
Resveratrol	Te	Te
Kamferol-3- glikozit	Te	Te
Kuersetin	Te	Te
Klorojenik asit	49.9	Te

Te: Tespit edilemedi
nd: not detected

Çalışmada üzüm sü meyvelerde yüksek miktarda bulunan ve fenolik bileşiklerden olan resveratrol ile kamferol-3- glikozit, kuersetin ve klorojenik asitin kurutulmuş karadut ve şıradaki miktarlarının varlığı analiz edilmiştir. Kurutulmuş karadut ve şıradaki standart olarak kullanılan fenolik profillerden resveratrol, kamferol-3- glikozit, kuersetin tespit edilememiştir. Klorojenik asit ise karadutta 49.8 µg/ml olarak belirlenmiş, şıradaki ise belirlenememiştir. Klorojenik asit miktarını karadut örneklerinde Gundogdu et al. (2011), 3.11 mg/g, Gundogdu et al. (2018), 53.13 mg/100g, olarak belirlemişlerdir. Tomaş (2013), şıra ve karadut reçelinde klorojenik asit miktarını sırasıyla 84.9 mg/100g ve 8.5 mg/100g olarak belirlemiştir. Isıl işlem uygulanan ürünlerde uygulanan sıcaklık derecesi ve süresinin fenolik profili miktarında azalmaya sebep olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Sitotoksik özelliğinden dolayı klorojenik asit kolon, lösemi,

prostat ve meme kanseri gibi kanser türlerinde kanserli hücrelerin büyümesini önlemektedir (Naso et al., 2014).

Şekil 2'de Kurutulmuş karadutun klorojenik asit içeriğine ait HPLC kromatogramı verilmiştir.

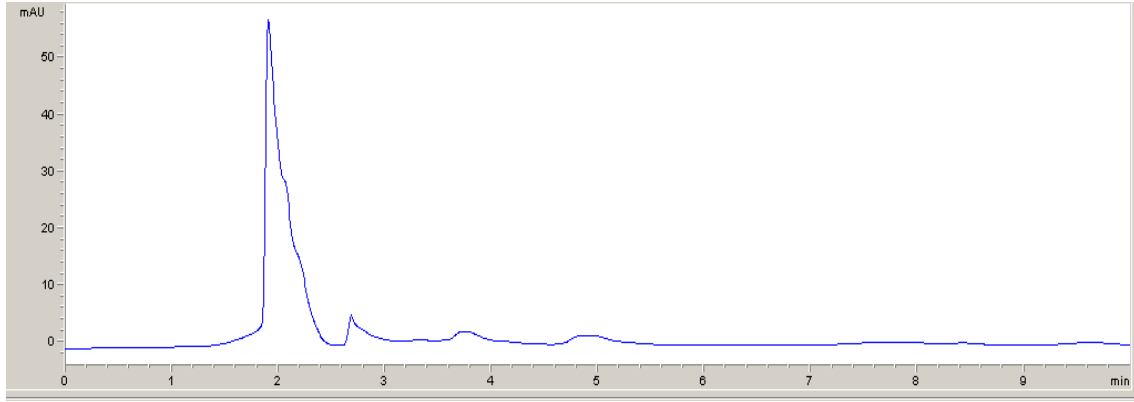
Antimikrobiyel Aktivite

Kurutulmuş karadutun ve şırasının antimikrobiyel aktivitesi Çizelge 4'te verilmiştir.

Yapılan araştırmada kurutulmuş karadutun ve şıranın test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4). Karadutta, kurutma ve depolama sırasında uygulanan sıcaklık, süre ve ışık gibi faktörlerin etkisiyle antimikrobiyel maddeler parçalanmış olabileceğinden dolayı test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite göstermediği düşünülmektedir. Bu durum, bir

gıdanın biyoaktif bileşenleri üzerine hammaddenin ve hammaddeye uygulanacak

işlemlerin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Akbal ve Vural, 2018).



Şekil 2. Kurutulmuş karadutun klorojenik asit içeriğine ait HPLC kromatogramı, 330 nm.

Figure 2. HPLC chromatogram of chlorogenic acid content of dried black mulberry, 330 nm.

Çizelge 4. Kurutulmuş karadut ve şırasının antimikrobiyel aktivitesi

Table 4. Antimicrobial activity of dried black mulberry and its syrup

Örnekler Samples	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Penicillium Rouqforti</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Saccharomyces cerevisia</i>
Kurutulmuş karadut Dried black mulberry	-	-	-	-	-	-	-	-
Şıra Syrup	-	-	-	-	-	-	-	-
Amphotericin B					-	2.5*	-	-
Ofloxacin	10*	20*	12*	20*				

(*): İnhibisyon zon çapı birimi (mm), (-): İnhibisyon zonu çapının olmadığını göstermektedir

(*): Inhibition zone diameter unit (mm), (-): It shows that the inhibition zone diameter is not

Amphotericin B; Maya ve Küfler için antibiyotik, Ofloxacin; Bakteriler için antibiyotik

Amphotericin B; antibiotics for yeast and molds, Ofloxacin; antibiotics for bacteria

Bilenler (2010), yaptığı bir araştırmada 100 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan karadut ekstraktının *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiğini belirlemiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Taze olarak tüketim süresi oldukça sınırlı olan karadutun hasat mevsimi dışında da tüketilebilmesi için, kurutulmakta ya da çeşitli yöntemlerle raf ömrü daha uzun olan pekmez, pestil, köme ve konsantre gibi ürünlere işlenmektedir. Bu araştırmada kurutulmuş karadut ile pekmez, pestil, köme üretiminde ara ürün olan şıranın bazı fizikokimyasal özellikleri ile biyoaktif

bileşikleri, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Uygulanan ısıl işleminden dolayı karadut sırasının L* değerinde meyveye göre artış meydana geldiği ve rengin açıldığı; a* ve b* değerlerinde ise azalma olduğu belirlenmiştir. Kurutulmuş karadutun ve sıranın antosiyanin içeriğinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, yapılan çalışmada sıranın fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin meyveden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu duruma ısıl işlem uygulaması sonucunda parçalanmış hücre duvarından ortama daha fazla miktarda biyoaktif bileşen geçişinin olması ve bu bileşenlerin antioksidan etki göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kurutulmuş karadutta 49.8 µg/ml klorojenik asit tespit edilirken sırada belirlenememiştir. Uygulanan ısıl işlem ve süresine bağlı olarak klorojenik asidin parçalandığı, ayrıca sıra üretiminde ilave edilen sudan dolayı seyreltik bir ortam oluşması nedeniyle sırada klorojenik asit tespit edilemediği düşünülmektedir. Klorojenik asit, kolon, meme ve prostat kanserlerinde kanser hücrelerinin büyümesini önlemektedir. Hem kurutulmuş karadutun hem de sıranın araştırmada test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir. Kısaca, karadutun kurutulması ve çeşitli yöntemlerle muhafazası veya farklı ürünlere işlenmesi sırasında biyoaktif bileşiklerin degradasyonunun ve renk kayıplarının en aza indirilmesi için biyoaktif bileşenlerin kayıpları minimize edilecek şekilde proses şartları oluşturularak karadutun ve ürünlerinin fonksiyonel özellikleri korunmalıdır. Sonuç olarak üretilen sırada kurutulmuş karadut meyvesine göre sakkaroz miktarının azalması, fenolik madde miktarının artış göstermiş olması, antioksidan aktivitede artış saptanması bu ürünün fonksiyonel bir içecek ve antioksidan aktiviteyi zenginleştirecek doğal bir gıda katkı maddesi olarak tüketilmesine imkân sunacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya 2019/7235 no'lu BAP projesi ile destek sağlayan Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz. Yazar İsa Arslan KARAKÜTÜK,

TÜBİTAK-BİDEB 2211-A Yurt İçi Doktora Burs Programı tarafından desteklenmektedir.

FİNANSMAN

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi [Proje kodu: 2019/7235] tarafından desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

YAZAR KATKILARI

Fikir- M.Ş., O.Y.; Denetleme- M.Ş.; Malzemeler- BAP; Şekillerin, Çizelgelerin Hazırlanması ve Düzenleme- İ.A.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- O.Y.; Analiz ve/veya yorum- O.Y., İ.A.K.; Literatür Taraması- O.Y.; Yazıyı Yazan- O.Y.; Eleştirel İnceleme- M.Ş.,

KAYNAKLAR

- Akbal, N., Vural, A. (2018). Kurutulmuş meyve örneklerinde mikrobiyolojik kalite özelliklerinin araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(2), 93-97.
- Altundağ, Ş. (2007). *Labiatae familyasına ait bazı endemik türlerin önemli bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyel etkisinin araştırılması* (Publication Number 212657) [Yüksek Lisans, Gazi Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Baltacıoğlu, H., Doğanay, G. (2021). ısıl işlemin elma suyunda enzim aktivitesi ve fenolik bileşiklere etkisi: FTIR ve HPLC çalışması. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 9(1), 14-26.
- Bergey, D. H. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Lippincott Williams ve Wilkins.
- Bilenler, T. (2010). *Karadut meyvesinin antimikrobiyel aktivitesinin ve bileşenlerinin belirlenmesi* (Publication Number 275754) [Yüksek Lisans, İnönü Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Boranbayeva, T. (2011). *Karadut suyunda biyoaktif bileşikler ve antioksidan aktivitenin depolamada değişimi* (Publication Number 299608) [Yüksek Lisans, Ankara Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

- Boranbayeva, T., Karadeniz, F., Yilmaz, E. (2014). Effect of storage on anthocyanin degradation in black mulberry juice and concentrates. *Food and Bioprocess Technology*, 7(7), 1894-1902. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1296-8>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.007>
- Cemeroğlu, B. S. (2010). Gıda Analizleri. Gıda Teknolojileri Derneği Yayınları.
- Cemeroğlu, B. S. (2011). *Meyve ve sebze işleme teknolojisi*. Nobel Akademik Yayıncılık.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.04.033>
- Coklar, H., Akbulut, M. (2017). Anthocyanins and phenolic compounds of berries and their contributions to antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 35, 166-174. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.037>
- Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D. (2009). Meyve ve sebzelerin flavonoid içeriği üzerine işlemenin etkisi. *Akademik Gıda*, 7(6), 41-46.
- Dincer, C., Tontul, I., Topuz, A. (2016). A comparative study of black mulberry juice concentrates by thermal evaporation and osmotic distillation as influenced by storage. *Innovative Food Science ve Emerging Technologies*, 38, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.012>
- Erbay, B. (2011). *Karadut antosiyaninlerinin ısl ve depolama stabilitesi* (Publication Number 295144) [Doktora, Süleyman Demirel Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Erceyes, E. (2014). *Vişne suyu konsantresinin üretim ve depolama süresince kalite değişimleri* (Publication Number 376097) [Yüksek Lisans, Gaziosmanpaşa Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Ercisli, S. (2004). A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51(4), 419-435. <https://doi.org/10.1023/B:GRES.0000023458.60138.79>
- Ercisli, S., Yilmaz, S. O., Gadze, J., Dzubur, A., Hadziabulic, S., Aliman, J. (2011). Some fruit characteristics of cornelian cherries (*Cornus mas* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 255-259. <https://doi.org/10.15835/nbha3915875>
- Erdoğan, Ü., Pırlak, L. (2005). Ülkemizde dut (*Morus spp.*) üretimi ve değerlendirilmesi. *Alatarm*, 4(2), 38-43.
- Gecer, M. K., Akin, M., Gundogdu, M., Eydurhan, S. P., Ercisli, S., Eydurhan, E. (2016). Organic acids, sugars, phenolic compounds, and some horticultural characteristics of black and white mulberry accessions from Eastern Anatolia. *Canadian Journal of Plant Science*, 96(1), 27-33. <https://doi.org/10.1139/cjps-2015-0070>
- Gundogdu, M., Muradoglu, F., Sensoy, R. I. G., Yilmaz, 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. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.09.035>
- Gundogdu, M., Tunçtürk, M., Berk, S., Sekeroglu, N., Gezici, S. (2018). Antioxidant capacity and bioactive contents of mulberry species from Eastern Anatolia Region of Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52(4), 96-101. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.4s.82>
- Gungor, N., Sengul, M. (2008). Antioxidant activity, total phenolic content and selected physicochemical properties of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Properties*, 11(1), 44-52. <https://doi.org/10.1080/10942910701558652>
- Gülçin, I., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. I., Aslan, A. (2002). Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L.) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 325-329.

[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00396-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00396-8)

Hartmann, A., Patz, C. D., Andlauer, W., Dietrich, H., Ludwig, M. (2008). Influence of processing on quality parameters of strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20), 9484-9489. <https://doi.org/10.1021/jf801555q>

Hepsağ, F., Hayoğlu, İ., Hepsağ, B. (2012). Karadut meyvesinin antosiyanin içeriği ve antosiyaninlerin gıda sanayinde renk maddesi olarak kullanım olanakları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 9-19.

Hepsağ, F., Gölge, Ö., Hayoğlu, İ. (2016). Dutların fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine genotipin etkisi. *Hacettepe J. Biol. ve Chem.*, 44 (3), 225-231.

Huang, D. J., Ou, B. X., Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70(1), 11-19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09053.x>

Karataş, N., Şengül, M. (2018). Effect of storage on some chemical and physical properties, antioxidant activity of mulberry pekmez. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 5(1), 34-43.

Kaur, C., Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(2), 153-161. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x>

Koyuncu, F. (2004). Morphological and agronomical characterization of native black mulberry (*Morus nigra* L.) in Sütçüler, Turkey. *International Plant Genetic Resources Institute*, 138, 32-35.

Köksal, E., Gülçin, I., Beyza, S., Sarıkaya, Ö., Bursal, E. (2009). In vitro antioxidant activity of silymarin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(2), 395-405. <https://doi.org/10.1080/14756360802188081>

Lo Scalzo, R., Iannocari, T., Summa, C., Morelli, R., Rapisarda, P. (2004). Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chemistry*, 85(1), 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.005>

Naso, L. G., Valcarcel, M., Roura-Ferrer, M., Kortazar, D., Salado, C., Lezama, L., Rojo, T., González-Baró, A. C., Williams, P. A. M., Ferrer, E. G. (2014). Promising antioxidant and anticancer (human breast cancer) oxidovanadium(IV) complex of chlorogenic acid. Synthesis, characterization and spectroscopic examination on the transport mechanism with bovine serum albumin. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 135, 86-99. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.02.013>

Özen, G. (2008). *Siyah havuç suyu konsantresinin Türk lokumunda renklendirici olarak kullanılması ve depolama stabilitesinin belirlenmesi* (Publication Number 178291) [Yüksek Lisans, Selçuk Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

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. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.08.007>

Perucka, I., Materska, M. (2007). Antioxidant vitamin contents of *Capsicum annum* fruit extracts as affected by processing and varietal factors. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(4), 67-73.

Polatoğlu, B. (2013). *Farklı yöntemler ile kurutulan kızzılçık (Corns mas L.) meyvesinin kuruma karakteristiklerinin incelenmesi* (Publication Number 335138) [Doktora, Atatürk Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Sengül, M., Erkaya, T., Sengül, M., Yıldız, H. (2012). The effect of adding sour cherry pulp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3), 429-436. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2012.00838.x>

Sernikli, C. (2015). *Karadut (Morus nigra) suyunda toplam fenolik madde ve suda çözünen vitaminlerin ısı parçalanma kinetiği* (Publication Number 409996) [Yüksek Lisans, Pamukkale Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Sernikli, C., Kadakal, Ç. (2020). Karadut (*Morus nigra*) suyunda rutin ve toplam fenolik bileşiklerin ısı parçalanma kinetiği. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(3), 290-300. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.687653>

Tomaş, M. (2013). *Karadutun meyve suyu ve reçele işlenmesi sırasında antioksidanlarında ve in-vitro biyoerişebilirliğinde meydana gelen değişimler* (Publication Number 352263) [Yüksek Lisans, İstanbul Teknik Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Turfan, Ö. (2008). *Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler* (Publication Number 233180) [Yüksek Lisans, Ankara Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Uzuner, S. (2008). *Nar suyunda farklı üretim ve depolama koşullarında ellajik asit ve toplam antioksidan aktivitelerindeki değişimler* (Publication Number 216152) [Yüksek Lisans, Hacettepe Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Wrolstad, R. E. (1993). Color and pigment analyses in fruit products.

Yıldız, O., Şahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö., Kolaylı, S. (2010). Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. *Akademik Gıda*, 8(6), 44-51.

Zor, M., Şengül, M. (2020). Ayva (*Cydonia oblonga* Miller) meyvesi ile farklı ambalaj ve sıcaklıklarda depolanan ayva reçelinin bazı fizikokimyasal özellikleri ile antioksidan aktivitesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 51(1), 97-108. <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.590938>

BAKTERİYOFAJ-PROBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ BAĞIRSAK MİKROBİYOTASINI MODÜLE ETMEDE TERAPÖTİK POTANSİYELİ

Gülbahar GÖNCÜ*, Nurhan ERTAŞ ONMAZ²

¹ Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

² Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Geliş / Received 17.07.2025; Kabul / Accepted 03.11.2025; Online baskı / Published online: 20.11.2025

Göncü, G., Ertaş Onmaz, N. (2025). Bakteriyo-faj–probiyotik kombinasyonlarının bağırsak mikrobiyotasını modüle etmede terapötik potansiyeli. GIDA (2025) 50 (6) 1151-1167 doi: 10.15237/gida.GD25092

Göncü, G., Ertaş Onmaz, N. (2025). Therapeutic potential of bacteriophage–probiotic combinations in modulating the gut microbiota. GIDA (2025) 50 (6) 1151-1167 doi: 10.15237/gida.GD25092

ÖZ

Bağırsak mikrobiyotası, insan sindirim sisteminde yer alan bakteri, virüs ve diğer mikroorganizmalardan oluşan dinamik bir ekosistemdir. Bu yapı, bireyler arasında ve zaman içinde değişiklik gösterebilir. Diyet, yaşam tarzı, çevresel etmenler ve ilaç kullanımı gibi faktörler mikrobiyotanın bileşimini etkileyebilir. Mikrobiyal dengenin bozulması (disbiyozis); obezite, diyabet, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve nörolojik bozukluklar gibi pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Mikrobiyotayı düzenlemede etkili olan probiyotikler; konağa fayda sağlayan, canlı, patojenik olmayan mikroorganizmalardır. Bakteriyo-fajlar ise bakterileri enfekte ederek çoğalan, seçici etki gösteren virüslerdir. Probiyotik ve faj kombinasyonları, mikrobiyotayı hedefe yönelik biçimde modüle ederek homeostazı destekleyebilir. Bu derlemenin amacı, probiyotik ve bakteriyo-fajların birlikte kullanımının mikrobiyota modülasyonundaki terapötik potansiyelini değerlendirmektir.

Anahtar kelimeler: mikrobiyota, faj, probiyotik, sinerji

THERAPEUTIC POTENTIAL OF BACTERIOPHAGE–PROBIOTIC COMBINATIONS IN MODULATING THE GUT MICROBIOTA

ABSTRACT

The intestinal microbiota is a dynamic ecosystem composed of bacteria, viruses, and other microorganisms located in the human digestive system. This structure may vary across individuals and over time. Factors such as diet, lifestyle, environmental influences, and medication use can affect the composition of the microbiota. Disruption of microbial balance (dysbiosis) has been associated with numerous diseases including obesity, diabetes, inflammatory bowel diseases, and neurological disorders. Probiotics, which are effective in regulating the microbiota, are live, non-pathogenic microorganisms that confer benefits to the host. Bacteriophages are selective viruses that replicate by infecting bacteria. Combinations of probiotics and phages can support homeostasis by modulating the microbiota in a targeted manner. The aim of this review is to evaluate the therapeutic potential of the combined use of probiotics and bacteriophages in microbiota modulation.

Keywords: microbiota, bacteriophage, probiotic, synergy

* Sorumlu Yazar / Corresponding author

✉: gulbahargoncu11@gmail.com

☎: (+90) 507 497 91 37

Gülbahar GÖNCÜ; ORCID no: 0000-0001-6982-1809

Nurhan ERTAŞ ONMAZ; ORCID no: 0000-0002-4679-6548

GİRİŞ

Bağırsak mikrobiyotası; insan gastrointestinal kanalında bulunan ve sindirim, bağışıklık ve metabolik süreçlerde rol oynayan mikroorganizmalardan oluşur. Mikrobiyotanın büyük kısmını bakteri türleri oluştururken, arkealar, mantarlar ve virüsler de bu yapıya dahildir. Özellikle bakteriyofajlar (fajlar), bağırsak viromunun önemli bir kısmını oluşturmakta ve mikrobiyal dengenin düzenlenmesinde kritik rol oynamaktadır (Shkoporov ve Hill, 2019).

Bağırsak mikrobiyotası, doğumdan itibaren şekillenmeye başlar. Vajinal doğumla dünyaya gelen ve anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsaklarında başta *Enterobacteriaceae* ve *Lactobacillaceae* türleri bulunurken, zamanla *Bifidobacteriaceae* ve *Clostridiaceae* grupları baskın hale gelir (Michel ve Blottière, 2022). Katı gıdalara geçişle birlikte çeşitlilik artar ve mikrobiyota, yetişkin kompozisyonuna benzer hale gelir (Russell vd., 2023). Yetişkinlikte mikrobiyota yapısı görece kararlı olsa da genetik yapı, beslenme tarzı, çevresel faktörler, sosyoekonomik durum, fiziksel aktivite, sigara ve alkol kullanımı, hastalıklar ve ilaçlar bu kompozisyonu etkileyebilir. Özellikle antibiyotikler, mikrobiyotayı bozan en güçlü faktörler arasında yer alır ve tedavi sonrası iyileşme bireyden bireye değişiklik gösterir (Barone vd., 2022; Martino vd., 2022). İleri yaşla birlikte mikrobiyota çeşitliliğinde azalma ve kompozisyon değişiklikleri gözlenir. *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Clostridium septum* ve *Roseburia* spp. gibi Firmicutes üyeleri azalırken, Proteobacteria grubundan Enterobacteriaceae artış gösterir. Bu değişiklikler, bağırsak geçirgenliğinin artmasına ve sistemik inflamasyona yol açabilir (Ghosh vd., 2022; Jang vd., 2024).

Bağırsak mikrobiyotası, çözünmez diyet posası ve sindirilemeyen polisakkaritleri fermente ederek kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) üretir. Bu metabolitler arasında asetat, propiyonat ve bütirat yer alır. Bütirat, kolonositlerin ana enerji kaynağıdır ve bağırsak epitel bütünlüğünü destekler (Fujisaka vd., 2023). Asetat ve propiyonat ise karaciğerde metabolik süreçlere katılarak glukoneogenez ve lipid regülasyonunda

rol oynar (Vernocchi vd., 2020). Düşük KZYA düzeylerinin inflamatuvar ve alerjik hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Mann vd., 2024).

Safra asitleri metabolizmasında da mikrobiyotanın rolü büyüktür. Enterohepatik dolaşımında safra asitlerinin yaklaşık %95'i geri emilir. Mikrobiyota, farnesoid X reseptörü (FXR) antagonistlerini metabolize ederek safra asidi sentezini düzenler; safra tuzu hidrolaz enzimi ile dekonjugasyonu katalize ederek geri emilimi etkiler (Li vd., 2023). Ayrıca, bağırsak mikrobiyotasının bazı üyeleri özellikle *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. gibi laktik asit üreten bakteriler B ve K grubu vitaminlerini de novo sentezleyebilir. Bu vitaminlerin %30'a yakınının konakçıya sağlanabileceği; fakat bu kapasitenin tür ve suş düzeyinde farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (Brauer-Nikonow ve Zimmermann, 2022; Tarracchini vd., 2024).

Probiyotikler, kolonizasyon, bakteriyosin üretimi, patojenlere karşı yüzey yarışması ve besin rekabeti gibi mekanizmalarla bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesinde görev alır (Yadav vd., 2022). Bu bakterilerin mide asidi ve safra tuzlarına karşı dayanıklı hale getirilmesi için mikrokapsülleme veya enterik kaplama teknikleri kullanılmaktadır (Vivek vd., 2023).

Bakteriyofajlar, bakterileri enfekte ederek çoğalan ve onları lizis yoluyla yok eden virüslerdir. İnsan bağırsak mikrobiyotasındaki fajların bileşimi (fajom), bakterilere kıyasla daha az bilinmekle birlikte, yeni nesil dizileme teknikleri ile bu alandaki bilgiler artmaktadır (Emencheta vd., 2023). Fajlar, konak bakterilerin popülasyonunu kontrol altına alarak doğrudan; bağışıklık sistemi ve metabolik yolları etkileyerek dolaylı yoldan mikrobiyotayı şekillendirebilir (Kirk vd., 2024).

Fajların seçici etki göstermesi ve hedef dışı türleri büyük ölçüde etkilememesi, onları özellikle antibiyotik direnci gelişmiş patojenlerin tedavisinde değerli kılmaktadır. Ancak bu etki çift yönlüdür; bazı fajlar yararlı bakterileri hedef alarak disbiyozise neden olabilir. Bu nedenle, terapötik yaklaşımlarda dikkatli kullanım ve daha fazla

bilimsel çalışma gereklidir (El Haddad vd., 2022; Zhang vd., 2023; Yu vd., 2024).

Bu derlemede, mikrobiyota dengesinin korunması ve disbiyozise bağlı hastalıkların önlenmesinde probiyotik ve bakteriyofajların kombine kullanımının terapötik potansiyeli mevcut literatür ışığında değerlendirilmiştir.

BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ İŞLEVLERİ

Besin Metabolizması

Bağırsak mikrobiyotası, çözünmeyen diyet posası ve sindirilemeyen polisakkaritleri *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., Enterobacteriaceae, *Roseburia* spp. ve *Faecalibacterium* spp. katkısıyla fermente ederek KZYA üretir (Ma ve Lee, 2025). Bu metabolitler başlıca asetat, propiyonat ve bütiratır. Bütirat, kolon epitel hücreleri (kolonositler) için temel enerji kaynağıdır. Aynı zamanda bağırsak ortamında anaerobiyozu destekler, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama (PPAR γ) aktivasyonu ve mitokondriyal β -oksidasyon yoluyla epitel hücrelerinde hipoksi sağlar, böylece lümen oksijen geçişini engeller. En yüksek konsantrasyona sahip olan asetat, portal ven yoluyla karaciğere taşınarak burada oksitlenir. Propiyonat ise karaciğerde glukoneogeneze katılır. Asetat ve propiyonat bağırsak homeostazının sağlanmasında görev alır; bağırsak bariyer bütünlüğünü destekler ve patojenlere karşı savunmayı güçlendirir (Vernocchi vd., 2020; Fujisaka vd., 2023). KZYA'ların ayrıca toksik madde birikimini önleyici, lipid ve protein metabolizmasını düzenleyici etkileri olduğu da bildirilmektedir (Emencheta vd., 2023).

KZYA düzeylerinin azalması, inflamatuvar ve alerjik hastalıklara yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir. Posa içeriği yüksek Akdeniz diyeti, KZYA üretimini artırırken; batı tarzı diyet, antibiyotikler ve viral enfeksiyonlar bu üretimi azaltır (Mann vd., 2024). Mikrobiyota, safra asidi metabolizmasında da etkilidir. Enterohepatik dolaşımında safra asitlerinin %95'i apikal sodyum bağımlı safra asidi taşıyıcısı (ASBT) aracılığıyla geri emilerek karaciğere döner. Mikrobiyota, farnesoid X reseptörü (FXR) antagonisti bileşikleri metabolize

ederek safra asidi sentezini baskılar ve safra asitlerinin dekonjugasyonunu katalize ederek geri emilimini önleyebilir. Bacteroidetes, Firmicutes ve Actinobacteria filumlarına ait türlerde bulunan safra tuzu hidrolaz (BSH) enzimi bu süreçte kritik rol oynar (Li vd., 2023).

Mikrobiyota ayrıca fenolik bileşiklerin metabolizmasında rol oynar. Bu bileşiklerin KZYA düzeylerini etkilediği ve mikrobiyotalar tarafından biyolojik olarak aktif formlara dönüştürüldüğü gösterilmiştir (Zhang vd., 2024).

Bağırsıklık Homeostazi

Bağırsak mikrobiyotası, konak bağışıklık sistemiyle karşılıklı etkileşim içinde fizyolojik dengeyi korur. Mikrobiyota, bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu veya yetersizliğini önlemeye yardımcı olur (Campbell vd., 2023). Kommensal ve patojen mikroorganizmalar arasındaki dengenin bozulması, lokal inflamasyona ve sistemik hastalıklara neden olabilir (Li vd., 2024). Bu simbiyotik etkileşim üç temel mekanizma ile açıklanır (Wiertsema vd., 2021; Choden ve Cohen, 2022; Shao vd., 2023; Okolie vd., 2024);

-Epitel bariyer savunması: Kadeh hücrelerinden mukus ve Paneth hücrelerinden antimikrobiyal peptitler salgılanarak fiziksel ve kimyasal koruma sağlanır.

-İmmün hücre etkileşimi: CD4+ T hücreleri mikrobiyota sinyalleriyle Th1, Th2, Th17 ve Treg hücrelerine farklılaşır. IgA salgısı, dendritik hücrelerin antijen sunumu ve doğal lenfoid hücrelerin sitokin üretimi gibi işlevler gerçekleştirilir.

-Mikrobiyal metabolitlerin bağışıklık etkisi: KZYA gibi metabolitler bağışıklık hücrelerini etkileyerek inflamatuvar yanıtı modüle eder.

Diğer İşlevler

Mikrobiyota, epitel bariyeri güçlendirerek patojenlerin geçişini engeller ve toksinlere karşı koruma sağlar (Hu vd., 2023). KZYA'lar, laktat, safra asitleri gibi mikrobiyal metabolitler epitel hücre sinyal yollarını düzenler (Yang vd., 2025).

Mikrobiyota aynı zamanda ilaç metabolizmasında da rol alır. Bağırsak bakterileri, ilaçları aktif/inaktif hale getirebilecek enzimleri üretir. Bu durum ilaç

etkinliği ve toksisitesini etkileyebilirken, ilaçlar da mikrobiyota kompozisyonunu değiştirebilir (Pant vd., 2023; Zhao vd., 2023; Džidić-Krivić vd., 2023).

Ayrıca mikrobiyota ile merkezi sinir sistemi arasında çift yönlü bir iletişim vardır. Bu mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenini; nörotransmitter, hormon ve bağışıklık sinyalleriyle gerçekleştirir. Mikrobiyota serotonin, dopamin, GABA gibi maddelerin üretiminde rol alır ve davranışsal, duygusal ve motivasyonel düzenlemeleri etkileyebilir (Kim ve Shim, 2022; Ullah vd., 2023; Loh vd., 2024).

Bağırsak Mikrobiyotasının Hastalıklarda Rolü

Batı tipi yaşam tarzı, sağlıksız beslenme, ilaç kullanımı, sirkadiyen ritim bozukluğu gibi faktörler bağırsak mikrobiyotasının yapısını bozarak disbiyozise yol açabilir. Disbiyozis, bulaşıcı olmayan hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir (Najmanová vd., 2022; Kawamoto ve Hara, 2024). Mikrobiyota sağlığını değerlendirmek için sağlıklı kompozisyonun bilinmesi önemlidir. Literatürde hastalığa sahip bireylerin mikrobiyal profilleri karşılaştırılarak mikrobiyota biyobelirteçleri belirlenmektedir (Li ve O'Toole, 2024; Joos vd., 2025).

Sağlıklı mikrobiyota, genellikle altı ana filum tarafından domine edilir: Firmicutes (ör. *Lactobacillus*, *Ruminococcus*), Bacteroidetes (ör. *Bacteroides*, *Prevotella*), Proteobacteria (ör. *Escherichia*), Actinobacteria (ör. *Bifidobacterium*), Euryarchaeota (ör. *Methanobrevibacter*) ve Verrucomicrobia (ör. *Akkermansia*). Firmicutes ve Bacteroidetes, tüm kompozisyonun yaklaşık %90'ını oluşturur (Madhogaria vd., 2022; Hu ve Shen, 2024).

Hastalık ve sağlık durumları karşılaştırıldığında, mikrobiyota modülasyonu ile hedefe yönelik terapiler geliştirilebilmektedir. Özellikle Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) oranı, sağlığın biyobelirteci olarak kullanılmakta ve bu orandaki artış çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Hul vd., 2024).

BAĞIRSAK MİKROBİYOTASINI HEDEF ALAN TERAPÖTİK STRATEJİLER

Fitoterapi

Bitkisel tıp, uzun yıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan geleneksel bir yaklaşımdır ve biyoaktif bileşenlerinin bağırsak mikrobiyotasıyla etkileşime girerek etkili olduğu bilinmektedir (Zhang vd., 2023). Bu etkileşim, öncelikle mikrobiyotanın bitkisel bileşenleri metabolize ederek aktif moleküllere dönüştürmesi, mikrobiyota bileşiminin düzenlenmesi ve bitkisel karışımlardaki kimyasallar arasındaki etkileşimin yönlendirilmesiyle gerçekleşir (Zhu ve Yang, 2025). Bitkisel formülasyonlar; obezite, diyabet, metabolik ilişkili steatotik karaciğer hastalığı (MASLD), ülseratif kolit ve Alzheimer gibi hastalıklarla ilişkili disbiyozun düzenlenmesinde potansiyel faydalar sağlamaktadır (Xu vd., 2017). Örneğin, zencefildeki 6-gingerol; ağırlık kaybıyla ilişkili *Akkermansia*, Muribaculaceae gibi faydalı bakterilerin artışı destekleyerek obeziteye katkıda bulunan Lachnospiraceae ve *Lactobacillus reuteri* gibi bakterilerin bolluğunu azaltmaktadır. Bu sayede bağırsak mikrobiyota bileşimini olumlu ve önemli ölçüde değiştirdiği gösterilmiştir (Alhamoud vd., 2023).

Resveratrol, *Desulfovibrio* ve *Alistipes* gibi patojenik bakterilerin azalmasıyla, *Allobaculum* ve *Blautia* gibi KZYA üreten bakterilerin artmasına katkı sağlamıştır (Wang vd., 2020; Alghetaa vd., 2021). Berberin ise düşük oral biyoyararlanıma sahip olmasına rağmen, *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. artışı, *Escherichia coli* baskılanması, KZYA ve safra asidi düzenlemesi gibi etkileriyle mikrobiyotayı modüle edebilmektedir (D. Liu vd., 2018; Yue vd., 2019; Wu vd., 2020).

Bitkisel biyoaktif bileşenlerin mikrobiyota üzerindeki bu seçici etkileri, faj tedavileriyle birlikte kullanıldığında sinerjik etki yaratma potansiyeline sahip olabilir. Ancak, bu konuda daha fazla klinik çalışmaya gerek vardır (Cheng vd., 2023).

Probiyotikler

Probiyotikler, yeterli miktarlarda alındığında konağa sağlık faydası sağlayan canlı

mikroorganizmalardır (Hemarajata ve Versalovic, 2013; Hill vd., 2014). Mikrobiyal dengeyi sağlayarak *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. gibi suşlarla patojenlerin rekabetini azaltır, bağırsak mukozasını korur, KZYA üretimini destekler ve bağışıklığı modüle eder (Chandrasekaran vd., 2024). *Akkermansia muciniphila*, *Roseburia* gibi diğer bakteriler de potansiyel probiyotik olarak tanımlanmakta, özellikle inflamatuvar bağırsak hastalıklarında koruyucu etki sağlayabileceği bildirilmektedir (Bamola vd., 2022; Abeltino vd., 2024).

Probiyotiklerin bağırsak biyotasının seçici olarak düzenlemesi, faj uygulamalarında hedef bakterilere özgül çevre oluşturulmasında katkı sağlayabilir. Probiyotiklerin epitel bariyeri onararak IgA salınımını artırdığı, mukus sentezini uyardığı, antimikrobiyal etkileri güçlendirdiği; *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı inflamasyonu azaltabildiği gösterilmiştir (di Vito vd., 2022; Mazziotta vd., 2023). Ayrıca, KZYA üretiminin desteklenmesi, bağırsak bariyeri ve metabolizma üzerindeki faydalı etkileriyle dikkat çekmektedir (Zhai vd., 2021; McMurdie vd., 2022; Salamat vd., 2024).

Bağırsak Mikrobiyota Kompozisyonunun Modülasyonu

Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini değiştirerek konak sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösterebilir. Özellikle *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. gibi türler, kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) üretimini artırarak glisemik kontrolü iyileştirebilir (Hasain vd., 2022). Sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Akkermansia muciniphila* gibi yararlı bakterilerin düzeylerinde artış gözlenmiştir (Ryan ve Patno, 2021). Ancak bazı araştırmalarda bakteri bileşiminde belirgin değişiklik izlenmemiştir, bu da probiyotiklerin etkisinin bireysel farklılıklara, doz ve kullanım süresine bağlı olabileceğini göstermektedir (Kaczmarczyk vd., 2022).

Epitel Bariyer Onarımı ve Bağışıklık Sisteminin Modülasyonu

Probiyotikler, bağırsak mukozasında IgA salgısını artırarak patojenlerin epitele ulaşmasını engeller

ve kolonizasyonu sınırlandırır. Aynı zamanda mün ekspresyonunu modüle ederek mukozal bariyerin bileşimini güçlendirir ve patojenlerin yapışmasını engeller (Mazziotta vd., 2023). Bağışıklık sistemi üzerinde, *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. gibi türler mün üretimini artırarak lokal ve sistemik immün yanıtları destekler. Bu probiyotikler, Th1, Th2, Th17, Treg ve B hücreleri gibi bağışıklık hücrelerini etkileyerek immün homeostazı düzenleyebilir. Ayrıca makrofaj aktivitesini ve doğal öldürücü hücrelerin sitotoksik etkilerini artırarak antimikrobiyal savunmayı güçlendirdikleri belirtilmiştir (Yeşilyurt vd., 2021). Meta-analiz verilerine göre, probiyotiklerin transeptelyal direnç, zonulin ve LPS seviyeleri gibi bağırsak bariyer göstergelerinde anlamlı iyileşme sağladığı rapor edilmiştir (Zheng vd., 2023). Yaşlı bireylerde yapılan bir çalışmada, çok suşlu probiyotik takviyesi ile intestinal geçirgenlikte %48 iyileşme kaydedilmiştir (Chaiyasut vd., 2022). İn vitro modellemeler, *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. içeren formülasyonların LPS ile uyarılmış inflamasyon modelinde bağırsak bariyerinin bütünlüğünü koruyabildiğini göstermiştir. Bu etkiler, Caco-2 hücrelerinde sıkı bağlantı proteinlerine ait gen ve protein düzeylerinin modülasyonu ile ilişkilendirilmiştir (di Vito vd., 2022).

Bağırsak Mikrobiyal Metabolitlerinin Düzenlenmesi

KZYA, bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen ve konak sağlığını birçok yönden etkileyen temel metabolitlerdir. Epitel bütünlüğünü korumak, bağışıklık sistemini düzenlemek, pankreas β -hücresi proliferasyonunu ve insülin salgısını desteklemek gibi işlevleri bulunur (Zhai vd., 2021). PPAR γ ve G proteinine kenetli reseptör (GPCR) gibi hücresele reseptörler aracılığıyla sinyal ileterek sağlık ve hastalık süreçlerinde önemli rol oynarlar (Overby ve Ferguson, 2021).

Dislipidemili erkeklerde yapılan bir çalışmada, fruktooligosakkarit ve inülin ile desteklenen 6 suş içeren simbiyotik uygulaması dışkıdaki asetat, bütirat, propiyonat ve valerat düzeylerini artırmıştır (Salamat vd., 2024). Tip 2 diyabetli bireylerde, 12 haftalık çok suşlu probiyotik

takviyesi sonrası fekal bütirat ve ursodeoksikolat artmış; bu artış glukoz metabolizması ve HbA1c ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, *Clostridium butyricum* suşunun kenodeoksikolattan ursodeoksikolat sentezlediği bildirilmiştir (McMurdie vd., 2022). Anaerobik, pH kontrollü in vitro kültürlerde yapılan bir çalışmada, probiyotik suşların eklenmesi mikrobiyota bileşiminde veya KZYA düzeylerinde anlamlı değişiklik yaratmamıştır. Ancak, laktat üretiminin arttığı ve bu laktatın asetat ve bütirat üretiminde öncü madde olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Eastwood vd., 2023).

Fajlar ve Mikrobiyotadaki Rollerini ile Terapotik Potansiyelleri

Fajlar, çoğalmak için mutlaka bir bakteriyel konakçıya ihtiyaç duyan parazitlerdir ve dünyadaki en bol ve çeşitli biyolojik varlıklar arasında yer alırlar. Yapısal olarak çoğu faj, bir protein kabuğu (kapsid) içinde paketlenmiş nükleik asit genomuna sahiptir (Zuppi vd., 2022).

Yaşam döngüleri litik (virülan) ve lizojenik (ılıman) olmak üzere başlıca iki şekilde sınıflandırılır. Bir faj bakteriyi enfekte ettiğinde, DNA'sı genellikle bu iki çoğalma yolundan birini izler. Litik döngüde virülan fajlar, bakterinin moleküler mekanizmalarını kullanarak kendi yavru fajlarını üretir. Hızla çoğalan fajlar, bakteriyi lizis yoluyla parçalayarak yeni viral partikülleri serbest bırakır. Lizojenik döngüde ise fajlar, konak bakteriyi enfekte ederek DNA'sını doğrudan bakteri genomuna entegre eder ve bakterinin her replikasyonunda viral genetik materyal de aktarılmış olur. Bu durumda entegre viral DNA, profaj formundadır ve ultraviyole ışınları, sıcaklık değişimi veya oksidatif stres gibi koşullarda aktive olabilir. Aksi halde lizojenik fazda latent (sessiz) halde kalabilir. Aktivasyon gerçekleştiğinde profaj, kromozomdan ayrılarak çoğalmaya başlar ve litik döngüye geçerek konak bakterinin lizisine yol açar (Liang ve Bushman, 2021; Avellaneda-Franco vd., 2023; Hitchcock vd., 2023).

Bağırsakta doğal olarak bulunan (endojen) fajlar, yani fajom, mikrobiyotadaki bakteriyel bileşimi etkileyebilir; mikrobiyal işlevleri, epitel hücrelerle olan ilişkileri, münin tabakasının yapısı ve diğer

mikrobiyal topluluklar üzerinde düzenleyici etkiler gösterebilir. Bu fajlar, bağırsak bariyerini aşarak periferik dolaşıma ve dokulara ulaşabilir; bağışıklık sistemini modüle edebilirler. Ayrıca, yatay gen transferi yoluyla belirli bakterileri hedef alarak genetik çeşitliliklerini ve mutasyon potansiyellerini değiştirebilirler. Böylece konak mikrobiyotanın dengesi ve savunma mekanizmalarının sürdürülmesinde aktif rol oynarlar (Nabi-Afjadi vd., 2023).

Fajlar, mikrobiyotanın önemli bir bileşeni olarak diğer mikroorganizmalarla etkileşime girerek mikrobiyota aracılı metabolik süreçlerin düzenlenmesine de katkı sağlar. Özellikle konakçı bakterilerin kompozisyonunu etkileyerek KZYA ve safra asitleri gibi mikrobiyal kökenli metabolitlerin sentezinde dolaylı etki gösterebilirler. Bu etkiler sayesinde otoimmün hastalıkların gelişimi, inflamasyon süreçleri ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi üzerinde önemli roller üstlenebilirler. Bu nedenle faj temelli biyoterapötik stratejiler, özellikle mikrobiyota modülasyonu ve konak sağlığının desteklenmesi açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır (Visekruna ve Luu, 2021; Ganesan ve Suk, 2022).

Fajların eksojen uygulanması veya gastrointestinal sistemdeki mevcut faj popülasyonunun manipülasyonu ile bazı hastalık durumlarının değiştirilmesi tıbbi olarak ilgi çekmektedir. Özellikle *Clostridium*, *Pseudomonas* ve *Staphylococcus* gibi patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların veya kolonize bakteri popülasyonlarının kontrolü amacıyla uygulanan eksojen fajlar bazı vakalarda başarılı sonuçlar vermiştir. Yerleşik faj popülasyonu da mikrobiyotayı düzenleyebilir ve antibiyotik direnci ile toksin genlerinin taşınmasında rol oynayabilir. Bu özellikler, fajları terapötik kullanım için cazip hale getirmektedir (Howard vd., 2024).

Antibiyotik direncinin küresel çapta artması, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yeni alternatiflere olan ihtiyacı artırmaktadır. Faj terapisi, çoklu ilaç dirençli, geniş spektrumlu dirençli ve tüm ilaçlara dirençli bakterilere karşı umut vadeden bir seçenek olarak öne çıkmakta ve

antibiyotiklere dirençli patojenlere karşı etkili olabileceği bildirilmektedir (Ioannou vd., 2023).

Faj terapisinin mikrobiyota modülasyonuna etkisini inceleyen çalışmalarda, inflamatuvar bağırsak hastalıklarında kullanılan beş fajdan oluşan karışımın hedef patojen *Klebsiella pneumoniae*'yi baskıladığı ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca bu fajlar, mide asidine dayanıklı olup bağırsaklarda güvenli ve etkili bir şekilde birikmiştir (Federici vd., 2022). Başka bir çalışmada, *Escherichia coli* hedefli ticari bir faj kokteyli sağlıklı bireylerde test edilmiş; 28 günlük tüketim sonunda fekal *E. coli* yükünde azalma gözlenmiş, ancak alfa ve beta çeşitliliğinde anlamlı değişiklik görülmemiştir. Bununla birlikte, bütirat üreten *Eubacterium* türlerinde artış, proinflamatuvar *Clostridium perfringens* ile ilişkili taksonlarda azalma bildirilmiştir (Febvre vd., 2019). *E. coli* kaynaklı akut bakteriyel diyare üzerine yapılan bir başka çalışmada, Bangladeş'te 6–24 ay arası erkek çocuklara oral faj preparatları uygulanmış; ancak bu uygulama diyarenin klinik sonuçlarını iyileştirmemiştir. Oral fajlar bağırsakta yeterince çoğalmamış ve dışkı ile atılmıştır. Bu durum, düşük faj konsantrasyonuna bağlı olarak *E. coli*'nin baskılanamaması ve *Streptococcus gallolyticus* ile *Streptococcus salivarius*'un aşırı çoğalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Sarker vd., 2016).

Faj terapisine ilişkin 11 klinik çalışmanın değerlendirilmesi, fajların oral, intravenöz ve topikal uygulamalarda güvenli olduğunu göstermiştir. Bakteriyel yükü azaltma, enfeksiyonları kontrol altına alma ve biyofilm oluşumunu engelleme açısından etkili bulunmuştur. Ancak metodolojik farklılıklar ve küçük örneklem büyüklükleri sonuçların genellenmesini zorlaştırmaktadır. Klinik uygulamalarda uzun vadeli etkililik, standart protokollerin belirlenmesi ve deneme koşullarının iyileştirilmesi, faj terapisinin çoklu ilaca dirençli enfeksiyonlarda etkili bir alternatif olarak kullanılabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (İbrahim vd., 2025).

Faj temelli müdahaleler yalnızca patojen bakteri yükünü azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda mikrobiyota kompozisyonunu doğrudan veya

dolaylı olarak modüle edebilir. Örneğin, fekal mikrobiyota transplantasyonunun adölesanlarda obezite ve komorbiditelerinin tedavisinde etkinliğini inceleyen bir çalışmada, sağlıklı donörlerden alınan sterilize edilmiş fekal süpernatant obeziteye sahip adölesanlara uygulanmıştır. Sonuçta, alıcıların fajomu donörlerin bileşimine doğru kaymış; fajom alfa çeşitliliği ve değişkenliği artmış; bu durum fajların bağırsak ortamını modüle ederek mikrobiyota ilişkili hastalıklarda iyileşme sağlayabileceğini göstermiştir (Zuppi vd., 2024). Benzer şekilde, (Fowoyo, 2024) faj terapisinin klinik uygulamalarda güvenliğini ortaya koyarken, farklı vakalarda bakteriyel yükün azalmasına katkı sağladığını bildirmiştir. Bu bulgular, faj terapisinin farklı yaş gruplarında ve çeşitli hastalıklarda güvenli ve etkili olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu potansiyeli doğrulamak için daha kapsamlı ve iyi tasarlanmış klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Faj terapisi, mikrobiyota ilişkili hastalıklarda gelecek vadeden bir terapötik strateji olmaya devam etmektedir.

Faj ve Probiyotik Kombinasyonları

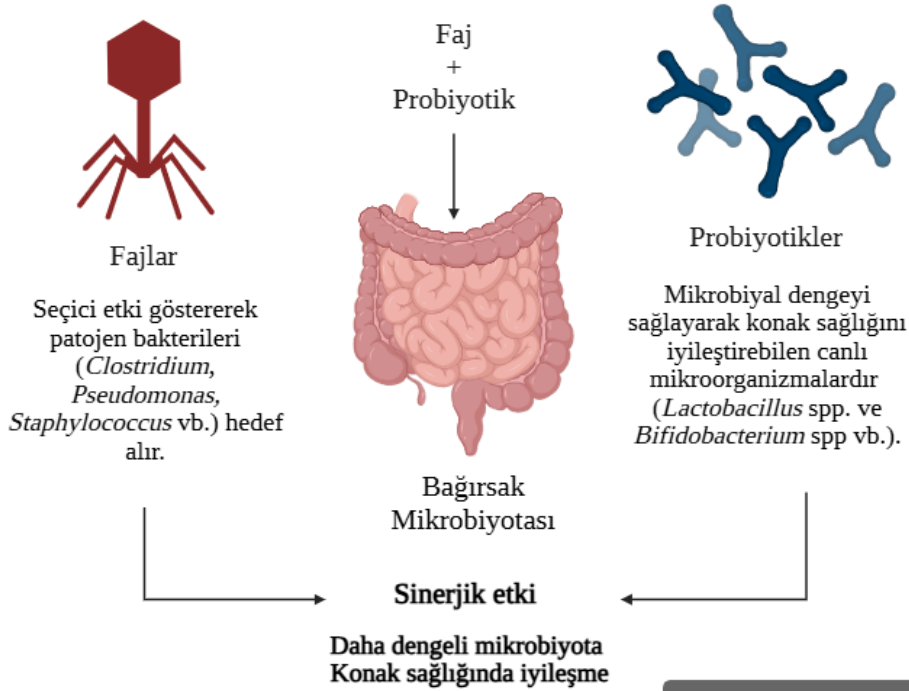
Son yıllarda probiyotik takviyelere fajların dahil edilmesine yönelik ilgi artmaktadır. Fajlar, bağırsaktaki belirli proinflamatuvar veya patojenik organizmaları hedefleyerek probiyotiklerin gastrointestinal etkilerini artırabilir. Ancak bu etkilere dair insan klinik çalışmaları sınırlıdır. Bir çalışmada, dört hafta boyunca yaygın bir probiyotik olan *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (*B. lactis* BL04)'in tek başına ve *E.coli* hedefli faj karışımı (PreforPro) ile birlikte kullanımının gastrointestinal sağlık üzerindeki etkisi karşılaştırılmıştır. Kombinasyon, bağırsak inflamasyonunda anlamlı iyileşme sağlamış ve kolon ağrısında azalma eğilimi göstermiştir. Mikrobiyotanın alfa ve beta çeşitliliği üzerinde belirgin değişiklik gözlenmemekle birlikte, dışkıda *Lactobacillus* spp. ve KZYA üreten bakterilerde artış kaydedilmiştir (Grubb vd., 2020).

Benzer şekilde, belirli mikrobiyal kompozisyona sahip simüle bir bağırsak ortamına eklenen *E. coli* hedefli fajlar yalnızca hedef bakteriyi baskılamış, kommensal organizmalar üzerinde bozucu bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (Cieplak vd., 2018).

Farelerde bağırsak kolonizasyon modeli kullanılan bir çalışmada, çoklu ilaca dirençli *Escherichia coli* ST131-H30R suşlarının kolonizasyonunu azaltmak amacıyla faj kokteyli ile mikrosin C7 üreten probiyotik *E. coli* Nissle 1917 suşunun ayrı ayrı ve birlikte uygulamalarının etkileri incelenmiştir. Fajların tek başına uygulanması, ilk gün hedef bakterinin kolonizasyonunu azaltmış ancak bu etki geçici olmuştur. Sadece probiyotik kullanımı ise bağırsakta probiyotik bakterinin artmasını sağlamış, ancak hedef bakteriyi azaltmamıştır. Faj ve probiyotiklerin birlikte uygulanması, ilk günden itibaren hedef bakterinin belirgin şekilde azalmasını sağlamış ve bu etkinin yedi güne kadar sürdüğü bildirilmiştir. Çalışma, hedef bakterinin zamanla faja karşı direnç geliştirebildiğini, probiyotik suşun ise tek başına bağırsak kolonizasyonunu yeterince baskılayamadığını göstermiştir. Bununla birlikte, kombinasyon tedavisinde fajların hedef bakteriyi baskılayarak probiyotik suşun yerleşmesini

kolaylaştırdığı ve mikrosin C7'nin etkisini artırdığı raporlanmıştır (Porter vd., 2022).

Faj ve probiyotik kombinasyonlarının istenen terapötik etkiyi sağlayabilmesi için her iki ajanın mide asidinden etkilenmeden, eş zamanlı ve aktif biçimde kolona ulaşması gerekmektedir. Fizikokimyasal faktörler (örneğin pH değeri, enzimler, sıcaklık, tuz konsantrasyonu, iyonlar) ve biyolojik faktörler (örneğin litik döngüler, konak fizyolojik durumu) bu etkiyi doğrudan etkileyebilir. Bu nedenle, stabilitenin sağlanması amacıyla mikrokapsülleme, kontrollü salım, uyarılara duyarlı salım sistemleri ve tamponlayıcı ajanlar (örneğin sodyum bikarbonat) gibi stratejiler önerilmektedir. Ayrıca, kombinasyondaki fajların probiyotik suşa karşı hedef dışı etki göstermemesi için kapsamlı in vitro duyarlılık analizlerine ihtiyaç vardır (Schubert vd., 2022; Liu vd., 2024; Kuang vd., 2025).



Şekil 1. Bakteriyofajlar ve probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasını hedef alarak oluşturdukları sinerjik etki

Fajların probiyotik suşlar üzerinde hedef dışı etkileri iki temel mekanizma ile açıklanmaktadır. Birincisi, bazı fajların doğrudan probiyotik türleri enfekte edebilme kapasitesidir; ikincisi ise hedef patojenlerin seçici olarak baskılanması sonucu topluluk düzeyinde probiyotik popülasyonlarında dolaylı değişikliklerin ortaya çıkmasıdır. Örneğin (Buttimer vd., 2022) tarafından yürütülen çalışmada *E.coli* ve *E. faecalis*'i hedefleyen faj kokteyli, hem in vitro hem de in vivo modellerde uygulandığında hedef suşlarda sınırlı düzeyde azalma sağlarken *L. plantarum* ve *Faecalibacterium prausnitzii* gibi hedef dışı probiyotik türlerinin görece bolluğunda artışa yol açmıştır. Benzer şekilde (Pinto vd., 2022) tarafından gerçekleştirilen in vitro fermentasyon modelinde, Shiga toksin kodlayan *E. coli*'yi hedef alan faj uygulamasının doğrudan mikrobiyota kompozisyonunu bozmadığı, ancak kullanılan konak suşun mikrobiyal dengeyi değiştirebildiği bildirilmiştir.

Uygulamada Sınırlılıklar ve Gelecek Perspektifi

Faj terapisi araştırmaları hâlen erken aşamadır ve özellikle klinik uygulamalar açısından literatürde çeşitli boşluklar bulunmaktadır. Etkin sonuçlar elde edebilmek için faj uygulaması öncesinde bireyin bağırsaklarında hedef bakteriyel konakçının varlığı belirlenmeli ve seçilen fajlara karşı duyarlılığı in vitro testlerle doğrulanmalıdır. Fajların terapötik etkinlik gösterebilmesi için uygulanan dozun uygun şekilde ayarlanması ve bağırsak ortamında yeterli düzeyde canlılığını sürdürebilmesi gereklidir. Özellikle mide asidi gibi olumsuz faktörler fajların inaktivasyonuna yol açabileceğinden, oral uygulamalarda daha yüksek dozlara ihtiyaç duyulabilir. Bu sorunu aşmak amacıyla, eş zamanlı asit baskılayıcıların kullanımı veya koruyucu taşıyıcı sistemler (örneğin enkapsülasyon) tercih edilebilir (Duan vd., 2022).

Son yıllarda özellikle CRISPR-Cas sistemlerinin kullanıldığı kişiselleştirilmiş faj terapilerine yönelik çalışmalar artmaktadır. CRISPR-Cas sistemleri, bakteriyel genomları hedefe yönelik olarak düzenleyebilen yüksek özgüllüğe sahip genetik mühendislik araçlarıdır. Bu sistemler, fajların genomlarını düzenleyerek konak aralıklarını

genişletmek, antibiyotik direnç genlerini hedeflemek ve bakteriyel virülans faktörlerini ortadan kaldırmak amacıyla kullanılmaktadır. Böylece enfeksiyona neden olan belirli patojenlere özgü fajlar tasarlanabilir; geniş spektrumlu antibiyotiklerin aksine yalnızca hedef bakteri baskılanarak kommensal mikroflora korunabilir (Chaudhary vd., 2025).

Düzenleyici otoritelerin yaklaşımına bakıldığında, faj terapisi; düzenleyici standartlara ilişkin belirsizlikler, faj direnci gelişimi, bakteriyel genomlara etkileri ve insan mikrobiyotası üzerindeki olası sonuçlar nedeniyle henüz Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ile Avrupa İlaç Ajansı (EMA, European Medicines Agency) tarafından insan tedavilerinde onaylanmamıştır (Sheraz vd., 2025). EMA, bakteriyofaj uygulamalarını bu aşamada yalnızca bireysel, hasta bazlı "şefkatli kullanım" (compassionate use) çerçevesinde değerlendirmekte ve araştırma düzeyinde sınırlı uygulamalara izin vermektedir. Ancak veteriner alanında, EMA tarafından yürürlüğe konan 2019/6 sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü kapsamında bakteriyofajlar biyolojik veteriner tıbbi ürünler olarak tanımlanmış ve bu alandaki ruhsatlandırma süreçleri düzenlenmiştir (EPCU, 2019). Yakın zamanda Avrupa Farmakopesi'nde bakteriyofajların terapötik kullanımı ile ilgili bir bölümün yer alması planlanmaktadır. Etik standartlara dayalı, geniş çaplı ve iyi tasarlanmış klinik çalışmaların yetersizliği, fajların klasik antimikrobiyallere alternatif veya tamamlayıcı tedavi olarak uygulanmasını sınırlamaktadır. Öte yandan Polonya, Gürcistan ve Rusya gibi ülkelerde, düzenleyici yönergeler net olmamakla birlikte faj terapisi uygulanmaktadır (Ioannou vd., 2023).

Bugüne kadar faj terapisine ilişkin klinik veriler çoğunlukla faz 1 güvenlik çalışmaları ve yetersiz düzeyde vaka raporlarıyla sınırlıdır. Örneğin, Shigellosis tedavisinde kullanılan 'ShigActive™' faj kokteylinin oral yolla uygulandığı faz 1 klinik çalışmada, kokteylin güvenli, iyi tolere edilebilir olduğu, insanlarda ciddi yan etkilere yol açmadığı ve bağırsak mikrobiyotasında anlamlı bir bozulmaya neden olmadığı bildirilmiştir (Chen vd., 2024). Ayrıca, probiyotik *B. animalis* subsp.

lactis BL04'ün tek başına ve *E. coli* hedefli faj karışımı (PreforPro) ile birlikte kullanımı değerlendirilmiş; sonuçlar güvenlik ve tolere edilebilirlik açısından olumlu bulunmakla birlikte, etkinlik yalnızca sınırlı parametrelerde gözlenmiştir (Grubb vd., 2020). Yine PreforPro'nun *Bacillus subtilis* DE111 probiyotiği ile kombinasyonunun gastrointestinal sağlık üzerindeki etkilerinin incelendiği güncel bir faz 2 klinik çalışmada, sonuçlar güvenlik açısından olumlu olmakla birlikte, etkinlik hâlâ sınırlıdır (Weir, 2024). Bu veriler, güvenlik ve tolere edilebilirlik açısından umut verici olmakla birlikte, mevcut literatür bilgisi ışığında bu tür kombine faj-probiyotik çalışmalar henüz faz 2 düzeyine ulaşmamıştır. Gelecekte bu alanda iyi tasarlanmış faz 2/3 klinik denemelere ihtiyaç vardır.

Mevcut sınırlamalara rağmen, faj terapisinin klinik uygulamada önemli bir potansiyele sahip olduğu açıktır. Güvenlik ve etkinliği ortaya koyan, plasebo kontrollü ve iyi planlanmış klinik çalışmalar, bu tedavi yönteminin geleceğini şekillendirmede kritik rol oynayacaktır.

Probiyotiklerin güvenlik profili değerlendirildiğinde, fajlara kıyasla daha az sınırlayıcı etkiye sahip oldukları ve yaygın biçimde kullanıldıkları görülmektedir. Yararlı etkilerin ortaya çıkabilmesi için probiyotik mikroorganizmaların bağırsağa canlı olarak ulaşmaları gerekmektedir ve önerilen canlı hücre sayısı 10^6 – 10^7 koloni oluşturan birim (kob)/g düzeyindedir (Fiore vd., 2020). Ancak birçok ticari probiyotik ürün, raf ömrü boyunca canlı mikroorganizma sayısında kayıplar yaşamakta; bu nedenle ürünler genellikle etikette belirtilenden daha fazla canlı mikroorganizma içerecek şekilde formüle edilmektedir. Cansız mikroorganizmaların sağlık üzerindeki etkileri ise henüz yeterince araştırılmamıştır.

Probiyotiklerin terapötik kullanımı oldukça yaygın olmakla birlikte, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde bazı güvenlik endişeleri doğurabilmektedir. Bu etkiler arasında mide bulantısı, kusma, karın spazmı, diyare, gaz ve şişkinlik gibi gastrointestinal belirtiler öne çıkmaktadır. Ayrıca metabolik etkiler, enfeksiyon riski ve yatay gen transferi yoluyla antibiyotik

direnci gelişimi gibi olası sonuçlar da dikkate alınmalıdır (Thoda ve Touraki, 2023; Yeşilyurt vd., 2021).

SONUÇ

Fajlar ve probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesinde önemli biyolojik ajanlar olarak dikkat çekmektedir. Bu derlemede, her iki ajanın birlikte kullanımına yönelik güncel literatür taranarak terapötik potansiyelleri çok yönlü biçimde değerlendirilmiştir. Mevcut bulgular, faj-probiyotik kombinasyonlarının özellikle antibiyotik direncine sahip patojenlerin baskılanması, mikrobiyal çeşitliliğin desteklenmesi, epitel bariyer bütünlüğünün korunması ve konak bağışıklığının modülasyonu gibi kritik işlevlerde sinerjik etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bu yaklaşıma dair bilimsel kanıtların büyük ölçüde, sınırlı sayıdaki deneysel çalışma ve hayvan modellerine dayandığı görülmektedir.

Klinik veri eksikliği, uygulanan dozun etkinliği, mide asidi ve fizikokimyasal koşullar altında faj ve probiyotik stabilitesi gibi unsurlar, terapötik uygulamalarda önemli sınırlılıklar oluşturmaktadır. Ayrıca, bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler ve yaşa özgü mikrobiyota yapılarında bu kombinasyonların güvenliği ve etkinliği henüz netlik kazanmamıştır.

Bu nedenle, faj-probiyotik etkileşimlerini anlamaya yönelik kapsamlı in vitro analizlerin yanı sıra iyi tasarlanmış, kontrollü ve geniş örneklemli faz çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Gelecekteki araştırmalar, özellikle hedef bakteri seçimi, konak faktörlerinin etkisi, dozaj optimizasyonu ve formülasyon teknikleri (örneğin mikrokapsülleme) gibi alanlara odaklanmalıdır. Sonuç olarak, faj-probiyotik temelli stratejiler klasik antimikrobiyallere alternatif veya tamamlayıcı bir yaklaşım olarak umut vaat etmektedir; ancak bu yaklaşımın klinik geçerliliği, güçlü kanıtlarla desteklenmiş insan çalışmalarına bağlıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların bu derleme makale ile ilgili çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKISI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Abeltino, A., Hatem, D., Serantoni, C., Riente, A., De Giulio, M. M., De Spirito, M., De Maio, F., Maulucci, G. (2024). Unraveling the gut microbiota: Implications for precision nutrition and personalized medicine. *Nutrients*, 16(22): 3806, <https://doi.org/10.3390/nu16223806>.
- Alghetaa, H., Mohammed, A., Zhou, J., Singh, N., Nagarkatti, M., Nagarkatti, P. (2021). Resveratrol-mediated attenuation of superantigen-driven acute respiratory distress syndrome is mediated by microbiota in the lungs and gut. *Pharmacological Research*, 167: 105548, <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105548>.
- Alhamoud, Y., Ijaz Ahmad, M., Abudumijiti, T., Wu, J., Zhao, M., Feng, F., Wang, J. (2023). 6-Gingerol, an active ingredient of ginger, reshapes gut microbiota and serum metabolites in HFD-induced obese mice. *Journal of Functional Foods*, 109: 105783, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105783>.
- Avellaneda-Franco, L., Dahlman, S., Barr, J. J. (2023). The gut virome and the relevance of temperate phages in human health. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13: 1241058, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1241058>.
- Bamola, V. D., Dubey, D., Samanta, P., Kedia, S., Ahuja, V., Madempudi, R. S., Neelamraju, J., Chaudhry, R. (2022). Role of a probiotic strain in the modulation of gut microbiota and cytokines in inflammatory bowel disease. *Anaerobe*, 78: 102652, <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102652>.
- Barone, M., D'Amico, F., Rampelli, S., Brigidi, P., Turroni, S. (2022). Age-related diseases, therapies and gut microbiome: A new frontier for healthy aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 206: 111711, <https://doi.org/10.1016/j.mad.2022.111711>.
- Brauer-Nikonow, A., Zimmermann, M. (2022). How the gut microbiota helps keep us vitaminized. *Cell Host & Microbe*, 30(8): 1063-1066, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.07.010>.
- Buttimer, C., Sutton, T., Colom, J., Murray, E., Bettio, P. H., Smith, L., Bolocan, A. S., Shkoporov, A., Oka, A., Liu, B., Herzog, J. W., Sartor, R. B., Draper, L. A., Ross, R. P., Hill, C. (2022). Impact of a phage cocktail targeting *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* as members of a gut bacterial consortium in vitro and in vivo. *Frontiers in Microbiology*, 13, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.936083>.
- Campbell, C., Kandalgaonkar, M. R., Golonka, R. M., Yeoh, B. S., Vijay-Kumar, M., Saha, P. (2023). Crosstalk between gut microbiota and host immunity: Impact on inflammation and immunotherapy. *Biomedicine*, 11(2): 294, <https://doi.org/10.3390/biomedicine11020294>.
- Chaiyasut, C., Sivamaruthi, B. S., Lailerd, N., Sirilun, S., Khongtan, S., Fukngoen, P., Peerajan, S., Saelee, M., Chaiyasut, K., Kesika, P., Sittiprapaporn, P. (2022). Probiotics supplementation improves intestinal permeability, obesity index and metabolic biomarkers in elderly Thai subjects: A randomized controlled trial. *Foods*, 11(3): 268, <https://doi.org/10.3390/foods11030268>.
- Chandrasekaran, P., Weiskirchen, S., Weiskirchen, R. (2024). Effects of probiotics on gut microbiota: An overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11): 6022, <https://doi.org/10.3390/ijms25116022>.
- Chaudhary, N., Sharma, K., Kaur, H., Prajapati, S., Mohan, B., Taneja, N. (2025). CRISPR-Cas-assisted phage engineering for personalized antibacterial treatments. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 53: 100771, <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2024.100771>.
- Chen, W. H., Woolston, J., Grant-Beurmann, S., Robinson, C. K., Bansal, G., Nkeze, J., Permala-Booth, J., Fraser, C. M., Tennant, S. M., Shriver, M. C., Pasetti, M. F., Liang, Y., Kotloff, K. L., Sulakvelidze, A., Schwartz, J. A. (2024). Safety and tolerability of ShigActive™, a *Shigella* spp. targeting bacteriophage preparation, in a phase 1 randomized, double-blind, controlled clinical trial.

- Antibiotics*, 13(9): 858, <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090858>.
- Cheng, H., Zhang, D., Wu, J., Liu, J., Zhou, Y., Tan, Y., Feng, W., Peng, C. (2023). Interactions between gut microbiota and polyphenols: A mechanistic and metabolomic review. *Phytomedicine*, 119: 154979, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154979>.
- Choden, T., Cohen, N. A. (2022). The gut microbiome and the immune system. *Exploration of Medicine*, 3(3): 219–233, <https://doi.org/10.37349/emed.2022.00087>.
- Cieplak, T., Soffer, N., Sulakvelidze, A., Nielsen, D. S. (2018). A bacteriophage cocktail targeting *Escherichia coli* reduces *E. coli* in simulated gut conditions, while preserving a non-targeted representative commensal normal microbiota. *Gut Microbes*, 9(5): 391–399, <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1447291>.
- di Vito, R., Conte, C., Traina, G. (2022). A multi-strain probiotic formulation improves intestinal barrier function by the modulation of tight and adherent junction proteins. *Cells*, 11(16): 2617, <https://doi.org/10.3390/cells11162617>.
- Duan, Y., Young, R., Schnabl, B. (2022). Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 19(2): 135–144, <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00536-z>.
- Džidić-Krivić, A., Kusturica Jasna, Sher ,Emina Karahmet, Selak ,Njra, Osmančević ,Njra, Karahmet Farhat ,Esmā, and Sher, F. (2023). Effects of intestinal flora on pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Drug Metabolism Reviews*, 55(1-2): 126–139, <https://doi.org/10.1080/03602532.2023.2186313>.
- Eastwood, J., van Hemert, S., Poveda, C., Elmore, S., Williams, C., Lampton, D., Walton, G. (2023). The effect of probiotic bacteria on composition and metabolite production of faecal microbiota using in vitro batch cultures. *Nutrients*, 15(11): 2563, <https://doi.org/10.3390/nu15112563>.
- El Haddad, L., Mendoza, J. F., Jobin, C. (2022). Bacteriophage-mediated manipulations of microbiota in gastrointestinal diseases. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1055427, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1055427>.
- Emencheta, S. C., Olovo, C. V., Eze, O. C., Kalu, C. F., Berebon, D. P., Onuigbo, E. B., Vila, M. M. D. C., Balcão, V. M., Attama, A. A. (2023). The role of bacteriophages in the gut microbiota: Implications for human health. *Pharmaceutics*, 15(10): 2416, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15102416>.
- Febvre, H. P., Rao, S., Gindin, M., Goodwin, N. D. M., Finer, E., Vivanco, J. S., Lu, S., Manter, D. K., Wallace, T. C., Weir, T. L. (2019). PHAGE study: Effects of supplemental bacteriophage intake on inflammation and gut microbiota in healthy adults. *Nutrients*, 11(3): 666, <https://doi.org/10.3390/nu11030666>.
- Federici, S., Kredo-Russo, S., Valdés-Mas, R., Kviatkovsky, D., Weinstock, E., Matiuhin, Y., Silberberg, Y., Atarashi, K., Furuichi, M., Oka, A., Liu, B., Fibelman, M., Weiner, I. N., Khabra, E., Cullin, N., Ben-Yishai, N., Inbar, D., Ben-David, H., Nicenboim, J., ... Elinav, E. (2022). Targeted suppression of human IBD-associated gut microbiota commensals by phage consortia for treatment of intestinal inflammation. *Cell*, 185(16): 2879–2898.e24, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.07.003>.
- Fiore, W., Arioli, S., Guglielmetti, S. (2020). The neglected microbial components of commercial probiotic formulations. *Microorganisms*, 8(8): 1177, <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081177>.
- Fowoyo, P. T. (2024). Phage therapy: Clinical applications, efficacy, and implementation hurdles. *The Open Microbiology Journal*, 18(1): e18742858281566, <https://doi.org/10.2174/0118742858281566231221045303>.
- Fujisaka, S., Watanabe, Y., Tobe, K. (2023). The gut microbiome: A core regulator of metabolism. *The Journal of endocrinology*, 256(3): e220111, <https://doi.org/10.1530/JOE-22-0111>.
- Ganesan, R., Suk, K. T. (2022). Therapeutic potential of human microbiome-based short-chain fatty acids and bile acids in liver disease. *Livers*, 2(3): 139–145, <https://doi.org/10.3390/livers2030012>.

- Ghosh, T. S., Shanahan, F., O'Toole, P. W. (2022). The gut microbiome as a modulator of healthy ageing. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 19(9): 565-584, <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00605-x>.
- Grubb, D. S., Wrigley, S. D., Freedman, K. E., Wei, Y., Vazquez, A. R., Trotter, R. E., Wallace, T. C., Johnson, S. A., Weir, T. L. (2020). PHAGE-2 study: Supplemental bacteriophages extend *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL04 benefits on gut health and microbiota in healthy adults. *Nutrients*, 12(8): 2474, <https://doi.org/10.3390/nu12082474>.
- Hasain, Z., Raja Ali, R. A., Ahmad, H. F., Abdul Rauf, U. F., Oon, S. F., Mokhtar, N. M. (2022). The roles of probiotics in the gut microbiota composition and metabolic outcomes in asymptomatic post-gestational diabetes women: A randomized controlled trial. *Nutrients*, 14(18): 3878, <https://doi.org/10.3390/nu14183878>.
- Hemarajata, P., Versalovic, J. (2013). Effects of probiotics on gut microbiota: Mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 6(1): 39-51, <https://doi.org/10.1177/1756283X12459294>.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., Sanders, M. E. (2014). The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8): 506-514, <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.
- Hitchcock, N. M., Devequi Gomes Nunes, D., Shiach, J., Valeria Saraiva Hodel, K., Dantas Viana Barbosa, J., Alencar Pereira Rodrigues, L., Coler, B. S., Botelho Pereira Soares, M., Badaró, R. (2023). Current clinical landscape and global potential of bacteriophage therapy. *Viruses*, 15(4): 1020, <https://doi.org/10.3390/v15041020>.
- Howard, A., Carroll-Portillo, A., Alcock, J., Lin, H. C. (2024). Dietary effects on the gut phageome. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(16): 8690, <https://doi.org/10.3390/ijms25168690>.
- Hu, C., Shen, H. (2024). Microbes in health and disease: Human gut microbiota. *Applied Sciences*, 14(23): 11354, <https://doi.org/10.3390/app142311354>.
- Hu, J., Chen, J., Xu, X., Hou, Q., Ren, J., Yan, X. (2023). Gut microbiota-derived 3-phenylpropionic acid promotes intestinal epithelial barrier function via AhR signaling. *Microbiome*, 11(1): 102, <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01551-9>.
- Hul, M. V., Cani, P. D., Petitfils, C., Vos, W. M. D., Tilg, H., El-Omar, E. M. (2024). What defines a healthy gut microbiome?. *Gut*, 73(11): 1893–1908, <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2024-333378>.
- Ibrahim, R., Aranjani, J. M., Kalikot Valappil, V., Nair, G. (2025). Unveiling the potential bacteriophage therapy: A systematic review. *Future Science OA*, 11(1): 2468114, <https://doi.org/10.1080/20565623.2025.2468114>.
- Ioannou, P., Baliou, S., Samonis, G. (2023). Bacteriophages in infectious diseases and beyond—A narrative review. *Antibiotics*, 12(6): 1012, <https://doi.org/10.3390/antibiotics12061012>.
- Jang, J. W., Capaldi, E., Smith, T., Verma, P., Varga, J., Ho, K. J. (2024). Trimethylamine N-oxide: A meta-organismal axis linking the gut and fibrosis. *Molecular Medicine*, 30(1): 128, <https://doi.org/10.1186/s10020-024-00895-8>.
- Joos, R., Boucher, K., Lavelle, A., Arumugam, M., Blaser, M. J., Claesson, M. J., Clarke, G., Cotter, P. D., De Sordi, L., Dominguez-Bello, M. G., Dutilh, B. E., Ehrlich, S. D., Ghosh, T. S., Hill, C., Junot, C., Lahti, L., Lawley, T. D., Licht, T. R., Maguin, E., ... Ross, R. P. (2025). Examining the healthy human microbiome concept. *Nature Reviews Microbiology*, 23(3): 192-205, <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01107-0>.
- Kaczmarczyk, M., Szulińska, M., Łoniewski, I., Kręgielska-Narożna, M., Skonieczna-Żydecka, K., Kosciółek, T., Bezshapkin, V., Bogdański, P.

- (2022). Treatment with multi-species probiotics changes the functions, not the composition of gut microbiota in postmenopausal women with obesity: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12: 815798, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.815798>.
- Kawamoto, S., Hara, E. (2024). Crosstalk between gut microbiota and cellular senescence: A vicious cycle leading to aging gut. *Trends in Cell Biology*, 34(8): 626-635, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2023.12.004>.
- Kim, G.-H., Shim, J.-O. (2022). Gut microbiota affects brain development and behavior. *Clinical and Experimental Pediatrics*, 66(7): 274-280, <https://doi.org/10.3345/cep.2021.01550>.
- Kirk, D., Costeira, R., Visconti, A., Mirzaei, M. K., Deng, L., Valdes, A. M., Menni, C. (2024). Bacteriophages, gut bacteria, and microbial pathways interplay in cardiometabolic health. *Cell Reports*, 43(2): 113728, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113728>.
- Kuang, X., Shen, J., Zheng, L., Duan, Y., Ma, Y., Leung, E. L.-H., Dai, L. (2025). Applications of bacteriophages in precision engineering of the human gut microbiome. *Engineering Microbiology*, 5(1): 100189, <https://doi.org/10.1016/j.engmic.2025.100189>.
- Li, J., O'Toole, P. W. (2024). Disease-associated microbiome signature species in the gut. *PNAS Nexus*, 3(9): pgae352, <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgae352>.
- Li, Z., Xiong, W., Liang, Z., Wang, J., Zeng, Z., Kolat, D., Li, X., Zhou, D., Xu, X., Zhao, L. (2024). Critical role of the gut microbiota in immune responses and cancer immunotherapy. *Journal of Hematology & Oncology*, 17(1): 33, <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01541-w>.
- Li, Z., Yuan, H., Chu, H., Yang, L. (2023). The crosstalk between gut microbiota and bile acids promotes the development of non-alcoholic fatty liver disease. *Microorganisms*, 11(8): 2059, <https://doi.org/10.3390/microorganisms11082059>.
- Liang, G., Bushman, F. D. (2021). The human virome: Assembly, composition and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 19(8): 514-527, <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00536-5>.
- Liu, D., Zhang, Y., Liu, Y., Hou, L., Li, S., Tian, H., Zhao, T. (2018). Berberine modulates gut microbiota and reduces insulin resistance via the TLR4 signaling pathway. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 126(8): 513-520, <https://doi.org/10.1055/s-0043-125066>.
- Liu, S., Quek, S. Y., Huang, K. (2024). Advanced strategies to overcome the challenges of bacteriophage-based antimicrobial treatments in food and agricultural systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(33): 12574-12598, <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2254837>.
- Loh, J. S., Mak, W. Q., Tan, L. K. S., Ng, C. X., Chan, H. H., Yeow, S. H., Foo, J. B., Ong, Y. S., How, C. W., Khaw, K. Y. (2024). Microbiota-gut-brain axis and its therapeutic applications in neurodegenerative diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1): 1-53, <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01743-1>.
- Ma, Z. F., Lee, Y. Y. (2025). The role of the gut microbiota in health, diet, and disease with a focus on obesity. *Foods*, 14(3): 492, <https://doi.org/10.3390/foods14030492>.
- Madhogaria, B., Bhowmik, P., Kundu, A. (2022). Correlation between human gut microbiome and diseases. *Infectious Medicine*, 1(3): 180-191, <https://doi.org/10.1016/j.imj.2022.08.004>.
- Mann, E. R., Lam, Y. K., Uhlig, H. H. (2024). Short-chain fatty acids: Linking diet, the microbiome and immunity. *Nature Reviews Immunology*, 24(8): 577-595, <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01014-8>.
- Martino, C., Dillmore, A. H., Burcham, Z. M., Metcalf, J. L., Jeste, D., Knight, R. (2022). Microbiota succession throughout life from the cradle to the grave. *Nature Reviews Microbiology*, 20(12): 707-720, <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00768-z>.

- Mazziotta, C., Tognon, M., Martini, F., Torreggiani, E., Rotondo, J. C. (2023). Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health. *Cells*, 12(1): 184, <https://doi.org/10.3390/cells12010184>.
- McMurdie, P. J., Stoeva, M. K., Justice, N., Nemchek, M., Sieber, C. M. K., Tyagi, S., Gines, J., Skennerton, C. T., Souza, M., Kolterman, O., Eid, J. (2022). Increased circulating butyrate and ursodeoxycholate during probiotic intervention in humans with type 2 diabetes. *BMC Microbiology*, 22(1): 19, <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02415-8>.
- Michel, C., Blottière, H. M. (2022). Neonatal programming of microbiota composition: A plausible idea that is not supported by the evidence. *Frontiers in Microbiology*, 13: 825942, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.825942>.
- Nabi-Afjadi, M., Teymouri, S., Monfared, F. N., Varnosfaderani, S. M. N., Halimi, H. (2023). The human gut phageome: Identification and roles in the diseases. *Journal of Cellular Signaling*, 4(3):128-141, <https://doi.org/10.33696/Signaling.4.100>.
- Najmanová, L., Vídeňská, P., Cahová, M. (2022). Healthy microbiome – a mere idea or a sound concept? *Physiological Research*, 71(6): 719-738, <https://doi.org/10.33549/physiolres.934967>.
- Okolie, M. C., Edo, G. I., Ainyanbhor, I. E., Jikah, A. N., Akpogheli, P. O., Yousif, E., Zainulabdeen, K., Isoje, E. F., Igbuku, U. A., Orogu, J. O., Owhero, J. O., Essaghah, A. E. A., Umar, H. (2025). Gut microbiota and immunity in health and diseases: A review. *Proceedings of the Indian National Science Academy*. 91: 397–414, <https://doi.org/10.1007/s43538-024-00355-1>.
- Overby, H. B., Ferguson, J. F. (2021). Gut microbiota-derived short-chain fatty acids facilitate microbiota:Host cross talk and modulate obesity and hypertension. *Current Hypertension Reports*, 23(2): 8, <https://doi.org/10.1007/s11906-020-01125-2>.
- Pant, A., Maiti, T. K., Mahajan, D., Das, B. (2023). Human gut microbiota and drug metabolism. *Microbial Ecology*, 86(1): 97-111, <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02081-x>.
- Pinto, G., Shetty, S. A., Zoetendal, E. G., Gonçalves, R. F. S., Pinheiro, A. C., Almeida, C., Azeredo, J., Smidt, H. (2022). An in vitro fermentation model to study the impact of bacteriophages targeting Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* on the colonic microbiota. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 8(1), 74. <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00334-8>.
- Porter, S. B., Johnston, B. D., Kisiela, D., Clabots, C., Sokurenko, E. V., Johnson, J. R. (2022). Bacteriophage cocktail and microcin-producing probiotic *Escherichia coli* protect mice against gut colonization with multidrug-resistant *Escherichia coli* sequence type 131. *Frontiers in Microbiology*, 13: 887799, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.887799>.
- EPCU (2019). Regulation (EU) 2019/ of the European Parliament and of the Council of 11 December 2018 on veterinary medicinal products and repealing Directive 2001/82/EC. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32019R0006> (Erişim tarihi: 20.06.2025).
- Russell, A. L., McAdams, Z. L., Donovan, E., Seilhamer, N., Siegrist, M., Franklin, C. L., Ericsson, A. C. (2023). The contribution of maternal oral, vaginal, and gut microbiota to the developing offspring gut. *Scientific Reports*, 13(1): 13660, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40703-7>.
- Ryan, J. J., Patno, N. M. (2021). Short-term tolerability, safety, and gut microbial composition responses to a multi-strain probiotic supplement: An open-label study in healthy adults. *Integrative Medicine (Encinitas, Calif.)*, 20(1): 24-34.
- Salamat, S., Jahan-Mihan, A., Gharibvand, L., Reza Tabandeh, M., Mansoori, A. (2024). Multi-species synbiotic supplementation increased fecal short chain fatty acids and anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in adult men with dyslipidemia; A randomized, double-blind, clinical trial. *Cytokine*, 179: 156608, <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2024.156608>.
- Sarker, S. A., Sultana, S., Reuteler, G., Moine, D., Descombes, P., Charton, F., Bourdin, G., McCallin, S., Ngom-Bru, C., Neville, T., Akter,

- M., Huq, S., Qadri, F., Talukdar, K., Kassam, M., Delley, M., Loiseau, C., Deng, Y., Aidy, S. E., ... Brüssow, H. (2016). Oral phage therapy of acute bacterial diarrhea with two coliphage preparations: A randomized trial in children from Bangladesh. *eBioMedicine*, 4: 124-137, <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.12.023>.
- Schubert, C., Fischer, S., Dorsch, K., Teßmer, L., Hinrichs, J., Atamer, Z. (2022). Microencapsulation of bacteriophages for the delivery to and modulation of the human gut microbiota through milk and cereal products. *Applied Sciences*, 12(13): 6299, <https://doi.org/10.3390/app12136299>.
- Shao, T., Hsu, R., Rafizadeh, D. L., Wang, L., Bowlus, C. L., Kumar, N., Mishra, J., Timilsina, S., Ridgway, W. M., Gershwin, M. E., Ansari, A. A., Shuai, Z., Leung, P. S. C. (2023). The gut ecosystem and immune tolerance. *Journal of Autoimmunity*, 141: 103114, <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2023.103114>.
- Sheraz, M., Shi, H., Banerjee, S. (2025). Human microbiome and bacteriophages: Impacts on health and disease. *Current Clinical Microbiology Reports*, 12(1): 7, <https://doi.org/10.1007/s40588-025-00243-2>.
- Shkoporov, A. N., Hill, C. (2019). Bacteriophages of the human gut: The “known unknown” of the microbiome. *Cell Host & Microbe*, 25(2): 195-209, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.017>.
- Tarracchini, C., Lugli, G. A., Mancabelli, L., van Sinderen, D., Turrone, F., Ventura, M., Milani, H. (2024). Exploring the vitamin biosynthesis landscape of the human gut microbiota. *mSystems*, 9(10): e00929-24, <https://doi.org/10.1128/msystems.00929-24>.
- Thoda, C., Touraki, M. (2023). Immunomodulatory properties of probiotics and their derived bioactive compounds. *Applied Sciences*, 13(8): 4726, <https://doi.org/10.3390/app13084726>.
- Ullah, H., Arbab, S., Tian, Y., Liu, C., Chen, Y., Qijie, L., Khan, M. I. U., Hassan, I. U., Li, K. (2023). The gut microbiota-brain axis in neurological disorder. *Frontiers in Neuroscience*, 17: 1225875, <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1225875>.
- Vernocchi, P., Del Chierico, F., Putignani, L. (2020). Gut microbiota metabolism and interaction with food components. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10): 3688, <https://doi.org/10.3390/ijms21103688>.
- Visekruna, A., Luu, M. (2021). The role of short-chain fatty acids and bile acids in intestinal and liver function, inflammation, and carcinogenesis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9: 703218, <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.703218>.
- Vivek, K., Mishra, S., Pradhan, R. C., Nagarajan, M., Kumar, P. K., Singh, S. S., Manvi, D., Gowda, N. N. (2023). A comprehensive review on microencapsulation of probiotics: Technology, carriers and current trends. *Applied Food Research*, 3(1), 100248. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100248>.
- Wang, P., Wang, J., Li, D., Ke, W., Chen, F., Hu, X. (2020). Targeting the gut microbiota with resveratrol: A demonstration of novel evidence for the management of hepatic steatosis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 81: 108363. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108363>.
- Weir, T. (2024). PHAGE 3: Determination of phage and probiotic synergistic effects on gastrointestinal health. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05750433> (Erişim tarihi: 09.09.2025).
- Wiertsema, S. P., van Bergenhenegouwen, J., Garssen, J., Knippels, L. M. J. (2021). The interplay between the gut microbiome and the immune system in the context of infectious diseases throughout life and the role of nutrition in optimizing treatment strategies. *Nutrients*, 13(3): 886, <https://doi.org/10.3390/nu13030886>.
- Wu, M., Yang, S., Wang, S., Cao, Y., Zhao, R., Li, X., Xing, Y., Liu, L. (2020). Effect of berberine on atherosclerosis and gut microbiota modulation and their correlation in high-fat diet-fed ApoE^{-/-} mice. *Frontiers in Pharmacology*, 11: 223, <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00223>.
- Xu, J., Chen, H.-B., Li, S.-L. (2017). Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut

- microbiota. *Medicinal Research Reviews*, 37(5): 1140-1185, <https://doi.org/10.1002/med.21431>.
- Yadav, M. K., Kumari, I., Singh, B., Sharma, K. K., Tiwari, S. K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(2): 505-521, <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11646-8>.
- Yang, S., Liu, H., Liu, Y. (2025). Advances in intestinal epithelium and gut microbiota interaction. *Frontiers in Microbiology*, 16: 1499202, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1499202>.
- Yeşilyurt, N., Yılmaz, B., Ağagündüz, D., Capasso, R. (2021). Involvement of probiotics and postbiotics in the immune system modulation. *Biologics*, 1(2): 89-110, <https://doi.org/10.3390/biologics1020006>.
- Yu, X., Cheng, L., Yi, X., Li, B., Li, X., Liu, X., Liu, Z., Kong, X. (2024). Gut phageome: Challenges in research and impact on human microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1379382, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1379382>.
- Yue, M., Tao, Y., Fang, Y., Lian, X., Zhang, Q., Xia, Y., Wei, Z., Dai, Y. (2019). The gut microbiota modulator berberine ameliorates collagen-induced arthritis in rats by facilitating the generation of butyrate and adjusting the intestinal hypoxia and nitrate supply. *The FASEB Journal*, 33(11): 12311-12323, <https://doi.org/10.1096/fj.201900425RR>.
- Zhai, L., Wu, J., Lam, Y. Y., Kwan, H. Y., Bian, Z.-X., Wong, H. L. X. (2021). Gut-microbial metabolites, probiotics and their roles in type 2 diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23): 12846, <https://doi.org/10.3390/ijms222312846>.
- Zhang, Q., Bai, Y., Wang, W., Li, J., Zhang, L., Tang, Y., Yue, S. (2023). Role of herbal medicine and gut microbiota in the prevention and treatment of obesity. *Journal of Ethnopharmacology*, 305: 116127, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.116127>.
- Zhang, Q., Xu, Y., Bukvicki, D., Peng, Y., Li, F., Zhang, Q., Yan, J., Lin, S., Liu, S., Qin, W. (2024). Phenolic compounds in dietary target the regulation of gut microbiota: Role in health and disease. *Food Bioscience*, 62: 105107, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105107>.
- Zhao, Q., Chen, Y., Huang, W., Zhou, H., Zhang, W. (2023). Drug-microbiota interactions: An emerging priority for precision medicine. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1): 1-27, <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01619-w>.
- Zheng, Y., Zhang, Z., Tang, P., Wu, Y., Zhang, A., Li, D., Wang, C.-Z., Wan, J.-Y., Yao, H., Yuan, C.-S. (2023). Probiotics fortify intestinal barrier function: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Frontiers in Immunology*, 14: 1143548, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1143548>.
- Zhu, L., Yang, X. (2025). Gut microecological prescription: A novel approach to regulating intestinal micro-ecological balance. *International Journal of General Medicine*, 18: 603-626, <https://doi.org/10.2147/IJGM.S504616>.
- Zuppi, M., Hendrickson, H. L., O'Sullivan, J. M., Vatanen, T. (2022). Phages in the gut ecosystem. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11: 822562, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.822562>.
- Zuppi, M., Vatanen, T., Wilson, B. C., Golovina, E., Portlock, T., Cutfield, W. S., Vickers, M. H., O'Sullivan, J. M. (2024). Fecal microbiota transplantation alters gut phage communities in a clinical trial for obesity. *Microbiome*, 12(1): 122, <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01833-w>.

**PRODUCTION OF FERMENTED MILK USING HUMAN ORIGIN
BIFIDOBACTERIUM LONGUM BH28: A FUNCTIONAL AND
TECHNOLOGICAL ASSESSMENT****Hacer MERAL-AKTAŞ***

Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Ataturk University, Erzurum, Türkiye

Received/ Geliş: 26.07.2025; Accepted/ Kabul: 12.11.2025; / Published online Online baskı: 29.11.2025

*Meral-Aktaş, H. (2025). Production of fermented milk using human origin Bifidobacterium longum BH28: A functional and technological assessment. GIDA (2025) 50 (6) 1168-1185 doi: 10.15237/gida.GD25095**Meral-Aktaş, H. (2025). İnsan orijinli Bifidobacterium longum BH28 kullanılarak fermente süt üretimi: Fonksiyonel ve teknolojik değerlendirme. GIDA (2025) 50 (6) 1168-1185 doi: 10.15237/gida.GD25095***ABSTRACT**

In the present study, fermented milk was produced using the local *Bifidobacterium longum* BH28 strain, which was previously isolated from newborn feces and determined to be safe for use in foods. The *Streptococcus thermophilus* 212S strain was used both alone and in combination with *B. longum* BH28 or *Lactocaseibacillus paracasei* Shirota strains. The number of *B. longum* BH28 decreased to approximately 5 log cfu/mL on the 7th day and lost its suitability for the probiotic definition. Principal Component Analysis results showed that the samples were classified into three distinct groups based on culture type and storage time. However, it was determined that the different culture combinations applied did not create a statistically significant difference in total phenolic content, antioxidant capacity, water-holding capacity, and sensory characteristics. It was concluded that further research and process optimization are needed to maintain the live cell count of *B. longum* BH28 above 6 log cfu/mL.

Keywords: *Bifidobacterium longum*, fermented milk, probiotic**İNSAN ORİJİNLİ BIFIDOBACTERIUM LONGUM BH28 KULLANILARAK
FERMENTE SÜT ÜRETİMİ: FONKSİYONEL VE TEKNOLOJİK
DEĞERLENDİRME****ÖZ**

Sunulan çalışmada, daha önce yenidoğan feçesinden izole edilen ve gıdalarda kullanımının güvenli olduğu belirlenen yerel *Bifidobacterium longum* BH28 suşu ile fermente süt üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, *Streptococcus thermophilus* 212S suşu hem tek başına hem de *B. longum* BH28 veya *Lactocaseibacillus paracasei* Shirota suşları ile birlikte kullanılmıştır. *B. longum* BH28 sayısı 7. günde yaklaşık 5 log kob/mL seviyesine düşerek probiyotik tanımına uygunluk kriterini kaybetmiştir. Temel Bileşen Analizi sonuçları, örneklerin kültür tipine ve depolama süresine göre üç belirgin grupta sınıflandığını göstermiştir. Bununla birlikte, uygulanan farklı kültür kombinasyonlarının toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite, su tutma kapasitesi ve duyu özellikler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir. *B. longum* BH28'in canlı hücre sayısının 6 log kob/mL'nin üzerinde tutulabilmesi amacıyla, daha ileri düzeyde araştırmalara ve süreç optimizasyonuna ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Bifidobacterium longum*, fermente süt, probiyotik

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: hacar.meral@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 2484

☎: (+90) 442 231 5878

Hacer Meral-Aktaş; ORCID no: 0000-0001-5025-8702

INTRODUCTION

Fermented milk attracts consumer's attention with their beneficial effects on health, unique pleasant aroma, and high nutritional content. The functional, nutritional, and sensory properties of the final product are determined by antimicrobial metabolites, aroma compounds, organic acids, peptides, and other metabolites produced during the fermentation stage, which mainly involves lactic acid bacteria (LAB) (Galli et al., 2022). Probiotics are defined as live microorganisms that have positive effects on human health when taken in sufficient amounts (FAO/WHO 2022). Fermented milk is an ideal medium for the proliferation and transport of probiotics. The development of novel probiotic bacteria that are suited to multiplying in fermented milk is essential for improving the combination of probiotic bacteria and fermented milk (Tian et al., 2022).

Bifidobacteria are anaerobic, Gram-positive bacteria that live in the intestines of human and animals (Leahy et al., 2005). Studies have revealed many beneficial effects of bifidobacteria, including modulation of the immune system (Gavzy et al., 2023), prevention of constipation (Wang et al., 2022), reduction of symptoms of depression and anxiety (Li et al., 2023), facilitation of lactose digestion (Rasinkangas et al., 2022), and prevention of cancer (Parisa et al., 2020). The nutritional requirements of *Bifidobacterium* spp., their sensitivity to cold storage, and their anaerobic nature can limit their growth in fermented foods (Donkor et al., 2006; Shori, 2021). The use of *Bifidobacterium* spp. in co-culture with oxygen-using *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (*S. thermophilus*) can create a favorable environment for their growth in fermented milk (Ma et al., 2025).

Lacticaseibacillus paracasei Shirota (formerly *Lactobacillus casei* Shirota, *L. paracasei* Shirota) is a probiotic strain that has been used in fermented milk production for more than 80 years. This strain, which is also employed in the commercial production of the fermented beverage Yakult, has been reported to regulate the immune system, protect against infections and depression, and contribute to the treatment of various illnesses,

including constipation (Yang et al., 2023a). *Bifidobacterium longum* BH28 (*B. longum* BH28) was previously isolated from the feces of newborn, and *in vitro* probiotic and safety characterization was determined (Güler et al., 2024). This strain has been found to tolerate bile salts and simulated gastric conditions. It can auto-aggregate and has antimicrobial effects due to its production of organic acids. It is sensitive to many antibiotics recommended by the European Food Safety Authority (EFSA) and does not contain the investigated virulence genes. Additionally, it does not exhibit hemolytic or DNase activity. The objective of this study was to investigate the possibility of using potential probiotic and human origin *B. longum* BH28 in fermented milk production, in comparison with *L. paracasei* Shirota. Additionally, it was aimed to determine the microbiological and physicochemical properties, organic acid and total phenolic content (TPC), antioxidant capacity, and sensory evaluation of fermented milk samples.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains and culture conditions

B. longum BH28 strain was obtained from newborn feces previously and was preserved at -80°C in MRS (de Man Rogosa Sharpe, Merck, Darmstadt, Germany) broth containing glycerol (40%) and L-cysteine (0.05%). According to the *in vitro* probiotic characterization and safety assessments, Güler et al., (2024) determined that *B. longum* BH28 is a promising probiotic candidate and that its use in food is safe. *S. thermophilus* 212S strain was isolated from yoghurt and proposed as a starter culture by Aktaş and Çetin (2024a) and stored in M17 (Merck, Darmstadt, Germany) broth containing glycerol (40%). A well-known probiotic *L. paracasei* Shirota was isolated from Yakult beverage and stored at -80°C in MRS broth containing glycerol (40%). All strains were stored at Atatürk University Food Engineering Department Microbiology Laboratory Culture Collection and activated by subculturing in related media.

Fermented milk production

Commercially available ultrahigh temperature sterilized milk (UHT milk; 3.3% fat content,

Torku, Konya, Türkiye) was used for fermented milk production. The milk was heated to 37 °C and then divided into three batches. Each batch with an initial concentration of 10^6 CFU/mL was inoculated with the corresponding starting culture combinations as follows: A: *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28 (1:1), B: *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota (1:1), C: *S. thermophilus*

212S. After being moved to sterile glass bottles, the inoculated milk was incubated at 37 °C until its pH reached 4.6. After incubation, the samples were kept for 28 days at 4 °C (Figure 1). Fermented milk production was conducted in duplicate and analyzed at 1, 7, 14, 21, and 28 days of storage.

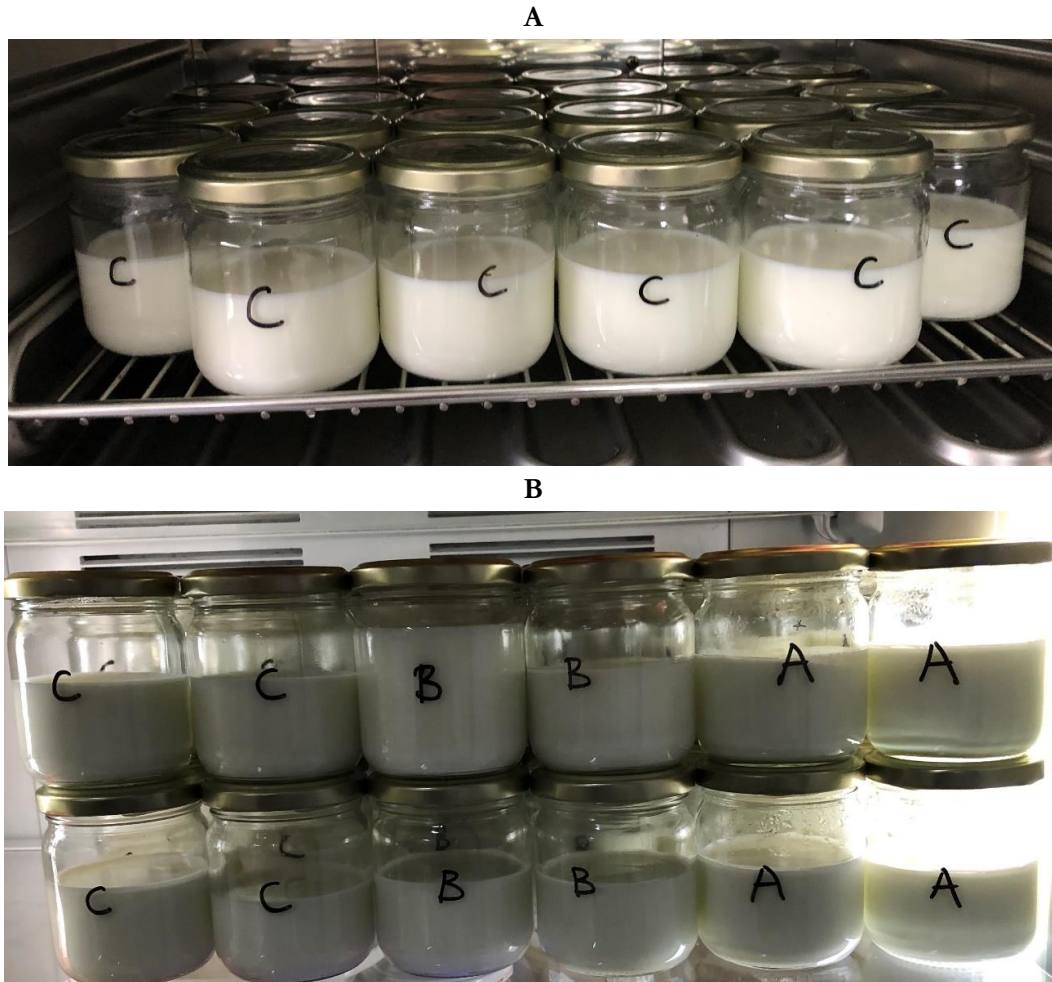


Figure 1. Sample image of a fermented milk sample undergoing incubation (A), Sample image of fermented milk stored in a refrigerator (B).

Microbiological analysis

Fermented milk was (10 mL) homogenized in Ringer's solution (90 mL) and serially diluted. For the enumeration of *S. thermophilus* 212S M17 agar was used according to Aktaş and Çetin (2024a) followed by incubation at 42 °C for 24 h aerobically. For *L. paracasei* Shirota enumeration,

the method proposed by Irigoyen et al. (2005) was used with slight modification. Accordingly, MRS agar was used by adding 0.3% bile salt and after cultivation, the plates were incubated anaerobically at 37 °C for 48 hours. For the enumeration of *B. longum* BH28 MRS agar containing 0.05% L-cysteine and 50 mg/L

mupirocin (mMRS) was used according to Güler et al., (2024) followed by incubation at 37 °C for 48 h anaerobically. For the enumeration of coliforms, Violet Bile Red agar (VRB, Merck) was used according to Anonymous (2010) method and then the plates were incubated at 37 °C for 24 h. For the enumeration of yeast and mold Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar (DRBC, Merck) was used according to Anonymous (2008) and then the plates were incubated at 25 °C for 5 days.

Physicochemical analysis

The pH of fermented milk samples was measured with a calibrated pH meter (Hanna Instruments, Italy). The titratable acidity of fermented milk samples was determined by titration method using a 0.1 N NaOH solution. The results were expressed as a lactic acid % (AOAC, 2005). To determine the water holding capacity (WHC), 10 g of the samples were weighed and centrifuged at 2750 ×g for 30 min (Allegra X-30R, Germany). The results were calculated using the following formula:

$$\text{WHC (\%)} = (W_2/W_1) \times 100$$

where W_1 is the amount of serum (g) separated from the sample after centrifugation, and W_2 is the initial sample weight (g) (Bensmira and Jiang 2012).

The viscosity of the samples was determined using a viscometer (Brookfield Viscometer Model DV-II, Stoughton, MA, USA) with spindle number 5. Viscosity measurements were conducted at 20 and 50 rpm for 30 s at 5 °C and the results were given in centipoise (cP) (El-Fattah et al., 2018).

Organic acid content

The quantification of organic acids (lactic, acetic, citric, malic and propionic acids) in fermented milk samples were conducted using high-performance liquid chromatography (HPLC) based on the method described by Atalar (2019), with slight modifications. Briefly, 5 g of each sample was extracted with 25 mL of 0.01 mol/L sulfuric acid (H_2SO_4). The mixture was homogenized and then centrifuged at 7000 ×g for 7 min at 4 °C. The resulting supernatant was filtered using a 0.45 µm nylon membrane filter (Supelco Iso-Disc™ N-25-4, 25 mm) and transferred into HPLC vials for analysis. Chromatographic separation was carried out on an HPLC system (Agilent Technologies, USA) equipped with a Spherisorb ODS2 column (4.6 × 250 mm, 5 µm particle size). The mobile phase consisted of 10 mM perchloric acid, delivered at a flow rate of 0.5 mL/min. Detection was performed at 210 nm, with the column temperature maintained at 35 °C (Figure 2).

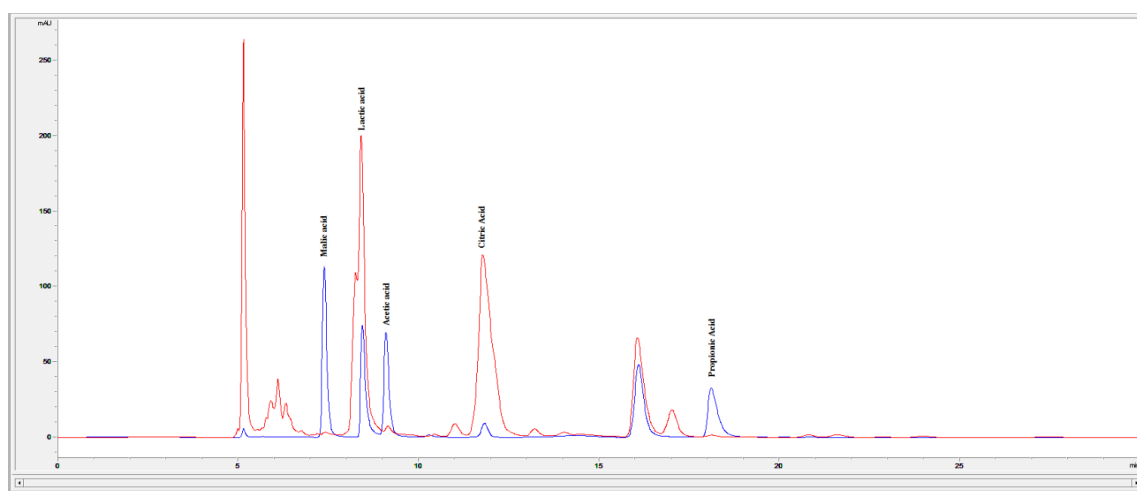


Figure 2. HPLC chromatograms of the organic acids. The blue chromatogram illustrates the standard mixture, while the red chromatogram displays the fermented milk sample.

Total phenolic content and antioxidant capacity

The extraction of fermented milk samples was conducted using the method described by Özcan et al., (2019), with slight modifications. Briefly, 10 g of each sample was extracted with 25 mL of an aqueous methanolic solution (80:20, v/v) and agitated with a shaker (SSL1, UK) for 6 h. The mixture was centrifuged at $1420 \times g$ for 10 min at 25 °C. The resulting supernatant was filtered with Whatman No. 1 filter paper and used to analyze TPC and antioxidant capacity.

TPC was determined using the Folin-Ciocalteu method. For this purpose, 100 μ L extract, 500 μ L Folin-Ciocalteu reagent, 400 μ L of 1 M Na_2CO_3 solution and 4 mL deionized water were mixed. The absorbance of the mixture was determined using a spectrophotometer (Epoch, BioTek, Winooski, Vermont, USA) at 760 nm after standing for 1 hour. The total phenolic content of fermented milk samples was determined according to the standard curve to be obtained using the gallic acid standard and the results were expressed as mg of gallic acid equivalent per kg (mg GAE/kg) (Maleki et al., 2015).

For the determination of DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging activity of fermented milk samples, 3.0 mL DPPH methanol solution (25 mg/L), and 1 mL extract were mixed. After incubation for 30 min at room temperature and in the dark, the mixture was centrifuged at $3000 \times g$ for 10 min. The absorbance values of the samples were then measured against the blind sample (methanol) at 517 nm using a spectrophotometer (Epoch, BioTek). The DPPH radical scavenging activity was determined using the following formula:

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = [1 - (A_{\text{extract}} / A_{\text{DPPH}})] \times 100$$

where A_{extract} denotes the absorbance measured for the sample, and A_{DPPH} refers to the absorbance of the control solution containing DPPH without any sample (Maleki et al., 2015).

Sensory analysis

The sensory attributes of the fermented milk samples including appearance, color, texture,

odor, taste, and overall acceptability were determined using a 9-point hedonic scale. The scale ranged from 1 to 9, with intermediate values representing varying degrees of preference (1-3: undesirable, 4-5: moderate, 6-7: desirable, 8-9: highly desirable). The samples were randomly coded and evaluated by a panel of 9 trained panelists who had completed formal sensory analysis training or relevant coursework (Meilgaard et al., 1999). All panelists were familiar with the sensory characteristics of fermented dairy products. The Atatürk University Faculty of Agriculture's Ethics Committee gave its ethical approval for the sensory evaluation (Protocol No. 2025/1).

Statistical analysis

The study involved the production of fermented milk samples in two distinct batches, with each sample undergoing analysis in at least two technical replicates. All the data are expressed as the mean $\pm$ standard deviations. The results were analyzed via the SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), and the significant differences between groups were determined via ANOVA. Duncan's multiple comparison analysis was used to compare mean values at a significance level of $P < 0.05$. Principal component analysis (PCA) was performed via the SIMCA 14.1 software (MKS UMETRICS, Umea, Sweden).

RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological analysis

The microbiological changes in the fermented milk during storage are shown in Table 1. In the production of fermented milk, sample A was inoculated with approximately 6 log CFU/mL *B. longum* BH28. The viable cell count increased to 7.32 log CFU/mL during fermentation, but decreased to 5.03 log CFU/mL by the 7th day of storage ($P < 0.001$). The count of *B. longum* BH28 did not change significantly at subsequent storage days and was found to be 4.95 log CFU/mL on day 28. According to the FAO/WHO (2002) definition, a probiotic food must contain a minimum of 6 log CFU/mL live cells to exert health benefits. As a result of this evaluation, the probiotic potential of sample A, produced with probiotic *B. longum* BH28 strain, was not

maintained after day 7. Similar decline trends in *Bifidobacterium* counts during refrigerated storage of dairy products have been reported by others. For instance, in the study, combinations of different yogurt starters and a human origin *B. longum* 5^{1A}, the researchers found that the count of *B. longum* 5^{1A} decreased from approximately 7 log CFU/mL to approximately 5 log CFU/mL on the 7th day of storage. The researchers also stated that the *B. longum* 5^{1A} count continued to decrease throughout the storage period, decreasing below 3 log CFU/mL on the 28th day (Souza et al., 2012). Similarly, in a study where *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* ATCC15697 (*B. longum* subsp. *infantis*) strain was used as an adjunct culture in yogurt production, the prebiotic effect of 2'-fucosyllactose was investigated. Accordingly, in both yogurts containing 2'-fucosyllactose at concentrations of 0% and 0.2%, the *B. longum* subsp. *infantis* ATCC15697 (initial concentration ~9 log CFU/mL) strain was found to be below the 6 log CFU/mL threshold after the 7th day (Xie et al., 2024). Damin et al. (2008) also found that

Bifidobacterium lactis counts decreased from 9.15 log CFU/mL to around 7 log CFU/mL in fermented milk during the 21 days of storage. These findings are often attributed to the low acid and oxygen tolerance of bifidobacteria, as well as their sensitivity to cold storage conditions (Donkor et al., 2006; Shori, 2021). To enhance the viability of *Bifidobacterium* spp. in fermented products, strategies such as microencapsulation, the addition of protective carriers, like prebiotics, or oxygen-reducing packaging systems may be considered (Shori, 2021; Jena and Choudhury, 2025). The inoculation level of *B. longum* BH28 was determined based on preliminary trials, which showed that the strain exhibited weak fermentation activity alone but reached probiotic levels (>8 log CFU/mL) when co-cultured with *S. thermophilus*. The rapid loss of viability in this study highlights the need for more live cells to be added initially, and the need for optimization of the formulation to maintain the probiotic potential of *B. longum* BH28 throughout the shelf life of the product.

 Table 1. Microbiological properties of fermented milk samples during storage^a

Microbiological parameters (Log CFU/mL)	Sample	Storage period (days)					Sig.
		1	7	14	21	28	
<i>B. longum</i> BH28	A	7.32±0.45 ^a	5.03±0.05 ^b	5.02±0.09 ^b	5.07±0.10 ^b	4.95±0.07 ^b	***
	B	nd	nd	nd	nd	nd	
	C	nd	nd	nd	nd	nd	
<i>L. paracasei</i> Shirota	A	nd	nd	nd	nd	nd	
	B	7.47±0.67 ^a	8.05±0.18 ^a	7.67±0.10 ^a	7.94±0.01 ^a	8.06±0.16 ^a	ns
	C	nd	nd	nd	nd	nd	
<i>S. thermophilus</i>	A	8.95±0.01 ^{aA}	8.91±0.03 ^{aA}	8.70±0.02 ^{cA}	8.84±0.01 ^{bA}	8.85±0.02 ^{bA}	***
	B	8.82±0.04 ^{aB}	8.67±0.05 ^{bB}	8.83±0.06 ^{aA}	8.86±0.17 ^{aA}	8.78±0.03 ^{aA}	*
	C	8.89±0.02 ^{bAB}	8.81±0.03 ^{bA}	8.84±0.02 ^{bA}	9.10±0.15 ^{aA}	8.85±0.02 ^{bA}	*
Sig.		*	*	ns	ns	ns	

^a A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S. Values are expressed as mean ± standard deviation. nd: not detected. Sig.: Degree of statistical significance, ns: Not statistically significant, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$. Lowercase and uppercase letter represent statistical differences in the same row and column, respectively.

The viable cell count of *L. paracasei* Shirota in sample B varied between 7.6 log CFU/mL and 8.06 log CFU/mL ($P > 0.05$), and the probiotic properties of the product were preserved throughout storage. Similar to our study, the viable count of *L. paracasei* Shirota in commercial fermented milk varied between 8.57 log CFU/mL

and 8.43 log CFU/mL during the 31 day storage period (Sumalapao et al., 2017). *S. thermophilus* 212S counts in fermented milk coded A, B, and C varied between 8.67 log CFU/mL and 9.10 log CFU/mL during storage and generally did not differ between the samples. Similarly, in the study conducted by Işık et al., (2023) *S. thermophilus* was

used as the starter culture, and the number of LAB growing on M17 agar was found to be around 8 log CFU/mL during storage. The presence of yeast, mold, and coliform group bacteria were not detected in any of the samples during the storage period.

Physicochemical analysis

Physicochemical properties of fermented milk during storage are presented in Table 2. The pH values of the samples ranged from 4.61 to 4.30. A general decrease in the pH values of the samples during storage were determined. Sample A, fermented with *B. longum* BH28 and *S. thermophilus* 212S, showed a pH decrease from 4.61 to 4.34 by day 28. Similarly, samples B and C followed a similar trend. A similar decreasing trend was observed by Yang et al. (2023b), who reported a significant decrease in the pH of goat milk fermented with yoghurt starter and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (*B. animalis* ssp. *lactis*) as an adjunct probiotic during storage. This difference can be attributed to the metabolic activity of the adjunct probiotic strains, which continued to ferment residual lactose and other carbohydrates, producing additional organic acids such as lactic

and acetic acid during cold storage. The titratable acidity (lactic acid %) of the samples ranged from 0.75% to 0.88%, and a significant increase in acidity was observed in all samples over the storage period ($P < 0.001$). Sample B (fermented with *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota) exhibited the highest lactic acid content on day 28 (0.88%), while sample C, fermented with only *S. thermophilus* 212S, showed slightly lower acidity levels on all storage days. Physicochemical properties of fermented milk were investigated in a study by Tian et al. (2022) in which *B. longum* CCFM5871 strain was used as an adjunct in addition to the yogurt starter culture. Similar to our study, pH values of these samples decreased during storage, while %lactic acid values increased and this change was found to be higher in fermented milk produced by adding *B. longum* CCFM5871 strain compared to the control. According to the Codex Alimentarius Standard for Fermented Milks (2003), the titratable acidity in fermented milk should not be less than 0.3%. All fermented milks produced in this study comply with the codex.

Table 2. Physicochemical properties of fermented milk samples during storage^a

Parameters	Sample	Storage period (days)					Sig.
		1	7	14	21	28	
pH	A	4.61±0.00 ^{aA}	4.43±0.01 ^{bAB}	4.41±0.00 ^{cA}	4.34±0.00 ^{dB}	4.34±0.00 ^{dB}	***
	B	4.51±0.01 ^{aB}	4.40±0.01 ^{bB}	4.30±0.06 ^{cA}	4.31±0.00 ^{cB}	4.31±0.01 ^{cB}	**
	C	4.60±0.00 ^{aA}	4.46±0.00 ^{bA}	4.40±0.00 ^{cA}	4.41±0.01 ^{cA}	4.41±0.00 ^{cA}	***
Sig.		**	*	ns	**	**	
lactic acid %	A	0.76±0.00 ^{dA}	0.82±0.00 ^{cB}	0.84±0.00 ^{bA}	0.86±0.00 ^{aB}	0.86±0.00 ^{aB}	***
	B	0.77±0.00 ^{dA}	0.83±0.00 ^{cA}	0.84±0.00 ^{bA}	0.88±0.00 ^{aA}	0.88±0.00 ^{aA}	***
	C	0.75±0.00 ^{dB}	0.80±0.00 ^{cC}	0.81±0.00 ^{bB}	0.82±0.05 ^{aC}	0.82±0.00 ^{aC}	***
Sig.		*	**	**	**	***	
WHC (%)	A	48.26±0.66 ^{dA}	59.48±0.89 ^{aA}	55.60±0.31 ^{cA}	57.86±0.35 ^{bA}	56.81±0.46 ^{bcA}	***
	B	48.42±0.14 ^{cA}	58.92±0.05 ^{aA}	54.98±0.26 ^{bA}	58.15±0.03 ^{aA}	58.08±0.70 ^{aA}	***
	C	48.86±0.67 ^{dA}	60.45±0.37 ^{aA}	55.43±0.29 ^{cA}	57.87±0.0 ^{bA}	58.20±0.26 ^{bA}	***
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	
η ₂₀ (cP)	A	16151.5±818.2 ^{aA}	15013.9±554.4 ^{bb}	12568.5±703.5 ^{cA}	11977.6±634.8 ^{dA}	11320.0±597.6 ^{eB}	***
	B	16265.5±697.4 ^{aA}	15287.9±507.9 ^{bA}	12571.5±836.4 ^{cA}	12092.1±508.1 ^{dA}	11769.1±716.1 ^{dA}	***
	C	15905.5±961.5 ^{aA}	14475.8±340.5 ^{bc}	11022.4±707.2 ^{cB}	10577.6±828.4 ^{dB}	10053.3±800.1 ^{cC}	***
Sig.		ns	***	***	***	***	
η ₅₀ (cP)	A	6960.7±210.1 ^{aA}	5272.7±387.9 ^{cB}	5482.3±180.4 ^{bA}	5546.2±372.9 ^{bA}	4946.8±212.6 ^{dB}	***
	B	6887.2±203.4 ^{aA}	5766.8±249.6 ^{bA}	5402.6±337.1 ^{cA}	5468.1±272.9 ^{cA}	5394.9±286.2 ^{cA}	***
	C	6808.5±474.7 ^{aA}	4581.1±251.4 ^{bC}	4414.1±317.8 ^{cB}	4678.1±166.5 ^{bB}	4672.9±137.2 ^{bC}	***
Sig.		ns	***	***	***	***	

^a A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S. Values are expressed as mean ± standard deviation. Sig.: Degree of statistical significance, ns: Not statistically significant, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$. WHC: Water-holding capacity, η₂₀: Apparent viscosity at 20 rpm, η₅₀: Apparent viscosity at 50 rpm. Lowercase and uppercase letter represent statistical differences in the same row and column, respectively.

The water holding capacity (WHC) of fermented milk samples varied between 48.26 and 60.45% during storage. WHC increased significantly ($P<0.001$) on the 7th day of storage in all samples but showed no significant differences between samples ($P>0.05$). The highest WHC value (60.45%) was determined on day 7 only in sample C fermented with *S. thermophilus* 212S, but the fluctuations in WHC were small in all samples. Similar to our study, in a study by Yang et al. (2023b), the WHC of goat milk fermented using yogurt starter culture and *B. animalis* ssp. *lactis* strain ranged from about 50 to 62.5%, but decreased during storage. On the other hand, similar to our results, Aktaş and Çetin (2024b) reported that the WHC percentages of the yogurts produced using different starter culture combinations increased during storage and ranged between 46.52 and 55.17%. The significant increase in WHC determined at day 7 is likely related to changes in the milk gel microstructure during early storage. Acidification by starter cultures can generally increase WHC by promoting casein aggregation and network tightening, trapping more serum. Longer storage or increased proteolytic activity may subsequently weaken the protein network and increase syneresis (Arab et al., 2023).

The viscosity values of the fermented milk samples at 20 and 50 rpm ranged between 16265.5-10053.3 and 6960.7-4414.1 cP, respectively. On the first day of storage, at both 20 and 50 rpm, there was no significant difference between the viscosities of the samples ($P>0.05$) and the highest values were found on this day. On the other hand, viscosity values at both shear rates showed a consistent decline over time in all samples ($P<0.001$), with sample C exhibiting the steepest reduction. In addition, Sample C was found to have the lowest ($P<0.001$) viscosity values throughout storage except for day 1. Aktaş and Çetin (2024b) also reported that different starter cultures cause differences in the viscosity of fermented milk. Partly similar to our study, Son et al. (2023) reported that with higher *B. longum* inoculation levels, the viscosity of milk increased significantly during the fermentation stage, probably due to increased exopolysaccharide

(EPS) production and its interaction with milk proteins. The use of *S. thermophilus* as a co-culture in fermented milk may have developed a symbiotic relationship with other bacteria and stimulate them to produce EPS.

Organic acid content

Organic acid contents of fermented milk during storage are presented in Figure 3 and Table 3. The flavor of fermented foods is significantly impacted by the presence of organic acids. These acids also play a crucial role in preserving the shelf life of these products (Ndhlala et al., 2022). The amounts of lactic acid in the fermented milks varied from 9149.5 to 11041.3 µg/mL for sample A, from 9465.2 to 11432.8 µg/mL for sample B, and from 9533.9 to 10998.4 µg/mL for sample C. In addition, the lactic acid content increased from day 1 to day 28 in all samples ($P<0.001$). The significantly higher level of lactic acid in sample B indicates the high metabolic activity of *L. paracasei* Shirota. In a study conducted by Xie et al. (2024), *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536 and *B. longum* subsp. *infantis* ATCC15697 strains were used as adjunct cultures in yogurt production, and it was also reported that lactic acid concentrations increased during 35 days of storage. Similar to our results, Nguyen et al. (2014) and Aktaş and Çetin (2024b) and stated that the lactic acid content in yogurts was around 10,000 µg/mL (ppm) and increased during storage. The amounts of acetic acid in the fermented milks varied from 211.19 to 337.16 µg/mL for sample A, from 125.63 to 178.61 µg/mL for sample B, and from not detected to 144.14 µg/mL for sample C. Acetic acid levels in the samples generally increased with storage duration, with the highest values found in sample A and the lowest values found in sample C. *B. longum* utilizes the fructose-6-phosphate phosphoketolase pathway (bifid shunt) to ferment carbohydrates, resulting in the concurrent production of lactate and acetate in varying proportions (Suzuki et al., 2010). Similar activity in mixed cultures of bifidobacteria and lactic acid bacteria have also been determined by others (Adhikari et al., 2002; Sun et al., 2023; Xie et al., 2024). The malic acid amounts of fermented milks varied from not detected to 118.37 µg/mL for sample A, from 122.87 to 148.29 µg/mL for

sample B, and from not detected to 138.57 µg/mL for sample C. The malic acid concentration in sample B remained relatively stable until day 28, while it was not detectable in samples A and C on day 28. This suggests strain dependent metabolism of malic acid. Malic acid is a naturally occurring intermediate in the tricarboxylic acid (TCA) cycle, formed during the sequence of oxidative reactions that begins with the condensation of oxaloacetate and acetyl-CoA to produce citrate (Wei et al., 2021). The increase in malic acid during storage may suggest that the bacteria needed more energy, which activated the citric acid cycle (Li et al., 2021). The amounts of citric acid in the fermented milks varied from 4885.93 to 5444.76 µg/mL for sample A, from 4899.37 to 5514.65 µg/mL for sample B, and from 5067.50 to 5569.61 µg/mL for sample C. All samples exhibited significant increases during storage ($P < 0.001$). Similar to our study, Akgün et

al. (2018) reported that lactic and citric acids were the predominant organic acids in buffalo yogurt produced with yogurt starters (*S. thermophilus*, and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (*L. bulgaricus*) and a combination of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12® (*B. animalis* subsp. *lactis*), *Lactobacillus acidophilus* LA-5® (*L. acidophilus*), *S. thermophilus*, and *L. bulgaricus*. They also found that lactic, acetic, and citric acids increased during storage. On the other hand, Aktaş and Çetin (2024b) reported that the citric acid content in the yogurts they produced using different starter cultures varied between 1912.91 and 2635.02 µg/mL. The fact that the results in our study are higher than this value may be due to the differences in the strains used. Propionic acid was not detected in any of the samples, suggesting that the culture and storage conditions were not conducive to propionic acid production.

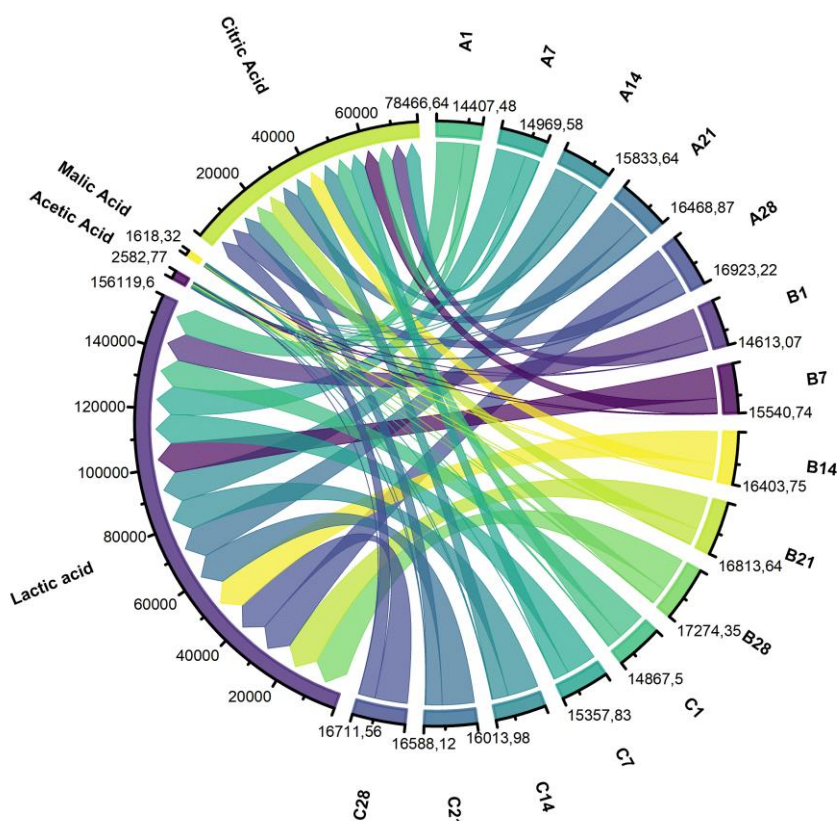


Figure 3. Chord diagram illustrating the results of the organic acid analysis of the fermented milk samples.

Table 3. Organic acid content of fermented milks during storage^a

Organic acids (µg/mL)	Sample	Storage period (days)					Sig.
		1	7	14	21	28	
Lactic acid	A	9149.5±50.8 ^{cB}	9771.5±25.6 ^{dC}	10344.0±76.0 ^{cB}	10705.2±22.6 ^{bB}	11041.3±83.8 ^{aB}	***
	B	9465.2±66.5 ^{cA}	10316.1±60.3 ^{dA}	10902.2±29.8 ^{cA}	11085.2±43.5 ^{bA}	11432.8±51.4 ^{aA}	***
	C	9533.9±50.9 ^{cA}	10156.9±26.0 ^{dB}	10405.0±18.4 ^{cB}	10812.6±95.9 ^{bB}	10998.4±101.1 ^{aB}	***
Sig.		*	**	**	*	*	
Acetic acid	A	220.52±4.83 ^{dA}	211.19±7.08 ^{dA}	231.33±0.09 ^{cA}	286.80±0.64 ^{bA}	337.16±3.18 ^{aA}	***
	B	125.63±2.78 ^{cB}	140.00±4.59 ^{bcB}	161.51±20.78 ^{abB}	171.74±1.23 ^{aB}	178.61±1.53 ^{aB}	*
	C	103.56±2.44 ^{cC}	ND ^{dC}	127.03±0.42 ^{bB}	144.14±1.24 ^{aC}	143.55±1.86 ^{aC}	***
Sig.		***	***	**	***	***	
Malic acid	A	118.37±20.47 ^{aA}	100.96±3.70 ^{aB}	109.06±3.36 ^{aA}	95.45±1.82 ^{aB}	ND ^{bB}	***
	B	122.87±3.24 ^{aA}	142.36±3.58 ^{aA}	134.52±14.50 ^{aA}	141.72±8.04 ^{aA}	148.29±10.81 ^{aA}	ns
	C	138.57±1.99 ^{aA}	133.43±5.28 ^{aA}	128.98±7.69 ^{aA}	103.74±0.37 ^{bB}	ND ^{cB}	
Sig.		ns	**	ns	**	***	
Citric acid	A	4919.09±27.06 ^{dB}	4885.93±26.22 ^{dB}	5149.25±34.69 ^{cA}	5381.62±25.46 ^{bB}	5544.76±27.03 ^{aA}	***
	B	4899.37±6.89 ^{cB}	4942.28±33.16 ^{cB}	5205.52±98.49 ^{baA}	5414.98±32.19 ^{aB}	5514.65±68.14 ^{aA}	***
	C	5091.47±34.58 ^{cA}	5067.50±25.10 ^{cA}	5352.97±13.76 ^{baA}	5527.64±26.67 ^{aA}	5569.61±0.48 ^{aA}	***
Sig.		**	*	ns	*	ns	
Propionic acid	A	ND	ND	ND	ND	ND	-
	B	ND	ND	ND	ND	ND	-
	C	ND	ND	ND	ND	ND	-
Sig.		-	-	-	-	-	

^a A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S. Values are expressed as mean ± standard deviation. ND: Not determined, Sig.: Degree of statistical significance, ns: Not statistically significant, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$. Lowercase and uppercase letter represent statistical differences in the same row and column, respectively.

Total phenolic content and antioxidant capacity

TPC and antioxidant capacity of fermented milk during storage are presented in Figure 4A, 4B, respectively, and Table 4. The TPC content of fermented milk varied between 23.40 and 26.92 mg GAE/L and there were no significant differences between the samples and storage time ($P > 0.05$). Similar to TPC, the DPPH free radical scavenging activities (expressed as IC₅₀ values) of the fermented milks did not differ statistically between the samples and throughout storage ($P > 0.05$). IC₅₀ values of fermented milk varied between 98.92 and 112.01 mg/mL during storage. Antioxidant activity can be exhibited by amino acids and small molecule peptides released during milk fermentation (Farvin et al., 2010). The literature contains different results regarding the TPC and DPPH scavenging activities of milk fermented using probiotic cultures. For example, in a study conducted by Hanum et al. (2022) IC₅₀ values of fermented goat milk produced by adding different concentrations of *B. longum* varied between 99.12 and 123.46 ppm and antioxidant activity increased as the concentration of the culture increased. The TPC of cow's milk kefir

produced by adding *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*), *B. longum*, and kefir starter cultures ranged from 63.82 to 82.62 mg GAE/L, with IC₅₀ values ranging from 105.92 to 139.56 mg/mL, over 28 days of storage (Meral-Aktaş et al., 2025). On the other hand, Barat and Özcan (2018) determined that the TPC content of milk fermented using *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, and *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* (*B. animalis* spp. *lactis*) strains was 3.87 mg GAE/100 g dry weight. These differences in results may be due to variations in the cultures used, milk type, fermentation stage, and methodology.

Sensory analysis

Sensory analysis results of fermented milk during storage are presented in Figure 5, and Table 5. No differences were found between the samples in terms of all sensory properties during storage ($P > 0.05$). On the other hand, there was a general decrease in the color scores of all samples during storage ($P < 0.05$). Similarly, there was a non-linear decrease in the appearance score of samples A and B. Despite this decrease, all color and appearance scores of the samples were above 7.45 (6-7: desirable) throughout storage. In a study by

Casarotti et al. (2014), fermented milk was produced using *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, and *B. animalis* spp. *lactis* strains as single and mixed cultures with *S. thermophilus*. The authors stated that the samples in which *B. animalis* subsp. *lactis* was used as a single culture and mixed culture with *S. thermophilus* received the highest overall acceptability scores. In the study conducted by Li et al. (2020), it was found that there was no significant difference in the sensory properties of fermented milks produced using different combinations of *S. thermophilus*, *L. plantarum*, and *B. animalis* strains on the 1st day of storage, but

there were significant differences between the samples on the 21st day. Accordingly, on day 21, fermented milk produced with *S. thermophilus* with 2:1 of *L. plantarum* and *B. animalis* had the highest overall acceptability score, while fermented milk produced with *S. thermophilus* with 1:2 of *L. plantarum* and *B. animalis* had the lowest overall acceptability score. The lack of significant differences in sensory characteristics between samples and during storage suggest that the *B. longum* BH28 strain can be used in the production of fermented milk without adversely affecting its sensory characteristics.

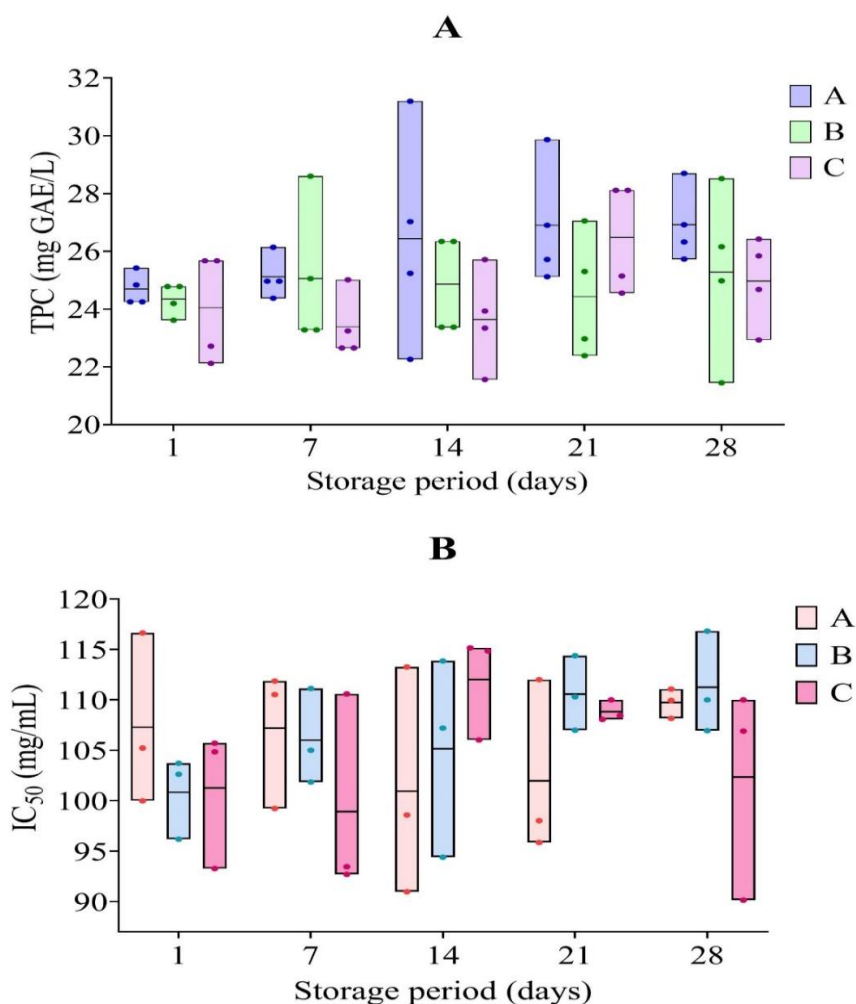


Figure 4. Total phenolic content (A) and antioxidant capability (B) of the fermented milk samples. A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S. Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation.

Production of fermented milk with the Bifidobacterium longum BH28 strain

Table 4. Total phenolic content and antioxidant activity of fermented milks during storage^a

Parameters	Sample	Storage period (days)					Sig.
		1	7	14	21	28	
TPC (mg GAE/L)	A	24.69±0.56 ^{aA}	25.11±0.74 ^{aA}	26.43±3.73 ^{aA}	26.90±2.11 ^{aA}	26.92±1.28 ^{aA}	ns
	B	24.35±0.60 ^{aA}	25.06±2.51 ^{aA}	24.86±1.71 ^{aA}	24.43±2.16 ^{aA}	25.28±2.95 ^{aA}	ns
	C	24.05±1.89 ^{aA}	23.40±1.12 ^{aA}	23.64±1.71 ^{aA}	26.48±1.90 ^{aA}	24.97±1.54 ^{aA}	ns
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	
Antioxidant activity (IC ₅₀ , mg/mL)	A	107.28±8.51 ^{aA}	107.20±6.93 ^{aA}	100.94±11.32 ^{aA}	101.96±8.76 ^{aA}	109.72±1.47 ^{aA}	ns
	B	100.84±4.07 ^{aA}	106.00±4.71 ^{aA}	105.15±9.89 ^{aA}	110.56±3.70 ^{aA}	111.25±5.06 ^{aA}	ns
	C	101.28±6.94 ^{aA}	98.92±10.11 ^{aA}	112.01±5.18 ^{aA}	108.83±1.03 ^{aA}	102.35±10.68 ^{aA}	ns
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	

^a A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S. Values are expressed as mean ± standard deviation. Sig.: Degree of statistical significance, ns: Not statistically significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001. Lowercase and uppercase letter represent statistical differences in the same row and column, respectively.

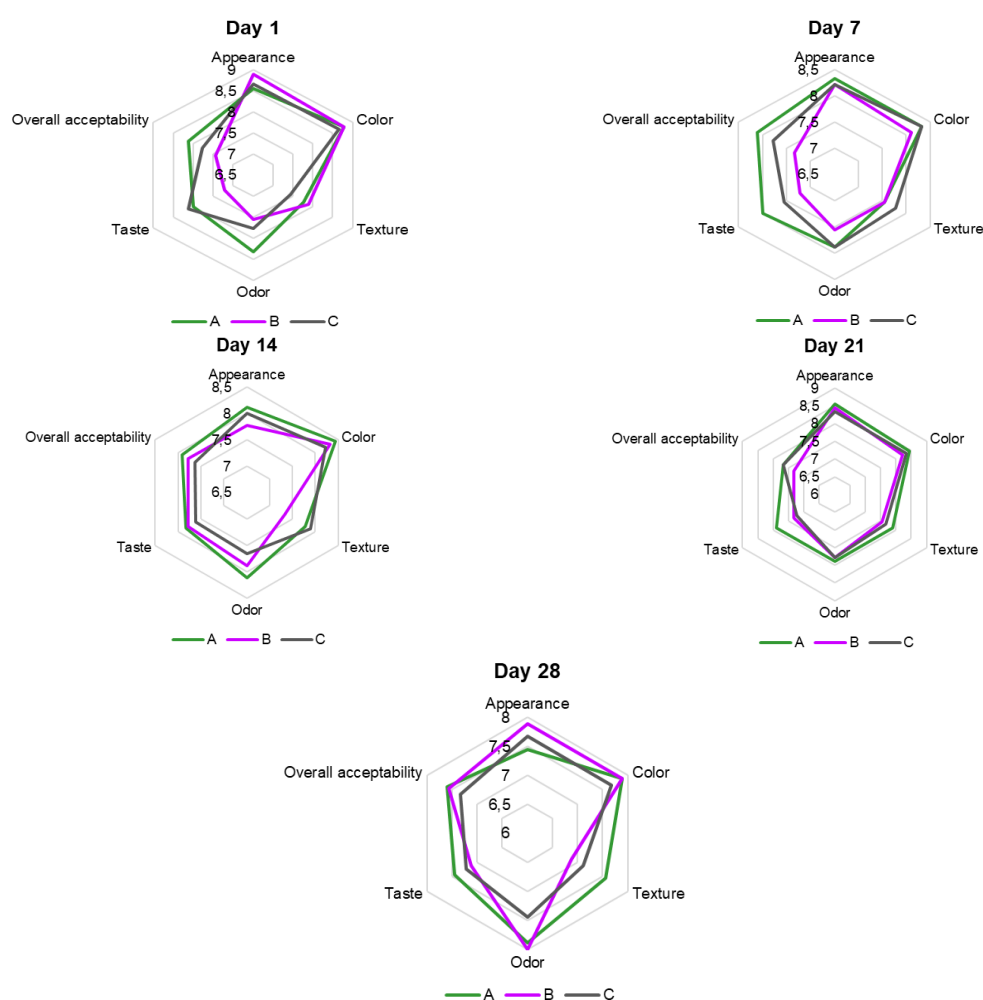


Figure 5. Sensory analysis results of fermented milk samples. A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S. Values are expressed as mean ± standard deviation.

Table 5. Sensory analysis results of fermented milks during storage^a

Sensory parameters	Sample	Storage period (days)					Sig.
		1	7	14	21	28	
Appearance	A	8.56±0.53 ^a	8.34±0.71 ^a	8.12±0.71 ^{ab}	8.56±0.53 ^a	7.45±1.34 ^b	*
	B	8.89±0.34 ^a	8.22±0.44 ^{bc}	7.78±0.44 ^c	8.45±0.53 ^{ab}	7.89±0.78 ^c	***
	C	8.67±0.50 ^a	8.23±0.67 ^a	8.00±0.71 ^a	8.34±0.71 ^a	7.67±1.00 ^a	ns
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	
Color	A	8.77±0.44 ^a	8.34±0.71 ^{ab}	8.45±0.53 ^{ab}	8.45±0.52 ^{ab}	7.89±0.60 ^b	*
	B	8.78±0.44 ^a	8.11±0.60 ^b	8.34±0.50 ^{ab}	8.23±0.67 ^{ab}	7.89±0.60 ^b	*
	C	8.66±0.50 ^a	8.34±0.50 ^a	8.23±0.67 ^a	8.34±0.50 ^a	7.67±0.71 ^b	*
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	
Texture	A	7.77±0.67 ^a	7.56±1.24 ^a	7.78±0.44 ^a	7.89±0.60 ^a	7.56±1.13 ^a	ns
	B	7.89±0.60 ^a	7.56±1.24 ^a	7.34±1.00 ^a	7.56±0.53 ^a	6.89±0.78 ^a	ns
	C	7.45±1.01 ^a	7.78±0.67 ^a	7.89±0.78 ^a	7.67±0.87 ^a	7.12±1.36 ^a	ns
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	
Odor	A	8.34±0.71 ^a	7.89±1.17 ^a	8.12±0.78 ^a	7.89±0.60 ^a	7.89±0.60 ^a	ns
	B	7.56±1.01 ^a	7.55±1.00 ^a	7.89±0.60 ^a	7.78±0.44 ^a	8.00±0.71 ^a	ns
	C	7.78±1.09 ^a	7.89±0.93 ^a	7.67±1.00 ^a	7.78±0.67 ^a	7.45±0.88 ^a	ns
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	
Taste	A	8.00±1.00 ^a	8.00±0.87 ^a	7.84±1.00 ^a	7.89±0.78 ^a	7.45±1.01 ^a	ns
	B	7.23±0.97 ^a	7.23±1.39 ^a	7.78±0.44 ^a	7.34±0.87 ^a	7.12±0.78 ^a	ns
	C	8.12±0.78 ^a	7.56±1.13 ^a	7.61±1.17 ^a	7.23±0.67 ^a	7.23±0.84 ^a	ns
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	
Overall acceptability	A	8.12±0.78 ^a	8.12±0.78 ^a	7.92±1.06 ^a	7.67±0.71 ^a	7.60±0.99 ^a	ns
	B	7.45±1.13 ^a	7.34±1.12 ^a	7.78±0.44 ^a	7.34±0.71 ^a	7.56±1.01 ^a	ns
	C	7.78±0.67 ^a	7.78±0.84 ^a	7.64±0.86 ^a	7.67±0.50 ^a	7.34±0.87 ^a	ns
Sig.		ns	ns	ns	ns	ns	

^a A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S. Values are expressed as mean ± standard deviation. Sig.: Degree of statistical significance, ns: Not statistically significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001. Lowercase and uppercase letter represent statistical differences in the same row and column, respectively.

Principal component analysis

Microbiological and physicochemical properties, organic acid, total phenolic content, antioxidant capacity, and overall acceptability scores of fermented milk samples were taken into consideration and analyzed by PCA, and the results are shown in Figure 6A-D. Three clusters of samples were created on hierarchical cluster analysis (HCA, Figure 6A). Group 1 included A1, B1, and C1, early storage points, indicating that these samples shared similar characteristics. Regarding sample C, there was no homogeneous distribution among groups 2 and 3. Sample A was generally clustered in group 2, and sample B was generally clustered in group 3. These patterns suggest that both the type of inoculum and the storage time significantly influenced the overall product profile. The PCA score plot (Figure 4B) revealed that PC1 and PC2 explained 41.3% and 22.1% of the total variance (62.4%), respectively. In alignment with the HCA results, samples

clustered into three distinct groups. According to the biplot analysis (Figure 4D), samples A (A7, A14, A21, and A28) were separated as group 2, which probably indicated a distinct profile due to the presence of *B. longum* BH28 and its production of acetic acid. Conversely, the B samples (B1, B7, B14, and B21) formed a distinct group (group 3), likely due to the presence of *L. paracasei* Shirota and high malic acid content. In addition, group 1, which includes A1, B1, and C1, is characterized by high pH and viscosity.

CONCLUSION

In the present study, human origin *B. longum* BH28 and *L. paracasei* Shirota were cultured together with *S. thermophilus* 212S to produce fermented milk. These fermented milks differ from each other in terms of certain microbiological, physicochemical, and functional properties. The number of *B. longum* BH28 in sample A, which was produced using *B. longum*

BH28 and *S. thermophilus* 212S, was around 7 log CFU/mL on the first day of storage. On the seventh day, the number had fallen to 5 log CFU/mL, and it remained stable until the end of storage. The probable probiotic count, which fell below 6 log CFU/mL, led to a loss of probiotic properties in the product. An examination of the physicochemical properties of the products revealed that the viscosities of samples A and B, which were produced with the addition of probiotic cultures, were generally found to be higher than that of sample C (only *S. thermophilus* 212S). This phenomenon can be attributed to the enhanced EPS production potential of probiotics. During the storage period, lactic acid was identified as the predominant organic acid in all

the fermented milk samples examined. Additionally, acetic acid levels were found to be elevated in sample B relative to the other samples. On the other hand, no significant differences were found between the samples in terms of TPC, antioxidant capacity, and sensory properties. Specifically, elevated sensory analysis scores indicated the potential for *B. longum* BH28 strain to be utilized in fermented dairy products and to gain approval among consumers. Further studies may undertake a more thorough examination of techniques such as high-rate culture addition, microencapsulation, and prebiotic utilization to ensure the maintenance of a minimum population of *B. longum* BH28 at 6 log CFU/mL during storage.

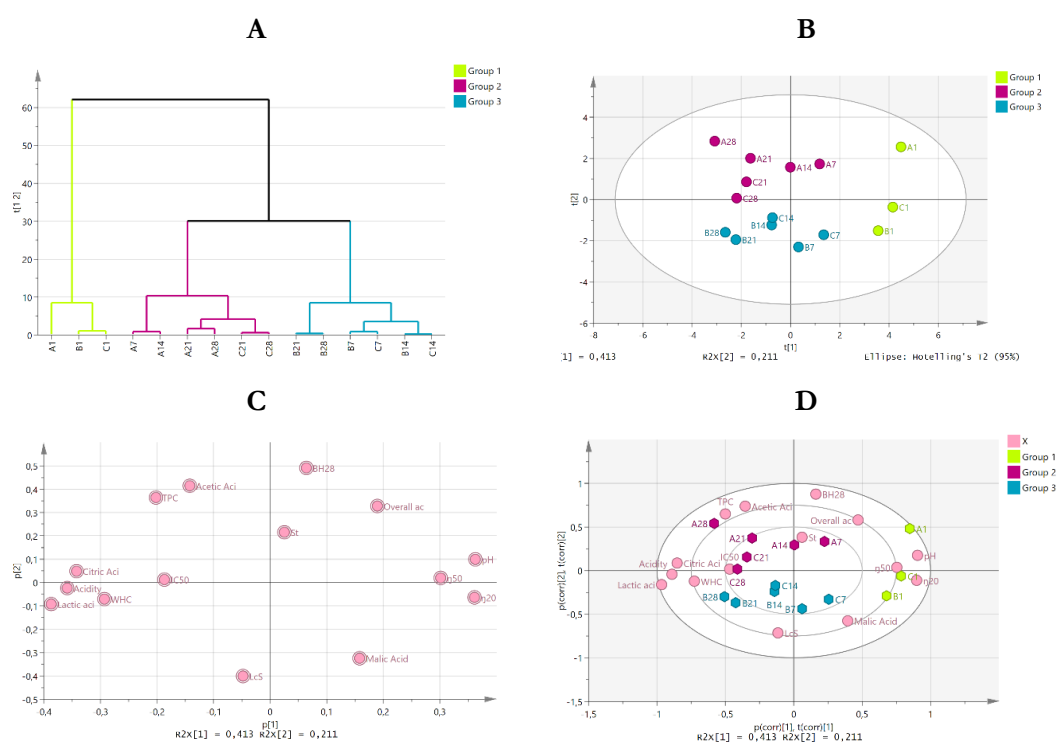


Figure 6. Hierarchical cluster analysis (A), score scatter plot (B), loading scatter plot (C), and biplot (D) of the principal component analysis. A: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *B. longum* BH28, B: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S and *L. paracasei* Shirota, C: Fermented milk produced by using *S. thermophilus* 212S, TPC: Total phenolic content, WHC: Water holding capacity, BH28: *B. longum* BH28, LcS: *L. paracasei* Shirota, St: *S. thermophilus*, Overall ac: Overall acceptability.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there is no conflict of interest with any individuals or institutions regarding this article.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Hacer MERAL-AKTAŞ: Conceptualization, methodology, software, validation, formal analysis, investigation, resources, data curation, writing-original draft preparation, writing-review and editing, visualization, supervision, project administration, and funding acquisition.

ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to thank Atatürk University for its support with equipment.

REFERENCES

- Adhikari, K., Grün, I.U., Mustapha, A., Fernando, L.N. (2002). Changes in the profile of organic acids in plain set and stirred yogurts during manufacture and refrigerated storage. *Journal of Food Quality*, 25(5): 435-451, doi: 10.1111/j.1745-4557.2002.tb01038.x.
- Akgün, A., Yazıcı, F., Güleç, H.A. (2018). The combined effect of probiotic cultures and incubation final pH on the quality of buffalo milk yogurt during cold storage. *Food Science & Nutrition*, 6(2): 492-502, doi: 10.1002/fsn3.580.
- Aktaş, H., Çetin, B. (2024a). Multidimensional evaluation of techno-functional properties of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 148: 105795. doi: 10.1016/j.idairyj.2023.105795.
- Aktaş, H., Çetin, B. (2024b). Effects of novel autochthonous starter cultures on quality characteristics of yoghurt. *International Journal of Food Engineering*, 20(11-12): 799-808. doi: 10.1515/ijfe-2024-0103.
- Anonymous (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds-Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. International Standardization Organization. ISO 21527-1.
- Anonymous (2010). Microbiology of food and animal feeding stuffs –horizontal method for the detection and enumeration of coliforms –most probable number technique. International Standardization Organization ISO 4831.
- Arab, M., Yousefi, M., Khanniri, E., Azari, M., Ghasemzadeh-Mohammadi, V., Mollakhalili-Meybodi, N. (2023). A comprehensive review on yogurt syneresis: Effect of processing conditions and added additives. *Journal of Food Science and Technology*, 60(6): 1656-1665. doi: 10.1007/s13197-022-05403-6.
- Atalar, İ. (2019). Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. *LWT - Food Science and Technology*, 107: 256-263, doi: 10.1016/j.lwt.2019.03.013.
- AOAC (2005). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 18th Edition, Gaithersburg, MD, the USA.
- Barat, A., Özcan, T. (2018). Growth of probiotic bacteria and characteristics of fermented milk containing fruit matrices. *International Journal of Dairy Technology*, 71: 120-129. doi: 10.1111/1471-0307.12391.
- Bensmira, M., Jiang, B. (2012). Effect of some operating variables on the microstructure and physical properties of a novel kefir formulation. *Journal of Food Engineering*, 108: 579-584, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.07.025.
- Casarotti, S.N., Monteiro, D.A., Moretti, M.M., Penna, A.L.B. (2014). Influence of the combination of probiotic cultures during fermentation and storage of fermented milk. *Food Research International*, 59: 67-75, doi: 10.1016/j.foodres.2014.01.068.
- Codex Alimentarius (2003). Standard for fermented milks. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%3A%2F%2Fworkspace.fao.org%2Fsites%2Fcodex%2Fstandards%2FCXS%2B243-2003%2FCXS_243e.pdf (Erişim tarihi: 01.06.2025).
- Damin, M.R., Minowa, E., Alcantara, M.R., Oliveira, M.N. (2008). Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. *Journal of Texture Studies*, 39(1): 40-55, doi: 10.1111/j.1745-4603.2007.00129.x.

- Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2006). Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16(10): 1181-1189.
- El-Fattah, A.A., Sakr, S., El-Dieb, S., Eikash, H. (2018). Developing functional yogurt rich in bioactive peptides and gamma-aminobutyric acid related to cardiovascular health. *LWT - Food Science and Technology*, 98: 390-397, doi: 10.1016/j.lwt.2018.09.022.
- FAO/WHO (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. FAO/WHO Working Group. <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf> (Erişim tarihi: 30.06.2025).
- Farvin, K.S., Baron, C.P., Nielsen, N.S., Jacobsen, C. (2010). Antioxidant activity of yoghurt peptides: Part 1 - *in vitro* assays and evaluation in ω -3 enriched milk. *Food Chemistry*, 123(4): 1081-1089. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.05.067.
- Galli, V., Venturi, M., Mari, E., Guerrini, S., Granchi, L. (2022). Gamma-aminobutyric acid (GABA) production in fermented milk by lactic acid bacteria isolated from spontaneous raw milk fermentation. *International Dairy Journal*, 127: 105284, doi: 10.1016/j.idairyj.2021.105284.
- Gavzy, S.J., Kensiski, A., Lee, Z.L., Mongodin, E.F., Ma, B., Bromberg, J.S. (2023). *Bifidobacterium* mechanisms of immune modulation and tolerance. *Gut Microbes*, 15(2): 2291164. doi: 10.1080/19490976.2023.2291164.
- Güler, M.A., Çetin, B., Albayrak, B., Meral-Aktaş, H., Tekgündüz, K.Ş., Kara, M., İşlek, A. (2024). Isolation, identification, and *in vitro* probiotic characterization of forty novel *Bifidobacterium* strains from neonatal feces in Erzurum province, Türkiye. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(7): 4165-4175, doi: 10.1002/jsfa.13298.
- Hanum, Z., Yurliasni, Y., Seutia, F.H. (2022, March). Antioxidant Activity of Fermented Goat's Milk with the Use of *Bifidobacterium longum*. *International Conference on Improving Tropical Animal Production for Food Security (ITAPS 2021)*, s. 374-380. Atlantis Press.
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibanez, F.C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90(4): 613-620. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.04.021.
- Işık, S., Dağdemir, E., Tekin, A., Hayaloğlu, A.A. (2023). Metabolite profiling of fermented milks as affected by adjunct cultures during long-term storage. *Food Bioscience*, 56: 103344. doi: 10.1016/j.fbio.2023.103344.
- Jena, R., Choudhury, P.K. (2025). Bifidobacteria in fermented dairy foods: a health beneficial outlook. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 17(3): 1-22. doi: 10.1007/s12602-023-10189-w.
- Leahy, S.C., Higgins, D.G., Fitzgerald, G.F., Van Sinderen, D. (2005). Getting better with bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 98(6): 1303-1315. doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02600.x.
- Li, J., Wang, J., Wang, M., Zheng, L., Cen, Q., Wang, F., ... Zhang, A. (2023). *Bifidobacterium*: a probiotic for the prevention and treatment of depression. *Frontiers in Microbiology*, 14: 1174800. doi: 10.3389/fmicb.2023.1174800.
- Li, S., Tang, S., He, Q., Gong, J., Hu, J. (2020). Physicochemical, textural and volatile characteristics of fermented milk co-cultured with *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* or *Lactobacillus plantarum*. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(2): 461-474, doi: 10.1111/ijfs.14279.
- Li, S.N., Tang, S.H., Ren, R., Gong, J.X., Chen, Y.M. (2021). Metabolomic profile of milk fermented with *Streptococcus thermophilus* cocultured with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, or both during storage. *Journal of Dairy Science*, 104(8): 8493-8505, doi: 10.3168/jds.2021-20270.
- Ma, P., Li, Y., Hao, J., Lu, H., He, Y., Wei, L., ... Wang, S. (2025). Co-culture of *Lactobacillus bulgaricus* with *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium* impact the metabolism and flavor of fermented milk. *Food Science & Nutrition*, 13(5): e70182. doi: 10.1002/fsn.70182.

- Maleki, N., Khodaiyan, F., Mousavi, S.M. (2015). Antioxidant activity of fermented hazelnut milk. *Food Science and Biotechnology*, 24(1): 107–115, doi: 10.1007/s10068-015-0016-0.
- Meral-Aktaş, H., Bazu-Çırpıcı, B., Aktaş, H., Kadiroğlu, H., Çetin, B. (2025). Comparative quality assessment of plant-based kefir as a vegan alternative to traditional kefir. *Food Bioscience*, 107062. doi: 10.1016/j.fbio.2025.107062.
- Meilgaard, M.C., Carr, B.T., Civille, G.V. (1999). *Sensory Evaluation Techniques*. 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Ndhlala, A.R., Kavaz Yüksel, A., Yüksel, M. (2022). Nutritional supplementation of yogurt with Jerusalem artichoke tubers: Organic acid profiles and quality parameters. *Plants*, 11(22): 3086. doi: 10.3390/plants11223086.
- Nguyen, H.T., Ong, L., Kentish, S.E., Gras, S.L. (2014). The effect of fermentation temperature on the microstructure, physicochemical and rheological properties of probiotic buffalo yoghurt. *Food and Bioprocess Technology*, 7(9): 2538–2548. doi: 10.1007/s11947-014-1278-x.
- Özcan, T., Şahin, S., Akpınar-Bayizit, A., Yılmaz-Ersan, L. (2019). Assessment of antioxidant capacity by method comparison and amino acid characterisation in buffalo milk kefir. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1): 65–73. doi: 10.1111/1471-0307.12560.
- Parisa, A., Roya, G., Mahdi, R., Shabnam, R., Maryam, E., Malihe, T. (2020). Anti-cancer effects of *Bifidobacterium* species in colon cancer cells and a mouse model of carcinogenesis. *PloS One*, 15(5): e0232930. doi: 10.1371/journal.pone.0232930.
- Rasinkangas, P., Forssten, S.D., Marttinen, M., Ibarra, A., Bothe, G., Junnila, J., ... Ouwehand, A.C. (2022). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bi-07 supports lactose digestion in vitro and in randomized, placebo- and lactase-controlled clinical trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 116(6): 1580–1594. doi: 10.1093/ajcn/nqac264.
- Shori, A.B. (2021). Application of *Bifidobacterium* spp in beverages and dairy food products: An overview of survival during refrigerated storage. *Food Science and Technology*, 42: e41520. doi: 10.1590/fst.41520.
- Son, J.K., Jo, Y.J., Jung, Y.J., Lee, Y.R., Lee, J., Jeong, H.S. (2023). Fermentation and quality characteristics of yogurt treated with *Bifidobacterium longum*. *Nutrients*, 15(15): 3490. doi: 10.3390/nu15153490.
- Souza, T.C., Zacarias, M.F., Silva, A.M., Binetti, A., Reinheimer, J., Nicoli, J.R., Vinderola, G. (2012). Cell viability and immunostimulating and protective capacities of *Bifidobacterium longum* 51A are differentially affected by technological variables in fermented milks. *Journal of Applied Microbiology*, 112(6): 1184–1192. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05280.x.
- Sumalapao, D.E.P., Mesina, J.A.R.T., Cabrera, E.C., Gloriani, N.G. (2017). Viability kinetics of *Lactobacillus casei* Shirota strain in a commercial fermented milk drink during refrigerated storage. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 7(11): 1242–1246. doi: 10.5455/njppp.2017.7.0621521072017.
- Sun, Y., Guo, S., Wu, T., Yang, Y., Shen, T., Ma, X., Zhang, H. (2023). *Bifidobacterium adolescentis* B8589- and *Lactocaseibacillus paracasei* PC-01-co-fermented milk has more γ -aminobutyric acid and short-chain fatty acids than *L. paracasei* PC-01-fermented milk. *LWT*, 179: 114645. doi: 10.1016/j.lwt.2023.114645.
- Suzuki, R., Katayama, T., Kim, B.J., Wakagi, T., Shoun, H., Ashida, H., Fushinobu, S. (2010). Crystal structures of phosphoketolase: thiamine diphosphate-dependent dehydration mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 285(44): 34279–34287. doi: 10.1074/jbc.M110.156281.
- Tian, R., Yu, Z., Yu, L., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q. (2022). Effects of *Bifidobacterium longum* CCFM5871 as an adjunct starter culture on the production of fermented milk. *Food Bioscience*, 50: 102167. doi: 10.1016/j.fbio.2022.102167.
- Xie, Z., Kim, C., Miller, M.J., Jin, Y.S. (2024). Effects of 2'-fucosyllactose on the viability of starter cultures and *Bifidobacterium* strains of human origin in yogurt during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 89(5): 2546–2556. doi: 10.1111/1750-3841.16996.

- Wei, Z., Xu, Y., Xu, Q., Cao, W., Huang, H., Liu, H. (2021). Microbial biosynthesis of L-malic acid and related metabolic engineering strategies: advances and prospects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9: 765685. doi: 10.3389/fbioe.2021.765685
- Wang, L., Chai, M., Wang, J., Yu, Q., Wang, G., Zhang, H., Chen, W. (2022). *Bifidobacterium longum* relieves constipation by regulating the intestinal barrier of mice. *Food & Function*, 13(9): 5037-5049. doi: 10.1039/D1FO04151G.
- Yang, X., He, X., Xu, S., Zhang, Y., Mo, C., Lai, Y., Xiao, Q. (2023a). Effect of *Lactocaseibacillus paracasei* strain Shirota supplementation on clinical responses and gut microbiome in Parkinson's disease. *Food & Function*, 14(15): 6828-6839. doi:10.1039/D3FO00728F.
- Yang, Y., Zhang, R., Zhang, F., Wang, B., Liu, Y. (2023b). Storage stability of texture, organoleptic, and biological properties of goat milk yogurt fermented with probiotic bacteria. *Frontiers in Nutrition*, 9: 1093654. doi: 10.3389/fnut.2022.1093654.

TÜRKİYE VE JAPONYA MENŞELİ MATCHA TOZLARININ FİZİKOKİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Melike Nur TOSUN DEMİR^{1*}, Fatma KORKMAZ²

¹Balıkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Balıkesir, Türkiye

²Bağımsız araştırmacı, Balıkesir, Türkiye

Geliş /Received 29.07.2025; Kabul /Accepted: 17.11.2025; Online baskı /Published online: 29.11.2025

Tosun Demir, M. N., Korkmaz, F. (2025). Türkiye ve Japonya menşeli matcha tozlarının fizikokimyasal ve duyusal özelliklerinin karşılaştırılması. GIDA (2025) 50 (6) 1186-1199 doi: 10.15237/ gida.GD25099

Tosun Demir, M. N., Korkmaz, F. (2025). Comparison of physicochemical and sensory properties of matcha powders from Türkiye and Japan. GIDA (2025) 50 (6) 1186-1199 doi: 10.15237/ gida.GD25099

ÖZ

Bu çalışmada Türkiye (TM1–TM5) ve Japonya (JM) menşeli matcha tozlarının fizikokimyasal ve duyusal özellikleri karşılaştırılmıştır. Suda çözünürlük indeksi Türkiye menşeli matcha tozlarında %30.24–35.76 arasında değişirken, Japonya menşeli üründe %32.32 olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde bakımından Türkiye menşeli örnekler (63.50–111.30 mg GA/g), Japonya menşeli ürüne (64.61 mg GA/g) benzer veya daha yüksek değerler göstermiştir. Bu bulguları destekler şekilde, Türkiye menşeli matcha tozlarının antioksidan kapasitesi ABTS yöntemiyle 1118.30–1596.40 μ mol Trolox/g, DPPH yöntemiyle 1257.00–1481.60 μ mol Trolox/g aralığında ölçülmüş; Japonya menşeli ürün ise sırasıyla 1138.70 ve 1129.00 μ mol Trolox/g değerlerini göstermiştir. Klorofil a, b ve toplam klorofil değerleri bakımından yalnızca bir Türkiye menşeli örnek Japon menşeli üründen daha yüksek bulunmuştur. Duyusal analizlerde tüm örneklerde buruk, otumsu, kınamsı, odunumsu-samanımsı ve yosunsu-balığımsı tatlar baskın olurken, Japonya menşeli örnek daha düşük yoğunluklu bir tat profili sergilemiştir. Bulgular, yerli matcha tozlarının kalite potansiyelini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Matcha, renk, çözünürlük, toplam fenol, antioksidan aktivite, duyusal analiz

COMPARISON OF PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF MATCHA POWDERS FROM TÜRKİYE AND JAPAN

ABSTRACT

This study compared the physicochemical and sensory properties of Turkish (TM1–TM5) and Japanese (JM) matcha powders. The water solubility index ranged from 30.24% to 35.76% in Turkish samples, while the Japanese product showed 32.32%. Total phenolic content of Turkish matchas (63.50–111.30 mg GA/g) was comparable to or exceeded that of the Japanese product (64.61 mg GA/g). Supporting these findings, the antioxidant capacity of Turkish matchas was measured at 1118.30–1596.40 μ mol Trolox/g by the ABTS method and 1257.00–1481.60 μ mol Trolox/g by the DPPH method, whereas the Japanese product showed 1138.70 and 1129.00 μ mol Trolox/g, respectively. Only one Turkish sample showed higher chlorophyll a, b, and total chlorophyll values than the Japanese product. Sensory analysis revealed that bitter-astringent, green, henna-like, straw-like, and seaweed notes were dominant in all samples, with the Japanese product exhibiting a lower-

*Sorumlu yazar Corresponding author

✉: fatma.korkmaz@balikesir.edu.tr

☎: (+90) 266 612 6313

Fatma KORKMAZ; ORCID no: 0000-0002-6834-4833

Melike Nur TOSUN DEMİR; ORCID no: 0000-0002-6451-7354

intensity flavor profile. These findings highlight the high-quality potential of Turkish matcha powders.

Keywords: Matcha, color, solubility, total phenol, antioxidant activity, sensory analysis

GİRİŞ

Matcha tozu, Tencha tipi Japon yeşil çayının (*Camellia sinensis*) öğütülmesiyle elde edilen (Kochman vd., 2020), dünyanın en popüler içeceklerinden biridir (Kika vd., 2024). Matchanın tadını belirleyen başlıca bileşenler arasında suda çözünebilen karbonhidratlar, organik asitler, amino asitler, çay polifenoller, flavonol glikozitleri, tanenler ve kafein yer almaktadır. Acı ve buruk tatlardan en çok sorumlu olan bileşikler ise kateşinlerdir. Bu grupta (-)-epigallocateşin-3-gallat (EGCG) en baskın olanıdır (Cui vd., 2025) ve sağlık yararı öncelikle EGCG ile ilişkilendirilmektedir (Shishikura ve Khokhar, 2005). İçeriğindeki antioksidan ve fenolik bileşenler ile ilişkili olarak, antikarsinogenik, antiinflamatuar, kardiyoprotektif ve antiviral etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Kochman vd., 2020). Hem insan hem hayvan çalışmalarında sinir sistemi, öğrenme, inflamasyon ve metabolik parametreler üzerinde faydalı etkiler saptanmış, in vitro çalışmalarda ise bazı kanser hücreleri üzerinde baskılayıcı etkiler gözlemlenmiştir (Sokary vd., 2022).

Geleneksel olarak matcha tozu gölgeleme, hasat, buharlama, kurutma, rafinasyon ve öğütme olmak üzere 6 aşamada üretilmektedir. Üretim hasattan yaklaşık 20-30 gün önce çay bitkilerinin gölgede yetiştirilmesi ile başlamakta ve hasat zamanı coğrafi konuma göre değişmekle birlikte genellikle ilkbaharda gerçekleşmektedir. Hasat sonrası yapraklar enzimatik aktivitenin yavaşlatılması, oksidasyonun önlenmesi ve yeşil rengin korunması amacıyla 95 °C'de 20-45 saniye buharlama işlemine tabi tutulmaktadır (Phuah vd., 2023). 55 °C'de 30 dakika kurutmanın ardından yapraklar rafine edilmekte ve bu işlemin ardından 'Tencha' adı verilen öğütülmemiş yaprak formu elde edilmektedir (Horie vd., 2017). Öğütme aşaması ise düşük nemli, karanlık ve serin ortamda geleneksel olarak taş değirmenlerde gerçekleştirilmektedir (Phuah vd., 2023). Gölgeleme uygulaması, bitkide klorofil, teanin gibi aminoasitler ve çeşitli biyoaktif bileşenlerin sentezini artırarak, matcha tozuna karakteristik

canlı yeşil rengini ve kendine özgü yumuşak, acı olmayan tadını kazandırmaktadır (Sokary vd., 2022).

Matcha tozunun kalitesi; nem, toprak yapısı, iklim koşulları ve coğrafi konum gibi çevresel etkenlerin yanı sıra, kullanılan çay çeşidi, uygulanan tarımsal yöntemler, gölgeleme süresi, hasat zamanı ve işleme teknikleri gibi yetiştirme uygulamalarıyla doğrudan ilişkilidir. Ayrıca üretim sürecindeki teknolojik farklılıklar ve ürünün sınıflandırılma kriterleri de kalite üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Tüm bu unsurlar, matcha tozunun rengi, tadı, aromatik profili ve besin bileşimi gibi özelliklerini şekillendirmektedir. Gölgeleme işlemi, yeşil rengin artmasını, acılık ve burukluğun azalmasını ve umami tat profilinin gelişmesini sağlayan temel etkidir (Ye vd., 2024a).

Artan tüketici ilgisi ve sağlıklı yaşam trendleri doğrultusunda, matcha tozunun yerel üretimi stratejik bir fırsat haline gelmiştir. Türkiye'de üretilen matchaların kalitesine dair literatürde sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. Bu çalışma, Japonya ve Türkiye menşeli matcha tozlarının klorofil ve toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite, renk, toz ve duysal özellikleri gibi kriterler bakımından karşılaştırarak yerli üretimin potansiyelini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Elde edilen veriler, yerel üretimin iyileştirilmesi, kalite standardizasyonu ve pazarlama stratejileri açısından yol gösterici olabilir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada, piyasada erişilebilir olan ve en çok satılan 1 adet Japon menşeli (JM) ve 5 farklı markaya ait Türkiye menşeli matcha tozları (TM1, TM2, TM3, TM4 ve TM5) kullanılmıştır. Ürünler, orijinal ambalajlarında ve son kullanma tarihlerine dikkat edilerek temin edilmiş; analizlere kadar serin, kuru ve karanlık koşullarda muhafaza edilmiştir. Matcha tozlarının nem içeriği, AOAC'nin standart metodolojisine (Metot No: 930.15) (AOAC, 2010) göre belirlenmiş ve %2.19-

6.04 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan kimyasallar ise Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Almanya)'den tedarik edilmiştir.

Metot

Toz özelliklerinin analizi

Matcha örneklerinin toz özelliklerinin belirlenmesinde Sakr vd. (2024)'nin belirttiği yöntem bazı değişikliklerle uygulanmıştır. Bu kapsamda, 1 g matcha tozu herhangi bir basınç uygulanmaksızın yavaşça 10 mL hacmindeki mezüre aktararak hacim değeri kaydedilmiş ve yığın yoğunluğunun (g/mL) hesaplanmasında kullanılmıştır. Ardından aynı örneğin içinde bulunduğu mezür düz bir zemine sabit bir hızla yaklaşık 50 defa vurularak toz partiküllerinin sıkışması sağlanmış ve sıkıştırılmış hacim değeri kaydedilmiştir. Bu değer, sıkıştırılmış yığın yoğunluğunu (g/mL) hesaplamak için kullanılmıştır. Elde edilen yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu verileri doğrultusunda, Carr indeksi ve Hausner oranı aşağıdaki eşitlikler aracılığıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Carr indeksi (\%)} = \frac{\text{sıkıştırılmış yığın yoğunluğu} - \text{yığın yoğunluğu}}{\text{sıkıştırılmış yığın yoğunluğu}} \times 100$$

Eşitlik 1

$$\text{Hausner oranı} = \frac{\text{sıkıştırılmış yığın yoğunluğu}}{\text{yığın yoğunluğu}}$$

Eşitlik 2

Suda çözünürlük indeksinin analizi

Suda çözünürlük indeksi analizi Manikharda vd. (2023) tarafından bildirilen yöntemle yapılmıştır. Distile su ile hazırlanan %2 (w/v)'lik matcha dispersiyonu, 80 °C'ye ayarlı su banyosunda (Nüve, ST 30, Türkiye) 30 dakika inkübe edildikten sonra 4500xg'de 10 dakika süreyle santrifüj (Nüve, NF 800, Türkiye) edilmiştir. Elde edilen süpernatant kurutma kaplarına alınarak 105 °C'de kurutulmuş ve suda çözünürlük indeksi aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Suda çözünürlük indeksi (\%)} = \frac{\text{süpernatantın kuru madde ağırlığı (g)}}{\text{örnek ağırlığı (g)}} \times 100$$

Eşitlik 3

Su absorpsiyon kapasitesi analizi

Matcha örneklerinin su absorpsiyon kapasitesi Dely vd. (2025) tarafından bildirilen yöntemle belirlenmiştir. Matcha tozu (0.5 g) üzerine 25 mL distile su eklenerek bir vorteks yardımıyla 5 dakika süresince karıştırılmıştır. Ardından oluşan dispersiyon 6000xg'de 10 dakika süresince santrifüjlenerek süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış ve su absorpsiyon kapasitesi aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Su absorpsiyon kapasitesi (g/g)} = \frac{\text{çöktürülmüş ağırlığı (g)} - \text{örnek ağırlığı (g)}}{\text{örnek ağırlığı (g)}} \times 100$$

Eşitlik 4

Toplam fenolik madde analizi

Toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite analizleri için, matcha tozu (0.5 g), distile su (25 mL) ile karıştırılarak 80 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 1 saat süreyle ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonrasında örnekler süzülümüş, elde edilen süpernatant analizlerde kullanılmak üzere ayrılmıştır (Dely vd., 2025).

Toplam fenolik madde analizi Zhu vd. (2022)'nin belirttiği yöntemle gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 0.1 mL seyreltilmiş (1:5) matcha ekstraktına sırasıyla 0.9 mL distile su ve 5 mL %10'luk Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Üç dakika beklemenin ardından, karışıma 4 mL %7.5'lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Örnekler, karanlık ortamda 1 saat süreyle inkübe edildikten sonra, absorbans değerleri 765 nm'de UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu, UV-1280, Japonya) ile ölçülmüş ve sonuçlar mg GAE/g örnek cinsinden ifade edilmiştir.

Antioksidan kapasite analizi

Matcha tozlarının antioksidan kapasiteleri, ABTS [2,2'-azinobis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] ve DPPH [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl] radikalleri kullanılarak, 2 farklı spektrofotometrik yöntem aracılığıyla belirlenmiştir. ABTS analizi, Ye vd. (2024b) tarafından bildirilen yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, fosfat tamponu ile absorbansı 0.70 ± 0.02 değerine ayarlanan ABTS reaktifinden 2.5 mL alınarak 25 µL örnek ekstraktı ile karıştırılmış ve 6 dakika sonra

absorbans değerinin ölçümü spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda yapılmıştır. DPPH analizinde, Manikharda vd. (2023)'nin belirttiği yöntem bazı değişikliklerle uygulanmıştır. Kısaca, 0.1 mL örnek ekstraktı ile 3.9 mL 0.1 mM DPPH reaktifi karıştırılmış ve karışım karanlık ortamda 30 dakika inkübe edilmiştir. Ardından, örneklerin absorbans değeri spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Her iki analizde elde edilen sonuçlar, yönteme özgü olarak Trolox standardı kullanılarak hazırlanan standart eğriler yardımıyla değerlendirilmiş ve sonuçlar $\mu\text{mol Trolox/g}$ örnek cinsinden ifade edilmiştir.

Klorofil analizi

Klorofil analizi Sakr vd. (2024) tarafından bildirilen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Matcha tozu (0.05 g) %80'lik aseton çözeltisi (10 mL) ile 30 dakika süresince ekstrakte edilmiştir. Ardından karışım $6000 \times g$ 'de 5 dakika santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatant analizde kullanılmıştır. Süpernatantın 645 nm ve 663 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri, UV-VIS spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerine dayanarak klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Jiang vd., 2023).

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = \frac{((12.72 \times A_{663}) - (2.59 \times A_{645})) \times \text{örnek hacmi (mL)}}{1000 \times \text{örnek ağırlığı (g)}}$$

Eşitlik 5

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = \frac{((22.88 \times A_{645}) - (4.67 \times A_{663})) \times \text{örnek hacmi (mL)}}{1000 \times \text{örnek ağırlığı (g)}}$$

Eşitlik 6

$$\text{Toplam klorofil (mg/g)} = \frac{((20.2 \times A_{645}) - (8.02 \times A_{663})) \times \text{örnek hacmi (mL)}}{1000 \times \text{örnek ağırlığı (g)}}$$

Eşitlik 7

Renk analizi

Matcha tozları ve %2 oranında matcha tozu kullanılarak hazırlanan matcha dispersiyonlarının renk değerleri (L^* , a^* ve b^*) CIE renk sistemine göre bir kromametre (CR-400, Konica Minolta, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür.

Lezzet profil analizi

Matcha örneklerinin lezzet profil analizi, Pérez-Burillo vd. (2018) tarafından belirtilen yönteme göre gerçekleştirilmiş; değerlendirmede, Lee ve Chambers (2007) tarafından tanımlanan duyu terimleri ve referans standartlar kullanılmıştır. Panel, matcha örneklerini tatmayı gönüllü olarak kabul eden ve yaşları 31 ile 45 arasında değişen 12 panelistten (3 kadın, 9 erkek) oluşan bir grup tarafından gerçekleştirilmiştir. Duyusal değerlendirme, her bir lezzet özelliğinin yoğunluğunun 0 (hiç yok) ile 5 (çok yoğun) arasında derecelendirildiği bir skalaya göre yapılmıştır. Örnekler oda sıcaklığında, 20 mL'lik miktarlarda plastik bardaklarda sunulmuş; duyu yorgunluğu azaltmak amacıyla su ve galeta ile birlikte servis edilmiştir.

İstatistiksel analiz

Veriler, Minitab (sürüm 17.0) programı kullanılarak yapılan varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık düzeyi $P < 0.05$ ve güven aralığı %95 olarak kabul edilmiştir. Tüm analizler üç paralel örnek üzerinden yürütülmüş ve sonuçlar örnek kuru maddesi üzerinden hesaplanarak 'ortalama $\pm$ standart hata' olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Toz özellikleri

Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, toz örneklerin işlenebilirlik ve depolama özelliklerini etkileyen önemli kalite parametreleri arasında yer almaktadır (Sakr vd., 2024). Bu özellikler aynı zamanda tozların akışkanlık davranışlarını da belirleyici niteliktedir (Zhao vd., 2023). Matcha örnekleri içerisinde en yüksek yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri TM4 örneğinde belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Ayrıca, TM3 örneğinin yoğunluk değerleri JM örneğiyle istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($P > 0.05$). Literatürde, büyük partikül boyutuna sahip tozların özgül yüzey alanlarının ve partiküller arası boşluklarının düşük; buna karşılık yığın yoğunluklarının yüksek olduğu bildirilmektedir (Zhu vd., 2022; Zhao vd., 2023).

Toz örneklerin sıkıştırılabilirlik özellikleri, Carr indeksi değerine göre çok iyi (<15), iyi (15-20), zayıf (20-35), kötü (35-45) ve çok kötü (>45) olarak sınıflandırılmaktadır. Hausner oranına göre ise tozların akış özellikleri düşük (<1.2), orta (1.2-1.4) ve yüksek (>1.4) düzeyde değerlendirilmektedir (Caliskan ve Dirim, 2016). Buna göre, tüm matcha tozlarının zayıf

sıkıştırılabilirlik ve orta-yüksek akış özellikleri sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca, matcha tozları içerisinde TM3 örneği en yüksek Carr indeksi ve Hausner oranı değerini göstermiştir. Küçük partiküllü tozların karşılıklı yapışma ve agregasyon oluşturma eğiliminde olduğu, bu durumun da akışkanlığı olumsuz yönde etkilediği belirtilmektedir (Zhu vd., 2022).

Çizelge 1. Matcha örneklerinin toz ve fonksiyonel özellikleri
Table 1. Powder and functional properties of matcha samples

Matcha örneği Matcha sample	Yığın yoğunluğu Bulk density (g/mL)	Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu Tapped bulk density (g/mL)	Carr indeksi Carr index (%)	Hausner oranı Hausner ratio	Suda çözünürlük indeksi Water solubility index (%)	Su absorpsiyon kapasitesi Water absorption capacity (g/g)
JM	0.35±0.01 ^C	0.51±0.01 ^B	30.63±0.36 ^{AB}	1.44±0.01 ^B	32.32±0.16 ^{BC}	1.99±0.01 ^F
TM1	0.27±0.01 ^D	0.37±0.01 ^C	26.28±1.00 ^C	1.36±0.02 ^C	32.23±0.19 ^{BC}	2.52±0.05 ^E
TM2	0.26±0.01 ^D	0.38±0.01 ^C	0.74±1.08 ^{AB}	1.44±0.02 ^{AB}	32.24±0.22 ^{BC}	2.84±0.09 ^D
TM3	0.33±0.01 ^C	0.50±0.01 ^B	33.68±0.35 ^A	1.51±0.01 ^A	35.76±0.10 ^A	3.25±0.05 ^C
TM4	0.45±0.01 ^A	0.63±0.01 ^A	28.92±0.35 ^{BC}	1.41±0.01 ^{BC}	30.24±0.36 ^C	3.50±0.02 ^B
TM5	0.42±0.01 ^B	0.60±0.01 ^A	30.52±0.38 ^{AB}	1.44±0.01 ^B	4.29±1.14 ^{AB}	4.25±0.05 ^A

* Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir ($P < 0.05$).

*Different letters in the same column indicate a statistically significant difference ($P < 0.05$).

Suda çözünürlük ve su absorpsiyon özellikleri

Suda çözünürlük indeksi, matcha için önemli bir kalite göstergesidir. Matcha tozunun yüksek çözünürlüğe sahip olması, biyoaktif bileşenlerin daha iyi korunmasını ve dispersiyonlarında daha yoğun bir renk oluşmasını sağlamaktadır (Stępień vd., 2025). Matcha örneklerinin suda çözünürlük indeksleri %30.24 ile %35.76 aralığında değişmektedir (Çizelge 1). Stępień vd. (2025)'de Çin, Japonya ve Brezilya menşeli 4 farklı matcha örneklerinin suda çözünürlük indekslerinin %27.37 ile %37.40 aralığında değiştiğini bulmuşlardır. Matcha örnekleri içerisinde en yüksek çözünürlük indeksi değeri TM3 örneğinde; en düşük çözünürlük indeksi ise TM4 örneğinde belirlenmiştir ($P < 0.05$). TM1 ve TM2 örnekleri ise JM örneğine benzer çözünürlük indeksi sergilemiştir ($P > 0.05$). Matcha tozlarının suda çözünürlük indekslerinin partikül boyutundan etkilendiği bildirilmiştir (Manikharda vd., 2023). Küçük partikül boyutuna sahip örneklerin daha

geniş yüzey alanına sahip olması, daha fazla sayıda polar grup ve su bağlayıcı bölgenin açığa çıkmasına neden olarak suda çözünürlük indeksinin artmasına katkı sağlamaktadır (Sakr vd., 2024). Diğer yandan, matcha örneğinin elde edildiği çay yapraklarına uygulanan gölgeleme işlemi ile tozlara uygulanan eleme yöntemi gibi faktörler partikül boyutunu etkilediğinden, bu durum matchaların suda çözünürlük indeksini de etkilemektedir. Partikül aglomerasyonu da matcha tozunun çözünürlüğünün azalmasına katkıda bulunabilen faktörlerdendir (Dely vd., 2025).

Matcha tozlarının su tutma kabiliyetinin göstergesi olan su absorpsiyon kapasitesi değerleri 1.99 ile 4.25 g/g aralığında belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 1'de sunulmuştur. Najman vd. (2023) Polonya piyasasından temin ettikleri 10 farklı matcha tozunun su absorpsiyon kapasitesi değerlerinin 1.48-3.71 g/g aralığında değiştiğini raporlamıştır. Benzer şekilde, Dely vd. (2025)'de

Tunus piyasasından tedarik ettikleri 3 matcha tozu örneğinde su absorpsiyon kapasitesi değerlerinin 3.17-3.32 g/g aralığında olduğunu bildirmiştir. Matcha örnekleri içerisinde JM en düşük su absorpsiyon kapasitesini sergilemiştir ($P < 0.05$). TM örnekleri JM örneğine kıyasla 1.27 ile 2.14 kat daha yüksek su absorpsiyon kapasitesi göstermiştir ($P < 0.05$). Su absorpsiyon kapasitesinin, matcha tozlarının fiziksel özelliklerine bağlı olduğu bildirilmektedir. Özellikle hücre zarı bütünlüğünün ve hücre duvarı bileşenlerinin bu parametre üzerinde önemli etkileri olduğu belirtilmiştir (Zhao vd., 2023). Bu bağlamda, öğütme işleminin matcha tozlarının su absorpsiyon kapasitesini etkileyebilecek kritik bir proses olduğu vurgulanmıştır (Zhao vd., 2023; Sakr vd., 2024). Öğütme sırasında gözenekli matris yapıları oluşturan ve suyu tutma kapasitesi yüksek olan polisakkarit zincirlerinin parçalanması ve protein denatürasyonu daha düşük su absorpsiyon kapasitesine neden olabilmektedir (Zhao vd., 2023; Sakr vd., 2024).

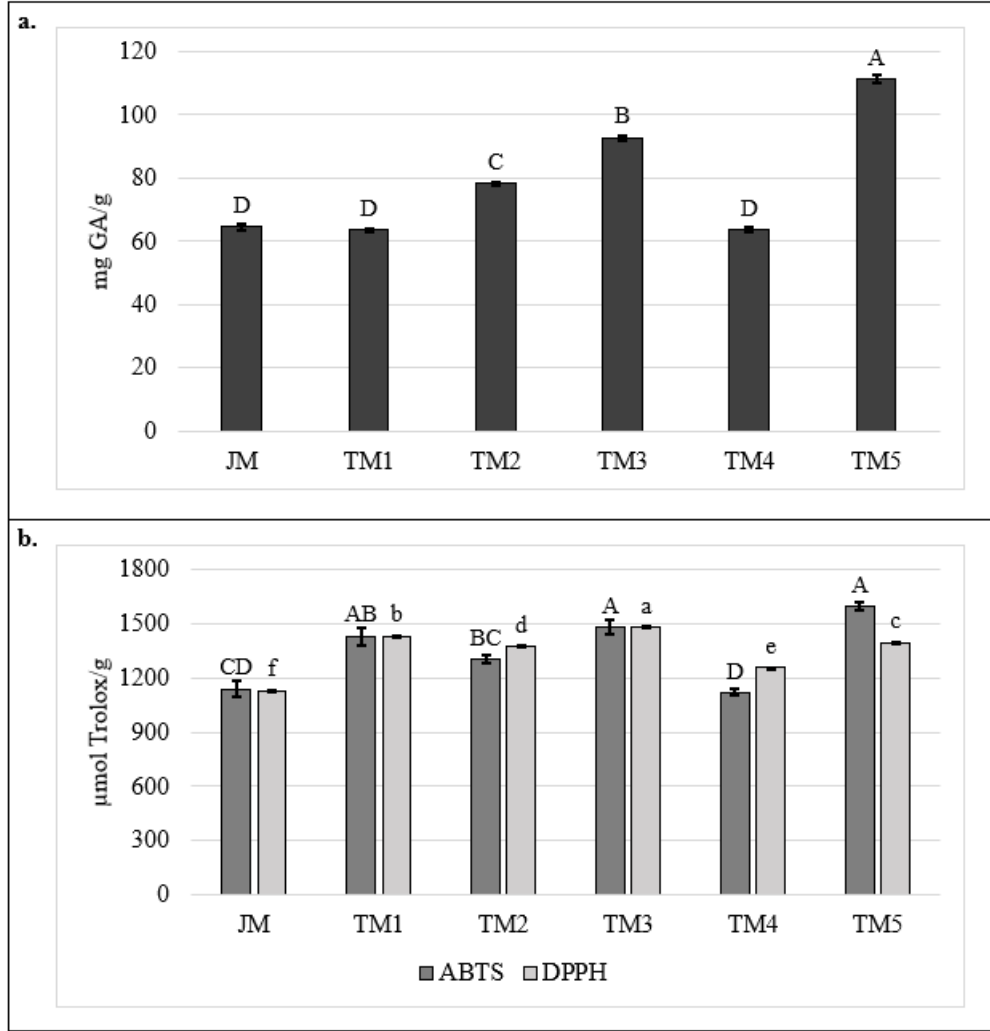
Toplam fenol içerikleri ve antioksidan kapasiteleri

Tencha tipi yeşil çaydan elde edilen matcha, geleneksel gölgeleme yöntemi sayesinde klorofil ve L-teanin başta olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşiklerin sentezini teşvik eder; bu nedenle antioksidan bileşikler bakımından zengin bir profile sahiptir (Jakubczyk vd., 2020).

Bu çalışmada incelenen matcha örnekleri arasında toplam fenolik içeriği en yüksek olan TM5 (111.30 ± 1.15 mg GA/g) iken, bunu TM3 (92.73 ± 0.83 mg GA/g) ve TM2 (78.19 ± 0.71 mg GA/g) izlemiştir (Şekil 1a). JM, TM1 ve TM4 örnekleri arasında toplam fenol içeriği açısından istatistiksel anlamda bir fark saptanmamıştır ($P > 0.05$). ABTS yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite açısından en yüksek değer TM5 (1596.40 ± 21.90 μ mol Trolox/g) örneğinde tespit edilmiş, TM1 ve TM3 ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasitede ise tüm örnekler arasında fark saptanmış ($P < 0.05$) ve en yüksek değer TM3 (1481.60 ± 4.23 μ mol Trolox/g) ardından ise TM1 (1430.30 ± 6.31 μ mol Trolox/g) örneğinde tespit

edilmiştir (Şekil 1b). Benzer şekilde Japonya, Çin, Tunus ve Çekya'da marketten alınan matchalarda yapılan çalışmalarda örneklerin kimyasal bileşimi, antioksidan kapasiteleri, toplam fenol, flavonoid, fenolik asitler, kateşin, kafein gibi bileşenler açısından bölgeler arasında farklılık görülmüştür (Horie vd., 2017; Koláčková vd., 2020; Luo vd., 2023; Dely vd., 2025).

DPPH ve ABTS analizlerinden elde edilen sonuçların sıralaması örnekler arasında farklılık göstermiştir. Bu durum, her iki yöntemin farklı reaksiyon mekanizmalarına ve çözücü polaritelerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. DPPH yöntemi lipofilik antioksidanların hem hidrojen atomu hem de elektron transfer mekanizmaları yoluyla süpürücü aktivitesini yansıtırken (Gulcin ve Alwasel, 2023), ABTS analizi hem hidrofilik hem de lipofilik bileşiklerin hidrojen veya elektron verici kapasitesini ölçen sulu-organik bir sistemde uygulamaktadır (Cos vd., 2000). Ayrıca, ABTS analizinde kullanılan sulu tampon ortam, kateşinlerin radikallerle etkileşimini kısmen sınırlandırabilirken, DPPH yönteminde kullanılan etanol, antioksidan bileşiklerin reaksiyon sistemine daha etkin şekilde dağılmasını sağlamaktadır (Kim vd., 2015). Bunun yanında karotenoidlerin DPPH radikalini süpürme kapasitelerinin olmadığı bildirilmiştir (Müller vd., 2011). Çözücü tipi ve aktif bileşenlerin çözünürlüğü antioksidanların radikal süpürme kapasitelerini etkilemektedir (Kim vd., 2015). Dolayısıyla, matcha örneklerinde DPPH ve ABTS sonuçları arasında gözlenen sıralama farklılıkları beklenen bir durum olup, literatürle uyumludur (Tsai vd., 2008; Kim vd., 2015). Toplam fenolik içeriği en yüksek örnek TM5 olmasına karşın, DPPH yöntemiyle en yüksek antioksidan kapasite TM3 örneğinde belirlenmiştir. Bu bulgu, antioksidan aktivitenin yalnızca fenolik bileşiklerle sınırlı olmadığını göstermektedir. Çözgenin polaritesi, farklı bileşiklerin ekstraksiyon verimini etkileyebilmekte; ayrıca C vitamini, pigmentler ve tokoferoller gibi fenolik olmayan bileşikler de toplam antioksidan kapasiteye katkı sağlayabilmektedir (Lee vd., 2013; Džarić vd., 2025).



Şekil 1. Matcha örneklerinin toplam fenol (a) ve antioksidan (b) içeriği.

Figure 1. Total phenol (a) and antioxidant (b) content of matcha samples.

*Aynı sütunların üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($P < 0.05$).

*Different letters above the same bars indicate a statistically significant difference ($P < 0.05$).

Matcha tozlarının toplam fenolik bileşik düzeyleri ve antioksidan kapasiteleri arasındaki farklılıklar, çayın yetiştiği çevresel koşullar, hasat zamanı ve yaprakların olgunluk derecesi, uygulanan işleme yöntemleri ile depolama süreci gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bununla birlikte, ikinci ve üçüncü hasat dönemlerinde toplanan yaprakların, birinci hasada göre daha yüksek düzeyde biyoaktif bileşik içerebildiği ve bu nedenle sağlık açısından daha fazla potansiyele sahip olabileceği ifade edilmiştir (Jakubczyk vd., 2020). Ayrıca, çalışmalarda kullanılan ekstraksiyon yöntemi, seyreltme

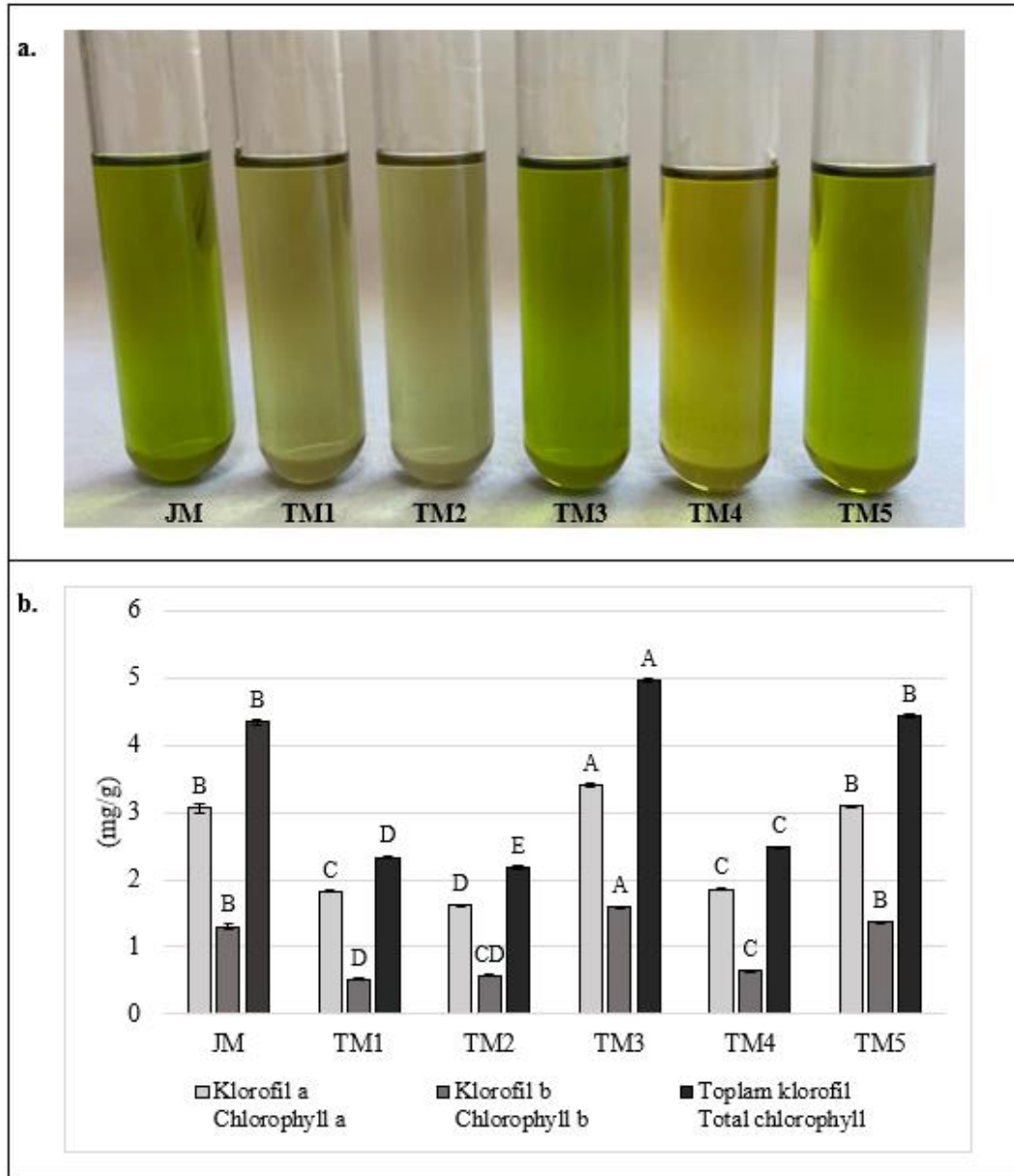
(dilüsyon) faktörü gibi analitik farklılıklar da sonuçlar üzerinde etkili olabilir ve gözlenen varyasyonların bir kısmı bu teknik faktörlerden kaynaklanabilir.

Klorofil içeriği

Matcha tozlarının karakteristik yeşil rengi temel olarak içerdiği klorofil pigmentlerinden (klorofil a ve klorofil b) kaynaklanmaktadır (Jiang vd., 2023). Bu çalışmada analiz edilen matcha örneklerine ait klorofil içerikleri Şekil 2’de sunulmuştur. Örnekler arasında en yüksek klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içerikleri TM3 örneğinde belirlenmiş olup

bu örneği TM5 ve JM örnekleri takip etmektedir ($P < 0.05$). Bununla birlikte, TM5 örneğinin klorofil düzeyleri, istatistiksel olarak JM örneğiyle benzer bulunmuştur ($P > 0.05$). Şekil 2a'da yer alan ekstrakt görsellerinden de açıkça görüldüğü üzere, JM, TM3 ve TM5 örnekleri, diğer örneklerle

kıyasla daha yüksek klorofil içeriklerine sahip olup, bu örneklerin toplam klorofil düzeyleri 4 mg/g'nin üzerinde tespit edilmiştir. Diğer yandan, TM1 ve TM2 örneklerinin toplam klorofil içerikleri diğer matcha örneklerine göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P < 0.05$).



Şekil 2. Matcha örneklerinin ekstrakt görselleri (a) ve klorofil değerleri (b).

Figure 2. Images of extracts (a) and chlorophyll values (b) of matcha samples.

*Aynı sütunların üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($P < 0.05$).

*Different letters above the same bars indicate a statistically significant difference ($P < 0.05$).

Genel olarak, gölgeleme süresi, yaprak olgunluğu, öğütme şekli ve sıcaklık gibi işleme parametreleri klorofil stabilitesini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Özellikle yüksek sıcaklığa maruz kalınması durumlarında klorofil pigmentlerinde degradasyon meydana gelebilmekte, bu da matcha tozunun yeşil renginin solmasına neden olabilmektedir (Donlao ve Ogawa, 2019; Koláčková vd., 2020; Sakr vd., 2024).

Renk özellikleri

Renk, matcha dahil pek çok gıda ürünüde tüketici tercihini etkileyen temel özelliklerden biri olmasının yanı sıra, ürün kalitesinin de önemli bir göstergesidir (Dely vd., 2025). Bu nedenle hem matcha tozlarının hem de matcha dispersiyonlarının renk özellikleri (L^* , a^* ve b^*) belirlenerek örnek görselleriyle beraber Çizelge 2’de sunulmuştur. Matcha tozları arasında en yüksek L^* değeri TM1 örneğinde, en düşük L^* değeri ise TM4 örneğinde belirlenmiştir ($P < 0.05$). Diğer yandan, TM3 ve TM5 örnekleri L^* değeri yönünden JM örneğiyle istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($P > 0.05$). Matcha dispersiyonlarının L^* değerleri ise 25.75-28.65 aralığında değişmektedir. Hem matcha tozlarında hem de matcha dispersiyonlarında en düşük $-a^*$ değeri, dolayısıyla en yoğun yeşil renk tonu, JM örneğinde belirlenmiş; bu örneği sırasıyla TM3 ve TM5 takip etmiştir ($P < 0.05$). Yeşil renk yoğunluğu en düşük olan matcha tozu TM4 olarak tespit edilmiştir. Diğer yandan, TM4 örneğine ait matcha dispersiyonunda ise kırmızı renk tonunun ($+a^*$) baskın olduğu gözlemlenmiştir. Tüm matcha örneklerinde $+b^*$ değerinin, diğer bir ifadeyle sarı renk tonunun, baskın olduğu görülmüştür. Diğer renk özelliklerine benzer şekilde hem matcha tozlarında hem de matcha dispersiyonlarında, en yüksek $+b^*$ değeri JM örneğinde tespit edilirken; en düşük sarı renk yoğunluğu ise TM4 örneğinde belirlenmiştir ($P < 0.05$). Matcha örneklerinin renk özellikleri arasındaki farklılıkların yaprakların hasat tarihi, gölgeleme uygulaması ve çay bitkisinin klonu gibi özelliklerinden etkilenebileceği belirtilmiştir. Genel olarak, yoğun gölgeleme uygulaması, yeşil çay tozlarında L^* , a^* ve b^* değerlerinin daha düşük olmasına neden olmakta ve bu durum, yüksek kaliteli matcha

tozlarının ayırt edici özelliği olan karakteristik yeşil renk ile ilişkilendirilmiştir (Stępień vd., 2025). Diğer yandan matcha örneklerinin renk özellikleri üzerinde klorofil içeriğinin ve öğütme özelliklerinin de belirleyici etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Dely vd., 2025).

Duyusal özellikleri

Matchanın lezzet kalitesi, başta tat ve aroma olmak üzere duysal özelliklerle yakından ilişkilidir. Serbest amino asitler, çay polifenoller ve L-teanin gibi bileşenler tat profiline önemli katkı sağlarken; çay çeşidi, tarımsal uygulamalar, ürün kalitesi ve yetiştirildiği bölge gibi faktörler bu profili doğrudan etkilemektedir (Luo vd., 2023). Burukluk, matchanın lezzet algısında belirleyici bir özelliktir. Kueretin-3-O-glukozit, kaempferol-3-O-rutinoz, EGCG ve kaempferol-3-O-glukozit gibi bileşiklerin matchadaki burukluk hissinden sorumlu olduğu belirlenmiştir (Xue vd., 2025). Çalışmamızda yapılan duysal analizlerde ‘buruk’ ve ‘otumsu’ özelliklerin tüm örneklerde ortak ve baskın tanımlayıcılar olduğu görülmektedir (Şekil 3). En yüksek burukluk TM2 örneğinde, en düşük burukluk ise JM örneğinde gözlemlenmiştir. Panelistler, JM örneğinin tat ve aroma açısından genel olarak düşük yoğunluklu bir karaktere sahip olduğunu belirtmiştir. Manikhorda vd. (2023), burukluk algısının tüketici kabulünü olumsuz etkileyebileceğini, matcha üretiminde uygulanan gölgelendirme işlemlerinin ise buruklukla ilişkili bileşiklerin yoğunluğunu azalttığını bildirmiştir.

Türkiye menşeli TM1 örneği; ‘otumsu’, ‘kınamı’ ve ‘odunumsu’ özelliklerin yüksekliğiyle, en belirgin bitkisel tat profiline sahip örnek olarak öne çıkmaktadır. TM3 ve JM örneklerinde ise ‘yosunsu-balığımsı’ tat diğerlerine kıyasla daha yoğun algılanmıştır. Matcha, deniz yosununa benzer karakteristik aromasıyla bilinmesine rağmen (Luo vd., 2023), bu profil panelistler tarafından tüketici kabulü açısından olumsuz değerlendirilebilecek bir özellik olarak yorumlanmıştır. Zhang vd. (2025), matchadaki yosunsu tat algısına katkıda bulunan başlıca bileşiklerin dimetil sülfür, α -iyonon, hekzanal, benzaldehit ve (E)- β -iyonon olduğunu bildirmiştir. Panelistlerce olumsuz algılanan bir diğer tat olan ‘kınamı’ özellik ise tüm örneklerde

saptanmış; bu özellik TM1 örneğinde en yoğun, JM örneğinde ise en düşük düzeyde hissedilmiştir. ‘Kınamsı’ tanımını kültürel olarak belirli bir coğrafyada yaygın olarak bilinen bir kokuya dayandığından, bu duyuşal özellik uluslararası

literatürde farklı duyuşal terimlerle ifade edilmiş olabilir. Bu durum, duyuşal analizlerde kullanılan tanımlayıcıların kültürel koku hafızasından bağımsız olamayacağını göstermektedir.

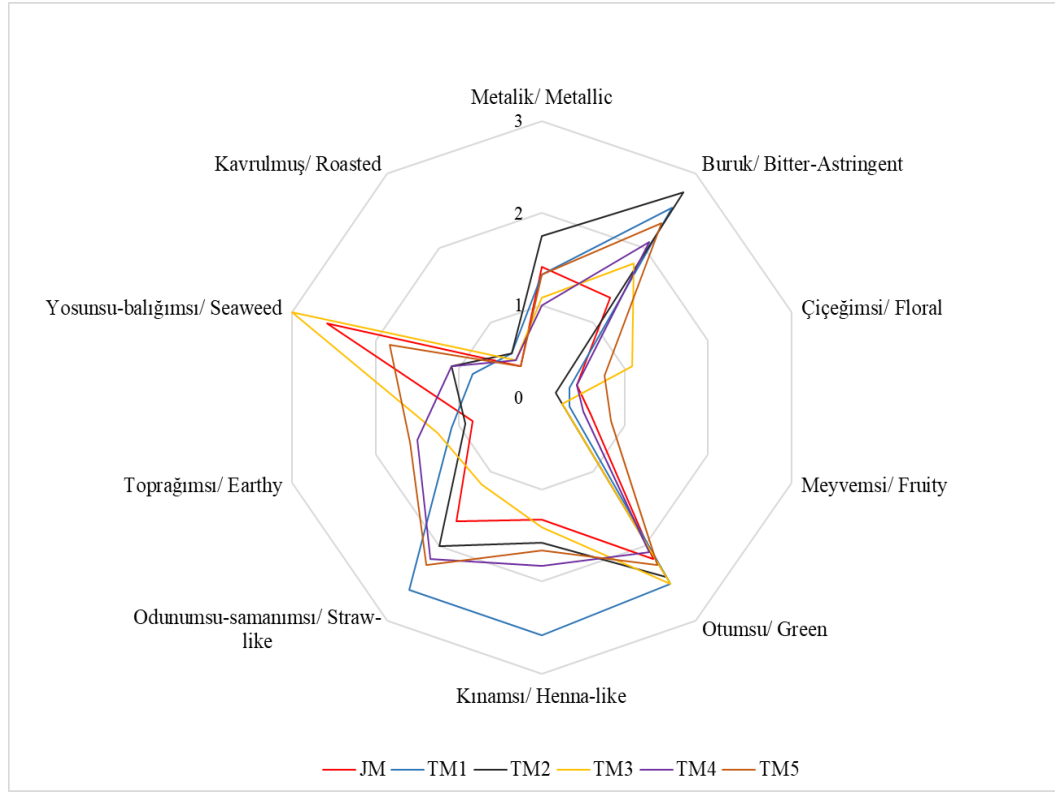
Çizelge 2. Matcha örneklerinin renk özellikleri

Table 2. Color properties of matcha samples

Matcha örneği <i>Matcha sample</i>	Matcha tozu <i>Matcha powder</i>				Matcha dispersiyonu <i>Matcha dispersion</i>			
		L^*	a^*	b^*		L^*	a^*	b^*
JM		53.99 ± 0.54^B	-12.96 ± 0.05^F	37.56 ± 0.08^A		28.65 ± 0.26^A	-6.15 ± 0.10^D	18.59 ± 0.54^A
TM1		62.09 ± 0.13^A	-4.99 ± 0.01^C	25.60 ± 0.08^D		26.90 ± 0.13^{AB}	-2.06 ± 0.03^B	10.70 ± 0.25^C
TM2		60.36 ± 0.58^A	-4.07 ± 0.05^B	24.47 ± 0.10^E		27.82 ± 0.54^A	-1.91 ± 0.07^B	10.34 ± 0.16^C
TM3		51.69 ± 1.05^B	-11.36 ± 0.12^E	35.85 ± 0.37^B		28.48 ± 0.24^A	-3.70 ± 0.04^C	13.27 ± 0.08^B
TM4		45.16 ± 0.83^C	-2.20 ± 0.04^A	25.92 ± 0.13^D		25.92 ± 0.05^B	1.57 ± 0.04^A	9.84 ± 0.04^C
TM5		54.49 ± 0.38^B	-9.81 ± 0.09^D	34.42 ± 0.13^C		25.75 ± 0.64^B	-2.15 ± 0.07^B	13.35 ± 0.34^B

* Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir ($P < 0.05$).

*Different letters in the same column indicate a statistically significant difference ($P < 0.05$).



Şekil 3. Matcha örneklerinin duyuşal özellikleri.

Figure 3. Sensory properties of matcha samples.

Matcha çayının tat, aroma ve genel duyuşal özellikleri; kullanılan çay yapraklarının gölgelenme süresi, yetiştirildiği coğrafi konum, iklim koşulları, hasat zamanı ve uygulanan işleme teknikleri gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterebilir. Türkiye’de yetiştirilen çay klonlarından elde edilen yeşil çay tozları üzerine yapılan bir çalışmada (Tontul vd., 2023), farklı gölgelenme seviyeleri ve ardışık hasat dönemlerinde yetiştirilen çaylardan elde edilen yeşil çay tozlarının uçucu bileşik profilleri belirlenmiş ve uygulamalara göre ayırt edici bileşikler tespit edilmiştir. Cui vd. (2025), Çin’in farklı bölgelerinden aynı çay çeşidi ile işlenen matcha çaylarının duyuşal kalite özellikleri ve uçucu olmayan maddelerinin farklı olduğunu bildirmişlerdir. Dolayısıyla, matchanın tat ve aroma kalitesini artırmak için gölgelendirme süresi, hasat zamanı ve işleme yöntemleri ve yetiştirme bölgesi gibi değişkenlerin optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır.

SONUÇ

Bu çalışmada, Türkiye ve Japonya menşeli matcha tozlarının fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Elde edilen bulgular, Türkiye menşeli matcha tozlarının toz özellikleri bakımından Japon menşeli ürünlere genel olarak benzerlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, çözünürlük, klorofil, fenolik bileşenler ve antioksidan kapasite açısından Türkiye menşeli ürünler belirgin üstünlükler sergilemiştir. Özellikle TM3 örneği yüksek çözünürlük indeksi, klorofil içeriği ve DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasitesi ile ön plana çıkarken, TM5 örneği toplam fenolik madde içeriği ve ABTS yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite açısından en yüksek değerlere sahip bulunmuştur. Duyusal analizlerde tüm örneklerde buruk, otumsu, kınamsı, odunumsu-samanımsı ve yosunsu-balığimsı tat profilleri baskın bulunmuş; JM örneği ise tat ve aroma açısından genel olarak daha düşük yoğunluklu bir profil sergilemiştir. Bu sonuçlar,

Türkiye’de üretilen matcha tozlarının kalite potansiyelini ortaya koymakta olup, üretim süreçlerinin optimize edilmesi ile yerli ürünlerin uluslararası pazarda rekabet gücünün artırılabilceğini göstermektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlarının bu çalışma ile ilgili olarak herhangi bir kişi veya kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Bu çalışmada kapsamında yapılan analizlerde ve makalenin yazılmasında yazarlar eşit olarak katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

AOAC (2010). *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists* (18th edition). AOAC International.

Caliskan, G., Dirim, S. N. (2016). The effect of different drying processes and the amounts of maltodextrin addition on the powder properties of sumac extract powders. *Powder Technology*, 287, 308-314. doi:10.1016/j.powtec.2015.10.019

Cos, P., Calomme, M., Pieters, L., Vlietinck, A. J., Vanden Berghe, D. (2000). Structure-activity relationship of flavonoids as antioxidant and pro-oxidant compounds. *Studies in Natural Products Chemistry*, 22, 307-341. doi:10.1016/S1572-5995(00)80029-0

Cui, H., Zhao, Y., Li, H., Ye, M., Yu, J., Zhang, J. (2025). Effect of geographic regions on the flavor quality and non-volatile compounds of chinese Matcha. *Foods*, 14(1), 97. doi:10.3390/foods14010097

Dely, M., Mnasser, H., Mankai, M. (2025). Analysis of variations in matcha components across different brands on the Tunisian market. *Acta Scientifi Nutritional Health*, 9, 39-50. doi:10.31080/ASNH.2025.09.1531

Donlao, N., Ogawa, Y. (2019). The influence of processing conditions on catechin, caffeine and chlorophyll contents of green tea (*Camelia sinensis*) leaves and infusions. *LWT-Food Science and Technology*, 116, 108567. doi:10.1016/j.lwt.2019.108567

Džarić, T., Petrović, D., Božović, M. (2025). Antioxidant activity and total phenolic content of different extracts from *Rosa canina* L Fruits. *Natural Product Communications*, 20(8), 1934578X251369590. doi:10.1177/1934578X251369590

Gulcin, İ., Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248. doi:10.3390/pr11082248

Horie, H., Ema, K., Sumikawa, O. (2017). Chemical components of Matcha and powdered green tea. *日本調理科学会誌*, 50(5): 182-188.

Jakubczyk, K., Kochman, J., Kwiatkowska, A., Kalduńska, J., Dec, K., Kawczuga, D., Janda, K. (2020). Antioxidant properties and nutritional composition of matcha green tea. *Foods*, 9(4): 483. doi:10.3390/foods9040483

Jiang, D., Deng, L., Dai, T., Liang, R., Liu, W., Liu, C., Li, C., Zhong, J., Zhong, H., Chen, J. (2023). Stirred media mill: A novel efficient technology for improving the physicochemical properties and aroma of matcha. *Powder Technology*, 427, 118783. doi:10.1016/j.powtec.2023.118783

Kika, J., Jakubczyk, K., Ligenza, A., Maciejewska-Markiewicz, D., Szymczykowska, K., Janda-Milczarek, K. (2024). Matcha green tea: Chemical composition, phenolic acids, caffeine and fatty acid profile. *Foods*, 13(8): 1167. doi:10.3390/foods13081167

Kim, M. J., Kim, J. H., Kim, J. H., Kim, Y. J. (2015). Comparative studies on the antioxidant capacities and catechin profiles of conventional and organic green tea. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58(4), 475-480. doi:10.1007/s13765-015-0045-7

Kochman, J., Jakubczyk, K., Antoniewicz, J., Mruk, H., Janda, K. (2020). Health benefits and chemical composition of matcha green tea: A review. *Molecules*, 26(1): 85. doi:10.3390/molecules26010085

Koláčková, T., Kolofíková, K., Sytařová, I., Snopek, L., Sumczynski, D., Orsavová, J. (2020). Matcha tea: analysis of nutritional composition, phenolics and antioxidant activity. *Plant Foods for*

- Human Nutrition*, 75(1): 48-53. doi: s11130-019-00777-z
- Lee, J., Chambers, D. H. (2007). A lexicon for flavor descriptive analysis of green tea. *Journal of Sensory Studies*, 22(3): 256-272. doi:10.1111/j.1745-459X.2007.00105.x
- Lee, L. S., Lee, N., Kim, Y. H., Lee, C. H., Hong, S. P., Jeon, Y. W., Kim, Y. E. (2013). Optimization of ultrasonic extraction of phenolic antioxidants from green tea using response surface methodology. *Molecules*, 18(11), 13530-13545. doi:10.3390/molecules181113530
- Luo, Y., Zhang, Y., Qu, F., Qian, W., Wang, P., Zhang, X., Zhang, X., Hu, J. (2023). Variations of main quality components of matcha from different regions in the Chinese market. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1153983. doi:10.3389/fnut.2023.1153983
- Manikharda, Shofi, V. E., Betari, B. K., Supriyadi. (2023). Effect shading intensity on color, chemical composition, and sensory evaluation of green tea (*Camelia sinensis* var *Assamica*). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 22(7), 407-412. doi:10.1016/j.jssas.2023.03.006
- Müller, L., Fröhlich, K., Böhm, V. (2011). Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxyl radical scavenging assay. *Food chemistry*, 129(1), 139-148. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.045
- Najman, K., Sadowska, A., Wolińska, M., Starczewska, K., Buczak, K. (2023). The content of bioactive compounds and technological properties of Matcha green tea and its application in the design of functional beverages. *Molecules*, 28(20):7018. doi:10.3390/molecules28207018
- Pérez-Burillo, S., Giménez, R., Rufián-Henares, J. A., Pastoriza, S. (2018). Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: Relationship with sensory properties. *Food Chemistry*, 248, 111-118. doi:10.1016/j.foodchem.2017.12.056
- Phuah, Y. Q., Chang, S. K., Ng, W. J., Lam, M. Q., Ee, K. Y. (2023). A review on matcha: Chemical composition, health benefits, with insights on its quality control by applying chemometrics and multi-omics. *Food Research International*, 170, 113007. doi:10.1016/j.foodres.2023.113007
- Sakr, H., Ammar, A., Zaki, H., Salama, M. A., Ali, M. (2024). Impact of ball milling on physicochemical, structural, and functional properties of *Moringa oleifera* L. leaf powders. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(1): 320-330. doi:10.1007/s11694-023-02167-1
- Shishikura, Y., Khokhar, S. (2005). Factors affecting the levels of catechins and caffeine in tea beverage: estimated daily intakes and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12): 2125-2133. doi:10.1002/jsfa.2206
- Sokary, S., Al-Asmakh, M., Zakaria, Z., Bawadi, H. (2023). The therapeutic potential of matcha tea: A critical review on human and animal studies. *Current Research in Food Science*, 6, 100396. doi:10.1016/j.crfs.2022.11.015
- Stępień, A., Liszka-Skoczylas, M., Gwóźdź, G. (2025). Comparison of technological and physical properties of matcha powders of different geographical origins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 105(4): 2569-2577. doi:10.1002/jsfa.14030
- Tontul, I., Torun, M., Dincer, C., Sahin-Nadeem, H., Topuz, A., Turna, T., Ozdemir, F. (2013). Comparative study on volatile compounds in Turkish green tea powder: Impact of tea clone, shading level and shooting period. *Food Research International*, 53(2): 744-750. doi:10.1016/j.foodres.2012.12.026
- Tsai, T. H., Tsai, T. H., Chien, Y. C., Lee, C. W., Tsai, P. J. (2008). *In vitro* antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. *Food Chemistry*, 110(4), 859-864. doi:10.1016/j.foodchem.2008.02.085
- Xue, J., Liu, P., Xu, Y., Gui, A., Wang, X., Ye, F., Feng, L., Wang, S., Teng, J., Gao, S., Zheng, P. (2025). Effect of cultivar and process on the astringency of matcha based on flavonoids-

targeted metabolomic analysis. *Food Research International*, 204, 115954. doi:10.1016/j.foodres.2025.115954

Ye, J. H., Fang, Q. T., Zeng, L., Liu, R. Y., Lu, L., Dong, J. J., Yin, J. F., Liang, Y. R., Xu, Y. Q., Liu, Z. H. (2024a). A comprehensive review of matcha: production, food application, potential health benefits, and gastrointestinal fate of main phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(22): 7959-7980. doi: 10.1080/10408398.2023.2194419

Ye, Y., Ai, Z., Li, R., Tian, Y., Yang, Y. (2024b). Quality analysis and antioxidant activity of different types of tea powder. *Food Production, Processing and Nutrition*, 6(1): 36. doi:10.1186/s43014-023-00198-1

Zhang, Y., Wu, X., Shi, Y., Qu, F., Qi, D., Qian, W., Zhang, X., Hu, J. (2025). Identification of key

odorants responsible for the seaweed-like aroma quality of Shandong matcha. *Food Research International*, 204, 115945. doi:10.1016/j.foodres.2025.115945

Zhao, Z., Dai, Z., Jiang, X., Yu, L., Hu, M., Peng, J., Zhou, F. (2023). Influence and optimization of long-time superfine grinding on the physicochemical features of green tea powder. *Journal of Food Composition and Analysis*, 117, 105124. doi:10.1016/j.jfca.2022.105124

Zhu, H., Chu, F., Liu, J., Chen, L., Ye, Y. 2022. Investigating particle-size-induced changes in composition, physical, rheological, and bioactive properties of black tea powder. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(10):4131-4139. doi:10.1002/jsfa.11762



**AUTOMATIC SOLVENT EXTRACTION OF BIOACTIVE MOLECULES RICH
IN PHENOLICS AND FLAVONOIDS FROM *HYPERICUM PERFORATUM* L.:
OPTIMIZATION AND MULTIVARIATE ANALYSIS**

İrem TOPRAKÇI YÜKSEL*

Istanbul University-Cerrahpasa, Faculty of Engineering, Chemical Engineering Department, Avcılar, Istanbul,
Türkiye

Received / Geliş: 17.09.2025; Accepted / Kabul: 18.11.2025; Published online / Online baskı: 29.11.2025

Toprakçı Yüksel, İ. (2025). Automatic solvent extraction of bioactive molecules rich in phenolics and flavonoids from *Hypericum perforatum* L.: Optimization and multivariate analysis. GIDA (2025) 50 (6) 1200-1219 doi: 10.15237/ gida.GD25123

Toprakçı Yüksel, İ. (2025). *Hypericum perforatum* L'den fenolik ve flavonoidler açısından zengin biyoaktif moleküllerin otomatik çözücü ekstraksiyonu: Optimizasyon ve çok değişkenli analiz. GIDA (2025) 50 (6) 1200-1219 doi: 10.15237/ gida.GD25123

ABSTRACT

This study employed automatic solvent extraction (ASE) to obtain extracts rich in phenolic and flavonoid compounds from *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). Response surface methodology (RSM) based on Box-Behnken Design was used to optimize three factors (solid mass, immersion time and ethanol concentration). Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant activity (DPPH and ABTS assays) were evaluated as response variables. Ethanol concentration had the most significant effect on TPC and TFC, while antioxidant activity was significantly influenced by the *H. perforatum* amount. The optimal conditions (0.5 g solid mass, 30 min immersion time and ~30-33% ethanol) yielded the highest TPC (95.1093 mg-GAE/g-DM), TFC (66.9977 mg-CE/g-DM), antioxidant activity value of DPPH (38.4081 mg-TEAC/g-DM) and antioxidant activity value of ABTS (42.3328 mg-TEAC/g-DM) with a desirability index close to 1. Principal component analysis (PCA) supported correlations among the responses, showing that ASE is a sustainable and effective extraction method.

Keywords: *Hypericum perforatum* L., antioxidant activity, green extraction, RSM, PCA.

***HYPERICUM PERFORATUM* L.'DEN FENOLİK VE FLAVONOİDLER
AÇISINDAN ZENGİN BİYOAKTİF MOLEKÜLLERİN OTOMATİK ÇÖZÜCÜ
EKSTRAKSİYONU: OPTİMİZASYON VE ÇOK DEĞİŞKENLİ ANALİZ**

ÖZ

Bu çalışmada, *Hypericum perforatum* L. (sarı kantaron) bitkisinden fenolik ve flavonoid bileşikler açısından zengin özütler elde etmek için otomatik çözücü ekstraksiyonu (ASE) kullanılmıştır. Box-Behnken Tasarımına dayalı tepki yüzey metodolojisi (RSM), üç faktörü (katı kütle, daldırma süresi ve etanol konsantrasyonu) optimize etmek için kullanılmıştır. Toplam fenolik içerik (TPC), toplam flavonoid içerik (TFC) ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS analizleri) tepki değişkenleri olarak değerlendirilmiştir. Etanol konsantrasyonu TPC ve TFC üzerinde en önemli etkiye sahipken, antioksidan aktivite *H. perforatum* miktarından önemli ölçüde etkilenmiştir. Optimum koşullar (0.5 g

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: irem.toprakciyuksele@iuc.edu.tr

☎: (+90) 212 404 0300/21554

İrem Toprakçı Yüksel; ORCID no: 0000-0001-9870-8514

katı kütle, 30 dakikalık daldırma süresi ve ~%30-33 etanol) en yüksek TPC'yi (95.109 mg-GAE/g-DM), TFC'yi (66.998 mg-CE/g-DM), DPPH'nin (38.408 mg-TEAC/g-DM) antioksidan aktivite değerini ve ABTS'nin (42.333 mg-TEAC/g-DM) antioksidan aktivite değerini, 1'e yakın bir arzu edirlilik indeksiyle vermiştir. Temel bileşen analizi (PCA), yanıtlar arasındaki korelasyonları desteklemiş ve ASE'nin sürdürülebilir ve etkili bir ekstraksiyon yöntemi olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Hypericum perforatum* L., antioksidan aktivite, yeşil ekstraksiyon, RSM, PCA.

INTRODUCTION

Hypericum perforatum L. also known as St. John's Wort is a medicinal plant due to its bioactive properties such as antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory effects (Tumbariski et al., 2024). The antioxidant activity of *H. perforatum* is generally attributable to its phenolic and flavonoid contents (Cossuta et al., 2012). Considering the growing interest in natural antioxidants, *H. perforatum* extracts have been attracting attention as potential ingredients in functional food formulations (Jakubczyk et al., 2021; Lim et al., 2025; Mišina et al., 2025; Sánchez-Muniz et al., 2012; Kaloteraki, C., et al., 2021). Therefore, recovery of the active materials from *H. perforatum* with maximum yield and quality is of great significance. Ultrasound-assisted extraction (Kakouri et al., 2023; Seyrekoglu et al., 2022; Seyrekoglu and Temiz, 2020) and microwave-assisted extraction (Milutinović et al., 2024) were used for obtaining bioactive molecules from *H. perforatum* in earlier studies. Unlike these conventional assisted methods, the recovery of phenolic- and flavonoid-rich extracts from *H. perforatum* was performed using automatic solvent extraction (ASE) in the present study. ASE is considered as a promising green extraction technique due to its properties such as efficiency (high recovery), speed (shorter extraction time), environmentally friendly (low solvent consumption) and reproducibility (automation and control possibilities) (Chemat et al., 2019). Since the extraction efficiency of ASE is influenced by multiple factors (time, solid/solvent ratio, concentration of the solvent), response surface method (RSM) was employed as a statistical optimization tool to determine the best conditions for maximizing bioactive compound recovery. Box-Behnken Design (BBD) was chosen as one of the most common designs used in RSM due to the fact that it requires less experimental runs than central composite designs (Szpisják-Gulyás et al., 2023). Moreover, BBD

avoids extreme factor combinations that might cause degradation of thermolabile compounds (Ahmad et al., 2020). Therefore, it is unavoidable to adopt for improving the recovery of phenolic and flavonoid compounds from *H. perforatum*.

To the best of our knowledge, this is the first study to investigate the application of ASE coupled with statistical optimization for the extraction of bioactive compounds from *H. perforatum*. In addition, the present study integrates principal component analysis (PCA) with RSM to provide a comprehensive evaluation of the extraction parameters and the responses. Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity (measured by ABTS and DPPH assays) were accepted as response variables. This comprehensive approach will present ASE as a sustainable method for producing high-quality extracts from *H. perforatum*.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Dried plant material was purchased from a local herbal store in Istanbul, Turkey. The samples were stored in sealed containers at ambient conditions until the extraction step. Chemicals and reagents (ethanol, methanol, Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, sodium carbonate, aluminum chloride, catechin, trolox, ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)) were of analytical grade ($\geq 98\%$ purity) and obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Automatic solvent extraction was performed using an autoextractor (VELP Scientifica, Usmate, Italy). Spectrophotometric measurements were performed by UV-Vis spectrophotometer (PG Instruments, T60/Leicestershire, England).

Extraction

Active ingredients were extracted from *H. perforatum* using the automatic solvent extractor. This system owns five times the speed of a Soxhlet. Glass cup containing was filled with 80 mL solvent (aqueous ethanol). The glass cups were then filled with the cellulose extraction thimbles (single thickness, 33 mm x 80 mm,

Whatman, Maidstone, UK) that held the solid samples.

The overall workflow of the experimental procedure, including the steps from sample preparation to data analysis, is summarized in Figure 1.

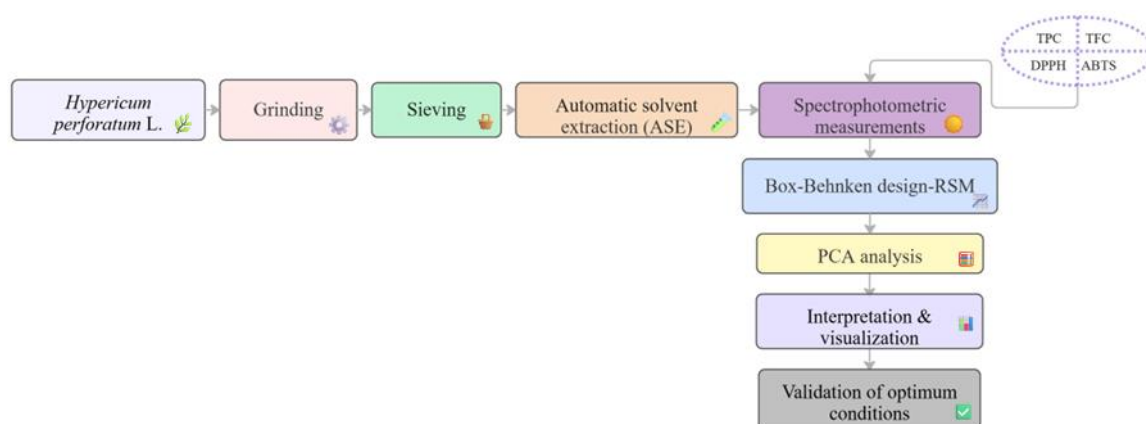


Figure 1. Schematic representation of the experimental workflow, illustrating the steps from sample preparation to data analysis.

The ASE system was programmed to run through the following steps: immersion time (variable according to the design), removing time (0 min), washing time (20 min), recovery time (30 min), and cooling time (5 min). For each extraction run, the solvent was freshly prepared to ensure consistency and to avoid any possible

contamination or solvent degradation between experiments.

Table 1 represents the process parameters and their levels determined by the preliminary experiments.

Table 1. Process parameters, units, symbols, and coded levels.

Process Parameter	Units	Symbol	Coded levels		
			-1	0	1
Solid mass	g	A	0.5	1	1.5
Immersion time	min	B	10	20	30
Solvent concentration	%, v/v	C	30	60	90

Spectrophotometric measurements

TPC, TFC and antioxidant activity (DPPH and ABTS) determinations were measured spectrophotometrically. The Folin-Ciocalteu colorimetric method was used to determine the TPC amount in the extracts (Şahin, 2015). The sample of the extract was mixed with pure water. Folin-Ciocalteu solution that had been diluted was added to the extract that had been diluted and mixed. The sodium carbonate solution was added

and left for 30 min. The absorption was found at a wavelength of 760 nm. The amount of TPC was given as mg of gallic acid equivalent per gram of dried material (mg-GAE/g-DM).

TFC was determined by aluminum chloride colorimetric assay as described in (Sakanaka et al., 2005). A complex between flavonoids and aluminum chloride is formed, causing to color change in the solution. Then, this color change is

measured under 510 nm of wavelength. The absorbance values measured were compared to a reference flavonoid solution (catechin) to determine the TFC. The amount of TFC was given as mg of catechin equivalent per gram of dried material (mg-CE/g-DM).

Antioxidant activity values of the extracts were determined by DPPH and ABTS assays, respectively. These two methods represent the ability of the extract to scavenge free radicals. The color changes of the solution in DPPH and ABTS assays were measured at 517 nm and 734 nm, respectively (Şahin, 2015). The antioxidant activity values were given in trolox equivalent antioxidant capacity per gram of dried matter (mg-TEAC/g-DM).

Box-Behnken design

BBD with three factors and three levels was applied. The independent variables selected were solid mass (A, g), extraction time (B, min) and ethanol concentration (C, % v/v). Each variable was studied at three coded levels (-1, 0, +1) as given in Table 1. The experimental design consisted of 17 runs including replicates at the center point to estimate the pure error. The responses (dependent variables) were TPC and TFC. Minitab statistical software 22 (Minitab Inc., State College, PA, USA) was used for experimental design, regression analysis and response surface modeling.

Multivariate data analysis

Principal Component Analysis (PCA) was applied to reduce the dimensionality of the dataset and to visualize correlations among total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant activities (DPPH and ABTS). Prior to analysis, data were standardized, and PCA was carried out on the correlation matrix to eliminate the effect of differences in measurement scales. PCA was performed using Minitab® Statistical Software, version 22.2.1 (64-bit) (Minitab LLC, State College, PA, USA). Score plots and biplots were generated to assess sample clustering and to reveal the association between measured variables.

RESULTS and DISCUSSION

Effect of process parameters on the bioactive substances of the *Hypericum perforatum* extract

Table 2 summarizes the design matrix of the experimental study with the measured variables (TPC, TFC and antioxidant activity values measured by 2 assays) for the recovery of *H. perforatum* extract through the ASE system.

TPC values ranged from 33.592 ± 0.003 mg-GAE/g-DM to 94.840 ± 0.001 mg-GAE/g-DM, while TFC values in the *H. perforatum* extract were between 30.714 ± 0.004 mg-CE/g-DM and 66.920 ± 0.001 mg-CE/g-DM. When the process conditions are evaluated, it is seen that the highest TPC and TFC values are observed under 30% ethanol conditions (Table 2). On the other hand, 90% ethanol gave rise to produce poor yields of TPC and TFC as seen in Table 2. Consequently, the same tendency was observed for both TPC and TFC towards the extraction conditions. This can be also supported by the positive strong correlation between the TPC and TFC values of the extracts ($r=0.9034$).

Actually, analysis of variance (ANOVA) test (Table 3) also supports that solvent concentration was the most significant factor influencing both TPC and TFC values with the highest F-values ($P<0.001$). This finding is also supported by the derived quadratic models (Eq.1 and Eq.2), where there are strong negative coefficients for the ethanol concentration. This shows that relatively low ethanol concentration favours the extraction of phenolic and flavonoid compounds. This can be explained by some factors such as polarity, hydrogen bond interactions and matrix swelling properties. First of all, water is more polar than ethanol. Therefore, the solvent gets more polar when the water concentration is higher than ethanol concentration in the solution (Özbek et al., 2020). So, 30% ethanol (v/v) causes the diffusion of much more polar phenolics and flavonoids from the solid matrix comparing to 90% ethanol. Another explanation might be the role of water as swelling agent for the plant matrix, which enhances the mass transfer of the solute into the solvent (Rodríguez De Luna et al., 2020).

Table 2. Process parameters and experimental results for the total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity (DPPH and ABTS).

Run	Solid mass (g)	Immersion time (min)	Solvent concentration (%v/v)	TPC (mg-GAE/g-DM)	TFC (mg-CE/g-DM)	DPPH (mg-TEAC/g-DM)	ABTS (mg-TEAC/g-DM)
1	0.5	30	60	76.115±0.003	53.878±0.002	38.808±0.000	42.456± 0.000
2	1	20	60	65.174±0.006	47.869±0.001	19.285±0.001	21.295±0.000
3	1	10	90	33.849±0.004	30.714±0.004	19.387±0.004	21.243±0.001
4	1.5	30	60	71.227±0.003	49.720±0.006	12.403±0.001	14.123±0.001
5	0.5	10	60	62.982±0.003	50.809±0.002	38.625±0.001	42.126±0.001
6	1.5	20	90	33.592±0.003	32.242±0.001	12.940±0.002	14.254±0.000
7	1	30	30	94.840±0.001	64.146±0.004	19.000±0.001	21.188±0.000
8	1.5	20	30	89.622±0.004	65.069±0.001	11.896±0.002	14.200±0.001
9	1	20	60	69.608±0.001	47.019±0.006	18.797±0.003	21.061±0.001
10	1	10	30	81.476±0.002	52.494±0.001	18.865±0.000	21.086±0.000
11	1	20	60	64.807±0.004	47.023±0.001	18.960±0.002	21.245±0.001
12	1	30	90	49.698±0.003	32.142±0.006	19.364±0.002	21.344±0.001
13	0.5	20	30	93.022±0.006	66.920±0.001	37.896±0.001	42.155±0.000
14	1	20	60	65.060±0.004	48.973±0.001	19.374±0.001	21.328±0.000
15	1.5	10	60	55.085±0.003	42.774±0.001	12.507±0.004	14.158±0.000
16	0.5	20	90	45.692±0.001	43.218±0.001	38.935±0.000	42.394±0.000
17	1	20	60	66.510±0.004	46.147±0.001	19.016±0.002	21.031± 0.001

Abbreviations: DM, dried matter; GE, equivalents of gallic acid; TPC, total phenolic content; CE, equivalents of catechin; TFC, total flavonoid content; TEAC, Trolox equivalent antioxidant capacity; DPPH, DPPH radical scavenging activity (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); ABTS, ABTS radical scavenging activity (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)).

* Data are given as the mean (n=3)±standard deviation.

Table 3. Analysis of variance for the responses.

	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
TPC	Model	9	5364.00	596.00	134.84	0.000
	Linear	3	5335.93	1778.64	402.39	0.000
	Solid mass (g)	1	100.01	100.01	22.62	0.002
	Immersion time (min)	1	427.61	427.61	96.74	0.000
	Solvent concentration (%v/v)	1	4808.32	4808.32	1087.81	0.000
	Square	3	5.34	1.78	0.40	0.756
	Solid mass (g)*Solid mass (g)	1	0.43	0.43	0.10	0.765
	Immersion time (min)*Immersion time (min)	1	0.16	0.16	0.04	0.852
	Solvent concentration(%v/v)*Solvent concentration (%v/v)	1	4.80	4.80	1.09	0.332
	2-Way Interaction	3	22.73	7.58	1.71	0.251
	Solid mass (g)*Immersion time (min)	1	2.26	2.26	0.51	0.497
	Solid mass (g)*Solvent concentration (%v/v)	1	18.92	18.92	4.28	0.077
	Immersion time (min)*Solvent concentration (%v/v)	1	1.54	1.54	0.35	0.573
	Error	7	30.94	4.42		
	Lack-of-Fit	3	14.94	4.98	1.25	0.404
	Pure Error	4	16.00	4.00		
	Total	16	5394.94			
Model summary		R ² = 99.43%, R ² (adjusted)=98.69%, R ² (predicted)=95.10%				

Recovery of bioactives from *Hypericum perforatum* L. via statistical methods

	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
TFC	Model	9	1822.41	202.49	211.00	0.000
	Linear	3	1666.04	555.35	578.68	0.000
	Solid mass (g)	1	78.25	78.25	81.54	0.000
	Immersion time (min)	1	66.67	66.67	69.47	0.000
	Solvent concentration (%v/v)	1	1521.12	1521.12	1585.02	0.000
	Square	3	105.66	35.22	36.70	0.000
	Solid mass (g)*Solid mass (g)	1	82.95	82.95	86.44	0.000
	Immersion time (min)*Immersion time (min)	1	27.37	27.37	28.52	0.001
	Solvent concentration(%v/v)*Solvent concentration (%v/v)	1	0.00	0.00	0.00	0.972
	2-Way Interaction	3	50.71	16.90	17.61	0.001
	Solid mass (g)*Immersion time (min)	1	3.76	3.76	3.92	0.088
	Solid mass (g)*Solvent concentration (%v/v)	1	20.82	20.82	21.69	0.002
	Immersion time (min)*Solvent concentration (%v/v)	1	26.13	26.13	27.23	0.001
	Error	7	6.72	0.96		
	Lack-of-Fit	3	2.17	0.72	0.63	0.631
	Pure Error	4	4.55	1.14		
	Total	16	1829.13			
Model summary		R ² = 99.63%, R ² (adjusted)=99.16%, R ² (predicted)=97.72%				
	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
DPPH	Model	9	1539.36	171.04	2715.37	0.000
	Linear	3	1366.61	455.54	7231.94	0.000
	Solid mass (g)	1	1365.50	1365.50	21678.24	0.000
	Immersion time (min)	1	0.00	0.00	0.07	0.796
	Solvent concentration (%v/v)	1	1.10	1.10	17.49	0.004
	Square	3	172.72	57.57	914.03	0.000
	Solid mass (g)*Solid mass (g)	1	171.44	171.44	2721.78	0.000
	Immersion time (min)*Immersion time (min)	1	0.06	0.06	0.94	0.366
	Solvent concentration(%v/v)*Solvent concentration (%v/v)	1	0.01	0.01	0.17	0.691
	2-Way Interaction	3	0.03	0.01	0.14	0.932
	Solid mass (g)*Immersion time (min)	1	0.02	0.02	0.33	0.585
	Solid mass (g)*Solvent concentration (%v/v)	1	0.00	0.00	0.00	0.992
	Immersion time (min)*Solvent concentration (%v/v)	1	0.01	0.01	0.10	0.762
	Error	7	0.44	0.06		
	Lack-of-Fit	3	0.21	0.07	1.26	0.401
	Pure Error	4	0.23	0.06		
	Total	16	1539.80			
Model summary		R ² = 99.97%, R ² (adjusted)=99.93%, R ² (predicted)=97.75%				
	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ABTS	Model	9	1788.60	198.73	17088.27	0.000
	Linear	3	1579.18	526.39	45262.64	0.000
	Solid mass (g)	1	1579.11	1579.11	135781.32	0.000
	Immersion time (min)	1	0.03	0.03	2.67	0.147
	Solvent concentration (%v/v)	1	0.05	0.05	3.95	0.087
	Square	3	209.37	69.79	6000.98	0.000
	Solid mass (g)*Solid mass (g)	1	208.07	208.07	17890.77	0.000
	Immersion time (min)*Immersion time (min)	1	0.00	0.00	0.01	0.914
	Solvent concentration(%v/v)*Solvent concentration (%v/v)	1	0.00	0.00	0.31	0.597
	2-Way Interaction	3	0.04	0.01	1.20	0.377
	Solid mass (g)*Immersion time (min)	1	0.03	0.03	2.86	0.134

Solid mass (g)*Solvent concentration (%v/v)	1	0.01	0.01	0.74	0.419
Immersion time (min)*Solvent concentration (%v/v)	1	0.00	0.00	0.00	0.996
Error	7	0.08	0.01		
Lack-of-Fit	3	0.01	0.00	0.11	0.947
Pure Error	4	0.07	0.02		
Total	16	1788.68			
Model summary	R ² = 100.00%, R ² (adjusted)=99.99%, R ² (predicted)=99.99 %				

$$\begin{aligned}
 \text{TPC} = & 100.72 - 3.9 \text{ Solid mass (g)} + 0.536 \text{ Immersion time (min)} \\
 & - 0.571 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} \\
 & + 1.27 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solid mass (g)} - 0.0020 \text{ Immersion time (min)} \\
 & * \text{Immersion time (min)} \\
 & - 0.00119 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\
 & + 0.150 \text{ Solid mass (g)} * \text{Immersion time (min)} \\
 & - 0.1450 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\
 & + 0.00207 \text{ Immersion time (min)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)}
 \end{aligned} \quad (1)$$

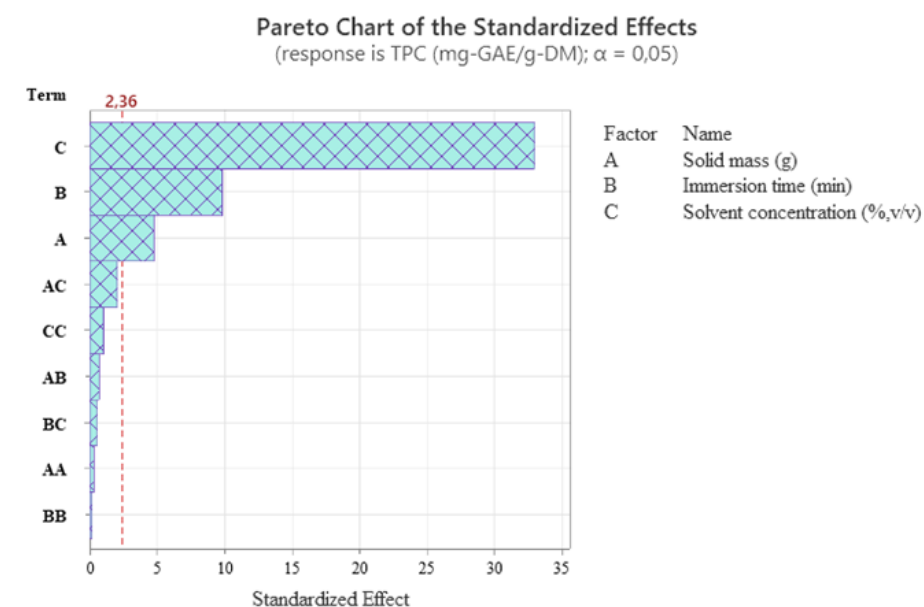
$$\begin{aligned}
 \text{TFC} = & 67.62 - 36.52 \text{ Solid mass (g)} + 1.626 \text{ Immersion time (min)} \\
 & - 0.1395 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} \\
 & + 17.75 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solid mass (g)} - 0.02550 \text{ Immersion time (min)} \\
 & * \text{Immersion time (min)} \\
 & + 0.000019 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\
 & + 0.1938 \text{ Solid mass (g)} * \text{Immersion time (min)} \\
 & - 0.1521 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\
 & - 0.00852 \text{ Immersion time (min)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)}
 \end{aligned} \quad (2)$$

The adequacy of the derived models was confirmed by high coefficients of determination (R^2) as seen in Table 3. R^2 , R^2 (adjusted) and R^2 (predicted) are all higher than 0.95 for TPC, whereas the R^2 values of TFC were also in good agreement with each other by extremely satisfactory results (>0.95). Additionally, the models had non-significant lack-of-fit value ($P>0.05$), showing that the derived models by Box-Behnken design describe the data without systematic bias (Chen and Chen, 2025).

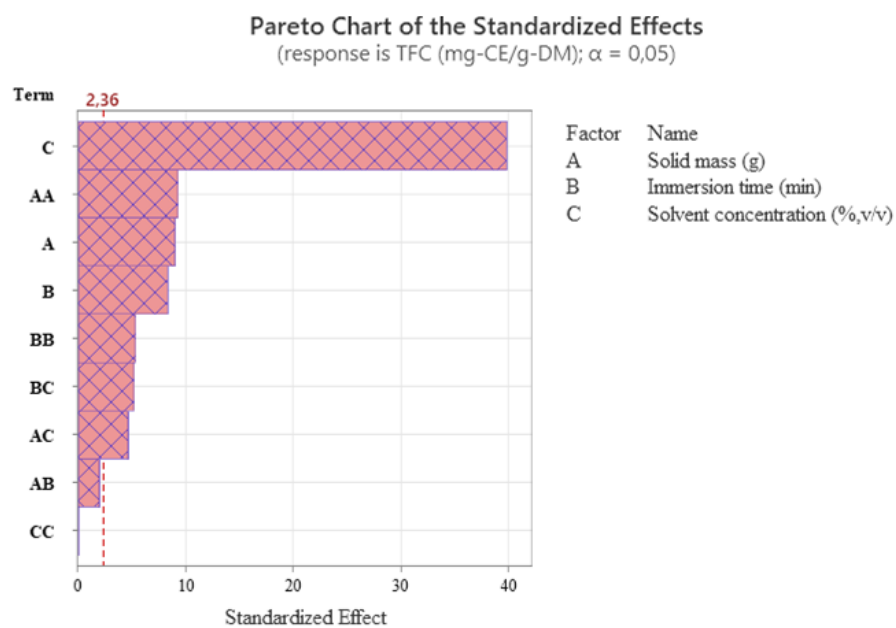
Additionally, other parameters were also found statistically significant for both TPC and TFC as given in Pareto charts (Figure 2). Figures 2a and 2b display the superior effect of the ethanol concentration over the other process terms on the phenolic and flavonoid yields.

The interaction effects between the variables can be observed in 3D response surface plots (Figures 3 and 4). Figure 3 indicates that the solvent

concentration had the strongest negative effect, followed by immersion time and solid mass for the TPC yield. Figure 3a shows that solid mass decreases the yield under the constant solvent volume, which is expectable (Wong et al., 2013). Because increasing the amount of solids restricts the penetration of the solvent into the plant matrix. So, the solute cannot be released from the matrix. On the other hand, TPC increases slightly as time increases as seen in Figure 3a. This extraction interval (30 min) is also in agreement with the report of Pan et al., where the risk of phenolics breaking down beyond 30 min was observed (Pan et al., 2010). However, the main determining factor is the solvent concentration as shown in Figures 3b and 3c. Increasing the ethanol concentration decreases the yield sharply. This result is consistent with that of Lohvina et al. (Lohvina et al., 2021). They observed the same ethanol effect on the extraction of total phenolics from the seeds of fenugreek.

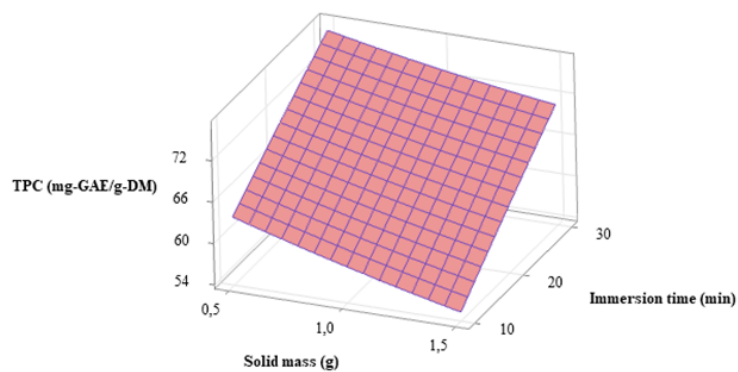


a)

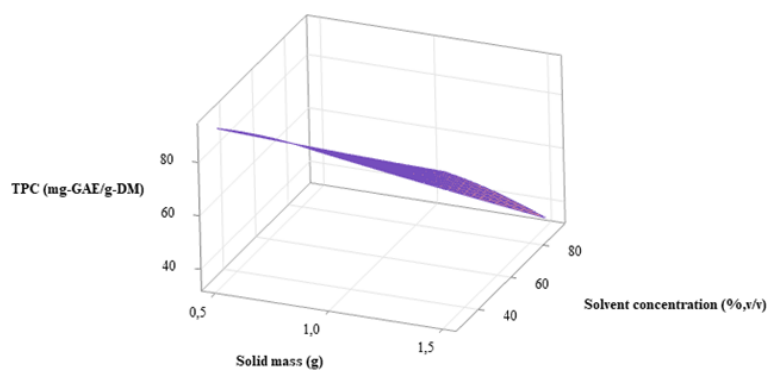


b)

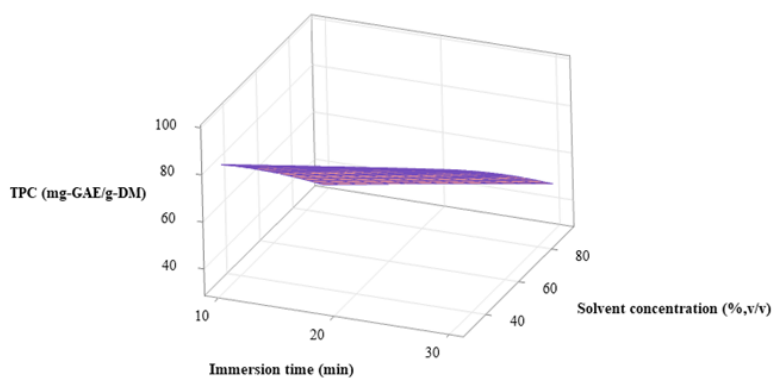
Figure 2. Pareto chart of standardized effects for TPC **(a)** and TFC **(b)** obtained by the Box-Behnken design.



a)



b)



c)

Figure 3. Response surface plot showing the combined effect of solid mass and immersion time (a), solid mass and solvent concentration (b) and immersion time and solvent concentration (c) on total phenolic content of the *H. perforatum* extract.

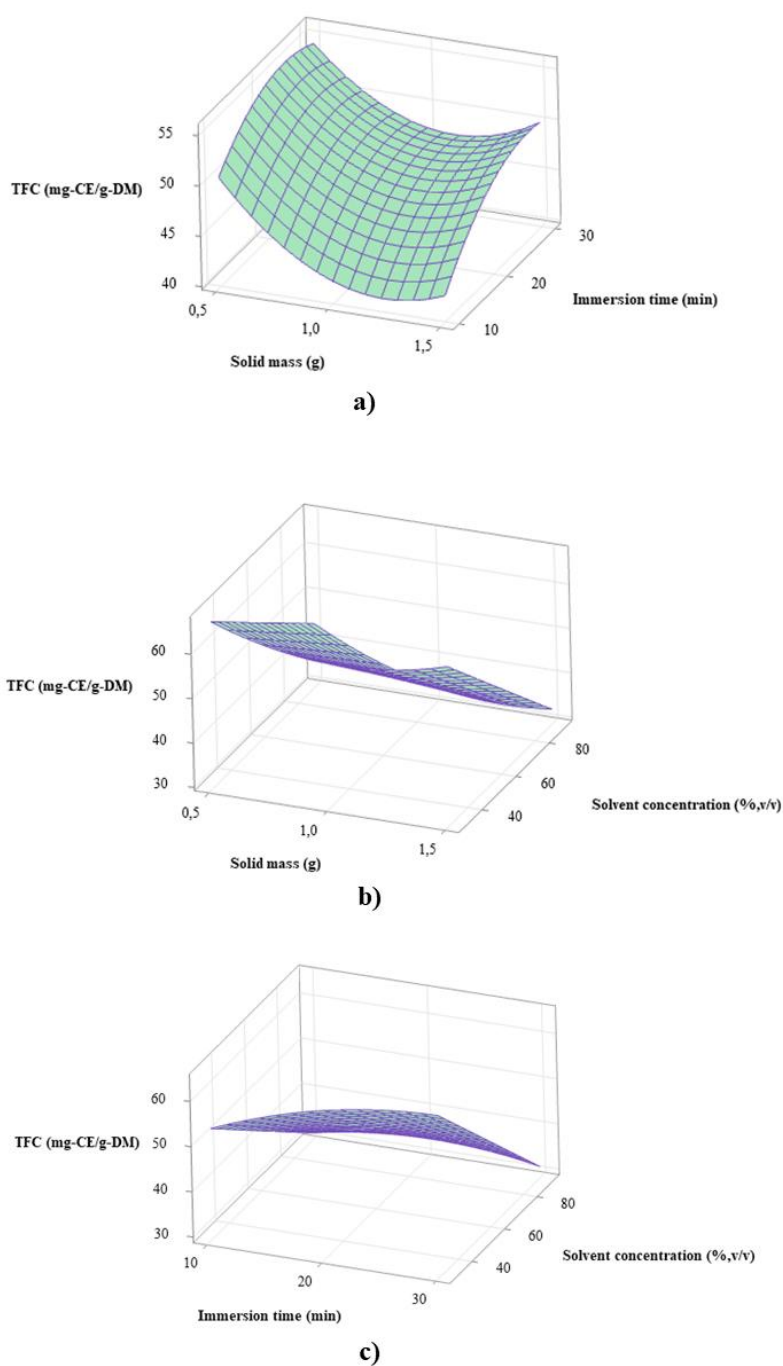


Figure 4. Response surface plot showing the combined effect of solid mass and immersion time (a), solid mass and solvent concentration (b) and immersion time and solvent concentration (c) on total flavonoid content of the *H. perforatum* extract.

The quadratic effects of solid mass and its interaction with time were also significant for the TFC yield as seen in the curved surface (Figure 4a). These trends are also supported with the ANOVA and Pareto analyses as described earlier (Table 3 and Figure 2). Since there is a strong correlation between TPC and TFC ($r>0.90$), the tendency of the responses towards the parameters are generally similar (Figures 3b, 3c, 4b and 4c).

Effect of process parameters on the antioxidant capacity of the *Hypericum perforatum* extract

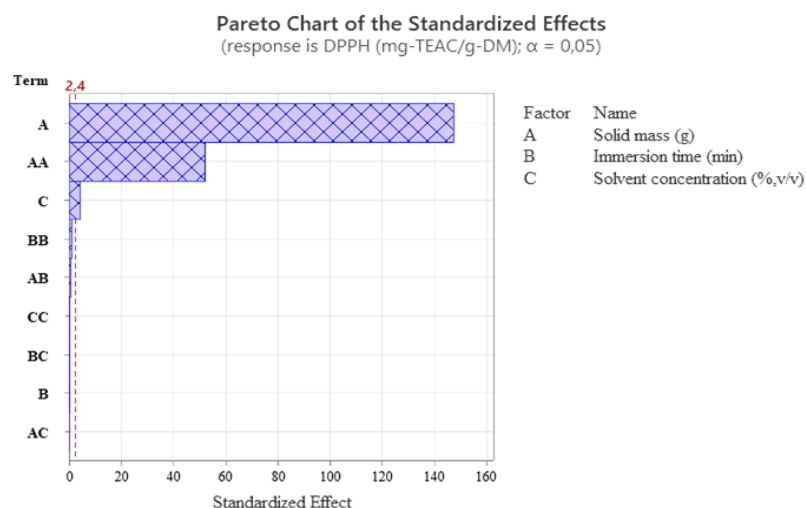
As already presented in Table 2, antioxidant activity values of DPPH test were between 11.896 ± 0.002 mg-TEAC/g-DM and 38.935 ± 0.000 mg-TEAC/g-DM in the *H. perforatum* extracts obtained by the ASE system. In case of ABTS assay, the antioxidant activity values in the extract changed from 14.123 ± 0.001 mg-TEAC/g-DM to 42.456 ± 0.000 mg-TEAC/g-DM. Furthermore, there was a perfect correlation between the results of 2 antioxidant activity assays ($r=0.9992$). When the effects of the parameters are evaluated, it can be seen that low solid mass (0.5 g) gave rise to the highest antioxidant capacities for both method, while 1.5 g of plant material (high mass) produced the lowest antioxidant activity values (Table 2). This effect was also recorded during the solid-liquid extraction of antioxidants from grape by-products (Pinelo et al., 2006). It was observed that high

solid concentration reduced the extraction efficiency, decreasing the antioxidant capacity. The highest linear and second power effects of plant material amount can be also observed in ANOVA results with the highest F-values at $P<0.0001$ (Table 3) and the Pareto charts (Figure 5). The linear and second power effects of time and ethanol concentration show non-significant effects (Table 3, Figures 5a and 5b). Even though solvent concentration and extraction time significantly influenced TPC and TFC (Figure 2 and Table 3), they did not significantly affect the antioxidant capacities (Figure 5). This means that other components such as lipophilic or other antioxidant substances might be responsible of antioxidant capacity independent of phenolic and flavonoid concentrations. This is also evident from the lack of correlation between antioxidant activity results and TPC/TFC ($r<0.06$).

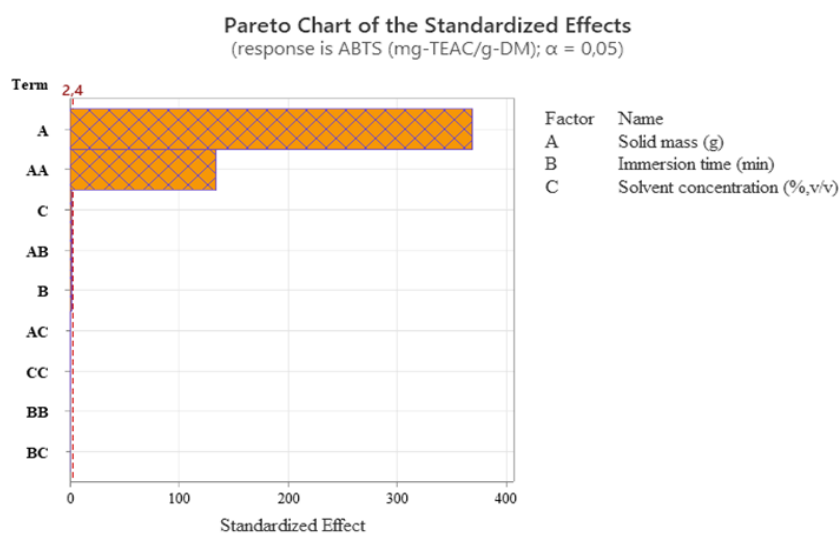
Eq. 3 and Eq. 4 also support the observed trends, where there are strong negative influences of increased solid mass on the DPPH and ABTS radical scavenging activities. Antioxidant activity models derived by Box-Behnken design showed even higher predictive performance with R^2 values exceeding 0.999 (Table 3). The lack-of-fit test was not also significant ($P>0.05$). To conclude, it has been confirmed that these models based on the Box-Behnken design can reliably predict extraction performance.

$$\begin{aligned} \text{DPPH} = & 69.78 - 76.90 \text{ Solid mass (g)} \\ & - 0.0227 \text{ Immersion time (min)} + 0.0217 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} \\ & + 25.524 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solid mass (g)} + 0.00118 \text{ Immersion time (min)} \\ & * \text{Immersion time (min)} \\ & - 0.000056 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\ & - 0.0144 \text{ Solid mass (g)} * \text{Immersion time (min)} \\ & + 0.00008 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\ & - 0.000132 \text{ Immersion time (min)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \end{aligned} \quad (3)$$

$$\begin{aligned} \text{ABTS} = & 76.675 - 83.786 \text{ Solid mass (g)} \\ & + 0.0269 \text{ Immersion time (min)} + 0.00174 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} \\ & + 28.118 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solid mass (g)} - 0.000059 \text{ Immersion time (min)} \\ & * \text{Immersion time (min)} \\ & + 0.000032 \text{ Solvent concentration (\%, v/v)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\ & - 0.0183 \text{ Solid mass (g)} * \text{Immersion time (min)} \\ & - 0.00308 \text{ Solid mass (g)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \\ & - 0.000001 \text{ Immersion time (min)} * \text{Solvent concentration (\%, v/v)} \end{aligned} \quad (4)$$



a)

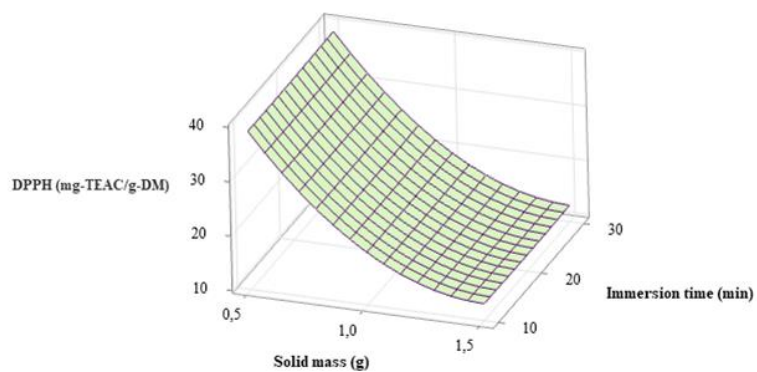


b)

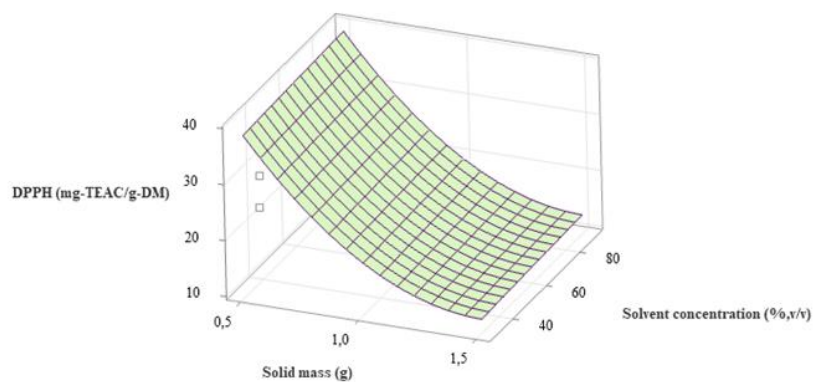
Figure 5. Pareto chart of standardized effects for DPPH (a) and ABTS (b) obtained by the Box-Behnken design.

As shown in the response surface plots (Figures 6 and 7), both antioxidant assays (DPPH and ABTS) responded in a highly consistent manner to the process variables. This can be explained by the fact that both assays measure radical scavenging activity based on single electron transfer reactions, leading to strong correlation

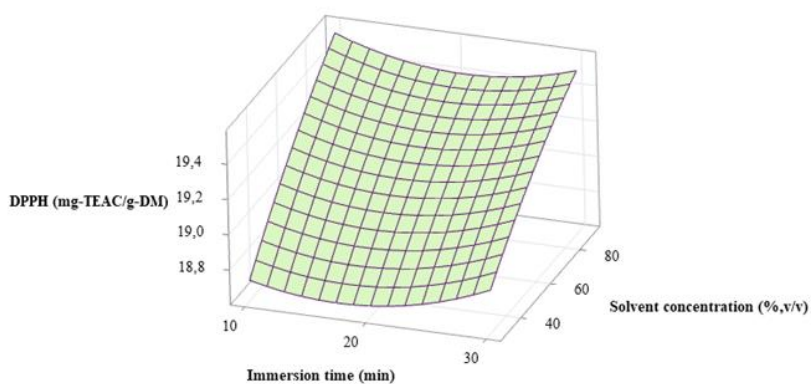
(Knez et al., 2025). Therefore, similar trends were observed in response to the ASE conditions. Imenšek et al. also recorded a high correlation between the DPPH and ABTS in the antioxidant activity values of elderberry fruits (Imenšek et al., 2021).



a)



b)



c)

Figure 6. Response surface plot showing the combined effect of solid mass and immersion time (a), solid mass and solvent concentration (b) and immersion time and solvent concentration (c) on DPPH antioxidant activity values of the *H. perforatum* extract.

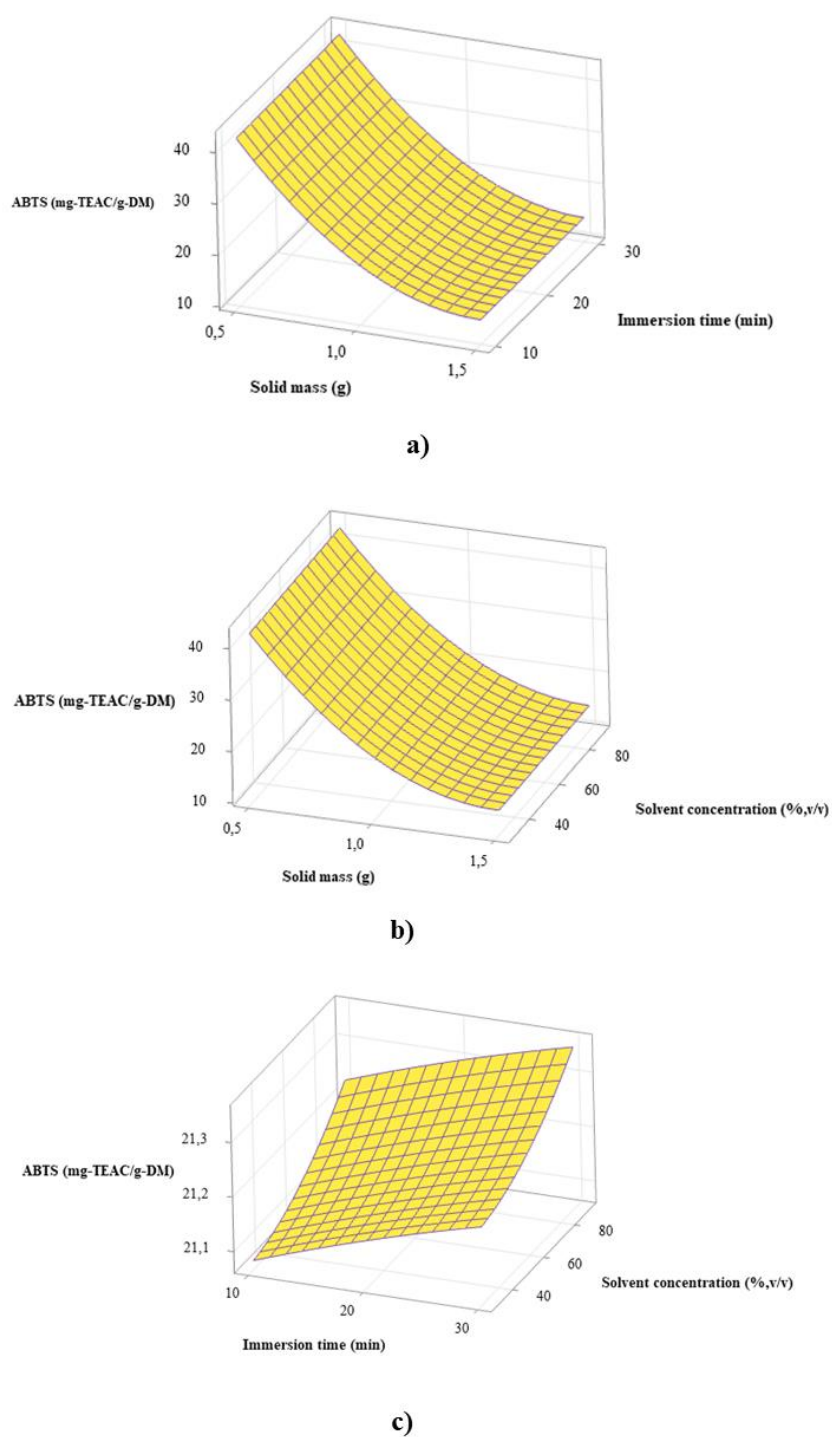


Figure 7. Response surface plot showing the combined effect of solid mass and immersion time (a), solid mass and solvent concentration (b) and immersion time and solvent concentration (c) on ABTS antioxidant activity values of the *H. perforatum* extract.

The solid mass exerted the most significant influence, where increasing solid loadings caused a sharp decline in antioxidant activity as observed in Figures 6a, 6b, 7a and 7b. High solids loading limits mass transfer and diffusion at constant solvent volume, while reducing the solvent penetration into the matrix. This causes to saturate the medium and reduce the antioxidant transfer. It has been clearly demonstrated that high solids loading reduces phenolic/tannin yields in various biomasses (Ozdemir et al., 2024; Song et al., 2025).

However, solvent concentration and immersion time were not significant (Figures 6c and 7c). Similarly, the maximum is reached around 10 min under the optimized extraction conditions of bioactive molecules from brown macroalga sargassum horneri (Song et al., 2025). After 10 min, there was no recovery of bioactives. This is in agreement with the poor time effect at 10-30 min in the current design (Figures 6a, 6c, 7a and 7c).

The congruent responses of DPPH and ABTS (Figures 6 and 7) verify the ANOVA results (Table 3, Figures 5a and 5b), where only solid mass was statistically significant. The previous reports also support that high solid-to-solvent ratios decrease the efficiency of free radical scavenging due to mass transfer limitations (Bhadange et al., 2024; Vo et al., 2023; Wu et al., 2024).

Multi-response optimization

Table 4 summarizes the numerical optimization outcomes. The extraction conducted with 0.5 g of dried *H. perforatum*, an immersion time of 30 minutes, and an ethanol concentration of approximately 30–33 % (v/v) yielded the highest responses. The overall desirability value of 0.994 confirms that the selected conditions are very close to the global optimum (Harkat-Madouri et al., 2025; Karabegoić et al., 2023). The strong agreement between the measured and predicted data demonstrates that the optimization model provides a reliable representation of the experimental system.

Table 4. Optimization results.

Parameter	Value	Response	Experimental value	Fitted value	Desirability
Solid mass (g)	0.5	TPC (mg-GAE/g- DM)	94.504	95.109	0.994
Immersion time (min)	30	TFC (mg-CE/g-DM)	67.103	66.998	
Solvent concentration (% v/v)	33.030	DPPH (mg-TEAC/g-DM)	37.805	38.408	
		ABTS (mg-TEAC/g-DM)	43.104	42.333	

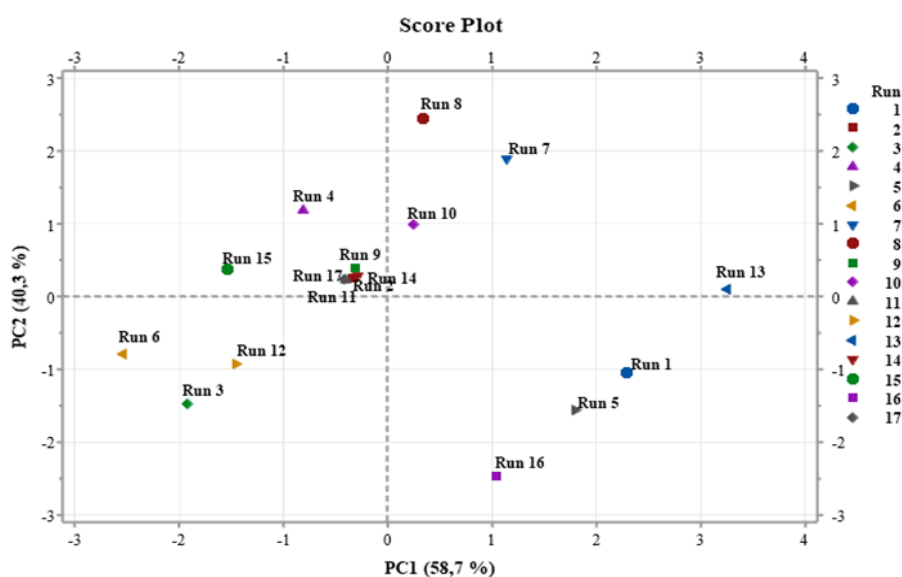
On the other hand, these measured variables in the *H. perforatum* extract is close to those of the earlier studies (Alahmad et al., 2022; Kaplan et al., 2021). Alahmad et al. extracted *H. perforatum* with different solvents, where they found the TPC value to be ≈ 93.2 Mg-GAE/g in methanol and ≈ 64.4 Mg-GAE/g in ethanol (Alahmad et al., 2022). Kaplan et al. found that increasing the liquid/solid ratio in 45% ethanol increased the TPC, where 50.7 Mg-GAE/g was measured at a 1/20 ratio and 60.5 Mg-GAE/g at a 1/40 ratio (Kaplan et al., 2021).

Principal component analysis

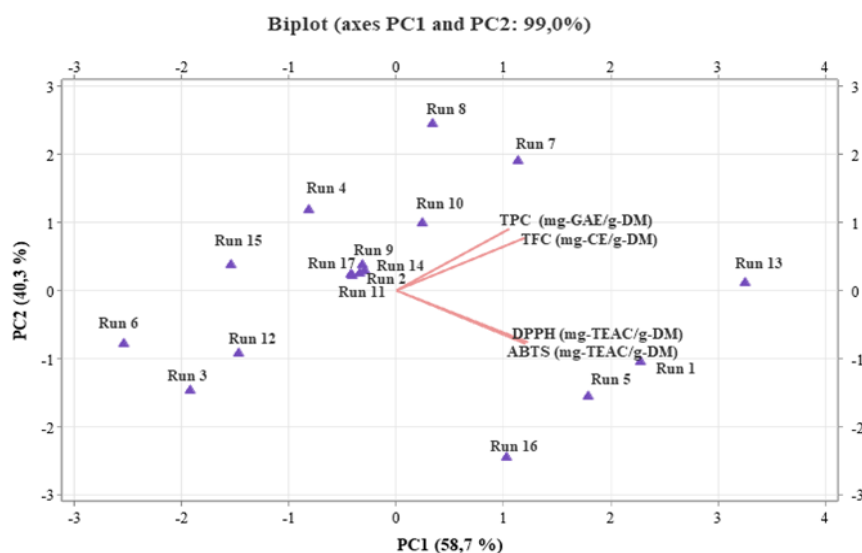
PCA accounted for 99.0% of the total variance, signifying that almost all variations in the dataset were well represented. The first principle component (PC1) possessed an eigenvalue of 2.35, accounting for 58.7% of the variance, and the second principal component (PC2) had an eigenvalue of 1.61, elucidating an additional 40.3%. Together, PC1 and PC2 captured nearly the entire variation, providing a clear distinction among the experimental runs based on their bioactive properties.

As seen in the score plot (Figure 8a), the runs were grouped according to their bioactive properties. Runs 7 and 13 were associated with PC1 and showed the highest TPC and TFC values. Runs 1, 5 and 16, on the other hand, were

associated with PC2 and showed stronger antioxidant activity (DPPH and ABTS). In contrast, Runs 3 and 15 appeared in the opposite quadrant, reflecting generally low values for all responses.



a)



b)

Figure 8. (a) PCA score plot of extraction runs based on TPC, TFC, DPPH, and ABTS values, with each sample labelled by run number. (b) PCA biplot showing the relationships between the variables (TPC, TFC, DPPH, ABTS) and sample distribution along the principal components (PC1, PC2).

The biplot (Figure 8b) supported these findings. TPC and TFC were grouped along PC1, confirming their close relationship ($R^2 > 0.90$), while DPPH and ABTS clustered on PC2, showing their strong correlation ($R^2 > 0.99$), as antioxidant assays. Overall, the results show that the extraction conditions affected both the amount and the composition of the phenolic compounds. Less concentrated solvent systems (around 30% ethanol) encouraged phenolic and flavonoid enrichment (Runs 7 and 13), while higher ethanol levels (60–90%) enhanced radical scavenging capacity (Runs 1, 5 and 16). In summary, PCA successfully separated the extracts enriched in phenolic and flavonoid compounds from those showing greater antioxidant activity, emphasizing the role of solvent concentration in shaping the bioactive profile.

CONCLUSION

Bioactive compounds from *Hypericum perforatum* L. were recovered by automatic solvent with RSM optimization effectively. The concentration of ethanol and solid mass were determined to be statistically significant factors affecting the yields of phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activity at $P < 0.0001$. Optimum extraction conditions (0.5 g of plant, 30 min of extraction and ~30% ethanol) gave the highest yields with a satisfying desirability function (0.994). The observed phenolic and flavonoid yields were similar or superior to the earlier studies on the *H. perforatum* extract. Furthermore, the results of the DPPH and ABTS tests for antioxidant activity were very similar, which proved the reliability of the current findings. The last but not the least, PCA distinguished the *H. perforatum* extracts high in phenolics/flavonoids from those with better radical scavenging capacity. This result also supports the affect of extraction parameters on the bioactive profiles. To conclude, the proposed extraction system can be recommended as a fast and environmentally friendly technique for producing high quality of *H. perforatum* extracts with potential applications in functional food formulations.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there is no conflict of interest in writing upon submission of the manuscript.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

İrem Toprakçı Yüksel: Formal analysis, Investigation, Software, Validation, Conceptualization, Writing-review & editing.

DATA AVAILABILITY

The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

REFERENCES

- Ahmad, A., Rehman, M. U., Wali, A. F., El-Serehy, H. A., Al-Misned, F. A., Maodaa, S. N., Aljawdah, H. M., Mir, T. M., Ahmad, P. (2020). Box–Behnken Response Surface Design of Polysaccharide Extraction from Rhododendron arboreum and the Evaluation of Its Antioxidant Potential. *Molecules*, 25(17), 3835. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25173835>
- Alahmad, A., Alghoraibi, I., Zein, R., Kraft, S., Dräger, G., Walter, J. G., Scheper, T. (2022). Identification of Major Constituents of *Hypericum perforatum* L. Extracts in Syria by Development of a Rapid, Simple, and Reproducible HPLC-ESI-Q-TOF MS Analysis and Their Antioxidant Activities. *ACS Omega*, 7(16), 13475–13493. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.1C06335/ASSET/IMAGES/LARGE/AO1C06335_0016.JPEG
- 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/ASSET/IMAGES/LARGE/AO4C02718_0007.JPEG
- Chemat, F., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Strube, J., Uhlenbrock, L., Gunjevic, V., Cravotto, G. (2019). Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 248–263. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2019.05.037>

- Chen, H.-Y. and Chen, C. (2025). A Study of the Response Surface Methodology Model with Regression Analysis in Three Fields of Engineering. *Applied System Innovation* 2025, Vol. 8, Page 99, 8(4), 99. <https://doi.org/10.3390/ASI8040099>
- Cossuta, D., Vatai, T., Báthori, M., Hohmann, J., Keve, T., Simándi, B. (2012). Extraction of hyperforin and hypericin from St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) with different solvents. *Journal of Food Process Engineering*, 35(2), 222–235. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4530.2010.00583.X;PAGE=STRING:ARTICLE/CHAPTER>
- Harkat-Madouri, L., Touati, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., Haddadi-Guemghar, H. (2025). Optimization of the Microwave-Assisted Extraction of Total Phenolic Compounds (TPCs) From Almond Skins Through Artificial Neural Networks (ANNs) and Assessment of the Antioxidant and Antihyperglycemic Activity of the Extracts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2025(1), 3294168. <https://doi.org/10.1155/JFPP/3294168>
- Imenšek, N., Kristl, J., Šumenjak, T. K., Ivančič, A. (2021). Antioxidant Activity of Elderberry Fruits during Maturation. *Agriculture* 2021, Vol. 11, Page 555, 11(6), 555. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE11060555>
- Jakubczyk, A., Kiersnowska, K., Ömeroğlu, B., Gawlik-Dziki, U., Tutaj, K., Rybczyńska-Tkaczyk, K., Szydłowska-Tutaj, M., Złotek, U., Baraniak, B. (2021). The influence of hypericum perforatum l. Addition to wheat cookies on their antioxidant, anti-metabolic syndrome, and antimicrobial properties. *Foods*, 10(6), 1379. <https://doi.org/10.3390/FOODS10061379/S1>
- Kakouri, E., Trigkas, P., Daferera, D., Skotti, E., Tarantilis, P. A., Kanakis, C. (2023). Chemical Characterization and Antioxidant Activity of Nine *Hypericum* Species from Greece. *Antioxidants*, 12(4), 899. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12040899/S1>
- Kaplan, M., Köprü, S., Say, R., Karaman, K., Yılmaz, M. M. (2021). Characterization of in vitro bioactive performance of *Hypericum perforatum* using response surface methodology. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 39(4), 392–403. <https://doi.org/10.14744/sigma.2021.00027>
- Karabegović, I., Stojanović, S. S., Mančić, S., Đorđević, N., Malićanin, M., Danilović, B. (2023). Optimization of food-grade bioactive compound extraction from plant sources by response surface methodology approach: A comprehensive review. *International Journal of Food Science and Technology*, <https://doi.org/10.2478/mjfst-2023-0004>
- Knez, E., Kadac-Czapska, K., Grembecka, M. (2025). Evaluation of Spectrophotometric Methods for Assessing Antioxidant Potential in Plant Food Samples-A Critical Approach. *Applied Sciences* 2025, Vol. 15, Page 5925, 15(11), 5925. <https://doi.org/10.3390/APP15115925>
- Lim, J. S., Seong, Y. S., Oh, G., Im, J. H., Fu, X., Kim, M. H., Roh, J. H., Lee, O. H. (2025). Analysis of Anti-Stress and Sleep-Inducing Effects of a *Zizyphus jujuba* Mill.-*Hypericum perforatum* L. Mixture and Its Bioactive Compounds. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 54(6), 489–497. <https://doi.org/10.3746/JKFN.2025.54.6.489>
- Lohvina, H., Sándor, M., Wink, M. (2021). Effect of Ethanol Solvents on Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Seed Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Varieties and Determination of Phenolic Composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity* 2022, Vol. 14, Page 7, 14(1), 7. <https://doi.org/10.3390/D14010007>
- Milutinović, M., Miladinović, M., Gašić, U., Dimitrijević-Branković, S., Rajilić-Stojanović, M. (2024). Recovery of bioactive molecules from *Hypericum perforatum* L. dust using microwave-assisted extraction. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(5), 7111–7123. <https://doi.org/10.1007/S13399-022-02717-5/TABLES/5>
- Mišina, I., Perkons, I., Siger, A., Soliven, A., Górnaś, P. (2025). Residues of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) Tea Infusions/Water Extracts as a Valuable Source of Tocotrienols: An Extraction Study. *Applied Sciences (Switzerland)*,

- 15(4), 2047. <https://doi.org/10.3390/APP15042047/S1>
- Özbek, H. N., Halahlih, F., Göğüş, F., Koçak Yanık, D., Azaizeh, H. (2020). Pistachio (*Pistacia vera* L.) Hull as a Potential Source of Phenolic Compounds: Evaluation of Ethanol–Water Binary Solvent Extraction on Antioxidant Activity and Phenolic Content of Pistachio Hull Extracts. *Waste and Biomass Valorization*, 11(5), 2101–2110. <https://doi.org/10.1007/S12649-018-0512-6>
- Ozdemir, M., Gungor, V., Melikoglu, M., Aydiner, C. (2024). Solvent selection and effect of extraction conditions on ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from galangal (*Alpinia officinarum*). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 38, 100525. <https://doi.org/10.1016/J.JARMAP.2023.100525>
- Pan, Y., He, C., Wang, H., Ji, X., Wang, K., Liu, P. (2010). Antioxidant activity of microwave-assisted extract of *Buddleia officinalis* and its major active component. *Food Chemistry*, 121(2), 497–502. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.12.072>
- Pinelo, M., Sineiro, J., Núñez, M. J. (2006). Mass transfer during continuous solid–liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering*, 77(1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2005.06.021>
- Rodríguez De Luna, S. L., Ramírez-Garza, R. E., Serna Saldívar, S. O. (2020). Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *The Scientific World Journal*, 2020(1), 6792069. <https://doi.org/10.1155/2020/6792069>
- Şahin, S. (2015). A novel technology for extraction of phenolic antioxidants from mandarin (*Citrus deliciosa* Tenore) leaves: Solvent-free microwave extraction. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32(5), 950–957. <https://doi.org/10.1007/S11814-014-0293-Y/METRICS>
- Sakanaka, S., Tachibana, Y., Okada, Y. (2005). Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *Food Chemistry*, 89(4), 569–575. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.03.013>
- Sánchez-Muniz, F. J., Olivero-David, R., Triki, M., Salcedo, L., González-Muñoz, M. J., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F., Benedi, J. (2012). Antioxidant activity of *Hypericum perforatum* L. extract in enriched n-3 PUFA pork meat systems during chilled storage. *Food Research International*, 48(2), 909–915. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2012.07.002>
- Seyrekoglu, F. and Temiz, H. (2020). Effect of Extraction Conditions on the Phenolic Content and DPPH Radical Scavenging Activity of *Hypericum perforatum* L. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(1), 226–229. <https://doi.org/10.24925/TURJAF.V8I1.226-229.3013>
- Seyrekoglu, F., Temiz, H., Eser, F., Yildirim, C. (2022). Comparison of the antioxidant activities and major constituents of three *Hypericum* species (*H. perforatum*, *H. scabrum* and *H. origanifolium*) from Turkey. *South African Journal of Botany*, 146, 723–727. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2021.12.012>
- Song, Y., Lee, J., Kwon, H. K., Kim, M., Shin, S., Kim, S., Son, H., Park, C., Yoo, H. Y. (2025). Efficient Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Molecules from Brown Macroalga *Sargassum horneri*: Optimal Extraction, Antioxidant and Cytotoxicity Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences* 2025, Vol. 26, Page 2749, 26(6), 2749. <https://doi.org/10.3390/IJMS26062749>
- Szpisják-Gulyás, N., Al-Tayawi, A. N., Horváth, Z. H., László, Z., Kertész, S., Hodúr, C. (2023). Methods for experimental design, central composite design and the Box–Behnken design, to optimise operational parameters: A review. *Acta Alimentaria*, 52(4), 521–537. <https://doi.org/10.1556/066.2023.00235>

- Kaloteraki, C., Almpounioti, K., Potsaki, P., Bousdouni, P., Kandyliari, A., Koutelidakis, A. E. (2021). Total Antioxidant Capacity and Phenolic Content of 17 Mediterranean Functional Herbs and Wild Green Extracts from North Aegean, Greece. *Biology and Life Sciences Forum 2021, Vol. 6, Page 43, 6(1)*, 43. <https://doi.org/10.3390/FOODS2021-11003>
- Tumbariski, Y., Ivanov, I., Todorova, M., Gerasimova, A., Dincheva, I., Makedonski, L., Nikolova, K. (2024). Chemical Composition and Biological Activities of St John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) Essential Oil from Bulgaria. *Applied Sciences 2024, Vol. 14, Page 11754, 14(24)*, 11754. <https://doi.org/10.3390/APP142411754>
- Vo, T. P., Pham, T. V., Weina, K., Tran, T. N. H., Vo, L. T. V., Nguyen, P. T., Bui, T. L. H., Phan, T. H., Nguyen, D. Q. (2023). Green extraction of phenolics and flavonoids from black mulberry fruit using natural deep eutectic solvents: optimization and surface morphology. *BMC Chemistry, 17(1)*, 1–15. <https://doi.org/10.1186/S13065-023-01041-X/FIGURES/7>
- Wong, B. Y., Tan, C. P., Ho, C. W. (2013). Effect of solid-to-solvent ratio on phenolic content and antioxidant capacities of “Dukung Anak” (*Phyllanthus niruri*). *International Food Research Journal, 20(1)*, 325–330. <https://openurl.ebsco.com/contentitem/obo:91515356?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:obo:91515356&crl=c>
- Wu, H., Zhao, W., Zhou, J., Xie, X., Zhong, X., Liu, Y., Shi, L. (2024). Extraction, analysis of antioxidant activities and structural characteristics of flavonoids in fruits of *Diospyros lotus* L. *LWT, 201*, 116248. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2024.116248>

**COMPARATIVE EVALUATION OF TRADITIONAL AND INDUSTRIAL
KASHAR CHEESES BASED ON PHYSICOCHEMICAL, TEXTURAL, COLOR,
AND SENSORY ATTRIBUTES**

Bilge SAYIN^{1*}, Pınar KIZILKAYA², İzzet ÖZHAMAMCI³, Akif Göktuğ BOZKURT²

¹Ardahan University, School of Tourism and Hotel Management, Department of Gastronomy and Culinary Arts, Ardahan, Türkiye

²Department of Food Processing, Vocational School of Technical Sciences, Ardahan University, Ardahan, Türkiye

³Ardahan University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Ardahan, Türkiye

Received / Geliş: 20.06.2025; Accepted / Kabul: 27.11.2025; Published online / Online baskı: 02.12.2025

Sayın, B., Kızılkaya, P., Özhamamcı, İ., Bozkurt, A. G. (2025). *Comparative evaluation of traditional and industrial kashar cheeses based on physicochemical, textural, color, and sensory attributes*. GIDA (2025) 50 (6) 1220-1229 doi: 10.15237/ gida.GD25080

Sayın, B., Kızılkaya, P., Özhamamcı, İ., Bozkurt, A. G. (2025). Geleneksel ve endüstriyel kaşar peynirlerinin fizikokimyasal, tekstürel, renk ve duyuşal özellikler açısından karşılaştırmalı değerlendirilmesi. GIDA (2025) 50 (6) 1220-1229 doi: 10.15237/ gida.GD25080

ABSTRACT

This study investigated and compared the physicochemical, color, textural, and sensory properties of Kashar cheeses produced by traditional and industrial methods. For this purpose, 24 samples were collected: four from each of the four local producers in Ardahan and two from the national-scale industrial producers. The pH values of the samples varied according to the production type, with the lowest levels observed in the traditional samples (5.67–5.98). The external L^* values ranged from 75.26 to 84.70, being higher in industrial samples. Traditional cheeses showed stronger yellow tones, as reflected by their higher b^* values. Regarding texture, the adhesiveness of the cheese samples ranged from 0.63 to 1.56 mJ ($p < 0.05$). Sensory evaluation indicated that the traditional sample TK2 received the highest scores across all attributes. The results indicate that traditional Kashar cheeses differ in certain quality attributes and may be suitable for geographical indication and quality-based labeling.

Keywords: Dairy products, geographical indication, traditional cheese, cheese composition, texture, sensory evaluation

**GELENEKSEL VE ENDÜSTRİYEL KAŞAR PEYNİRLERİNİN
FİZİKOKİMYASAL, TEKSTÜREL, RENK VE DUYUSAL ÖZELLİKLER
AÇISINDAN KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRİLMESİ**

ÖZ

Bu çalışma, geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen kaşar peynirlerinin fizikokimyasal, renk, tekstürel ve duyuşal özelliklerini araştırmış ve karşılaştırmıştır. Bu amaçla, Ardahan'daki dört yerel

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: bilgesayin@ardahan.edu.tr

☎: (+90) 507 605 0389

Bilge Sayın; ORCID no: 0000-0002-1898-0428

Pınar Kızılkaya; ORCID no: 0000-0002-8420-7222

İzzet Özhamamcı; ORCID no: 0000-0003-1853-0731

Akif Göktuğ Bozkurt; ORCID no: 0000-0002-2954-2132

üreticinin her birinden dört adet olmak üzere toplam 24 örnek ile ulusal ölçekli endüstriyel üreticilerden iki örnek toplanmıştır. Örneklerin pH değerleri üretim yöntemine göre değişmiş olup en düşük seviyeler geleneksel örneklerde gözlenmiştir (5.67–5.98). Dış yüzey L^* değerleri 75.26 ile 84.70 arasında değişmiş ve endüstriyel örneklerde daha yüksek bulunmuştur. Geleneksel peynirlerde ise daha yüksek b^* değerlerinin yansıttığı üzere daha güçlü sarı tonları gözlenmiştir. Tekstürel açıdan, peynir örneklerinin yapışkanlık değerleri 0.63 ile 1.56 mJ arasında değişmiştir ($p < 0.05$). Duyusal değerlendirmede ise geleneksel TK2 örneği tüm özelliklerde en yüksek puanları almıştır. Sonuçlar, geleneksel kaşar peynirlerinin bazı kalite özelliklerinde farklılık gösterdiğini ve coğrafi işaret ile kalite odaklı etiketlemeye uygun olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Süt ürünleri, coğrafi işaret, geleneksel peynir, peynir bileşimi, doku, duysal değerlendirme

INTRODUCTION

The food industry is highly competitive, particularly among multinational corporations and small enterprises (Zhang et al., 2019). In this context, traditional foods are defined as expressions of culture, history, and lifestyle that embody cultural heritage, influence dietary patterns, and potentially provide health benefits (Trichopoulou et al., 2007). The dairy industry, which constitutes an important part of this traditional food group, has a long and rich history. Moreover, globally, cheese production shows great variation depending on the type of milk used, cultural practices, production techniques, packaging, and storage conditions (Koboyeva and Güzeler, 2025). To date, more than fourteen hundred traditional cheese types have been identified worldwide, each characterized by distinctive aroma, flavor, and texture (Işık et al., 2020).

In this regard, cheese, in general, reflects the geographical and cultural context from which it originates. In line with this, each locality produces distinctive cheese varieties that provide a sensory representation of its unique territorial identity (Berno and Fusté-Forné, 2020). Traditional cheeses are shaped by a combination of factors, including local dietary practices, climatic conditions, topography, the botanical composition of meadows and pastures, livestock breeds, farming systems, and the intergenerational transfer of cheese-making knowledge and skills (Kalit et al., 2024).

Kashar cheese, a pasta-filata type Turkish cheese, is traditionally produced and is often used in pizza and toast making (Topcu et al., 2020). It shares

similarities with cheeses from Balkan countries (Kashkaval, Kasseri) and Italy (Caciocavallo, Provolone, Mozzarella) in terms of production and chemical composition (Kavak and Karabıyık, 2019). In particular, it can be made from sheep's milk, cow's milk, or a mixture of both in certain proportions. Its composition typically includes 24.2% protein, 4.2% ash, 41.9% moisture, 25.1% fat, and 4.6% salt (Çetinkaya and Soyutemiz, 2006). Based on its composition, Kashar cheese is classified as semi-hard: its acidified curd is scalded in hot (75–80°C) salty (4–5%) water and kneaded to achieve the desired texture and shape. Subsequently, it is ripened at 8–12°C and 70–75% RH for 3–6 months to develop its characteristic aroma and texture (Ozturkoglu-Budak et al., 2021). As a fermented milk product, Kashar cheese develops its unique aroma and texture depending on factors such as the source of milk, the diversity of raw materials, and the production and ripening processes (Yildirim-Mavis et al., 2022). According to official statistics, Türkiye produced 237,632,940 kg of Kashar cheese in 2023, making it the country's second most produced traditional cheese (TUIK, 2025).

Conversely, while local supply chains contribute significantly to added-value generation, animal welfare, and biodiversity, global supply chains are superior in cost-effectiveness, operational efficiency, and certain environmental metrics (Schmitt et al., 2016). Nevertheless, globalization and industrialization have also led to the erosion of regional uniqueness and diversity. In practice, today, large-scale cheese production typically relies on pasteurized milk and standardized inputs, with cheesemakers often sourcing dairy

cultures and rennets from a limited number of global suppliers (Oštarić et al., 2022).

The present study aimed to compare the physicochemical, color, textural, and sensory properties of traditional and industrially produced Kashar cheeses. Accordingly, by conducting a comprehensive analysis of these parameters, the study sought to highlight the influence of production methods on cheese quality. Ultimately, understanding these differences is critical not only for enhancing consumer satisfaction and product consistency but also for safeguarding traditional manufacturing practices in the face of growing industrialization in the dairy sector.

MATERIAL AND METHOD

Sample Collection

In this study, Kashar cheese samples, including four produced regionally in Ardahan province and two obtained from large-scale industrial producers, were purchased from sales points and transported to the laboratory under cold chain conditions. Upon arrival, all samples were stored at -18°C until analysis. Prior to testing, the cheeses were thawed at 4°C for 12 h in order to minimize potential structural changes, then milled and homogenized with a kitchen blender to obtain a uniform matrix. Six independent cheese samples were collected from each producer to account for biological variability, in addition to the technical replicates performed during the analyses. This approach ensured that the results reflected not only analytical precision but also natural variation among products from the same brand or production source, thereby improving the robustness and reliability of the statistical analyses. All physicochemical, color, and textural analyses were performed in triplicate to ensure accuracy and reproducibility.

Physicochemical Analysis

The pH values of the cheese samples were determined by homogenizing 10 g of sample in 100 mL of distilled water, followed by direct measurement with a calibrated digital pH meter (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland). Moisture content (%) was determined

gravimetrically by drying the samples in a hot-air oven at $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ until a constant weight was achieved, with results calculated based on the initial and final weights. Sodium chloride content was quantified using the classical Mohr titration method, in which chloride ions in the sample were precipitated with silver nitrate in the presence of potassium chromate as an indicator. Fat content was analyzed using the Soxhlet extraction method with petroleum ether as the solvent. Approximately 5 g of each homogenized sample was placed in a cellulose thimble and subjected to continuous solvent extraction in a Soxhlet apparatus for 6 h. Total protein content was determined using the Kjeldahl method, which involved sample digestion with concentrated sulfuric acid in the presence of a catalyst, followed by neutralization and distillation of the released ammonia. The resulting nitrogen content was converted to protein using a factor of 6.38, as recommended for milk and dairy products (AOAC, 2000).

Texture Profile Analysis (TPA)

Cylindrical cheese samples (25 mm diameter $\times$ 25 mm height) were compressed twice along the fiber axis using a 50.8 mm cylindrical probe (TA25/1000). The analysis was conducted with a pre-test speed of 2 mm/s, a test speed of 3 mm/s, and a recovery time of 3 s, with the deformation set at 50%. From the resulting force–time curves, the following texture parameters were calculated: hardness, adhesiveness, cohesiveness, springiness, chewiness, and resilience.

Color Measurement

Instrumental color analysis was carried out using a chromameter (CR-200, Minolta Co., Osaka, Japan) based on the CIELAB color space, where L^* represents lightness, a^* denotes redness/greenness, and b^* corresponds to yellowness/blueness.

Sensory Evaluation

The sensory properties of Kashar cheeses were evaluated by a semi-trained panel consisting of 20 academic staff members (9 male, 11 female) from Ardahan University. Cheese samples were cut into 2 cm³ pieces, equilibrated at room temperature

(22–25 °C) for 1 h, and then presented in random order on white plastic plates labeled with unique codes unrelated to the experimental groups. Bread and water were provided to the panelists for palate cleansing between samples. Evaluations were conducted in a standardized sensory analysis room illuminated with white light. Panelists assessed attributes contributing to overall acceptability, including aroma (intensity and characteristic milky odor), texture (hardness, elasticity, and mouthfeel), and appearance (color uniformity and surface characteristics). A five-point hedonic scale (1 = dislike extremely, 5 = like extremely) was used for all evaluations. Data were recorded on a standardized response form, and mean values were used for statistical analysis (Koboyeva and Güzeler, 2025).

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using SPSS version 24 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). One-way analysis of variance (ANOVA) was applied to evaluate differences among the sample means, and Duncan's multiple range test was employed for post-hoc comparisons at a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical Quality Indicators of Traditional Kashar Cheese

Traditional cheeses in the Eastern Mediterranean region are predominantly produced using milk from indigenous livestock breeds. This is because the unique pedoclimatic conditions of the area largely determine which animals are best suited for dairy farming. Consequently, sheep and goat milk are the primary raw materials for cheese production. However, due to the seasonal nature of milk supply and the consistently high demand for cheese, cow's milk is also occasionally used. Many small-scale producers rely on milk from native breeds that are specifically adapted to local environmental conditions. These breeds, in combination with traditional production techniques, play a crucial role in shaping the distinctive sensory and quality attributes of cheeses (Kalit et al., 2024).

The main differences in cheese properties stem from the composition of raw milk and its physicochemical characteristics. Acidity is further influenced by factors such as moisture, lactose and salt contents, ripening, and glycolytic and lipolytic activities. During ripening, the conversion of lactose to lactic acid lowers the pH, which later changes depending on the cheese type. Salt content is a key physicochemical factor, directly affecting water activity, moisture, ripening, and fermentation, while also influencing protein levels and pH (Akkaya, 2024).

The physicochemical analysis results presented in Table 1 demonstrate significant differences between traditional (TK) and industrial (IK) Kashar cheese samples. According to the Turkish Food Codex Cheese Notification No. 2015/6, samples TK1 and TK3 did not comply with the moisture content requirements; however, their other compositional parameters fell within the acceptable regulatory limits.

The pH values of the cheese samples differed significantly among groups ($p < 0.01$). The lowest pH levels were observed in the traditional samples, whereas the highest values were recorded in the industrial samples. The generally lower pH in traditional cheeses may be explained by variations in starter cultures, extended ripening periods, and more acidic environmental conditions. Salt content was typically higher and more variable in the traditional samples, most likely due to manual salting practices and producer-specific differences. These differences between traditional and industrial groups were also found to be statistically significant ($p < 0.01$). According to the Turkish Food Codex, the maximum allowable salt content for Kashar cheese is 4% on a dry matter basis. In the present study, the salt levels of Kashar cheeses produced in Ardahan, as well as those of industrially manufactured samples, were found to be well below this regulatory limit. Koboyeva and Güzeler (2025) reported the salt content of Kashar cheese to range between 1.81% and 2.20%, which is consistent with values previously documented in the literature.

Moisture content, a critical parameter affecting cheese maturity, shelf life, and texture, also varied widely in traditional samples, and these differences were statistically significant ($p < 0.01$). In addition, with the exception of TK4, the differences in protein levels among the other samples were not statistically significant ($p > 0.05$). In the industrial samples, the fat content was very similar (22.77% and 22.98%), a finding that can be attributed to the effects of milk standardization practices commonly employed in industrial cheese production. Statistically significant differences in fat content were also observed between the groups ($p < 0.01$).

Öksüztepe et al. (2009) reported that the moisture (35.85%) and pH (5.49) values of vacuum-packaged Kashar cheeses marketed in Elazığ were lower than those observed in the present study, whereas the salt content (2.74%) was comparatively higher. In a study conducted by Işık et al. (2020) in Muş province, the average

protein, fat, and salt contents of Kashar cheeses were reported as 27.05%, 25.92%, and 4.11%, respectively. In the present study, the protein contents of Kashar cheese samples produced in Ardahan were generally comparable to this value, except for sample TK4. However, all Ardahan samples exhibited significantly lower fat and salt contents compared with the Kashar cheeses produced in Muş.

Finally, these physicochemical findings revealed clear compositional differences between traditional and industrial Kashar cheeses. The greater variation observed in traditional cheeses likely results from differences in production techniques and processing conditions, whereas industrial cheeses exhibit more homogeneous and controlled properties. These findings are highly relevant for the standardization of product quality, shelf life, and sensory characteristics.

Table 1. Physicochemical analysis of Kashar cheeses

Samples	pH	Salt (%)	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)
TK1	5.67±0.01 ^a	1.80±0.10 ^c	47.96±0.18 ^e	25.86±0.80 ^b	17.55±1.98 ^a
TK2	5.69±0.03 ^a	1.90±0.00 ^d	44.17±0.06 ^d	24.98±0.93 ^b	20.72±2.04 ^{ab}
TK3	5.98±0.01 ^b	2.17±0.15 ^e	46.30±0.20 ^e	28.36±2.15 ^b	18.78±1.47 ^a
TK4	5.98±0.04 ^b	1.40±0.10 ^b	41.55±0.20 ^a	20.02±0.71 ^a	23.41±1.310 ^b
IK1	6.12±0.02 ^c	1.23±0.06 ^a	43.01±0.17 ^b	24.60±2.32 ^b	22.77±1.27 ^b
IK2	6.15±0.00 ^c	1.40±0.00 ^b	43.75±0.10 ^c	25.56±2.18 ^b	22.98±0.56 ^b
Significance	**	**	**	**	**

TK: Traditional Kashar samples, IK: Industrial Kashar samples

^{a-c} Different superscript letters in the same column represent significant differences between cheese samples ($p < 0.05$)

Color and Textural Characteristics

Color and texture are two of the most important parameters that affect the quality of cheese. These parameters guide consumer choice and are important elements of quality. As the first perceived feature, color can determine the primary judgment of consumers regarding a product. Another important aspect is that the sensory properties of food can be subjectively changed by color (Fresno and Álvarez, 2012). Previous studies have reported that the initial milk composition, production technology, additives, and fat addition are effective in improving cheese

color. However, revealing the relationships between the physicochemical and sensory properties of cheese can be used to evaluate the quality of cheese and predict the reactions of consumers (Póltorak et al., 2015). Texture profile analysis (TPA) uses double-bite compression to imitate the compression action of the molar teeth during mastication. Although texture analyzers are not a complete substitute for sensory analysis, there are significant correlations between sensory textural parameters and TPA parameters in cheese (Delgado et al., 2011).

The color characteristics of the Kashar cheeses are listed in Table 2. Color measurements of both the internal and external cheese surfaces revealed statistically significant differences ($p < 0.05$) among the samples. Industrial cheeses (IK1 and IK2) exhibited higher external L^* values, indicating a lighter color, whereas some traditional samples (TK2 and TK3) showed lower internal L^* values, suggesting a deeper yellow hue, potentially influenced by raw milk quality or traditional ripening conditions. Regarding the external a^* values, TK1 and IK1 had less negative readings (-4.72 and -4.20), corresponding to a more neutral red hue, whereas TK3 and TK4 presented more negative values (-6.48 and

-7.10), indicating stronger green undertones. The internal b^* values were notably higher in the traditional samples (e.g., TK2: 32.93), reflecting a more intense yellow tone. This may be attributed to variations in fat content, milk type, or processing techniques typical of artisanal production. As a result, traditional cheeses displayed richer color profiles (lower L^* and higher b^*), which may serve as sensory and visual indicators of authenticity and traditional character. Moreover, traditional production exhibited a more heterogeneous color distribution, whereas industrial production offered a more consistent and lighter tone.

Table 2. Color analysis of Kashar cheeses

Samples	Internal			External		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
TK1	80.62 ± 0.18^c	-4.43 ± 0.99^d	29.04 ± 0.19^d	78.05 ± 0.14^c	-4.72 ± 0.03^c	27.08 ± 0.37^d
TK2	75.42 ± 0.29^a	-5.96 ± 0.03^b	32.93 ± 0.35^f	76.19 ± 0.19^b	-5.01 ± 0.04^d	26.35 ± 0.10^c
TK3	79.48 ± 0.59^b	-6.24 ± 0.02^a	30.60 ± 0.09^e	75.26 ± 0.22^a	-6.48 ± 0.01^b	29.52 ± 0.20^e
TK4	86.02 ± 0.28^f	-6.04 ± 0.04^b	27.76 ± 0.15^c	78.50 ± 0.97^c	-7.10 ± 0.08^a	29.42 ± 0.25^e
IK1	82.94 ± 0.07^d	-4.26 ± 0.01^e	19.20 ± 0.01^a	83.35 ± 0.29^d	-4.20 ± 0.01^f	16.90 ± 0.09^a
IK2	85.19 ± 0.32^e	-5.75 ± 0.07^c	21.26 ± 0.14^b	84.70 ± 0.21^e	-5.80 ± 0.12^c	20.67 ± 0.50^b
Significance	**	**	**	**	**	**

TK: Traditional Kashar samples, IK: Industrial Kashar samples

^{a-f} Different superscript letters in the same column represent significant differences between cheese samples ($p < 0.05$)

Koboyeva and Güzeler (2025) investigated the effects of regional and seasonal variation on the quality attributes of Kars Kashar cheese, focusing on physicochemical. Their findings revealed that cheeses produced during the summer exhibited higher dry matter, fat, ash, salt, and total free fatty acid content, whereas spring cheeses had higher protein levels. In terms of color, spring cheeses were lighter and had more green and blue hues, whereas summer cheeses appeared slightly darker with increased red and yellow tones.

The textural properties of the Kashar cheese samples are presented in Table 3. Significant differences were observed for all textural parameters ($p < 0.05$). Traditional samples, particularly TK3 and TK4, exhibited higher values for gumminess, chewiness, and

cohesiveness, indicating firmer, more elastic, and more chewable structures. Among them, TK4 recorded the highest chewiness value (438.50 mJ). Remarkably, the lowest and highest values for hardness, gumminess, and chewiness were found in traditional kashar cheeses. This suggests a significant heterogeneity in the textural properties of cheeses produced using traditional methods, and therefore a significant difference in terms of standardization. Overall, traditional cheeses are characterized by more complex and robust textural profiles, which may enhance sensory acceptance and consumer preference. Traditional samples exhibited denser and more elastic structures, whereas industrial products were softer and less chewy. These differences are likely attributable to variations in production techniques and ripening times.

Table 3. Texture profile of Kashar cheeses

Samples	Hardness (N)	Adhesiveness (mJ)	Resilience	Cohesiveness	Springiness (mm)	Gumminess (N)	Chewiness (mJ)
TK1	25.64±3.49 ^a	1.06±0.35 ^{abc}	0.21±0.02 ^c	0.53±0.04 ^c	8.54±2.15 ^c	13.63±1.89 ^a	115.87±29.43 ^a
TK2	93.12±6.79 ^c	0.80±0.56 ^{ab}	0.16±0.04 ^a	0.36±0.06 ^a	6.86±0.56 ^a	33.91±4.84 ^c	234.49±50.56 ^b
TK3	82.81±9.48 ^{cd}	1.17±0.66 ^{abc}	0.28±0.02 ^d	0.59±0.03 ^d	7.91±0.18 ^{bc}	49.29±7.22 ^d	389.48±53.48 ^c
TK4	90.08±11.09 ^{de}	1.42±0.56 ^{bc}	0.30±0.01 ^d	0.62±0.02 ^d	7.87±0.10 ^{bc}	55.75±6.66 ^c	438.50±53.16 ^d
IK1	60.78±6.17 ^b	0.63±0.43 ^a	0.15±0.01 ^a	0.36±0.02 ^a	6.47±0.29 ^a	22.26±3.58 ^b	144.48±28.54 ^a
IK2	74.88±5.88 ^c	1.56±0.77 ^c	0.18±0.01 ^b	0.47±0.02 ^b	7.08±0.23 ^{ab}	35.58±3.18 ^c	251.76±20.26 ^b
Significance	**	*	**	**	**	**	**

TK: Traditional Kashar samples, IK: Industrial Kashar samples

^{a-c} Different superscript letters in the same column represent significant differences between cheese samples ($p < 0.05$)

Eroglu et al. (2015) conducted a study on the physicochemical and textural properties of 30 different brands of Kashar cheese produced in Türkiye. Using hierarchical cluster analysis, the cheeses were classified according to their physicochemical and textural characteristics. However, no strong or consistent correlations were found between chemical composition and textural parameters, most likely due to the combined influence of multiple intrinsic and extrinsic factors affecting cheese texture during production and storage.

Işık et al. (2020) evaluated traditionally aged Kashar cheeses produced in Muş, Türkiye, and reported L^* , a^* , and b^* values of 65.42, -3.26, and 12.23 for the interior, and 56.21, -3.45, and 10.83 for the exterior, respectively. In comparison, the Kashar cheese samples analyzed in the present study exhibited higher L^* and b^* values, indicating a lighter appearance with more pronounced yellow tones. The a^* values obtained were slightly more negative, reflecting a stronger green hue. With respect to texture, Işık et al. documented markedly high hardness (up to 5727 g) and chewiness (2634 g·cm), whereas the values recorded in our study were considerably lower. Collectively, these results demonstrate that both the color and textural attributes of traditional Kashar cheeses are profoundly influenced by region-specific production conditions, underscoring the necessity of standardization

efforts and further research into the effects of processing variables.

Sensory Profile Assessment

Sensory analysis is a multidisciplinary method used to evaluate human responses to food consumption; however, it involves a highly complex structure, as sensory perception encompasses multiple dimensions. Traditional sensory analysis methods are generally preferred in both industry and academia for detecting different stimuli (Torricco et al., 2023). Widely applied in diverse industrial areas such as quality control, product design, and marketing, sensory analysis remains the primary tool for analyzing and modeling data obtained from experts, trained panelists, and consumers through factorial multivariate methods (Zeng et al., 2008).

Table 4 presents the sensory parameters of the Kashar cheese samples and indicates that TK2 was the most appreciated, achieving the highest scores for appearance (4.30), aroma (3.90), and overall acceptability (4.25). In contrast, the industrial samples (IK1 and IK2) received the lowest overall scores (2.20 and 2.40, respectively), which may be associated with their relatively weaker performance in texture and color attributes. Finally, sensory evaluation findings clearly indicated that consumers showed a stronger preference for traditionally produced cheeses, perceiving them as more appealing in terms of flavor, texture, and visual quality.

Table 4. Sensory properties of Kashar cheeses

Number of Samples	Typical Aroma	Texture	Appearance	General Acceptability
TK1	3.10±1.29 ^c	3.50±0.94 ^{bc}	3.55±0.75 ^{bc}	3.60±1.14 ^c
TK2	3.90±0.96 ^d	3.80±0.76 ^c	4.30±1.12 ^d	4.25±0.85 ^d
TK3	3.05±1.05 ^{bc}	3.65±0.93 ^c	4.05±0.82 ^{cd}	3.70±0.73 ^c
TK4	2.45±0.88 ^{ab}	3.25±1.01 ^{bc}	3.15±0.67 ^b	2.80±0.69 ^b
IK1	1.95±0.82 ^a	2.95±1.09 ^{ab}	1.85±0.09 ^a	2.20±0.83 ^a
IK2	2.15±0.74 ^a	2.55±1.09 ^a	1.70±0.73 ^a	2.40±0.88 ^{ab}
Significance	**	**	**	**

TK: Traditional Kashar samples, IK: Industrial Kashar samples

^{a-d} Different superscript letters in the same column represent significant differences between cheese samples ($p < 0.05$)

CONCLUSION

Aligned with the study objective, traditional Kashar cheeses exhibited distinct and superior characteristics in terms of sensory, textural, and color properties compared with their industrial counterparts. These differences can be attributed to several factors inherent to traditional cheese production, including the use of raw or minimally processed milk, longer ripening periods, non-standardized microbial flora, and variations in manual techniques. Such practices tend to produce cheeses with more complex structures, richer flavor profiles, and distinctive visual appeal. In contrast, industrial production, while ensuring hygiene, uniformity, and efficiency, often results in products with less pronounced sensory and structural attributes, likely due to standardized milk sources, mechanical processing, and shorter ripening times. Traditional Kashar cheeses thus demonstrated superior performance in terms of flavor profile, texture, and consumer preference. By comparison, industrial cheeses offered advantages in consistency and standardization, particularly regarding color and physicochemical properties. Taken together, these findings highlight the influence of processing methods, milk quality, and ripening conditions on cheese characteristics, and suggest that production type plays a critical role in determining final product quality.

Beyond quality considerations, the results emphasize the importance of preserving and promoting traditional cheese-making practices as

valuable elements of cultural heritage and gastronomic identity. Moreover, the identified differences support the use of such qualitative markers in geographical indication applications, regulatory frameworks, and consumer-oriented labeling strategies. These findings can also guide producers in both sectors toward optimizing product development to meet evolving consumer expectations for quality, authenticity, and sensory satisfaction. Therefore, this study not only confirms the distinctive superiority of traditional Kashar cheeses in key quality parameters but also provides a scientific foundation for their differentiation in national and international markets. Ultimately, such recognition contributes to sustainable local food systems and the advancement of value-added dairy production.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors received no financial support for this work.

CONFLICT OF INTEREST

No content conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Bilge Sayın: Formal analysis, Writing-original draft, Pınar Kızılkaya: Formal analysis, Review & editing, İzzet Özhamamcı: Formal analysis, Akif Göktuğ Bozkurt: Conceptualization, Formal analysis.

REFERENCES

- Akkaya, E. (2024). Characterization of Physicochemical, Colour and Textural Properties of Turkish Type Cheeses. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(2), 137-142.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International* (17th ed.). AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Berno, T., Fusté-Forné, F. (2020). Imaginaries of cheese: revisiting narratives of local produce in the contemporary world. *Annals of Leisure Research*, 23(5), 608-626.
- Cetinkaya, F., Soyutemiz, G. (2006). Microbiological and chemical changes throughout the manufacture and ripening of Kashar: a traditional Turkish cheese. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 30(4), 397-404.
- Delgado, F. J., González-Crespo, J., Cava, R., Ramírez, R. (2011). Proteolysis, texture and colour of a raw goat milk cheese throughout the maturation. *European Food Research and Technology*, 233, 483-488.
- Eroglu, A., Dogan, M., Toker, O. S., Yilmaz, M. T. (2015). Classification of Kashar cheeses based on their chemical, color and instrumental textural characteristics using principal component and hierarchical cluster analysis. *International Journal of Food Properties*, 18(4), 909-921.
- Fresno, M., Alvarez, S. (2012). Chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Majorero goat cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3), 393-400.
- Işık, S., Bozkurt, F., Guner, S., Işık, S., Topalcengiz, Z. (2020). Microbiological, physicochemical, textural and volatile characteristics of traditional kashar cheese produced in Muş. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(4), 409-419.
- Kalit, S., Dolenčić Špehar, I., Rako, A., Bendelja Ljoljić, D., Kirdar, S. S., Tudor Kalit, M. (2024). An Overview: specificities and novelties of the cheeses of the Eastern Mediterranean. *Fermentation*, 10(8), 404.
- Kavak, D. D., Karabiyik, H. (2019). Quality evaluation of kashar cheese: influence of palm oil and ripening period. *Food Science and Technology*, 40(2), 354-360.
- Koboyeva, F., Güzeler, N. (2025). Impacts of seasons and regions on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of Kars Fresh Kashar cheeses. *International Dairy Journal*, 161, 106120.
- Öksüztepe, G., Patır, B., Dikici, A., İlhak, O. İ. (2009). Elazığ'da tüketime sunulan vakum paketlenmiş kaşar peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 23(2), 89-94.
- Oštarić, F., Antunac, N., Cubric-Curik, V., Curik, I., Jurić, S., Kazazić, S., Kiš, M., Vinceković, M., Zdolec, N., Špoljarić, J., Mikulec, N. (2022). Challenging sustainable and innovative technologies in cheese production: A review. *Processes*, 10(3), 529.
- Ozturkoglu-Budak, S., Akal, H. C., Bereli, N., Cimen, D., Akgonullu, S. (2021). Use of antimicrobial proteins of donkey milk as preservative agents in Kashar cheese production. *International Dairy Journal*, 120, 105090.
- Póltorak, A., Wyrwicz, J., Moczowska, M., Marcinkowska-Lesiak, M., Stelmasiak, A., Ulanicka, U., Zalewska, M., Wierzbicka, A., Sun, D. W. (2015). Correlation between instrumental texture and colour quality attributes with sensory analysis of selected cheeses as affected by fat contents. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(4), 999-1008.
- Schmitt, E., Keech, D., Maye, D., Barjolle, D., Kirwan, J. (2016). Comparing the sustainability of local and global food chains: A case study of cheese products in Switzerland and the UK. *Sustainability*, 8(5), 419.
- Topcu, A., Bulat, T., Özer, B. (2020). Process design for processed Kashar cheese (a pasta-filata cheese) by means of microbial transglutaminase: effect on physical properties, yield and proteolysis. *LWT*, 125, 109226.
- Torrico, D. D., Mehta, A., Borssato, A. B. (2023). New methods to assess sensory responses: a brief review of innovative techniques in sensory

- evaluation. *Current Opinion in Food Science*, 49, 100978.
- Trichopoulou, A., Soukara, S., Vasilopoulou, E. (2007). Traditional foods: a science and society perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 18(8), 420-427.
- Turkish Statistical Institute (TUIK). (2024). *Milk and Dairy Products Production, 2023*. Retrieved from <https://data.tuik.gov.tr>
- Yildirim-Mavis, C., Ozmen, D., Yakisik, E., Toker, O. S., Palabiyik, I., Kaner, O. (2022). Evaluation of kashar cheese meltability by tack and large amplitude oscillatory shear (LAOS) tests. *International Dairy Journal*, 127, 105242.
- Zeng, X., Ruan, D., Koehl, L. (2008). Intelligent sensory evaluation: Concepts, implementations, and applications. *Mathematics and Computers in Simulation*, 77(5-6), 443-452.
- Zhang, X., Zhou, T., Zhang, L., Fung, K. Y., Ng, K. M. (2019). Food product design: a hybrid machine learning and mechanistic modeling approach. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 58(36), 16743-16752.

İçindekiler / Content GIDA (2025)50(6)

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Aktaş, H. (2025). *Unveiling the quality and health potential of brined grape leaves Vitis vinifera L.): Microbiological, physicochemical and biofunctional properties* / Salamura üzüm yapraklarının (*Vitis vinifera* L.) kalite ve sağlık potansiyelinin ortaya çıkarılması: Mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve biyofonksiyonel özellikler.....961-978
- Saraç, S., Soyocak, H., Sarıcaoglu, F. T., Turban, S. (2025). *Standardization of texture profile analysis (TPA) parameters for chicken salami* / Tavuk salami için tekstür profil analizi (TPA) parametrelerinin standardizasyonu.....979-988
- Filiz, Ö., Altay, Ö., Köprüalan Aydın, Ö., Kaymak Ertekin, F. (2025). *Drum drying of sourdough: Identifying optimal process conditions for powder production and bread applications* / Eksi hamurun valsli kurutucuda kurutulması: Toz üretimi ve ekmecek uygulamaları için en uygun işlem koşullarının belirlenmesi ... 1003-1016
- Bilecen Şen, D. (2025). *Comparative evaluation of physicochemical, microbiological, and volatile aroma profiles in fermented, heat-treated, and butcher-style sucuk* / Fermente, ısı işlem görmüş ve kasap tipi sucuk örneklerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve uçucu aroma profillerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi.....1017-1032
- Öztoke, S., Köse, Ş., Erim Köse, Y. (2025). *Determination of some quality characteristics of dulce de leche's produced industrially in Turkey* / Türkiye'de endüstriyel olarak üretilen süt reçellerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi.....1033-1042
- Yılmaz, E., Karataş, M., Aday, M. S. (2025). *Utilization of sunflower wax oleogels as coating materials to extend the shelf-life of fresh mandarin fruits* / Taze mandalina meyvesinin raf ömrünü uzatmak için ayçiçek mumu oleojellerinin kaplama materyali olarak kullanımı.....1043-1057
- Bawadi, N., Fındık, B. T., Yıldız, H. (2025). *A natural food fortification approach to reduce iron-polyphenol complex formation: Orange peel-added black tea* / Demir-polifenol kompleksi oluşumunu azaltmaya yönelik doğal bir gıda zenginleştirme yaklaşımı: Portakal kabuğu katkılı siyah çay.....1091-1104
- Meral-Aktaş, H. (2025). *Production of fermented milk using human origin Bifidobacterium longum BH28: A functional and technological assessment* / İnsan orijinli *Bifidobacterium longum* BH28 kullanılarak fermente süt üretimi: Fonksiyonel ve teknolojik değerlendirme.....1168-1185
- Toprakçi Yüksek, İ. (2025). *Automatic solvent extraction of bioactive molecules rich in phenolics and flavonoids from Hypericum perforatum L.: Optimization and multivariate analysis* / *Hypericum perforatum* L'den fenolik ve flavonoidler açısından zengin biyoaktif moleküllerin otomatik çözücü ekstraksiyonu: Optimizasyon ve çok değişkenli analiz.....1200-1219
- Şayın, B., Kızılkaya, P., Özhamamcı, İ., Bozkurt, A. G. (2025). *Comparative evaluation of traditional and industrial keasbar cheeses based on physicochemical, textural, color, and sensory attributes* / Geleneksel ve endüstriyel kaşar peynirlerinin fizikokimyasal, tekstürel, renk ve duyuşal özellikler açısından karşılaştırmalı değerlendirilmesi.....1220-1229

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Gücüöz, A., Erkoç, H. N., Aykın Dinçer, E. (2025). *Tavuk eti çubuklarının beta karotene zengin havuç posası kullanılarak renklendirilmesi* / *Coloring of chicken meat sticks using beta-carotene rich carrot pomace*.....989-1002
- Kuluçlu, A., Özdemir, N., Kök Taş, T. (2025). *Mikroenkapsüle su kefir: Probiyotik stabilite, depolama ve sindirim sisteminde canlılık üzerine etkisi* / *Microencapsulated water kefir: Effect on probiotic stability, storage and survival in the gastrointestinal tract*.....1058-1076
- Coşkun, H., Sarıca, E., Avcı, C., Bekdemir, N., Kır, R. (2025). *Biberiye yaprağı kaplamasının beyaz peynirde fenolik madde, antioksidan aktivite ve bazı kalite özelliklerine etkisi* / *Effect of rosemary leaf coating on phenolic substances, antioxidant activity, and selected quality characteristics of white cheese*1077-1090
- Arsalan Kulcan, A. (2025). *Çilek suyundan fenoliklerin ve antosiyaninlerin ultrafiltrasyon ile konsantrasyonu: Hacim azaltma faktörü ve membran ayırma sınırının etkisi* / *Concentration of phenolics and anthocyanins from strawberry juice by ultrafiltration: Influence of volume reduction factor and membrane cut-off rate*1105-1119
- Eren, B., Güneş, E. (2025). *Afet ve acil durumlarda kullanılan gıda tasarımlarının incelenmesi* / *An analysis of food designs used in disasters and emergencies*.....1120-1136
- Şengül M., Yavaş, O., Karakütük, İ. A. (2025). *Kurutulmuş karadut (Morus nigra) ve sırasının bazı fizikokimyasal özellikleri, fenolik profili, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin karşılaştırılması* / *Comparison of some physicochemical properties, phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity of dried black mulberry (Morus nigra) and its syrup*.....1137-1150
- Tosun Demir, M. N., Korkmaz, F. (2025). *Türkiye ve Japonya menşeli matcha tozlarının fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerinin karşılaştırılması* / *Comparison of physicochemical and sensory properties of matcha powders from Türkiye and Japan*.....1186-1199

Derlemeler (Türkçe) / Review (Turkish)

- Göncü, G., Ertas Onmaz, N. (2025). *Bakteriyofaj-probiyotik kombinasyonlarının bağırsak mikrobiyotasını modüle etmede terapötik potansiyeli* / *Therapeutic potential of bacteriophage-probiotic combinations in modulating the gut microbiota*.....1151-1167