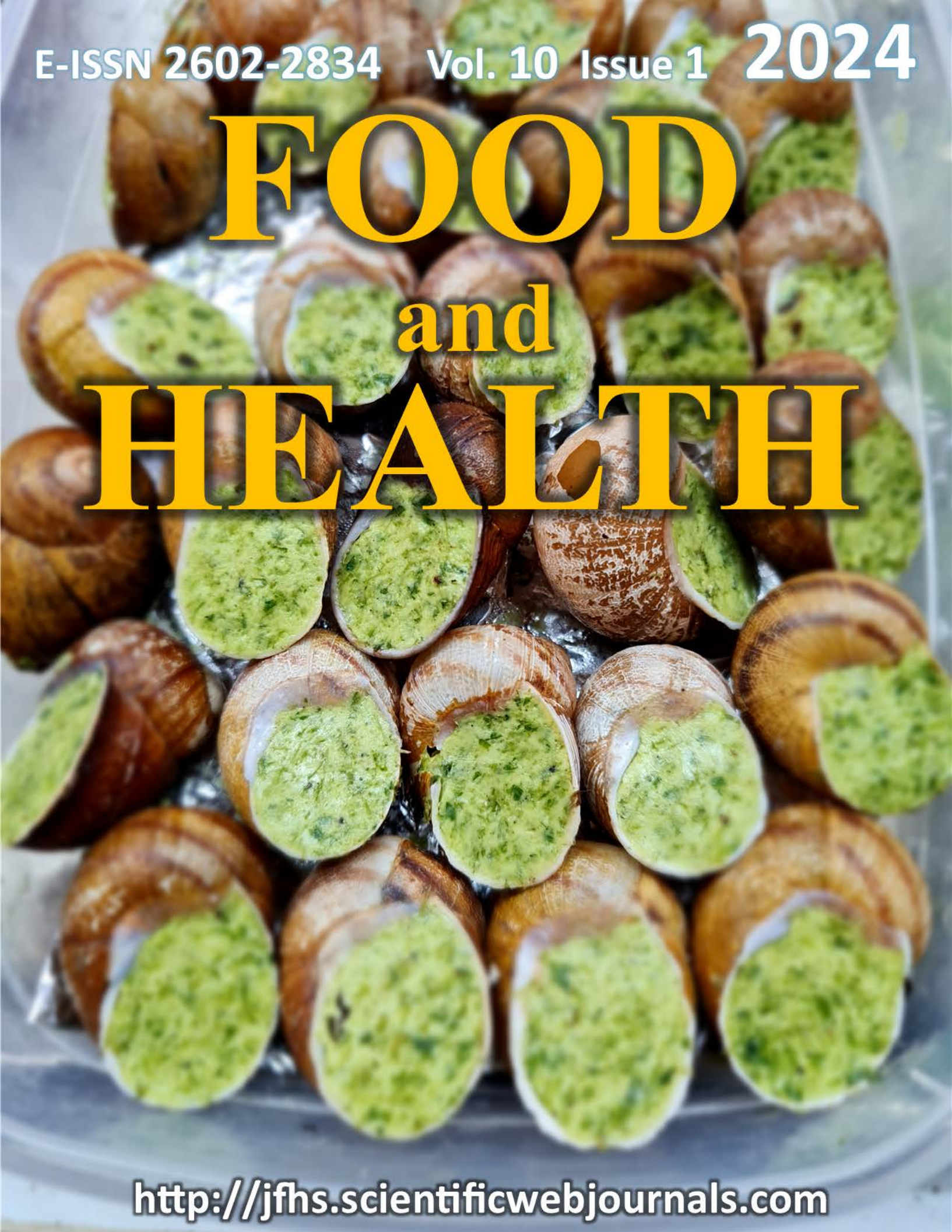


E-ISSN 2602-2834 Vol. 10 Issue 1 2024

A close-up photograph of a metal tray filled with numerous steamed clams. Each clam is topped with a vibrant green herb sauce, likely containing parsley and garlic. The clams are arranged in a dense, overlapping pattern, filling the entire frame. The background is slightly blurred, focusing attention on the food.

FOOD and HEALTH

<http://jfhscscientificwebjournals.com>

FOOD and HEALTH



**FOOD
and
HEALTH**
E-ISSN 2602-
2834

Chief Editor:

Prof.Dr. Nuray ERKAN, Istanbul-Turkey

nurerkan@istanbul.edu.tr

Subjects: Processing Technology, Food Sciences and Engineering

Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences

Co-Editor in Chief:

Prof.Dr. Özkan ÖZDEN, Istanbul-Turkey

ozden@istanbul.edu.tr

Subjects: Fisheries, Food Sciences and Engineering

Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences

Cover Photo:

Prof.Dr. Özkan ÖZDEN, Istanbul-Turkey

ozden@istanbul.edu.tr

Subjects: Fisheries, Food Sciences and Engineering

Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences

Editorial Board:

Prof.Dr. Bhesh BHANDARI, Brisbane-Australia

b.bhandari@uq.edu.au

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Queensland, Faculty of Science

Prof.Dr. İBRAHİM ÇAKIR, Bolu-Turkey

icakir55@gmail.com

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Abant İzzet Baysal, Faculty of Engineering,

Department of Food Engineering

Prof.Dr. Stephan G. DRAGOEV, Filibe-Bulgaria

logos2000lt@gmail.com

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Food Technologies

Prof.Dr. Carsten HARMS, Bremerhaven-Germany

charms@hs-bremerhaven.de

Subjects: Biology

Institution: Bremerhaven Institute for Applied Molecular Biology

Prof.Dr. Marcello IRITI, Milano-Italy

marcello.iriti@unimi.it

Subjects: Food Sciences and Engineering, Nutrition and Dietetics

Institution: Milan State University, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of Agricultural and Environmental Sciences

Prof.Dr. Abdullah ÖKSÜZ, Konya-Turkey

aoksuz@konya.edu.tr

Subjects: Fisheries, Nutrition and Dietetics, Medicine

Institution: University of Necmettin Erbakan, Faculty of Nutrition and Health

Prof.Dr. Petras Rimantas VENSKUTONIS,

Kaunas-Lithuania

rimas.venskutonis@ktu.lt

Subjects: Food Sciences

Institution: Kaunas University of Technology

Prof.Dr. Peter RASPOR, Izola-Slovenia

Peter.Raspor@fvz.upr.si

Subjects: Food Sciences and Engineering, Mathematics and Science

Institution: University of Primorska, Faculty of Health

Sciences, Institute for Food, Nutrition and Health

Prof.Dr. Aydın YAPAR, Aydın-Turkey

ayapar@pau.edu.tr

Subjects: Food Technology

Institution: Pamukkale University, Faculty of Engineering,

Department of Food Engineering

Assoc.Prof.Dr. Alaa El-Din Ahmed BEKHIT,

Dunedin-New Zealand

aladin.bekhit@otago.ac.nz

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Otago, Department of Food Science



Publisher Özkan Özden

Copyright © 2024 ScientificWebJournals Web Portal

Adress: Abdi Bey Sok. KentPlus Kadıköy Sitesi No:24B D. 435 Kadıköy/İstanbul, Türkiye

E-mail: swj@scientificwebjournals.com

for submission instructions, subscription and all other information visit

<http://jfhs.scientificwebjournals.com>

FOOD and HEALTH

Protein Carbohydrate EPA+DHA
Vegetables Seafood Temperature
Toxins Quality Antioxidant
Moisture Vitamin
Pastorization Food Chemistry
Sugar HACCP Packaging Processing Food Health
Control Microbiology Water Nutrition Sensory
Dietary Microbiology Fruit Antimicrobial
Meat Omega-3m Supplement
Salt
Bread Storage

FOOD
and
HEALTH
E-ISSN 2602-2834

Aims and Scope

FOOD and HEALTH

Abbreviation: **FOOD HEALTH**

e-ISSN: 2602-2834

Journal published in one volume of four issues per year by

<http://jfhs.scientificwebjournals.com> web page

“Food and Health” journal will publish peer-reviewed (double-blind) articles covering all aspects of **food science and their health effect** in the form of original research articles (full papers and short communications), and review articles. Their team of experts provides editorial excellence, fast publication processes, and high visibility for your paper.

Food / Seafood / Food Technology / Food Chemistry / Food Microbiology/Food Quality/Food Safety/Food Contaminant / Food Allergen / Food Packaging / Modified Food / Functional Food / Dietary Supplements / Nutrition and their health effect is the general topics of the journal.

Manuscripts submitted to the "Food and Health" journal will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. Our journal will be published quarterly in English or Turkish language.

The journal's target audience includes specialists and professionals working and interested in all disciplines of food and Nutrition Sciences.

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), and Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors

(EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal is in conformity with the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

“Food and Health” journal is indexed in CABI, TUBITAK ULAKBIM TR Index, FAO/AGRIS, ERIH PLUS, SciLit, EBSCO, and Bielefeld Academic Search Engine (BASE).

Processing and publication are free of charge with the journal. No fees are requested from the authors at any point throughout the evaluation and publication process. All manuscripts must be submitted via the online submission system, which is available at

<http://dergipark.gov.tr/journal/1646/submission/start>.

The journal guidelines, technical information, and the required forms are available on the journal's web page.

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the ScientificWebJournals web portal, editors, editorial board, and/or publisher; the editors, editorial board, and publisher disclaim any responsibility or liability for such materials.

All published content is available online, free of charge at <http://jfhs.scientificwebjournals.com>.



Editor in Chief:

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Address: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Food Safety, Kalenderhane Mah. 16 Mart Şehitleri Cad. No: 2, 34134 Fatih/Istanbul, Türkiye

E-mail: nurerkan@istanbul.edu.tr

Vol. 10 Issue 1 Page 1-95 (2023)

Content

RESEARCH ARTICLES

- 1. The effects of Equisetum arvense L. extracts prepared using different solvents and extraction methods for antioxidant and antimicrobial activity 1-11**
Şule BARAN Sarah ALAZZAWI Alican Bahadır SEMERCİ
- 2. Socio-demographic determinants of good food safety practices for young, educated food handlers in Türkiye 12-21**
Duygu BAŞKAYA SEZER
- 3. Maserasyon, refluks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen kestane propolis ekstraktlarının farklı gıda modellerinde kullanımı: Fizikokimyasal, duyuusal ve biyoaktif niteliklere etkisi 22-39**
Sevde Nur ŞENOL YAZKAN Müge HENDEK ERTOP
- 4. Zeytinyağı oleojelinin şortening ikame maddesi olarak kullanılmasının kekin kalite özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi 40-51**
Zeynep EROĞLU Necla ÖZDEMİR ORHAN
- 5. Partikül büyüklüğünün üzüm posasının kompozisyonuna ve hidrasyon, yağ tutma, termal, teknolojik özelliklerine etkisi 52-63**
Duygu BAŞKAYA SEZER
- 6. Modifiye atmosfer ile paketlenen etli mantının raf ömrü ve kalite özelliklerine etkisi 64-76**
Esra AKKAYA
- 7. Pathogenic potential of Staphylococcus aureus strains isolated from unpackaged ice cream samples sold in Istanbul 77-84**
Elif EDE ÇINTESUN Sine ÖZMEN TOGAY
- 8. Green tea extracts and substantial catechin derivatives: Evaluation of their potential against breast cancer 85-95**
Nadire ÖZENVER Sıla ÜNLÜ Seren GÜNDOĞDU L. Ömür DEMİREZER

The effects of *Equisetum arvense* L. extracts prepared using different solvents and extraction methods for antioxidant and antimicrobial activity

Şule BARAN, Sarah ALLAZAWI, Alican Bahadır SEMERCI

Cite this article as:

Baran, Ş., Allazawi, S., Semerci, A.B. (2024). The effects of *Equisetum arvense* L. extracts prepared using different solvents and extraction methods for antioxidant and antimicrobial activity. *Food and Health*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.3153/FH24001>

Sakarya University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Sakarya, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

Ş.B. 0000-0003-2497-5876

S.A. 0000-0002-9242-0349

A.B.S. 0000-0001-9502-9321

Submitted: 24.05.2023

Revision requested: 22.08.2023

Last revision received: 29.08.2023

Accepted: 05.09.2023

Published online: 05.11.2023

Correspondence:

Şule BARAN

E-mail: sbaran@sakarya.edu.tr

ABSTRACT

Our study aimed to determine the solvent and extraction method that reveals the biological activities and phenolic contents of the plant *Equisetum arvense* at the maximum rate. Leaf and stem extracts of *Equisetum arvense* were prepared using the soxhlet and maceration method in the presence of 5 different solvents. The extracts' total phenolic content (TPC) was determined using the Folin-Ciocalteu method, the antioxidant activity by the DPPH radical scavenging test, and the antimicrobial activity by the disc diffusion method. When the antibacterial activity results were examined, the methanolic leaf extract prepared by the maceration method showed the inhibition zones as 14.5 mm on *S. aureus*, 14.2 mm on *S. epidermidis* and 14 mm on *E. faecalis*. From leaf parts, it was determined that the methanolic extract prepared by the soxhlet method was 85.1%, the acetonic extract 84.5%, the methanolic extract prepared by the maceration method 83%, and the acetonic extract 84.1% scavenged DPPH radical. As a result of the study, it was determined that the maceration method showed better results in evaluating the total phenolic substance amount and antimicrobial activity and the soxhlet method in determining the antioxidant activity. It has been determined that methanol and acetone were the ideal solvents for TPC antioxidant and antimicrobial activity studies to be carried out with *E. arvense* plant. In this study, plant leaves and stems were studied separately for the first time and their biological activities were compared. In addition, our study provides integrative data investigating and comparing the antioxidant and antimicrobial activities of the *E. arvense* plant in detail with various solvents and methods.

Keywords: *Equisetum arvense*, Antibacterial activity, DPPH radical



© 2023 The Author(s)

Available online at
<http://jfh.sscientificwebjournals.com>

Introduction

It has been known for many years that plants, fruits and vegetables have antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory effects due to their phytochemical composition. They are used in medicine and nutrition, including the cosmetic industry (Tan & Lim, 2015; Pallag et al., 2018). Herbaceous plants of Equisetum (horsetail) are widely distributed worldwide, excluding Australia. *E. arvense* L. is a perennial fern from the Equisetaceae family. In traditional medicine, horsetail plants have long been used (Patova et al., 2019). As a skin antiseptic, *E. arvense* is used in folk medicine to treat kidney and stomach diseases (Badole & Kotwal, 2015). Many *E. arvense* herbal products are mainly used against urinary and kidney disorders. It is also used in skin, hair and nail care due to the species' potentially high silica content (Saslis-Lagoudakis et al., 2015).

The antioxidant activities of plant extracts depend on the extraction efficiency of the bioactive components and the composition of the extract. Extraction with solvents is frequently used for the isolation of antioxidant compounds, and both the extraction efficiency and antioxidant activity of the extracts are closely related to the used solvent, mainly due to the different polarities of the obtained compounds (Moure et al., 2001; Tran et al., 2020). Organic solvents (petroleum ether, hexane, chloroform, methanol, etc.) are widely used to extract phenolic compounds as antioxidants (Oniszczuk et al., 2014). The choice of the most suitable solvent is a determining factor of the extract properties, and due to the different composition and structure, each matrix-solvent system exhibits a specific unpredictable behaviour (Fu et al., 2016).

There are various studies on the active ingredient contents and biological effects of *E. arvense*. The effect of extraction parameters on extract composition has been evaluated in the literature. Still, differences in biological activity based on composition changes have rarely been considered in extraction studies. Active phenolic compounds and the effect of these parameters on biological activities can be altered by changing the extraction method and the solvent used. Extensive studies comparing extractions and biological activities are needed to isolate active phenolic compounds of extracts and elucidate their effects on biological activity. In this context, the study aims to evaluate the effect of the total phenolic content antimicrobial and antioxidant activity of 20 different extracts obtained from the leaf and stem of *E. arvense* (using two different extraction methods and five different solvents).

Materials and Methods

Chemicals and Reagents

All the chemicals used in this study (petroleum ether, ethyl acetate, chloroform, methanol and acetone) and reagents (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Folin-Ciocalteu, Mueller Hinton Agar, Tryptic Soy Broth, Ascorbic Acid, Sodium Carbonate, Gallic Acid) were of analytical grade and obtained from Sigma or Merck Company, Germany.

Plant Material and Preparation of Plant Extracts

Plant samples were collected by Şule Baran in May-June 2021 (Kazimpaşa-Serdivan/Sakarya). After the samples were sorted and cleaned, they were dried at room temperature in the shade for seven days. The dried stem and leaf samples were grinded separately in an electric grinder. Scanning electron microscopy revealed a morphological examination of dried leaf samples (Figure 1).

The dried samples were extracted by soxhlet and maceration method. Maceration method: 15 grams of sample was mixed with 150 mL of solvent (ethyl acetate, petroleum ether, chloroform, methanol and acetone) and kept at room temperature in the dark for 72 hours. Then, the extracts were filtered on filter paper. Soxhlet method: Powdered samples (15 g) were put into soxhlet cartridges and extracted in 150 mL of solvents (petroleum ether, ethyl acetate, chloroform, methanol and acetone) for eight hours. All extracts were evaporated under a vacuum at 45°C, and the obtained extracts were stored at -20°C until performing chemical and biological analyses. The extracts' yield was calculated as the dry weight of the extract relative to the raw material weight: yield (%) = $m/M \times 100$ (M is the raw material weight, and m is solvent-free extract mass).

Determining of Total Phenolic Content

TPC (Total phenolic content) determination was done using the Folin-Ciocalteu method developed by Singleton and Rossi (1965). 0.1 mL of the prepared extract (1mg/mL) was taken, 0.2 mL of 50% Folin Ciocalteu reagent was added and left for 3 minutes. 1 mL of 2% Na₂CO₃ solution was added to it, and it was left to rest in the dark for 1 hour. At the end of the period, absorbances were measured at 760 nm in the spectrophotometer. A calibration curve was employed for gallic standard, and TPC extract was expressed as mg per gr (mg GA/g).

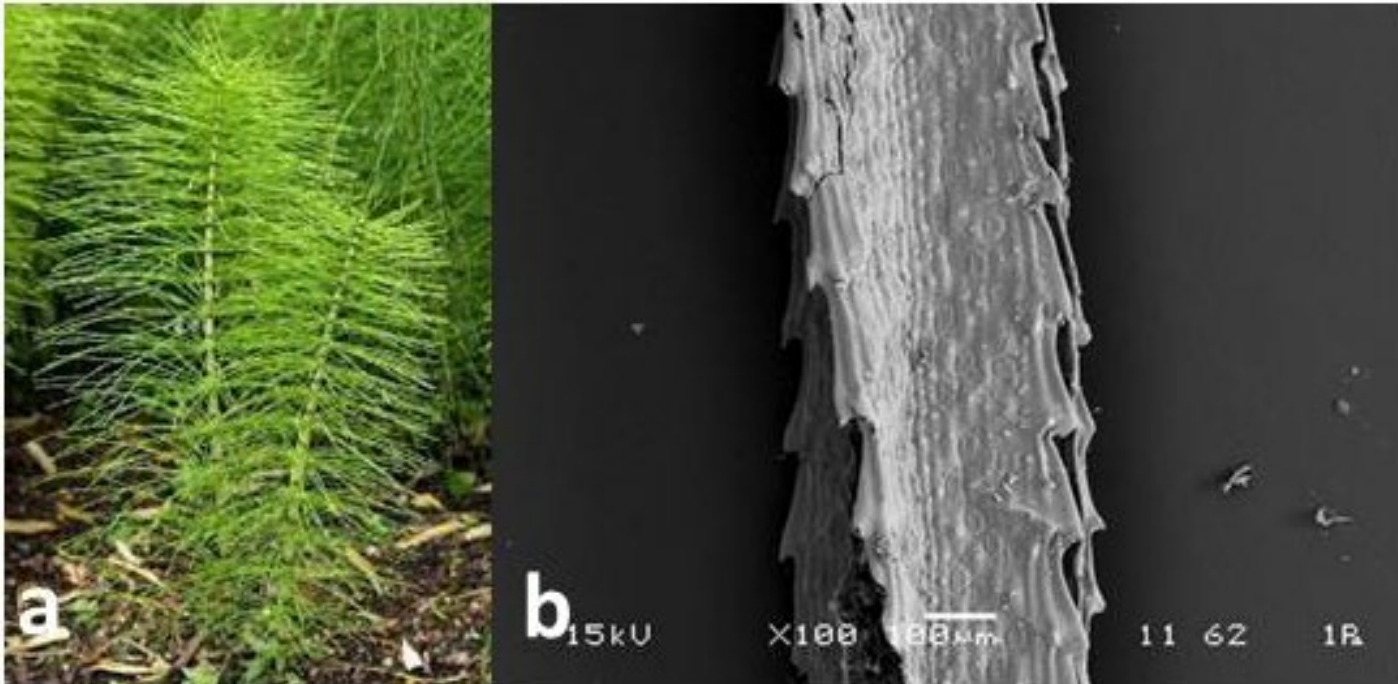


Figure 1. a) General image b) SEM image of *E. arvense* leaf surface (X100)

Antioxidant Activity

The modified Blois method was used to investigate the antioxidant activity of *E. arvense* extracts. (Blois, 1958). 1 mL of 0.004% solution of DPPH radical in ethanol was mixed with 1 mL of extract solution (100 µg/mL). The mixture was held in a dark place for 30 minutes, and then optical density was measured at 517 nm in a spectrophotometer. Ethanol was used as a blank. For determination of the % DPPH radical scavenging activity the following equation was used: %DPPH radical scavenging = [(control absorbance-extract absorbance)/control absorbance] x 100

Antibacterial Activity

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 were used as test microorganisms for determination of antibacterial of *E. arvense*. Overnight bacterial cultures were utilised to prepare the bacterial suspensions (adjusted to 0.5 McFarland using a densitometer). The disc diffusion method absorbed 20 µL of the previously prepared extracts (1 mg/mL concentration) into a

6 mm diameter sterile disc. density-adjusted bacteria suspensions were inoculated to Mueller Hinton Agars (MHA) using sterile swabs. Impregnated discs were periodically placed on inoculated MHA. After a 24-hour incubation at 37°C, the inhibition zone (IZs) diameters were measured with a digital calliper. Solvent (petroleum ether, ethyl acetate, chloroform, methanol and acetone) impregnated discs were used as a negative control, and commercial antibiotic discs (Gentamicin (10 mcg) were utilised as a positive control.

Statistical Analysis

All analyses were carried out in triplicate, and results were given as mean ± SD. Statistical analyses were performed using the SPSS 20.0 program. Statistical data analyses were obtained using the Duncan test (P <0.05) and One-way ANOVA.

Results and Discussion

Various methods of extraction of natural compounds have different extraction yields and efficiency. Our extraction yield results, which were evaluated with *E. arvense* stem and leaf parts using 2 different extraction methods and 5 different solvents, are shown in Figure 2.

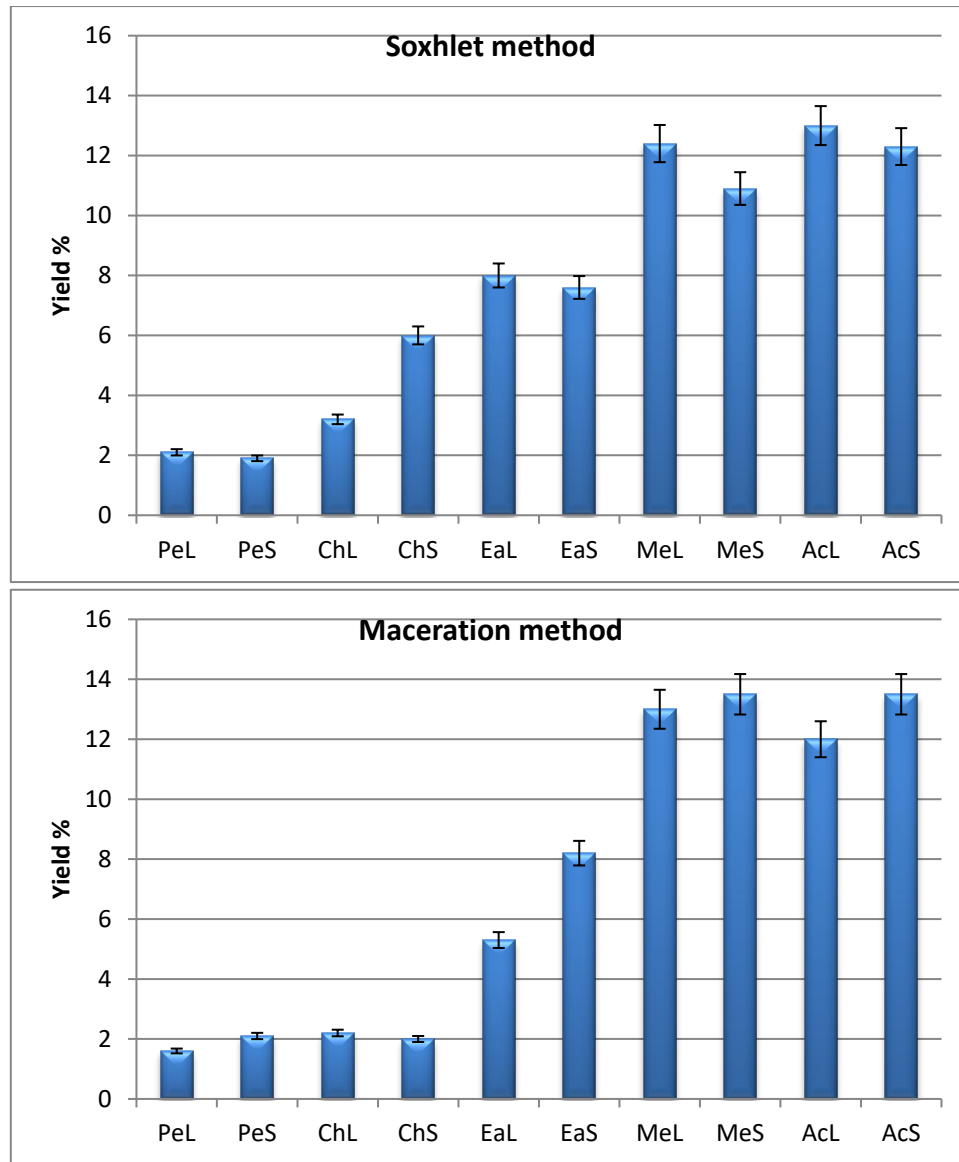


Figure 2. Extraction yield (%) of applications with maceration and soxhlet method (PeL: petroleum ether leaf, PeS: petroleum ether stem, ChL: Chloroform leaf, ChS: Chloroform stem, EaL: Ethyl acetate leaf, EaS: Ethyl acetate stem, MeL: Methanol leaf, MeS: Methanol stem, AcL: Acetone leaf, AcS: Acetone stem)

When the soxhlet and maceration extraction methods were compared, it was determined that ethyl acetate and chloroform solvents produced higher yields in the soxhlet method. For *E. arvense* plant, the Soxhlet method produced higher yields than the Maceration method. It has been shown once again in our study that the solute used directly affects the yield during extraction. When the extract yields were compared in both methods, it was seen that the yield increased in the form of petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol and acetone, respectively. This indicates that the yield in

the extracts in our study is related to the polarity of the solution used and that the efficiency increases depending on the increasing polarity, and this supports us in the data in the literature (Do et al., 2014; Ng et al., 2020). Differences in extract yields from the plant leaf and stem parts tested in the present analysis may be due to the production and storage of various chemical compounds in different parts of the plant (Sultana et al., 2009).

It is admitted that phenolic compounds of plants can play an essential role in shaping the biological properties of the plant, including antioxidant properties (Zlotek et al., 2016). The total phenolic content (TPC) of the extracts obtained from the leaf and stem of *E. arvense* are given in Table 1.

It was seen in Table 1 that the extracts using the maceration method contained higher TPC values. The maceration technique is an extraction method at room temperature without any heating. It can prevent phenolic degradation but may not produce a high yield, as seen in our study (Dahmoune et al., 2015; Dewi et al., 2022). However, although the efficiency of the soxhlet method is high, the extracted phenolic substances may have been adversely affected since it was extracted under reflux at temperature.

In a study conducted in Serbia, the TPC values of the extracts obtained from the plant *E. arvense* were reported as: petroleum ether 0 mgGA/g, chloroform 2.86 mgGA/g, Ethyl acetate 43.6 mgGA/g, and methanol 79.52 mgGA/g (Četojević-Simin et al., 2010). In another similar study, TPC amounts were shown to be petroleum ether < chloroform < ethyl acetate in the solvents. Studies have shown that the solvent's polarity affects phenolic compounds' solubility. Phenolic compounds generally show polar properties depending on the -OH groups in their structure (Boungou Teboukeu et al., 2018; Aryal et al., 2019). Our study results observed that the phenolic substance increased as the polarity of the solvent used in the extraction increased. In addition, it was determined that the extracts prepared with petroleum ether from the plant *E. arvense* were unsuitable for TPC isolation.

A wide variety of in vitro assays are used to determine the antioxidant activity of the plant extract. The DPPH radical scavenging activity test is one of them. DPPH radical is one of the most commonly used substrates for rapid antioxidant activity evaluation because of its stability and simplicity of the assay (Bozin et al., 2008). It was determined that petroleum ether, ethyl acetate and chloroform extracts obtained in the soxhlet method showed higher antioxidant activity (Figure 3). When the leaf and stem extracts obtained with the same solvent were compared, it was determined that they showed higher antioxidant properties. The highest DPPH scavenging activity was determined in leaf methanolic extract (85%). Notably, leaf methanol and acetone extracts show antioxidant activity close to ascorbic acid, which we use as a standard antioxidant. Methanol and acetone solutions were the most suitable solvents to reveal the antioxidant properties of the plant. On the other hand, the antioxidant activity rates of petroleum ether and chlorophyll solvents remained the lowest.

There are some studies on the antioxidant activities of *E. arvense* plants in the literature. However, it is impossible to make a healthy comparison due to differences in used methods, solvents and plant parts. In this respect, in our study, by comparing the antioxidant activity of the extracts prepared using two different methods and 5 different solvents, significant complementary information is provided to the literature. In the literature, studies evaluate the DPPH scavenging and antioxidant activity of the plant *E. arvense*, some of which are given in Table 2.

Table 1. TPC values of prepared *E. arvense* extracts

Extract	TPC (mgGA/g)			
	Maceration		Soxhlet	
	Leaf	Stem	Leaf	Stem
P. ether	18.3 ^a ±1.2	24.5 ^a ±0.2	20.47 ^a ±0.5	23.8 ^a ±4.8
Chloroform	156.21 ^b ±2	59.1 ^b ±0.8	134.04 ^b ±2.20	63.09 ^b ±0.2
Ethyl acetate	219.76 ^c ±1.6	114.28 ^c ±1.6	213.3 ^c ±4.6	150.47 ^c ±2.9
Methanol	234.04 ^c ±0.9	238.09 ^d ±4.3	139.52 ^b ±0.7	135.23 ^c ±3.2
Acetone	507.61 ^d ±8.3	471.42 ^c ±0.5	252.1 ^d ±6.2	466.6 ^d ±4.6

The results were performed in triplicate, and the average was calculated. Using the ANOVA Duncan test, different letters symbolised significant differences (P < 0.05).

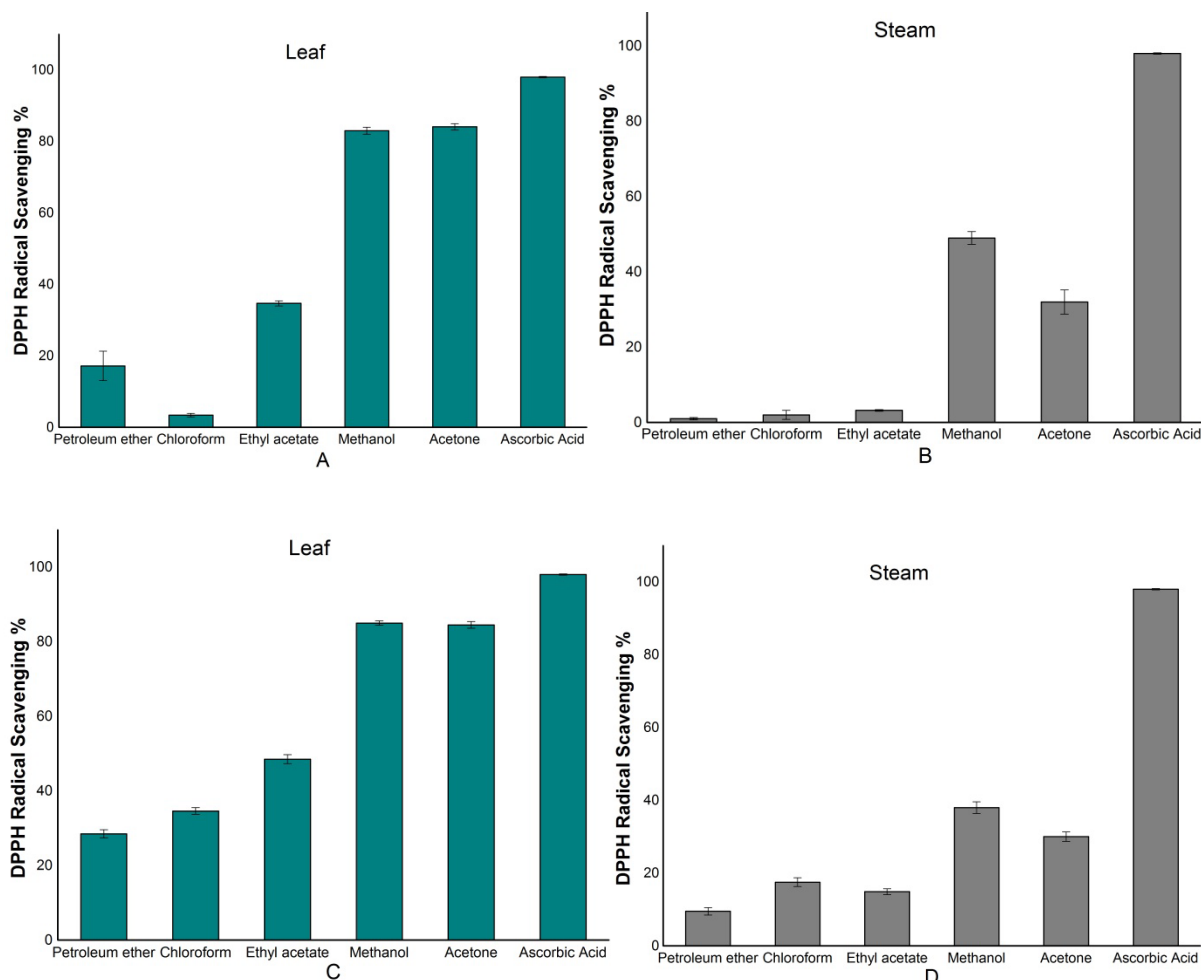


Figure 3. DPPH scavenging activity (%) of different extracts prepared from *E. arvensis*
A-B: Maceration methods, C-D: Soxhlet methods

Table 2. DPPH scavenging activities of *E. arvensis* extracts in the literature

Used of parts	Methods	Solvents	Antioxidant activity (DPPH methods)	Reference
Stem	Maceration	Ethyl acetate Butanol	IC50=2.37µg/mL IC50=7.16 µg/mL	Mimica-Dukic et. al.2008
All parts	Microwave-assisted extraction	Ethanol-water	1 mg/mL for* %33	Milutinović et al 2014
Stem	Modified of Maceration	Methanol	1 mg/mL for* %87.5	Pallag et al. 2016
Aerial parts	Maceration	Ethyl acetate Bütanol	1mg/mL for* %10 %70	Čanadanović-Brunet et al 2009
All parts	Maceration	Methanol	0.2 mg/mL for* %52.4	Necip and Işık 2019

*: %DPPH radical scavenging, IC50: concentration required for 50 percent DPPH radical scavenging

In the study of Čanadanović-Brunet et al. (2009), in parallel with our study, it was observed that the extract obtained from ethyl acetate showed deficient antioxidant activity compared to alcohol. In the given literature, it has been reported that *E. arvense* plant shows antioxidant activity. As in our study, extracts prepared with alcohol groups such as methanol are more effective in revealing antioxidant activity (Table 2). As seen from Table 2, there are different results among some studies in the literature, depending on the different parts of the plant used. Depending on the place where the plants are collected, the collection time, and the environmental conditions of the area where they are collected, secondary metabolites of different types and rates can be produced. Accordingly, there may be differences in biological activities.

The presence of antioxidant activity of *E. arvense*, which has been represented in the literature to contain many bioavailable, bioactive compounds such as vitamins B1, B2, B6, C, E, nicotinic acid, folic acid, pantothenic acid (Nagai et al., 2006), was also confirmed in our study.

Recently, there has been a growing interest in herbal products and plant compounds. It is known that many diseases, including infectious diseases, have been treated with herbal medicines throughout human history. Standardised and reliable antimicrobial activities are needed to examine the potential antimicrobial properties of plant-derived phytochemicals (Othman et al., 2011; Vanlalveni et al., 2021). In order to obtain bioavailable compounds such as phenolic compounds in

herbal extracts at a maximum rate and with minimum degradation, an effective extraction method and solvent selection should be made.

In our study, the antibacterial activity results of the extracts obtained from the plant *E. arvense* by maceration and soxhlet method are given in Tables 3 and 4. When the study results were examined, it was seen that the highest antibacterial activity was in the methanolic leaf extract prepared by the maceration method. This extract had a broad-spectrum effect on the test bacteria (*S. aureus* 14.5 mm, *S. epidermidis* 14.2 mm, *E. faecalis* 14 mm, *B. subtilis* 13.5 mm inhibition zone diameter). This extract was comparable to gentamicin, a standard antibiotic on *S. aureus*, *E. faecalis* and *S. epidermidis*. Its vigorous antibacterial activity on *S. aureus*, one of the most common Gram-positive bacteria in food poisoning, is valuable data for the literature. The extract obtained from the leaf part of the *E. arvense* plant was more effective on the test bacteria than the stem extracts. It was determined that the acetonic extract prepared by the maceration method among the extracts obtained from the stem produced the highest activity in *S. aureus* with an inhibition zone diameter of 11 mm. In addition, it was determined that only methanolic and acetonic stem extracts prepared by the maceration method showed activity on *S. aureus*. In the soxhlet method, it was observed that only the methanolic extract formed a 10 mm inhibition zone on *E. faecalis*.

Table 3. Antibacterial activity of extracts obtained by maceration method

Extracts		Test bacteria (Inhibition Zones (mm) (\pm SD))					
		Bs	Ec	Ef	Sa	Se	St
Leaf	P. ether	0	0	0	8	0	0
	Ethyl acetate	0	0	0	0	0	0
	Chloroform	0	0	0	0	0	0
	Methanol	13.5 \pm 0.5	0	14 \pm 0.1	14.5 \pm 0.4	14.2 \pm 0.2	0
	Acetone	8 \pm 0.1	0	9.5 \pm 0.5	9.5 \pm 0.5	8 \pm 0.3	0
Stem	P. ether	9 \pm 0.1	0	8	0	0	0
	Ethyl acetate	0	0	0	0	0	0
	Chloroform	0	0	0	0	0	0
	Methanol	0	0	0	9	0	0
	Acetone	0	0	0	11 \pm 0.9	0	0
Gentamicin 10 mcg		20	18	19	22	21	20
N. Control		0	0	0	0	0	0

Bs-Bacillus subtilis, Ec-Escherichia coli, Ef-Enterococcus faecalis, Sa-Staphylococcus aureus, Se-Staphylococcus epidermidis, St-Salmonella typhimurium.

Table 4. Antibacterial activity of extracts obtained by Soxhlet method

Extracts		Test bacteria (Inhibition Zones (mm) (\pm SD))					
		Bs	Ec	Ef	Sa	Se	St
Leaf	P. ether	0	0	0	0	0	0
	Ethyl acetate	0	0	9.5 \pm 0.4	0	0	0
	Chloroform	0	0	0	0	0	0
	Methanol	9 \pm 0.1	0	8	0	0	0
	Acetone	0	0	8	0	0	0
Stem	P. ether	0	0	0	0	0	0
	Ethyl acetate	0	0	0	0	0	0
	Chloroform	0	0	0	0	0	0
	Methanol	0	0	10 \pm 0.1	0	0	0
	Acetone	0	0	0	0	0	0
Gentamicin 10 mcg		20	18	19	22	21	20
N. Control		0	0	0	0	0	0

Bs-Bacillus subtilis, Ec-Escherichia coli, Ef-Enterococcus faecalis, Sa-Staphylococcus aureus, Se-Staphylococcus epidermidis, St-Salmonella typhimurium

It is determined that all the extracts used in the study don't have antibacterial activity on the gram-negative bacteria *E. coli*. Čanadanović-Brunet et al. (2009) reported that chloroform and petroleum ether extracts, which they extracted from the plant *E. arvense* by the maceration method, did not have antibacterial activity on the bacteria they used; our data also support this. In another study, *E. arvense* extract was shown to be ineffective on *E. coli* (Pallag et al., 2018). The difference in cell wall structure and permeability of Gram-positive and Gram-negative bacteria causes different sensitivities (Kosanic et al., 2015). In Gram-negative bacteria, the outer membrane is a barrier to many substances, including antibiotics. Gram-negative bacteria have an outer phospholipidic membrane that carries the lipopolysaccharide components. Gram-positive bacteria, on the other hand, only have an outer peptidoglycan layer that does not have an effective permeability barrier (Kosanic et al., 2012; Albouchi et al., 2013).

Recent studies have confirmed the in vitro antimicrobial activity of the plant *E. arvense* (Radulović et al., 2006; Čanadanović-Brunet et al., 2009; Uslu et al., 2013). Studies have also reported that Petroleum ether and chloroform solvents are unsuitable for antibacterial activity studies of *E. arvense*.

Conclusion

As a result of the study, it was determined that the method and solvent used in preparing the extract are essential in revealing the chemical content and exhibiting the activity. Generally, extracts produced by the maceration method exhibited higher antibacterial activity, while those obtained by the soxhlet method showed higher antioxidant activity. It was de-

termined that the qualitative efficiency was not directly related to the extract yield values. Leaf extracts generally showed higher antioxidant and antibacterial activity than stem extracts. In addition, the highest antioxidant and antibacterial activity was found in the methanolic leaf extract. It has been determined that methanol and acetone are the ideal solvents for TPC antioxidant and antimicrobial activity studies to be carried out with *E. arvense*. In addition, the importance of pre-experiment optimisation to find the appropriate method and solvent while investigating the biological activities of herbal extracts has been demonstrated in our study. As a result, horsetail is not only healthy food but also helpful in protecting from various diseases due to its antioxidant and antibacterial activity. We believe it will bring a high added value to the scientific world by examining the effects of the bioactive components on various diseases in detail in future studies.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interests: The author(s) declares that for this article, they have no actual, potential, or perceived conflict of interest.

Ethics committee approval: Authors declare that this study includes no experiments with human or animal subjects.

Data availability: Data will be made available on request.

Funding: This work was supported by the Sakarya University [Grant number 2022-7-24-152].

Acknowledgements: -

Disclosure: -

References

- Albouchi, F., Hassen, I., Casabianca, H., Hosni, K. (2013). Phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activities of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle leaves. *South African journal of botany*, 87, 164-174. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.04.003>
- Aryal, S., Baniya, M.K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., Koirala, N. (2019). Total phenolic, flavonoid, and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
- Badole, S., Kotwal, S. (2015). Biochemical, hematological and histological changes in response to graded dose of extract of *Equisetum arvense* in adult female wistar rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(8), 3321.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Boungo Teboukeu, G., Tonfack Djikeng, F., Klang, M.J., Houketchang Ndomou, S., Karuna, M.S.L., Womeni, H.M. (2018). Polyphenol antioxidants from cocoa pods: Extraction optimization, effect of the optimized extract, and storage time on the stability of palm olein during thermoxidation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(5), e13592. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13592>
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R., (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, 111, 925-929. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.071>
- Čanadanović-Brunet, J. M., Četković, G. S., Djilas, S. M., Tumbas, V. T., Savatović, S. S., Mandić, A. I., Cvetković, D. D. (2009). Radical scavenging and antimicrobial activity of horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(2), 269-278. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01680.x>
- Četojević-Simin, D.D., Čanadanović-Brunet, J.M., Bogdanović, G.M., Djilas, S.M., Četković, G.S., Tumbas, V.T., Stojiljković, B.T. (2010). Antioxidative and antiproliferative activities of different horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *Journal of Medicinal Food*, 13(2), 452-459. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0159>
- Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chemistry*, 166, 585-595. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.066>
- Dewi, S.R., Stevens, L.A., Pearson, A.E., Ferrari, R., Irvine, D.J., Binner, E.R. (2022). Investigating the role of solvent type and microwave selective heating on the extraction of phenolic compounds from cacao (*Theobroma cacao* L.) pod husk. *Food and Bioproducts Processing*, 134, 210-222. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.05.011>
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., Ju, Y.H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Fu, Z.F., Tu, Z.C., Zhang, L., Wang, H., Wen, Q.H., Huang, T. (2016). Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities. *Food Bioscience*, 15, 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.04.004>
- Kosanic, M., Ranković, B., Stanojković, T. (2012). Antioxidant, antimicrobial, and anticancer activity of 3 Umbilicaria species. *Journal of Food Science*, 77(1), T20-T25. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02459.x>
- Kosanic, M., Ranković, B., Stanojković, T. (2015). Biological activities of two macroalgae from Adriatic coast of Montenegro. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(4), 390-397. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.11.004>
- Mimica-Dukic, N., Simin, N., Cvejic, J., Jovin, E., Orcic, D., Bozin, B. (2008). Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. *Molecules*, 13(7), 1455-1464. <https://doi.org/10.3390/molecules13071455>
- Milutinović, M., Radovanović, N., Rajilić-Stojanović, M., Šiler-Marinković, S., Dimitrijević, S., Dimitrijević-Branković, S. (2014). Microwave-assisted extraction for the recovery of antioxidants from waste *Equisetum arvense*. *Industrial Crops and Products*, 61, 388-397. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.039>

Moire, A., Cruz, J.M., Franco, D., Domínguez, J.M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171.

[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)

Nagai, T., Myoda, T., Nagashima, T. (2005). Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food Chemistry*, 91(3), 389-394.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.016>

Necip, A., Işık, M. (2019). Bioactivities of *Hypericum perforatum* L. and *Equisetum arvense* L. fractions obtained with different solvents. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(3), 221-230.

<https://doi.org/10.38001/ijlsb.636502>

Ng, Z.X., Samsuri, S.N., Yong, P.H. (2020). The antioxidant index and chemometric analysis of tannin, flavonoid, and total phenolic extracted from medicinal plant foods with the solvents of different polarities. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9), e14680.

<https://doi.org/10.1111/jfpp.14680>

Oniszczyk, A., Podgórski, R., Oniszczyk, T., Żukiewicz-Sobczak, W., Nowak, R., Waksmundzka-Hajnos, M. (2014). Extraction methods for the determination of phenolic compounds from *Equisetum arvense* L. herb. *Industrial Crops and Products*, 61, 377-381.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.036>

Othman, M., San Loh, H., Wiart, C., Khoo, T.J., Lim, K. H., Ting, K.N. (2011). Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 84(2), 161-166.

<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.11.008>

Pallag, A., Filip, G.A., Olteanu, D., Clichici, S., Baldea, I., Jurca, T., ... Mureşan, M. (2018). *Equisetum arvense* L. extract induces antibacterial activity and modulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis in endothelial vascular cells exposed to hyperosmotic stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 3060525.

<https://doi.org/10.1155/2018/3060525>

Pallag, A., Jurca, T., Pasca, B., Sirbu, V., Honiges, A.N. A., Costuleanu, M. (2016). Analysis of phenolic compounds

composition by HPLC and assessment of antioxidant capacity in *Equisetum arvense* L. extracts. *Revista de Chimie*, 67(8), 1623-1627.

Patova, O.A., Smirnov, V.V., Golovchenko, V.V., Vit-yazev, F.V., Shashkov, A.S., Popov, S.V. (2019). Structural, rheological and antioxidant properties of pectins from *Equisetum arvense* L. and *Equisetum sylvaticum* L. *Carbohydrate Polymers*, 209, 239-249.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.098>

Radulović, N., Stojanović, G., Palić, R. (2006). Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(1), 85-88.

<https://doi.org/10.1002/ptr.1815>

Saslis-Lagoudakis, C.H., Bruun-Lund, S., Iwanycki, N. E., Seberg, O., Petersen, G., Jäger, A.K., Rønsted, N. (2015). Identification of common horsetail (*Equisetum arvense* L.; Equisetaceae) using thin layer chromatography versus DNA barcoding. *Scientific Reports*, 5(1), 1-12.

<https://doi.org/10.1038/srep11942>

Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

<https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>

Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.

<https://doi.org/10.3390/molecules14062167>

Tan, J.B.L., Lim, Y.Y. (2015). Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. *Food Chemistry*, 172, 814-822.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.141>

Tran, N., Nguyen, M., Le, K.P., Nguyen, N., Tran, Q., Le, L. (2020). Screening of antibacterial activity, antioxidant activity, and anticancer activity of *Euphorbia hirta* Linn. Extracts. *Applied Sciences*, 10(23), 8408.

<https://doi.org/10.3390/app10238408>

Uslu, M.E., Erdoğan, İ., Bayraktar, O., Ateş, M. (2013). Optimization of extraction conditions for active components in *Equisetum arvense* extract. *Romanian Biotechnological Letters*, 18(2), 8115-813.

Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., Rokhum, S.L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: *A Review of Recent Literature. Rsc Advances*, 11(5), 2804-2837.

<https://doi.org/10.1039/D0RA09941D>

Zlotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M., Świeca, M. (2016). The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(5), 628-633.

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.08.002>

Socio-demographic determinants of good food safety practices for young, educated food handlers in Türkiye

Duygu BAŞKAYA SEZER

Cite this article as:

Başkaya Sezer, D. (2024). Socio-demographic determinants of good food safety practices for young, educated food handlers in Türkiye. *Food and Health*, 10(1), 12-21. <https://doi.org/10.3153/FH24002>

Amasya University, Amasya Social Sciences Vocational School, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

D.B.S. 0000-0003-2724-1923

Submitted: 31.07.2023

Revision requested: 29.08.2023

Last revision received: 09.09.2023

Accepted: 06.09.2023

Published online: 08.11.2023

ABSTRACT

Food handlers' poor food safety practices increase the risk of foodborne diseases. In this study, food safety practices varied significantly according to gender, age, grade level (student or graduate), and internship status but did not differ according to marital status and income. Correct cutting board use received the highest score (92.6%) among student and graduate food handlers. Double tasting, hand cleaning before food contact, and expiration date/first in-first out rule were scored over 90% correctly. Neglecting hand washing during peak hours (43.9%) and not washing the vegetables to be cooked (45.7%) took the lowest scores. Gender, age, and grade level determine whether food safety practices are good or poor. Men were found to be 0.2 times less likely than women to perform good food safety practices. Food handlers aged 25-30 were 0.1 times less likely to prepare safe food than individuals aged 18-24. It has been determined that the probability of safe food preparation of graduates is 0.1 times lower than that of students.

Keywords: Food handler, Practice, Safe food, Poisoning, Cook, Student

Correspondence:

Duygu BAŞKAYA SEZER

E-mail: duygu.baskaya@amasva.edu.tr



© 2023 The Author(s)

Available online at
<http://jfhns.scientificwebjournals.com>

Introduction

Food safety is a global issue in terms of consumers and food handlers. Unsafe foods containing biological (pathogens) and chemical hazards cause more than 200 illnesses, ranging from diarrhoea to cancers (WHO, 2022). The World Health Organization reported that almost one in ten people fell ill after consuming contaminated food. This causes a loss of 33 million healthy life years (disability-adjusted life years [DALYs]) each year. Meanwhile, foodborne diseases strain health systems and harm countries' economies, especially in tourism and trade. For the health system, about 110 billion USD is lost yearly in productivity and medical expenses resulting from unsafe food in underdeveloped and developing countries (WHO, 2022). The situation is similar in developed countries. In 2021, 4,005 foodborne diseases were diagnosed in the European Union, 29.8% more cases than in 2020 (EFSA, 2023). According to PAHO (2023), foodborne diseases can be eliminated mainly if food handlers follow food hygiene and other safe food preparation guidelines because it is known that food handlers' practice causes 20% of foodborne diseases (Michaels et al., 2004). A previous study (Schwartz, 1975) suggested a relationship among food handlers' knowledge, attitude, and practice (KAP). Food safety practice has been demonstrated as a consequence of knowledge and attitude. This makes food handlers' practices the most influential determinant of food safety.

To the author's knowledge, the food safety practices of gastronomy and culinary arts students and recent graduates have not been studied so far. Limited studies investigate students' food safety practice levels (Ali et al., 2023; Giritlioglu et al., 2011; Hassan & Dimassi, 2014; Ovca et al., 2018). Giritlioglu et al. (2011) and Ovca et al. (2018) were conducted among undergraduates professionally engaged in food handling. However, neither of these studies examined what demographic characteristics determine the food safety behaviour of food handlers and to what extent. Internship status and grade level (student or recent graduate) might change the food handlers' behaviours and food safety practices in commercial food establishments. On a commercial scale, identifying risky demographic groups is essential for designing monitoring systems and targeted food safety training. Another point is that these findings will contribute to improving the food safety education curriculum at the university.

Therefore, this study focuses on the self-reported evaluation of food safety practices regarding the demographic profiles of young Turkish food handlers from culinary programs. The objectives are (1) to evaluate the proportion of correct re-

sponses among these educated young food handlers to questions about food safety practices; (2) to compare the levels of food safety practice according to socio-demographics; (3) to determine the socio-demographic predictors of food safety practice.

Materials and Methods

Survey

In this study, a 3-point Likert scale was used, with each statement scored as (1) incorrect, (2) not sure, and (3) correct. The survey comprised socio-demographics (6 questions) and self-reported food safety practices (19 statements). Gender, age, monthly income, marital status, grade level, and internship status were the questions determining the socio-demographic profile of the respondents. Çelen and Avcikurt (2017) provided the framework of the survey statements. For a pilot study, the survey form was sent to 30 young food handlers who did not participate in the main study. The form was corrected by the feedback of the handlers about typos and the intelligibility of the text. Then, the consistency of the final version of the survey was measured using Cronbach's Alpha as 0.8. This value is greater than the acceptable level (0.7) according to Cortina (1993), showing that the food safety practice survey has good internal consistency.

Sampling and Data Collection

Using G*power software (3.1.9.4 version, 2019, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany), the minimum sample size was calculated as 200 (Figure S1) at the alpha level of 0.05, power level of 0.80, and effect size 0.25. However, 403 randomly selected participants with experience in food handling were involved in the study.

The data were collected online from culinary program graduates and students using convenience sampling. As the survey was voluntary, each respondent signed a voluntary participation form before scoring. All procedures were carried out by the World Medical Association Declaration of Helsinki and the ethical standards of the Turkish National Research Committee.

Statistical Analysis

The statistical analysis was performed using SPSS 23 (IBM, New York, USA). A frequency test was used for incorrect, not sure, and correct scores, cross-tabulation to show good practice levels with rates according to the socio-demographics, and variance analyses (Independent-samples t-test and ANOVA) to compare the survey scores of the young

food handlers. Binary logistic regression was carried out to find the socio-demographic predictors of food safety practice, and the results were interpreted using odds ratio (OR). Microsoft Excel (version 365, Microsoft Corporation, Washington, US) was also used to determine the young food handlers' food safety practice levels as "good" if they had a correct score rate of 60% or more. The results were considered significant for $p < 0.05$ at the 95% confidence interval.

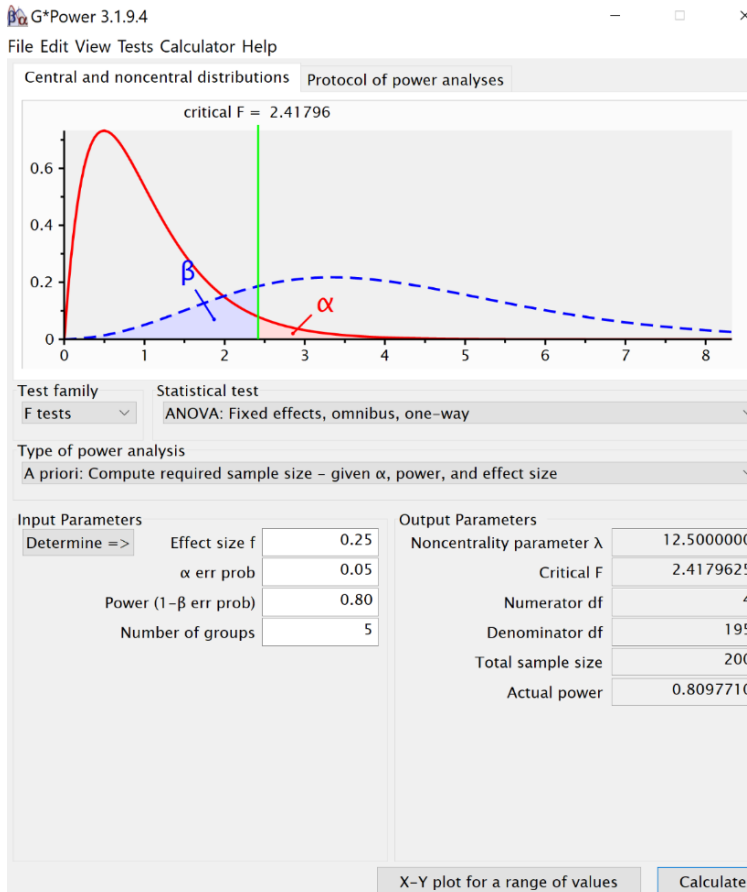


Figure S1. Sample size calculation in G*power

Results and Discussion

The socio-demographics of the young food handlers are presented in Table 1. 58.1% ($n = 234$) of the respondents were male; 56.3% ($n = 227$) were between 18-24 years old; 63.0% ($n = 254$) had an income of less than \$425; 69.7% ($n = 281$) were single; 55.3% ($n = 223$) were graduates and 74.9% ($n = 302$) had fulfilled their internship requirement.

The distribution of the practice scores is summarised in Table 2. The highest correct score (92.6%) was found in the statement, "It is enough to turn the same cutting board upside down to prepare raw and cooked foods in succession". Other

statements with a correct score rate higher than 90% were "Since the food is cooked, there is no harm in tasting it with a stirring spoon" with 90.8%; "I clean appliances after use" with 90.6%; "I wash my hands with hot water and soap before touching food" with 90.6%; and "I store food by the time of purchase, not the expiration date" with 90.1%.

Table 1. Socio-demographics of the young food handlers ($n = 403$)

Variables	Frequency	Percentage
Gender		
Female	169	41.9
Male	234	58.1
Age (years)		
18 - 24	227	56.3
25 - 30	176	43.7
Monthly income		
Less than \$ 425	254	63.0
\$ 425 - \$ 637	41	10.2
\$ 638 - \$ 850	62	15.4
More than \$ 850	46	11.4
Marital status		
Married	122	30.3
Single	281	69.7
Grade Level		
Student	180	44.7
Graduate	223	55.3
Internship status		
No	101	25.1
Yes	302	74.9

Similarly, in the Al-Kandari et al. (2019) study, food handlers strongly agreed with changing the cutting board (89.6%) after use for raw foods, and 93% of the food handlers avoided cross-contamination by using cutting boards correctly during food preparation. Another instance of high awareness about the use of kitchen utensils is that the stirring spoon is not used repeatedly to taste food. Double dipping, however, is widely observed in European TV cooking shows (Geppert et al., 2019). It is a disgusting habit and causes microorganisms to be transferred to food. This poor habit can be avoided mainly by having tasting spoons of a different shape from stirring spoons and keeping them readily available while cooking, as the food handlers of this study did. Therefore, the correct score may be high.

Considering awareness of appliance cleaning, it was reported that kitchen appliances were cleaned periodically (e.g., refrigerator cleaning at least once a month) by 58% of food handlers (Gilbert et al., 2007). Byrd-Bredbenner et al. (2007)

found that young food handlers scored less than 60% on appliance cleanliness, which was in line with their practice, as nearly half of the handlers were observed to have dirty kitchen appliances during the food safety audit. A double check at the end of the shift using a checklist can resolve these cleaning issues, and the participants of this study solved the problem with this control method.

From another aspect, cleaning appliances is necessary to prevent food from allergen contamination. The finding of the Galan-Malo et al. (2019) study is consistent with the effectiveness of cleaning on the removal of allergens, and it has been reported that cleaning with conventional detergents on food contact surfaces can remove 91% of remaining milk and 100% of egg and gluten residues.

As another cleaning practice, hand hygiene is an essential factor in controlling pathogens and cleaning the food preparation area. Still, hand washing with soap prevents food contamination (Codex Alimentarius, 2023). As in the present study, in the Moreb et al. (2017) study, most food handlers (85%) agreed that soap and warm water were necessary for proper hand washing, and likewise, Hassan and Dimassi (2014)

found that 87% of food handlers followed correct hand washing procedures.

As a high-scored food safety practice, the expiration date indicates freshness. Consumers feel safe consuming "fresh" products that do not contain microorganisms that degrade food quality or pathogens that cause foodborne disease (Fortin et al., 2009). Controlling expiration dates reduces the risk of purchasing a stale, degraded, or possibly spoiled product that may hurt the consumer's health. Some people, however, might deal with the sensory characteristics of foods rather than their expiration dates (Barone & Aschemann-Witzel, 2022). In some cases, since the expiration dates are not in the same place on every package, significantly visually impaired or elderly individuals cannot find or read the date on the label. According to Shiferaw et al. (2000), 50% of the individuals studied noticed food labels, and 87% were able to read them properly. However, the findings of this study do not coincide with these arguments; the food handlers note the opening date of the package next to the expiration date before using food-stuffs; thus, they are considered to have checked the expiration dates simultaneously. Therefore, the rate of correct scoring may have been unrealistically high.

Table 2. Score rates of food safety practice items

Statements	Correct (%)	Incorrect (%)	Not sure (%)
The food I prepare does not cause disease.	79.1	10.7	10.2
All the food I prepare is safe.	59.3	21.6	19.1
Nobody has ever become ill from the food I prepared.	67.0	9.4	23.6
I cook food at the right temperature.	87.6	2.2	10.2
I store food at the appropriate temperature.	87.1	2.2	10.7
I clean appliances after use.	90.6	1.7	7.7
I can explain with inner peace to the guests how I prepare the food.	77.2	9.6	13.2
I wash my hands with hot water and soap before touching food.	90.6	3.2	6.2
I wash my hands with hot water and soap after touching raw food.	85.9	3.2	10.9
Using expired food does not pose a risk. (-)	86.2	6.9	6.9
It is enough to turn the same cutting board upside down to prepare raw and cooked foods in succession.(-)	92.6	2.4	5.0
Vegetables to be cooked do not need to be washed.(-)	45.7	39.0	15.3
I wear gloves if I have cuts, wounds, or burns on my hand.	84.4	5.0	10.6
Since the food is cooked, there is no harm in tasting it with a stirring spoon.(-)	90.8	4.0	5.2
I store food by the time of purchase, not the expiration date. (-)	90.1	4.7	5.2
I can reduce the microorganism load by drying the utensils after washing them.	80.4	3.2	16.4
I do not keep raw meat at room temperature for over 2 hours.	85.1	3.2	11.7
If I am busy, I can skip washing my hands. (-)	43.9	49.4	6.7
I taste food with my finger. (-)	84.4	12.9	2.7

(-): Reverse-coded statements

On the other hand, the lowest correct score rates were calculated for the statements “If I am busy, I can skip washing my hands” (43.9%) and “Vegetables to be cooked do not need to be washed” (45.7%), respectively. The Clayton et al. (2015) study stated that the first food safety rule that some food workers skipped due to their workload was hand washing and changing gloves. In other words, the first rule food handlers bend when they are rushed has to do with personal hygiene. However, hand washing is critical to prevent 33% of gastrointestinal diseases (Food Safety, 2021) and many foodborne diseases caused by norovirus, *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* (CDC, 2022). For this reason, the awareness of food handlers should be increased by refresher hygiene training or by reminding handlers of the importance of handwashing while preparing food.

For the issue of washing raw materials, it was observed that the chefs in TV cooking shows also did not wash plant-based foods properly (Geppert et al., 2019). Physical (dust and soil), chemical (trace metals), and biological (spores of *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, and *Bacillus cereus*) hazards can be eliminated via proper washing practice (Kaysner, 1999). Moreover, Badri et al. (2022), Dardona et al. (2021), and Dixon et al. (2013) reported a possible risk of infection by protozoan parasites (*Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium spp.*, *Giardia lamblia*, *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*) in improperly washed vegetables and fruits.

Another point to consider for washing is that accumulation of trace metals, such as lead (Pb) and chromium (Cr), in the body causes systemic severe health problems due to their cellular and neurological effects, in addition to oxidative stress induced by metal triggering free radical formation (Jaishankar et al., 2014; Martin & Griswold, 2009; Rai et al., 2019). The Nabulo et al. (2010) study also revealed a risk of trace metals in unwashed garden stuff. 90% of Pb traces are measured in edible portions of vegetables, and Pb is found 9 times more in unwashed vegetables than in washed ones. In addition, Nabulo et al. (2010) found that more than 30% of unwashed vegetables contained higher Pb concentration than the maximum limit (0.3 mg kg^{-1}), which is permitted in the EU (European Union, 2001). Like Pb, Cr concentration can be reduced by 21% by washing (Nabulo et al., 2010). Therefore, it is possible to reduce trace metal residues below the maximum permitted value by washing. This finding demonstrates that washing vegetables before preparation and consumption is critical for preventing physical, chemical, and biological hazards. Unfortunately, this process is not given enough attention by food handlers in this study. For overall assessment, all low-scoring practice statements are simple but

common mistakes in the commercial kitchen; however, it should be remembered that most foodborne diseases result from poor practice rather than poor food safety knowledge.

Levels of food safety good practice according to the socio-demographic profiles of the respondents are shown in Table 3. The rate of good practice of food safety among females (15.84 ± 1.98) is significantly higher than that of males (14.53 ± 3.40) at the conditions of $t(341.41) = 5.29$ and $p = 0.000$. In general, females prepare food more safely than males. This argument is in line with the research findings of the Sanlier (2010) study. This result may be because females perform more food preparation at home than males, making them more knowledgeable and experienced in safe food practices (Sanlier, 2010).

Considering the age groups, a significant difference was found between the respondents in the 18-24 (15.50 ± 2.23) age group and the 25-30 (14.53 ± 3.63) age group [$t(228.38) = 5.53$, $p = 0.000$]. Most (55.5%) of respondents in the 18-24 range are still students. These individuals are still taking applied food safety courses at university; this may explain this difference. Similar findings obtained in the Kang et al. (2010) study indicated that there was a negative correlation between age and food safety practice scores ($p < 0.05$). It was reported that food handlers aged 18-24 scored higher in the correct practice of food hygiene than individuals aged 25-35 (Islam et al., 2023).

In terms of grade level, the excellent practice levels of students (15.78 ± 1.96) were higher than those of graduates (14.51 ± 3.46), with values of $t(341.80) = 4.76$ at $p = 0.000$. It was an expected result that the correct food safety practice rates of students would be higher than those of graduates since the students had recently updated food safety knowledge and have been using this while preparing food at the university; education ameliorates the food safety practices of food handlers. Stein et al. (2010) also showed that the correct food safety practice level increased after individuals received training. In addition, these findings parallel the Nik Husain et al. (2016) study, which declares that safer food will be prepared through food safety training and that food handlers will be more competent in practice. When training is not carried out with practice, food safety rules are replaced by other priorities, such as the pressures of event, banquet or buffet meals, which should be prepared in food establishments with limited personnel, excessive workload, overtime, and extended working hours. For this reason, graduates' good food safety practice levels may be low. This context is also

revealed by Adesokan and Raji (2014), which show the negative relationship between working experience and food safety.

Another point to consider is that internship status significantly influences good practice levels. The levels of the respondents who did not fulfil an internship (15.43 ±2.08) were higher than the levels of those who had completed an internship (14.96 ±3.19) with values of $t(275.20) = 3.04$ at $p = 0.003$, although internship is the best way to turn theoretical knowledge into practice. Lema et al. (2020) showed that internship experience improves food safety practices. Astoundingly, this study determined that the internship negatively affected the food handlers' behaviour towards safe food preparation. When the places where the trainees had completed their internships were examined, it was seen that cafes and

restaurants were in the majority (60%). In addition, it was determined that some students (5%) were exempted from internships, while some (5%) did their internship in the cafeteria within the university. Accordingly, only 30% of these food handlers had internships in hotels and corporate catering companies. In other words, it can be said that the place of internship significantly affects the level of food workers' food safety practices. Jeinie et al. (2016) also emphasised the importance of the internship location and even the hotel type (business, resort, or boutique).

In contrast to these socio-demographic factors that change the levels of food safety practices of food handlers, food safety practice scores did not vary by income or marital status. Consequently, the best scores on safe food preparation in the current study were female students aged 18-24 who have not yet fulfilled their internship requirements.

Table 3. Comparison and logistic regression results for good practice level on food safety

Variables	Good practices of food handlers (%)	B	S.E.	OR (95% CI)	Significance
Gender					
Female	97.0 ^a			1.0	
Male	82.1 ^b	-1.6	0.5	0.2 (0.1, 0.6)	0.002***
Age (years)					
18 - 24	96.5 ^a			1.0	
25 - 30	77.8 ^b	-1.9	0.4	0.1 (0.1, 0.3)	0.000***
Monthly income					
Less than \$ 425	87.0			1.0	
\$ 425 - \$ 637	85.4	0.3	0.6	0.8 (0.3, 2.4)	0.649
\$ 638 - \$ 850	91.9	0.3	0.6	1.3 (0.4, 4.2)	0.618
More than \$ 850	93.5	1.2	0.7	3.3 (0.8, 13.2)	0.089
Marital status					
Married	86.1			1.0	
Single	89.3	0.6	0.4	1.8 (0.8, 3.8)	0.145
Grade Level					
Student	96.1 ^a			1.0	
Graduate	82.1 ^b	-2.1	0.8	0.1 (0.0, 0.6)	0.007***
Internship status					
No	95.0 ^a			1.0	
Yes	86.1 ^b	1.5	0.9	4.5 (0.8, 27.6)	0.100

***The values are significantly different at $p < 0.01$.

Omnibus Test of Model Coefficients: $\chi^2 = 70.9$, $df = 8$, $p = 0.0$.

Hosmer and Lemeshow Test: $\chi^2 = 14.4$ $df = 8$, $p = 0.1$.

Nagelkerke $R^2 = 0.3$

As shown in Table 3, the regression model for safe food preparation was utilised to find the influence of socio-demographic characteristics on the levels of good practice among young food handlers. The model was checked using Omnibus Tests of Model Coefficients ($\chi^2 = 70.9$, $df = 8$, $p = 0.0$). The Hosmer and Lemeshow Test ($\chi^2 = 14.4$, $df = 8$, $p = 0.1$) is the most reliable tool to test the goodness of model fit. The model could be accepted to predict sound practice effects because the p -value is more significant than 0.05 (Pallant, 2020). The model explains 31.4% (Nagelkerke R^2) of differences in young food handlers' good practices in safe food preparation. The model correctly predicted 88.1% (classification table value) of the observed poor or good practice levels. The results of binary regression showed that good practice levels for safe food preparation significantly varied according to gender, age, and grade level ($p < 0.01$). For gender groups, males were 0.2 times less likely than females to observe safe food practices. Likewise, Buccheri et al. (2007) predicted that females were more likely to behave safely while preparing foods because protective practices and risk perception are higher in females than in males (Shiferaw et al., 2000). For age groups, food handlers aged 25-30 were 0.1 times less likely to prepare food safely than those aged 18-24. Chuang et al. (2021) determined that young adults have more risky food practices due to inadequate cleaning habits and engaging in practices that cause cross-contamination. Older individuals' safer food preparation than younger ones was attributed to their exposure to more food safety education and practices over time in previous studies (Zorba & Kaptan, 2011). The results of this study follow the same rationale but in the opposite direction; since most individuals between the ages of 18-24 are students, continuing food safety education may have improved their level of safe food practice. On the other hand, these results suggested that food handlers aged 25-30 did not receive satisfactory food safety training in the food premises where they work. Similar to the results comparing age groups, the OR of 0.1 for the graduate level showed that the graduates were 0.1 times less likely to practice safe food preparation than the students. Moreover, income, marital status, and internship status were not predictors in the good practice model for food safety.

Conclusion

In the study, the safe food preparation levels of the students and graduates of the culinary programs who have taken theoretical and applied food safety courses at the university and who were at most 30 years old were evaluated by self-reported practice. The excellent practice rates of food handlers differed significantly according to gender, age, grade level

(student or graduate), and internship status. Still, no significant difference was found according to income or marital status. Gender, age, and grade level predicted the levels of food safety practice of the food handlers. In summary, it was determined that female students aged 18-24 were more likely to have good practice in food safety. These findings are essential in identifying risk groups of food handlers in the food sector and providing training on hazards. In further research, the sample can be divided into educated- and non-educated food handlers, and length of employment can be included in the demographics. Thus, the effect of experience on food safety practice will be examined. In addition, the results might be consolidated with one-on-one interview outputs using qualitative research methods.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interests: The author(s) declares that for this article, they have no actual, potential, or perceived conflict of interest.

Ethics committee approval: This study was approved by the Institutional Review Board of Amasya University (approval number is E-30640013-108.01-135629). Written informed consent was obtained from all study participants.

Data availability: The data and analysis steps of the study can be accessed at <https://data.mendeley.com/datasets/zf8wmrcc5v/1> (<https://doi.org/10.17632/zf8wmrcc5v.1>).

Funding: The author has received no financial support for this work's research, authorship or publication.

Acknowledgements: The author thanks all participants in this study.

Disclosure: -

References

- Adesokan, H.K., Raji, A.O.Q. (2014). Safe meat-handling knowledge, attitudes and practices of private and government meat processing plants' workers: Implications for future policy. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 55(1), 10-16.
- Ali, M.T., Mahmud, S., Mohsin, M., Mian, A.U., Islam, A., Ahmed, F.F. (2023). Knowledge, attitude, and practices toward food safety among students in Bangladesh: A cross-sectional web-based study. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14762>

- Al-Kandari, D., Al-abdeen, J., Sidhu, J. (2019). Food safety knowledge, attitudes and practices of food handlers in restaurants in Kuwait. *Food Control*, 103, 103-110. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.040>
- Badri, M., Olfatifar, M., Karim, M.R., Modirian, E., Houshmand, E., Abdoli, A., Nikoonejrad, A., Sotoodeh, S., Zargar, A., Samimi, R., Hashemipour, S., Mahmoudi, R., Harandi, M.F., Hajjalilo, E., Piri, H., Bijani, B., Eslahi, A.V. (2022). Global prevalence of intestinal protozoan contamination in vegetables and fruits: A systematic review and meta-analysis. *Food Control*, 133, 108656. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108656>
- Barone, A.M., Aschemann-Witzel, J. (2022). Food handling practices and expiration dates: Consumers' perception of smart labels. *Food Control*, 133, 108615. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108615>
- Buccheri, C., Casuccio, A., Giammanco, S., Giammanco, M., La Guardia, M., Mammina, C. (2007). Food safety in hospital: Knowledge, attitudes and practices of nursing staff of two hospitals in Sicily, Italy. *BMC Health Services Research*, 7(1), 45. <https://doi.org/10.1186/1472-6963-7-45>
- Byrd-Bredbenner, C., Maurer, J., Wheatley, V., Cottone, E., Clancy, M. (2007). Food safety hazards lurk in the kitchens of young adults. *Journal of Food Protection*, 70(4), 991-996. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.4.991>
- CDC (2022). Food Worker Handwashing in Restaurants. https://www.cdc.gov/nceh/ehs/ehsnet/plain_language/food-worker-handwashing-in-restaurants.html (accessed 06.07.2023).
- Çelen, O., Avcikurt, C. (2017). Knowledge about the food and beverage hygiene of döner and kebab handlers: A research in Ankara Province (in Turkish). *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 5(3), Article 3. <https://doi.org/10.21325/jotags.2017.96>
- Chuang, E., Thomas, M., Feng, Y. (2021). Young adult food safety knowledge gaps and perceptions of roommates' food handling practices: A survey of university students in Indiana. *Food Control*, 126, 108055. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108055>
- Clayton, M.L., Clegg Smith, K., Neff, R.A., Pollack, K.M., Ensminger, M. (2015). Listening to food workers: Factors that impact proper health and hygiene practice in food service. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 21(4), 314-327. <https://doi.org/10.1179/2049396715Y.0000000011>
- Codex Alimentarius (2023). Codes of Practice CXC 1-1969 with 2020 Revisions | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/en/> (accessed 07.06.2023).
- Cortina, J.M. (1993). What is coefficient alpha? An examination of theory and applications. *Journal of Applied Psychology*, 78, 98-104. <https://doi.org/10.1037/0021-9010.78.1.98>
- Dardona, Z., Al Hindi, A., Hafidi, M., Boumezzough, A., Boussaa, S. (2021). Occurrence of *Toxoplasma gondii* on raw leafy vegetables in Gaza, Palestine. *Journal of Food Protection*, 84(2), 255-261. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-160>
- Dixon, B., Parrington, L., Cook, A., Pollari, F., Farber, J. (2013). Detection of *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in ready-to-eat packaged leafy greens in Ontario, Canada. *Journal of Food Protection*, 76(2), 307-313. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-282>
- EFSA (2023). Monitoring of Foodborne Diseases | EFSA. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/monitoring-foodborne-diseases> (accessed 30.01.2023).
- European Union (2001). EUR-Lex Commission Regulation (EC) No 466/2001 of 8 March 2001 Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2001/466/oj> (accessed 01.06.2023).
- Food Safety (2021). Wash Your Hands for Health. <https://www.foodsafety.gov/blog/wash-your-hands-health> (accessed 10.05.2023).
- Fortin, C., Goodwin Jr, H.L., Thomsen, M.R. (2009). Consumer attitudes toward freshness indicators on perishable food products. *Journal of Food Distribution Research*, 40(856-2016-57822), 1-15.

- Galan-Malo, P., Ortiz, J.-C., Carrascon, V., Razquin, P., Mata, L. (2019).** A study to reduce the allergen contamination in food-contact surfaces at canteen kitchens. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 17, 100165. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100165>
- Geppert, J., Schulze Struchtrup, S., Stamminger, R., Haarhoff, C., Ebert, V., Koch, S., Lohmann, M., Böhl, G.F. (2019).** Food safety behavior observed in German TV cooking shows. *Food Control*, 96, 205-211. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.017>
- Gilbert, S.E., Whyte, R., Bayne, G., Paulin, S.M., Lake, R.J., van der Logt, P. (2007).** Survey of domestic food handling practices in New Zealand. *International Journal of Food Microbiology*, 117(3), 306-311. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.05.004>
- Giritlioglu, I., Batman, O., Tetik, N. (2011).** The knowledge and practice of food safety and hygiene of cookery students in Turkey. *Food Control*, 22(6), 838-842. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.016>
- Hassan, H.F., Dimassi, H. (2014).** Food safety and handling knowledge and practices of Lebanese university students. *Food Control*, 40, 127-133. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.11.040>
- Islam, Md. N., Roy, N., Amin, Md. B., Madilo, F.K., Karmakar, K., Hossain, E., Aktarujjaman, Md., Islam, Md. S., Airin, N.J. (2023).** Food safety knowledge and handling practices among household food handlers in Bangladesh: A cross-sectional study. *Food Control*, 147, 109578. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109578>
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., Beeregowda, K.N. (2014).** Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
- Jeinie, M.H., Sharif, M.S.M., Saad, M., Nor, N.M. (2016).** Food safety and hygiene practice among hotel in Malaysia: Qualitative approach. *Environment-Behaviour Proceedings Journal*, 1(3), Article 3. <https://doi.org/10.21834/e-bpj.v1i3.360>
- Kang, N.E., Kim, J.H., Kim, Y.S., Ha, A.W. (2010).** Food safety knowledge and practice by the stages of change model in school children. *Nutrition Research and Practice*, 4(6), 535-540. <https://doi.org/10.4162/nrp.2010.4.6.535>
- Kaysner, C.A. (1999).** Shellfish (Molluscs and Crustacea) | Contamination and Spoilage. In R. K. Robinson (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 2001–2008). Elsevier. <https://doi.org/10.1006/rwfm.1999.1426>
- Lema, K., Abuhay, N., Kindie, W., Dagne, H., Guadu, T. (2020).** Food hygiene practice and its determinants among food handlers at University of Gondar, Northwest Ethiopia, 2019. *International Journal of General Medicine*, 13, 1129-1137. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S262767>
- Martin, S., Griswold, W. (2009).** Human health effects of heavy metals. *Environmental Science and Technology Briefs for Citizens*, 15, 1-6.
- Michaels, B., Keller, C., Blevins, M., Paoli, G., Ruthman, T., Todd, E., Griffith, C.J. (2004).** Prevention of food worker transmission of foodborne pathogens: Risk assessment and evaluation of effective hygiene intervention strategies. *Food Service Technology*, 4(1), 31-49. <https://doi.org/10.1111/j.1471-5740.2004.00088.x>
- Moreb, N.A., Priyadarshini, A., Jaiswal, A.K. (2017).** Knowledge of food safety and food handling practices amongst food handlers in the Republic of Ireland. *Food Control*, 80, 341-349. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.020>
- Nabulo, G., Young, S.D., Black, C.R. (2010).** Assessing risk to human health from tropical leafy vegetables grown on contaminated urban soils. *Science of The Total Environment*, 408(22), 5338-5351. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.06.034>
- Nik Husain, N.R., Wan Muda, W.M., Noor Jamil, N.I., Nik Hanafi, N.N., Abdul Rahman, R. (2016).** Effect of food safety training on food handlers' knowledge and practices: A randomized controlled trial. *British Food Journal*, 118(4), 795-808. <https://doi.org/10.1108/BFJ-08-2015-0294>
- Ovca, A., Jevšnik, M., Raspor, P. (2018).** Food safety practices of future food handlers and their teachers, observed during practical lessons. *British Food Journal*, 120(3), 531-548. <https://doi.org/10.1108/BFJ-05-2017-0292>

PAHO (2023). WHO “Golden Rules” for Safe Food Preparation - PAHO/WHO | Pan American Health Organization. <https://www.paho.org/en/health-emergencies/who-golden-rules-safe-food-preparation> (accessed 09.05.2023).

Pallant, J. (2020). SPSS survival manual: A step by step guide to data analysis using IBM SPSS. Routledge. <https://doi.org/10.4324/9781003117452>

Rai, P.K., Lee, S.S., Zhang, M., Tsang, Y.F., Kim, K.H. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment International*, 125, 365-385. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>

Sanlier, N. (2010). Food safety knowledge and the safe food handling behaviours of female and male consumers. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 26(3), 653-658.

Schwartz, N.E. (1975). Nutritional knowledge, attitudes, and practices of high school graduates. *Journal of the American Dietetic Association*, 66(1), 28-31. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(21\)14396-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(21)14396-2)

Shiferaw, B., Yang, S., Cieslak, P., Vugia, D., Marcus, R., Koehler, J., Deneen, V., Angulo, F. (2000). Prevalence of high-risk food consumption and food-handling practices among adults: A multistate survey, 1996 to 1997. *Journal of Food Protection*, 63(11), 1538-1543. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.11.1538>

Stein, S.E., Dirks, B.P., Quinlan, J.J. (2010). Assessing and addressing safe food handling knowledge, attitudes, and behaviors of college undergraduates. *Journal of Food Science Education*, 9(2), 47-52. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4329.2010.00092.x>

WHO (2022). Food safety. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (accessed 06.06.2023).

Zorba, N.N.D., Kaptan, M. (2011). Consumer food safety perceptions and practices in a Turkish community. *Journal of Food Protection*, 74(11), 1922-1929. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-126>

Maserasyon, refluks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen kestane propolis ekstraktlarının farklı gıda modellerinde kullanımı: Fizikokimyasal, duyuusal ve biyoaktif niteliklere etkisi

Sevde Nur ŞENOL YAZKAN, Müge HENDEK ERTOP

Cite this article as:

Şenol Yazkan, S.N., Hendek Ertop, M. (2024). Meserasyon, refluks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen kestane propolis ekstraktlarının farklı gıda modellerinde kullanımı: Fizikokimyasal, duyuusal ve biyoaktif niteliklere etkisi. *Food and Health*, 10(1), 22-39. <https://doi.org/10.3153/FH24003>

Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

S.N.Ş.Y. 0000-0002-4557-592X
M.H.E. 0000-0003-4300-7790

Submitted: 17.08.2023

Revision requested: 20.09.2023

Last revision received: 10.10.2023

Accepted: 10.10.2023

Published online: 14.11.2023

Correspondence:

Müge HENDEK ERTOP

E-mail: mugeertop@kastamonu.edu.tr



© 2023 The Author(s)

Available online at
<http://jfhscientificwebjournals.com>

Öz

Bu çalışmada kestane balı kovanlarından temin edilen propolislerde maserasyon, refluks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri uygulanarak etanolik propolis ekstraktları elde edilmiştir. Her üç yöntem ile hazırlanan kestane propolis ekstraktları ısı işlem uygulanmamış gıda modeli olarak çiçek ve kestane ballarına 4 farklı oranda (%0, 1, 2 ve 4) ilave edilerek, bal karışımlarının antioksidan aktivite, toplam fenolik, renk ve duyuusal analizleri yapılmıştır. Kestane balının antioksidan aktivite (AO) (%82.96) ve toplam fenolik madde (TFM) içeriği (412.50 µg GAE/g), çiçek balından (AO: %49.69, TFM:127.50 µg GAE/g) daha yüksek olmasına rağmen, %4 propolis ilavesiyle çiçek balı biyoaktif niteliklerinin (AO: %90.00, TFM: 713.60 µg GAE/g) kestane balına (AO: %89.08, TFM: 849.17 µg GAE/g) yakın düzeye geldiği belirlenmiştir. Yüksek renk yoğunluğuna (1803.5 mAU) sahip kestane balının renginin çiçek balından (378.5 mAU) görsel olarak da önemli düzeyde koyu olması nedeniyle, kestane balına propolis ilavesinde farklı ilave oranı ve ekstraksiyon yöntemi son ürün renk yoğunluğunu önemli düzeyde etkilenmemiştir (p>0.05). Ancak çiçek ballarında propolis ilavesi renk yoğunluğunu önemli düzeyde (p<0.05) artırmıştır. Üç ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanan propolis ekstraktları 4 farklı oranda (%0, 1, 2 ve 4), ısı işlem uygulanmış ve çoklu bileşene sahip bir gıda modeli olarak temel kek formülasyonuna ilave edildiğinde ise, ürün biyoaktif niteliklerinin (AO: %11.97, TFM: 285.0 µg GAE/g) artan propolis ilave oranına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Propolis yüksek biyoaktif nitelikleri itibarıyla ilave edildiği gıda modellerinin de antioksidan aktivite ve fenolik madde içeriğini artırmıştır. Ancak kendine özgü keskin tat, koku ve lezzetinin kullanıldığı gıda modelindeki etkisini belirlemek amacıyla bu çalışmada elde edilen gıda örneklerinin duyuusal analizleri yapılmış ve sonuçlar Temel Bileşen Analizi ile değerlendirilmiştir. Her iki gıda modeli açısından da maserasyon ekstraksiyon ile üretilen propolisli ürünler daha yüksek beğeni skorları alırken, propolis kullanılmayan kontrol örnekleriyle, sırasıyla %1 ve %2 propolis ilaveli ürünler benzer olarak bulunmuştur. %4 propolis ilaveli ürünler düşük beğeni skorlarıyla ayrı kümelene göstermişlerdir.

Anahtar Kelimeler: Kestane propolisi, Arı ürünleri, Bal, Fırıncılık ürünleri

ABSTRACT

Use of chestnut propolis extract produced by maseration, reflux and ultrasound-assisted extraction methods in different food models: Effect on physicochemical, sensory and bioactive properties

This study obtained ethanol-extracted propolis by applying maceration, reflux, and ultrasound-assisted extraction methods to propolis obtained from chestnut honey hives. Chestnut propolis extracts prepared by the methods were added to flower and chestnut honey at four different ratios (0, 1, 2 and 4%) as a food model without heat treatment, and antioxidant activity, total phenolic content, colour, and sensory analysis of honey mixtures were made. Although the antioxidant activity (AO) (82.96 %) and total phenolic content (TPC) (412.50 µg GAE/g) of chestnut honey were higher than that of flower honey (AO: 49.69%, TPC: 127.50 µg GAE/g), it was determined that the bioactive properties of flower honey (AO: 90.00%, TPC:713.60 µg GAE/g) rose close level to that of chestnut honey (AO:89.08%, TPC: 849.17 µg GAE/g) thanks to the addition of 4% propolis extract. Because the colour of chestnut honey with high colour intensity (1803.5 mAU) is significantly darker than flower honey (378.5 mAU), the different addition rates and extraction method of propolis did not significantly affect the final product colour intensity of chestnut honey (p>0.05), the addition of propolis in flower honey increased the colour intensity significantly (p<0.05). When propolis extracts prepared with three extraction methods are added to the basic cake formulation as a heat-treated food model in 4 different ratios (0, 1, 2 and 4%), the bioactive properties of the products (AO: 11.97%, TFM: 285.0 µg GAE/g) were determined to increase depending on the increasing propolis addition rate. Although propolis increases the antioxidant activity and phenolic substance content of the food models to which it is added due to its rich bioactive content, sensory properties of the food models were analysed due to propolis extracts' unique, intense taste, colour and flavor, and the results were evaluated with Principal Component Analysis. In terms of both food models, the products with propolis produced by maceration extraction had higher sensory evaluation scores. In contrast, the control samples without propolis were found to be similar to the products with 1% and 2% propolis added, respectively. The products with 4% propolis added showed separate clustering with low evaluation scores.

Keywords: Chestnut propolis, Bee products, Honey, Bakery products

Giriş

İspanya’da milattan önce 7000’lerde “Cuevas de la Arena”daki kazılarda ortaya çıkan resimler, insanların oldukça eski dönemlerden bu yana arı ve arı ürünleri ile ilgilendiğini göstermektedir. Arıcılığın başlangıcı insanların arılara zarar vermeden ağaç kovuklarının içindeki balın bir miktarını arılara bırakıp geriye kalan kısmını hasat etmeleriyle başlamıştır. Daha sonra ağaç gövdelerinin içi oyularak arılara barınak oluşturmak için arılıklar yapılmıştır. Son zamanlarda ise arıcılık faaliyetleri işçi arı koloni sayısının artırılması, bu kolonilerden yalnızca bal değil polen, arı sütü ve propolis gibi diğer arı ürünlerinin üretimi gibi katma değerli ürünlerin elde edilmesine yönelik tarımsal bir etkinliğe dönüşmüştür (Coşkun ve İnci 2020).

Propolis; arıların alt çeneleriyle çiçeklerin ve bitkilerin (çam, kestane, ökalıptus, kavak) tomurcuk, yaprak ve koruyucu reçinelerini zamk, polen gibi maddelerle karıştırıp alt çeneleriyle kazıyarak toplaması, ağızlarında nemlendirip salgıladıkları çeşitli enzimler ve balmumu ile yumuşatarak pelet şekline getirmesi ve arka ayaklarındaki polen sepetine iletmeleriyle oluşur (Ghisalberti, 1979; Burdock, 1998; Castaldo ve Capasso, 2002; Bayram, 2015). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliği Mevzuat Taslağı (No: 2020/07)’na göre propolis “Bal arılarının, bitkilerin gövde, yaprak ve tomurcuk gibi kısımlarından topladığı reçinemsî maddeler ile bitki nektar ve polenlerini, balmumu ve enzimleri ile karıştırarak oluşturdukları işlenmemiş ürün” şeklinde tanımlanmıştır.

Propolisin kimyasal bileşimi, coğrafi kökeni, bitkisel kökeni, kovan çevresindeki flora, iklim ve coğrafi koşullar, bal arılarının çeşitleri ve hasat zamanı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişim gösterir. Genel olarak polifenoller (flavonoidler, fenolik asitler ve esterler), fenolik aldehytlar ve ketonlar gibi 300’den fazla farklı bileşenden oluşur. Reçineler ve bitkisel balsam (%50), balmumu (%30), polen (%5), esansiyel ve aromatik yağlar (%10) ve diğer bazı organik bileşikler içerir (Anjum ve ark., 2019). Propolisin biyoaktivitesindeki değişimler ise kimyasal yapısındaki bileşenlerin farklılığından kaynaklanmaktadır (Moreno ve ark., 2000; Silici ve Kutluca, 2005; Ahn ve ark., 2007).

Propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antienflamatuvar, antiülser ve antitümör özellikleri gibi faydalı biyolojik aktiviteye sahip olması tıpta ve kozmetikte yaygın olarak kullanılmasına neden olmuştur (Yıldız ve ark., 2014; Bankova ve ark., 2019; Chi ve ark., 2020; Mendonça ve ark., 2020). Propolis içeren kozmetik ürünleri; sabun, losyon, şampuan, cilt kremi, antiseptik solüsyon, burun spreyleri, diş macunu

ve yüz maskeleri şeklinde sıralanabilmektedir (Nori ve ark., 2011; Jung ve ark., 2020). Gıda alanında ise çikolata, sakız, şeker, konserve gıdalar ve diyet ürünlerinde de kullanımı yaygınlaşmıştır (Coşkun, 2020). Propolis antioksidan içeriği sayesinde lipit peroksidasyonunu önlemekte, bu sayede gıdaların raf ömrünü de uzatabilmektedir (Halliwell ve Guttridge, 2015).

Bal başta olmak üzere diğer arı ürünlerinde kovanların bulunduğu flora, ürünlerin baskın, sekonder ve minör polen içeriğini belirlediğinden hem ürün karakteristiği hem de biyoaktif nitelikleri birbirinden tamamen farklı olmaktadır. Örneğin Kastamonu, Düzce, Zonguldak gibi Karadeniz bölgesinde kestane ağaçlarının yoğun olduğu lokasyonlarda yapılan arıcılık faaliyetlerinden elde edilen bal, arı ekmeği, propolis, polen gibi arıcılık ürünlerinin baskın polen içeriği kestane olduğundan bu lokasyondaki kovanlardan elde edilen arı ürünleri kestane propolisi, kestane balı şeklinde adlandırılmaktadır (Yıldız, 2011).

Propolis ham halinde içinde zamksı maddeler ve reçine bulunması sebebiyle direkt olarak kullanılmadığından içindeki biyoaktif bileşiklerin uygun bir ekstraksiyon yöntemiyle alınması gerekir. Propolis ekstraktlarının hazırlanması için farklı ekstraksiyon yöntemleri vardır. Maserasyon yöntemi, örneğin uygun boyuta küçültülmesinin ardından genellikle oda sıcaklığında, uygun çözücü içerisinde ve uygun kapalı bir kapta belli bir zaman bekletilmek ve karıştırılmak suretiyle ekstrakte edilmesini temel alan bir yöntemdir (Silici ve Kutluca, 2005). Refluks ekstraksiyonda ise hazırlanan çözeltiye ekstraksiyon esnasında sıcaklık uygulanmakta olup çözelti su banyosunda belirli sıcaklık ve sürede tutulmaktadır (Margretha, 2012). Gıda sanayisinde filtrasyon, homojenizasyon, köpük oluşturma gibi alanlarda yenilikçi bir yöntem olarak kullanım yeri bulan, ultrasonik destekli ekstraksiyonda ise ses dalgalarının molekülleri birbirine doğru itip uzaklaştırması sonucu oluşan kaviteasyon sayesinde hücre zarını tahrip etmesi böylece ekstraksiyon etkinliğini artırmak amaçlanmaktadır (Gallo ve ark., 2018; Büyüktuncel, 2012; Dedebaş ve ark., 2021).

Literatürde propolisle zenginleştirilmiş balın fenolik madde ve antioksidan aktivite özellikleri (Habryka ve ark., 2020), bal ve propolise ilave olarak farklı bitki ve ekstrakt karışımlarının biyoaktif ve fizikokimyasal niteliklerinin (Soylu ve Bayram, 2020) incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı Kastamonu kestane propolis ekstraktlarının farklı gıda modellerinde kullanımı ve ürünlerin bi-

yoaktif, fizyokimyasal ve duyuşal niteliklerinin belirlenmesidir. Bu amaçla ham kestane propolisine maserasyon, refluks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri uygulanmıştır. Ekstraktların fonksiyonel karakterizasyonunu belirlemek için ekstrakte edilen kestane propolislerinin ısıl işlem görmemiş (bal) ve ısıl işlem görmüş (kek) 2 tip gıda modelinde denemesi yapılarak renk, antioksidan aktivite, toplam fenolik içerikleri ile duyuşal analizleri gerçekleştirilmiştir. Kestane ve çiçek balları ile kek örneklerine %0, 1, 2 ve 4 oranlarında kestane propolis ekstraktları ilave edilerek ürün analizleri gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışmada hammadde olarak kullanılan ham kestane propolis örnekleri Kastamonu kestane orman bölgesi sınırlarını içine alan Azdavay, Bozkurt, Cide, Doğanyurt, İnebolu, Küre ilçelerindeki arılıklardan, Kastamonu Arı Yetiştiricileri Birliği aracılığıyla 2021 hasat döneminde temin edilmiştir. Bal-propolis karışımlarında hammadde olarak Kastamonu Doğanyurt ilçesinde üretimi yapılan ve primer polen içeriği >%70 kestane poleni olan kestane balı ile polifloral çiçek balı kullanılmıştır. Ballar Kastamonu Arı Yetiştiricileri Birliği'nden; kek yapımında kullanılan buğday unu (%14.29 protein, %0.76 kül), şeker, süt, yumurta, tuz ve kabartma tozu (Dr. Oetker) yerel bir süpermarketten; analizlerde kullanılan kimyasallar ise Merck ve Sigma (Darmstadt, Germany) firmasından temin edilmiştir.

Kestane Propolis Ekstraktının Hazırlanması

Propolis ekstraksiyon işlemi için farklı ilçelerden temin edilen propolisler -18°C'de derin dondurucuda bekletildikten sonra öğütülüp, homojen toz propolis haline getirilmiş, analizlere kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir. Şenol Yazkan (2022) tarafından yapılan çalışma sonucu kestane propolis ekstraktlarının antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğini en yüksek düzeyde sağlayan ve yüzey yanıt metodu ile optimize edilen proses parametreleri; maserasyon ekstraksiyon için etanol konsantrasyonu %78.46; ekstraksiyon süresi 71.05 saat; refluks ekstraksiyon için etanol konsantrasyonu %80.64; ekstraksiyon süresi 117.44 dak ve sıcaklık 38.38°C; ultrasonik destekli ekstraksiyon için ise etanol konsantrasyonu %79.60, ekstraksiyon süresi 53.03 dak ve sıcaklık 37.42°C olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon için, -18°C'de ışık ve hava almayacak şekilde muhafaza edilen toz propolis numuneleri üç farklı ekstraksiyon yöntemi için belirlenen parametrelere göre hazırlanmıştır. Her üç yöntem içinde 5'er g toz propolis üzerine her metot için optimize edilen konsantrasyonda tarımsal etil alkol çözücü olarak ilave edilmiş ve yukarıda verilen parametrelere göre ekstraksiyon işlemleri

gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonrası ürünler filtre edilerek, 1200 rpm'de 10 dak santrifüjlenmiş süpernatant kısımları ayrılarak kullanılıncaya kadar -18°C de muhafaza edilmiştir.

Isıl İşlem Görmemiş Ürün Modeli

Bu amaçla bal-propolis karışımları hazırlanmıştır. Kestane propolis ekstraktları çiçek ve kestane ballarına %0, 1, 2 ve 4 oranlarında ilave edilerek homojen karışımlar elde edilmiştir. Ürünler analize kadar cam kavanozda oda sıcaklığında ve üzerleri alüminyum folyo ile sarılarak muhafaza edilmişlerdir. Hazırlanan bal karışımlarının antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, renk ve duyuşal nitelikleri belirlenmiştir.

Isıl İşlem Görmüş Ürün Modeli

Çalışmada ısıl işlem uygulanmış ürün modeli olarak kek tercih edilmiştir. Kestane propolis ekstraktlarının etkilerini çoklu bileşene sahip bir gıda modelinde belirlemek, aynı zamanda ısıl işlemin biyoaktivite üzerindeki etkisini tespit etmek amacıyla, propolis ekstraktları %0, 1, 2 ve 4 olmak üzere farklı oranlarda temel kek formülasyonuna ilave edilerek homojen karışımlar elde edilmiş ve ürünler aynı proses koşullarında pişirilerek hazırlanmıştır. Elde edilen ürünlerin antioksidan aktivite, toplam fenolik, renk ve duyuşal analizleri gerçekleştirilmiştir.

Kek Yapımı

Kek yapımı için Şeker ve ark. (2016)'nın kullandıkları metot modifiye edilerek uygulanmıştır. Keklere her 3 yöntem ile elde edilen ekstraktlar %0 (kontrol örneği), 1, 2 ve 4 oranlarında ilave edilmiştir. 60 gr şeker 58.9 gr yumurta ile mikserde (Kitchenaid, K5Ai USA) 2 dak 65 rpm'de karıştırılmıştır. Üzerine 40 mL ayçiçek yağı, 45 mL süt ve propolis eklenerek karıştırmaya devam edilmiştir. 100 g un ve 5.78 g kabartma tozu eklenerek oluşan kek hamuru kek kalıplarına alınarak önceden ısıtılmış fırında 175°C'da ortalama 25 dak sürede pişirilmiştir.

Antioksidan Aktivite

Ekstraksiyon: Antioksidan aktivitenin tespiti için serbest radikallerin süpürülmesine dayanan DPPH metodu kullanılmış, Atasoy ve Hendek Ertop (2021) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilmiştir. Kek ve bal örneklerinin ekstraksiyonu için 2 g örnek üzerine 20 mL %80'lik metanol çözeltisi ilave edilerek 37°C'de 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Örnekler 15 dak 10000 rpm'de santrifüjlenmiş, filtre kâğıdından süzölmüş ve antioksidan aktivite tayininde kullanılmak üzere cam şişelere alınmıştır.

Propolis ekstraktlarının içerisindeki fenolik bileşiklerin DPPH radikali üzerindeki süpürücü etkisini tespit etmek amacıyla 75 µL ekstrakt (ekstraksiyon çözeltisi ile 100 kat seyreltilmiş) ve 1500 µL taze hazırlanmış DPPH çözeltisinden oluşan karışım 15 s vortekste karıştırılıp, 30 dak karanlıkta oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda UV-VIS spektrofotometrede 517 nm’de absorpsanları okutulmuş ve % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitlik (Eşitlik 1) ile tespit edilmiştir.

Kek ve bal örneklerinden 400 µl ekstrakt, 490 µl DPPH çözeltisi ve 1 mL metanol (%80’lik) çözeltisinden oluşan karışıma da propolis ekstraktları ile aynı prosedür uygulanmıştır.

$$\text{İnhibisyon değeri } \% = [1 - (\frac{AS}{AO})] * 100 \quad (1)$$

AS: Örnek ekstraktına ait absorpsan değeri

A0: Şahit DPPH çözeltisinin absorpsan değeri

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Örneklerin toplam fenolik madde içeriğinin tespiti amacıyla Folin-Ciocalteu yöntemi (Shahidi ve Nacz, 1995) kullanılmıştır. Antioksidan aktivitenin tespiti amacıyla hazırlanan ekstraktlardan 0.1 mL alınarak sırasıyla, 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile (reaktif:su karışımı 1:10 v/v) karıştırılmış, 5 dak karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra 0.4 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi ve 4 mL saf su ile karıştırılmıştır. Karışım yaklaşık 1 saat oda koşullarında karanlık ortamda bekletilmiş ve 760 nm’de UV-VIS spektrofotometrede absorpsanları ölçülmüştür. Örneklerin fenolik madde içerikleri gallik asit eşdeğeri (GAE) üzerinden verilmiştir (Mattila ve ark., 2005; Michalska ve ark., 2007; Hayta ve Hendek Ertop, 2017). Farklı konsantrasyonlarda gallik asit standartları kullanılarak hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi Şekil 1’de verilmiştir.

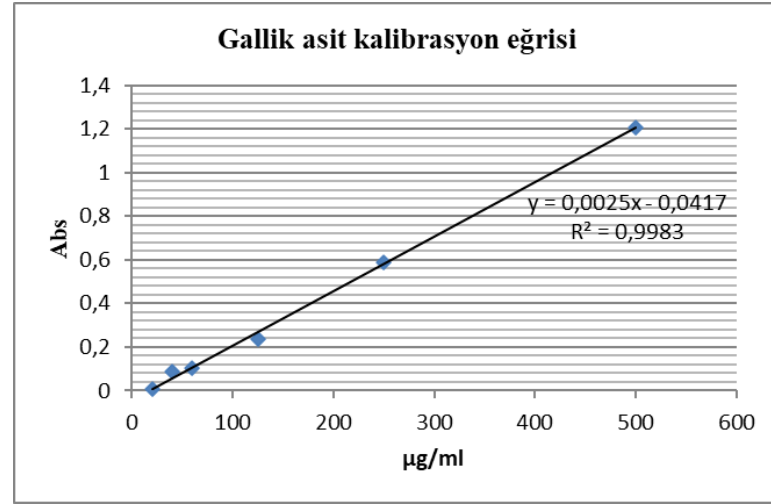
Renk

Renk değerleri kolorimetrik olarak (3nh Colorimeter, NR145, China) kek yüzeyinde 5 noktadan ölçüm yapılarak ve değerlerin ortalaması alınarak belirlenmiştir. Ölçümlenen L^* , a^* ve b^* değerleri kullanılarak örneklerin L^* (parlaklık-koyuluk), a^* (kırmızılık-yeşillik), b^* (sarılık-mavilik) değerlerindeki değişimler belirlenmiştir (Rizzello ve ark., 2014).

Kestane propolisi ilaveli bal örneklerinin renk yoğunluğunun belirlenmesinde Beretta ve ark., (2005) tarafından geliştirilen

bal örneklerinin net absorpsansının belirlenmesi metodu kullanılmıştır. %80’lik metanol ile %50’li konsantrasyonda hazırlanan propolisli bal numunelerinin ekstraktları, Whatman 1 filtre kağıdından süzöldükten sonra spektrofotometre 450 ve 720 nm’de absorpsanları ölçülmüş ve aşağıdaki eşitlik (Eşitlik 2) kullanılarak renk yoğunluğu (mAU) hesaplanmıştır.

$$\text{Renk Yoğunluğu (mAU)} = (\text{ABS}_{450} - \text{ABS}_{720}) \times 1000 \quad (2)$$



Şekil 1. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

Figure 1. Gallic acid standard curve

Duyusal Değerlendirme

Kek üretimi sonrası 12 adet propolis ilaveli kekin duyuşal değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu amaçla duyuşal değerlendirme kriterlerine dair bir form hazırlanmış, örneklerin genel yapı ve lezzet profiline ait sonuçlar karşılaştırılmıştır. 10 yarı eğitimli panelist seçilerek, örneklerin duyuşal değişimleri değerlendirilmiştir. Değerlendirme formunda 5 puanlık hedonik skala (1: Hiç beğenmedim, 5: Çok beğendim) kullanılmıştır. İstenen kek kalite özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Üç farklı ekstraksiyon yöntemi ile hazırlanan propolislerin farklı oranlarda kestane ve çiçek balına ilavesiyle hazırlanan bal-propolis karışımlarının duyuşal değerlendirmesi amacıyla da aynı duyuşal değerlendirme yöntemi uygulanmış, çiçek ve kestane balı panelleri ayrı günlerde yapılmıştır. Panelistlerden ürünleri, görünüm-renk, kıvam, aroma-koku, lezzet, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik nitelikleri açısından 5 puanlı hedonik skala ile değerlendirmeleri istenmiştir.

Tablo 1. Duyusal değerlendirmede kullanılan kek kalite özellikleri**Tablo 1.** Cake quality properties used in sensory evaluation

Dış özellikler	
Şekil Simetrisi	Düzgün ve simetrik olmalı, basıklık ve çökme olmamalı
Renk	Kendine özgü ve uniform renkte olmalı
Pişme düzgünlüğü	Tüm yüzeyler düzgün ve eşit kızarmış olmalı
Görünüş	İnce ve kolay parçalanabilir olmalı
İç özellikler	
Tatlılık	Örneklerin damakta bıraktığı tatlılığın hissedilme düzeyi
Doku (Gözenek Yapısı)	Küçük, ince, homojen olmalı
Çiğneme özellikleri	Hamurumsu ve yapışkan olmamalı
İç renk	Kendine özgü ve uniform renkte olmalı
Lezzet	Örneklerin yuttuktan sonra ağızda bıraktığı lezzetin genel beğenisi
Genel kabul edilebilirlik	Ürünün tüketilebilirliği ve tüm yönleriyle beğenilirlik düzeyi

İstatistiksel Analiz

Deneylerde elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS 17.0.1 paket programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, US) kullanılarak yapılmıştır. Analiz değerlendirmelerinde çoklu varyans analizine (ANOVA) tabi tutulan veri ortalamaları arasındaki fark $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde Tukey çoklu karşılaştırma testi yapılarak belirlenmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına dair beğeni skorları çoklu varyans analizine tabi tutulurken, beğeni skorlarına göre ürün benzerlik ve kümelenme eğilimlerinin tespiti için Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis-PAST 4.03 Statistical Analysis App For Windows) uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Kestane Propolis Ekstraktı İlaveli Bal Karışımlarının Özellikleri

Propolis başta olmak üzere arı ürünleri biyolojik olarak aktif maddelerin zengin bir kaynağıdır. Propolisi insan beslenmesine dâhil etmenin yollarından birisi de propolisin bala ilavesidir. Kestane balı, çiçek balına göre biyoaktif nitelikleri daha yüksek bu özelliği itibarıyla de apiterapik bir baldır (Taş-Küçükaydın ve ark., 2023). Bu çalışmanın amaçlarından biri de çiçek balı ve kestane balını bu açıdan karşılaştırmak, diğer taraftan hem ticari olarak daha ucuz hem de biyoaktif niteliği daha düşük olarak bilenen çiçek balına propolis ilavesinin biyoaktif nitelikler, renk ve duyusal özellikler üzerindeki etkisini belirlemektir. Üç farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kestane propolis ekstraktları, çiçek ve kestane ballarına farklı oranlarda ilave edilerek homojen karışımlar elde edilmiştir (Şekil 2).

Bal Örneklerinde Renk Değişimi

Maserasyon, refluks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilmiş kestane propolis ekstraktları kestane ve çiçek ballarına %0, 1, 2 ve 4 oranlarında ilave edilmiş ve bal propolis karışımlarının renk yoğunluğu 450 ve 720 nm’de ölçüm yapılarak bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 2’de verilmiştir. Kestane propolis ekstraktlarında ultrasonik destekli ve refluks ekstraksiyon renk yoğunlukları arasındaki fark önemli bulunmazken ($p > 0.05$), maserasyon ekstrakte propolisin renk yoğunluğu daha düşük ($p < 0.05$) bulunmuştur. Kestane balının renk yoğunluğunun (1803.5 mAU) ise çiçek balının yoğunluğundan (378.5 mAU) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çiçek ballarına kestane propolisi ilave edildiğinde renk yoğunluklarının belirgin düzeyde arttığı tespit edilmiş, propolis ilave oranının çiçek balı renk yoğunluğu üzerindeki etkisi önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Kestane ballarında da benzer etki görülmekle birlikte, kestane balının renk yoğunluğunun zaten yüksek olmasından dolayı, daha açık renkli çiçek balındaki belirgin artışlar gözlenmemiştir. Aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası fark çiçek balı karışımları arasında değerlendirildiğinde, ultrasonik destekli ekstraksiyona ait örneklerin renk yoğunluğu daha yüksek bulunurken, maserasyon ekstrakte propolis içeren örneklerin renk yoğunlukları daha düşük ($p < 0.05$) bulunmuştur. Kestane balı içerikli örneklerde aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ki bu durum üzerinde kestane balının başlangıç renk yoğunluğunun zaten yüksek olmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Çiçek balı karışımları (463.38 mAU) ve kestane balı karışımlarının (1883.42 mAU) ortalama renk yoğunlukları karşılaştırıldığında ise aralarındaki fark ($p < 0.05$) önemli bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre hammadde olarak kullanılan balın renk yoğunluğu ve

propolis ilave oranının nihai ürünün renk yoğunluğu üzerindeki etkisinin önemli, propolis üretiminde kullanılan ekstraksiyon yönteminin ise çiçek ballı karışımlarda önemli olduğu tespit edilmiştir.

Bal Örneklerinin Biyoaktif Nitelikleri

Antioksidan, kimyasal bir bileşenin oksitlenme özelliğini durduran ya da yavaşlatan bir moleküldür (Moon ve Shibamoto, 2009). Yapılan araştırmalarda bal içerisindeki antioksidan ve fenolik madde arasında birbirleri ile bağlantılı oldukları tespit edilmiştir (Zalibera ve ark., 2008). Bal içerisinde bulunan fenolik maddeler bala aroma, tat, renk verirken aynı zamanda fonksiyonellik açısından önemli etkiye sahiptirler (Estevinho ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda balın antioksidan özelliğinin kimyasal yapısına bağlı olduğu ve kalp hastalıkları, immün sistem ve kanser üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Khalil ve ark., 2012). Koyu renkli balların antioksidan madde içeriğinin daha yüksek olduğu da bildirilmiştir (Baltrusaityte ve ark., 2007). Balın antioksidan özelliğini balın kaynağı, bal elde edilirken uygulanan yöntem, balın elde edildiği bölgenin coğrafi yapısı ve depolama koşulları etkilemektedir (Silici ve ark., 2010; Khalil ve ark., 2012). Baldaki fenolik bileşenler incelendiğinde balın florası hakkında bilgi edinilebilmektedir. Kestane balı içerisinde p-kumarik asit, kafeik asit bulunurken çiçek balında protokatekuik asit bulunması balların florasına ait bir tür parmak izidir (Kassim ve ark., 2010).

Çiçek ve kestane balları, farklı yöntemlerle ekstrakte edilmiş propolisler ve farklı oranlarda propolis ilave edilmiş bal karışımlarının antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerikleri Tablo 2’de verilmiştir. Kestane propolis ekstraktlarının üretiminde kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin biyoaktif nitelikler üzerinde önemli etkiye sahip olduğu, en yüksek antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğine sahip propolis ekstraktının maserasyon yöntemi ile elde edildiği belirlenmiştir (Tablo 2a). Hammadde olarak kullanılan kestane balının antioksidan aktivitesi (82.96 %inhibisyon) ve fenolik madde içeriğinin (412.5 µg GAE/g) ise çiçek balının antioksidan aktivite (49.69 %inhibisyon) ve fenolik içeriğinden (127.50 µg GAE/g) daha yüksek olduğu ve aralarındaki farkın da önemli olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan çiçek ballı ve kestane ballı karışımlar kendi içinde değerlendirildiğinde, aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası fark antioksidan aktivite açısından anlamlı bulunmazken, toplam fenolik madde açısından her iki bal çeşidinde de önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. (Tablo 2b).

Üç ekstraksiyon yöntemiyle de elde edilen propolislerin çiçek ballarına artan (% 0, 1, 2 ve 4) oranlarında katılması duru-

munda antioksidan aktivitenin önemli düzeyde ($p<0.05$) arttığı belirlenmiştir. Çiçek balının %49.69 inhibisyon seviyesi propolis ilavesine paralel olarak artış göstermiş ve tüm ekstraksiyon yöntemleri için %4 propolis ilavesi durumunda yaklaşık iki katına kadar çıkarak %89-90 inhibisyon seviyesine yükselmiştir. Aynı durum fenolik madde miktarında da tespit edilmiştir. Çiçek balının başlangıçtaki fenolik madde miktarı 127.50 µg GAE/g iken, %4 oranında maserasyon ile üretilen propolis ilavesi sonucu 917.50 µg GAE/g, reflüks yöntemi ile üretilen propolis ilavesi sonucu 862.50 µg GAE/g, ultrasonik destekli yöntemle üretilen propolis ilavesi sonucu 360.80 µg GAE/g düzeyine yükselmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çiçek balının biyoaktif nitelikleri üzerinde en etkili yöntemin maserasyon ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sıvı propolisin %4 oranında ilavesi olduğu, fenolik madde miktarı yaklaşık 7 katına yükselirken antioksidan aktivitenin diğer yöntemlerle benzer şekilde yaklaşık 2 katına çıktığı belirlenmiştir. Kestane balının antioksidan aktivitesi %82.96, fenolik madde miktarı ise 412.50 µg GAE/g olması itibarıyla, çiçek balına kıyasla daha yüksek biyoaktiviteye sahiptir. Propolis ilavesi ilk orandan itibaren kestane balının antioksidan aktivitesini önemli düzeyde ($p<0.05$) artırmış olmakla birlikte özellikle %2 ve 4 ilave oranlarında %89 inhibisyon düzeyine ulaşılmış ve önemli bir değişim belirlenmemiştir ($p>0.05$). Bu durum zaten yüksek biyoaktiviteye sahip kestane balında %1-2 propolis ilavesinin yeterli olacağı şeklinde yorumlanabilir. Diğer taraftan toplam fenolik madde miktarlarında ise propolis ilavesine paralel olarak önemli düzeyde artış tespit edilmiştir. Bu artış çiçek balındaki sonuçlara benzer nitelikte olup %4 propolis ilavesi durumunda en etkili yöntem maserasyon yöntemi olup (975 µg GAE/g) bunu sırasıyla reflüks (880 µg GAE/g) ve ultrasonik (692.5 µg GAE/g) yöntemleri izlemiştir.

Farklı bal çeşitlerine bitkisel ekstraktlar, tıbbi aromatik bitkiler ilavesi ile fonksiyonel nitelik kandırılmasına yönelik ürünler ulusal pazarda yer almakla birlikte, biyoaktif niteliklerinin araştırılmasına yönelik çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Yapılan bir çalışmada (Soylu ve Bayram, 2020) kestane balı, propolis, ekinezya ve çivan perçemi karışımının biyokimyasal ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiş, kestane balının antioksidan aktivitesi % 19 (%inhibisyon) bulunurken, yapılan bal karışımının % 64.49 olarak bulunmuş, bu artış ilave edilen hammaddelerin biyoaktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. Farklı bir çalışmada ise, bala propolis ilavesinin toplam fenolik madde miktarında önemli düzeyde artışa yol açtığı, antioksidan aktivite miktarının propolis ilaveli bal örneklerinde artan bir antiradikal aktivite gösterdiği bulunurken, propolis ekstraktlarının antioksidanlar da dahil olmak üzere biyolojik olarak aktif maddelerin mükemmel bir kaynağı olduğu belir-

tilmiştir (Oses ve ark., 2016). Habryka ve ark. (2020)'de propolis ile zenginleştirilmiş balın antioksidan aktivite, duyuşal özellikler ve kalite parametreleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, bala propolis ekstraktı ilavesinin, antioksidan aktivite miktarını ve fenolik madde miktarını artırdığı, balda krisin, pinosebrin, p-kumarik asit ve ferulik asit bulunan flavonoidler ve fenolik asitler de dahil olmak üzere polifenolik bileşiklerin içeriğinde önemli bir artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Bal Örneklerinin Duyusal Özellikleri

Maserasyon, refluks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilmiş optimize kestane propolisleri kestane ve çiçek ballarına 4 farklı oranda (%0, 1, 2 ve 4) ilavesiyle elde edilen bal-propolis karışımlarının duyuşal değerlendirme sonuçları Tablo 3'de verilmiştir.

Kestane propolisi ilave edilmiş kestane ve çiçek ballarının duyuşal değerlendirme sonucunda; görünüş-renk ile kıvam beğeni skorları açısından en yüksek puanı propolis ilavesiz balların aldığı, %1 propolis ilavesinden sonra tüm ekstraksiyon yöntemlerine göre kestane ve çiçek ballarındaki beğeni skorlarının önemli düzeyde düştüğü belirlenmiştir. Kestane balına propolis ilavesi durumunda aroma-koku beğeni skorlarındaki rakamsal düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Çiçek ve kestane ballı karışımlar kendi içinde değerlendirildiğinde, aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası fark duyuşal nitelikler açısından anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Kestane balına propolis ilavesi, ekstraksiyon yöntemleri ve propolis ilave oranları açısından bal-propolis karışımlarının lezzet, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik niteliklerinde önemli bir fark oluşturmamıştır. Bu durum, kestane balının kendine özgü keskin ve aromatik yapısı içerisinde propolis lezzetinin hissedilmediği veya olumsuz bir lezzet profili oluşturmadığı şeklinde yorumlanabilir. Çiçek balına propolis ilavesi, her 3 ekstraksiyon yönteminde de lezzet, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik nitelikleri açısından %2 ilave oranıyla birlikte düşmüş ($p<0.05$) ve bu orandan sonraki değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ekstraksiyon yöntemlerinin etkisi ise önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur. Genel kabul edilebilirlik açısından kestane balı karışımlarının beğeni skoru üzerinde propolis ekstraksiyon yöntemi farklılığı ve oranının etkisi önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).

Her iki bal çeşidi için, ekstraksiyon yöntemleri ve propolis ilave oranlarına göre hazırlanan karışım ürünlerin duyuşal analiz skorlarına göre kümelenme eğilimi ve benzerliklerinin

ifadesi için sonuçlar Temel Bileşen Analizi ile yorumlanmış ve grafikleri Şekil 3'de verilmiştir.

Şekil 3a'da görüldüğü üzere, kestane balında tüm ekstraksiyon yöntemleri için %4 propolis ilaveli KM4, KR4 ve KU4 örnekleri benzer ve incelenen duyuşal nitelikler açısından en düşük bulunmuştur. Kıvam ve Görünüş-Renk nitelikleri açısından propolis ilave edilmemiş KM0, KR0 ve KU0 numuneleri benzer nitelikte ve en yüksek beğeni skorlarına sahip oldukları tespit edilmiştir. Lezzet, Aroma-Koku, Ağızda bıraktığı his ve Genel kabul edilebilirlik açısından ise KM1, KR1, KU1 ve KM2 örnekleri benzer nitelikte bulunmuşlardır. Bu durumda genel olarak tüm ekstraksiyon tipleri açısından kestane balına %1 propolis ilavesinin duyuşal beğeni açısından limit değer olarak alınabileceği yorumu yapılabilir. Çiçek balında (Şekil 3b) ise, tüm duyuşal nitelikler açısından ÇM0, ÇR0, ÇU0 ve ÇM1 benzer nitelikte daha yüksek beğeniye sahip bulurken, ÇU1 ile ÇR1 kendi aralarında benzer, diğer numunelerin ise duyuşal beğenisi düşük ve benzer bulunmuşlardır.

Kestane Propolis Ekstraktı İlaveli Kek Ürünlerinin Özellikleri

Kestane propolis ekstraktlarının etkilerini çoklu bileşene sahip bir gıda modelinde belirlemek, aynı zamanda ısıl işlemin biyoaktivite üzerindeki etkisini tespit etmek amacıyla, ekstraktlar 4 farklı oranda temel kek formülasyonuna ilave edilerek homojen karışımlar elde edilmiş ve ürünler aynı proses koşullarında pişirilerek hazırlanmıştır.

Kek Örneklerinde Renk Değişimi

Kestane propolisi ilave edilmiş kek örneklerinin hem iç hem de dış yüzeylerinden ölçüm yapılmıştır (Tablo 4). Keklerin iç ve dış yüzey L^* parlaklık değerleri kestane propolisi ilavesindeki artışa bağlı olarak azalırken, ekstraksiyon metoduna göre bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Acun ve Gül (2021) tarafından yapılan bir çalışmada mikroenkapsüle çam propolisi top kek üretiminde 3 farklı oranda (%6, 9, 15) kullanımı durumunda ilave oranındaki artışa bağlı olarak L^* parlaklık değerinin azaldığı belirtilmiştir.

Keklerin iç yüzey a^* kırmızılık değerleri ekstraksiyon yönteminden etkilenmezken, propolis ilave oranına bağlı olarak a^* değerlerinin arttığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Tüm ekstraksiyon yöntemlerinde %4 oranında kestane propolisi ilaveli kekler diğer örneklerden daha koyu renkli bulunmuştur. Propolis ilave edilmemiş kontrol keki (%0) iç yüzey a^* değeri (2.54) en düşük iken, refluks ekstraksiyon ve %4 propolis ilaveli kek örneği, a^* değeri (4.59) en yüksek ürün olarak belirlenmiştir.

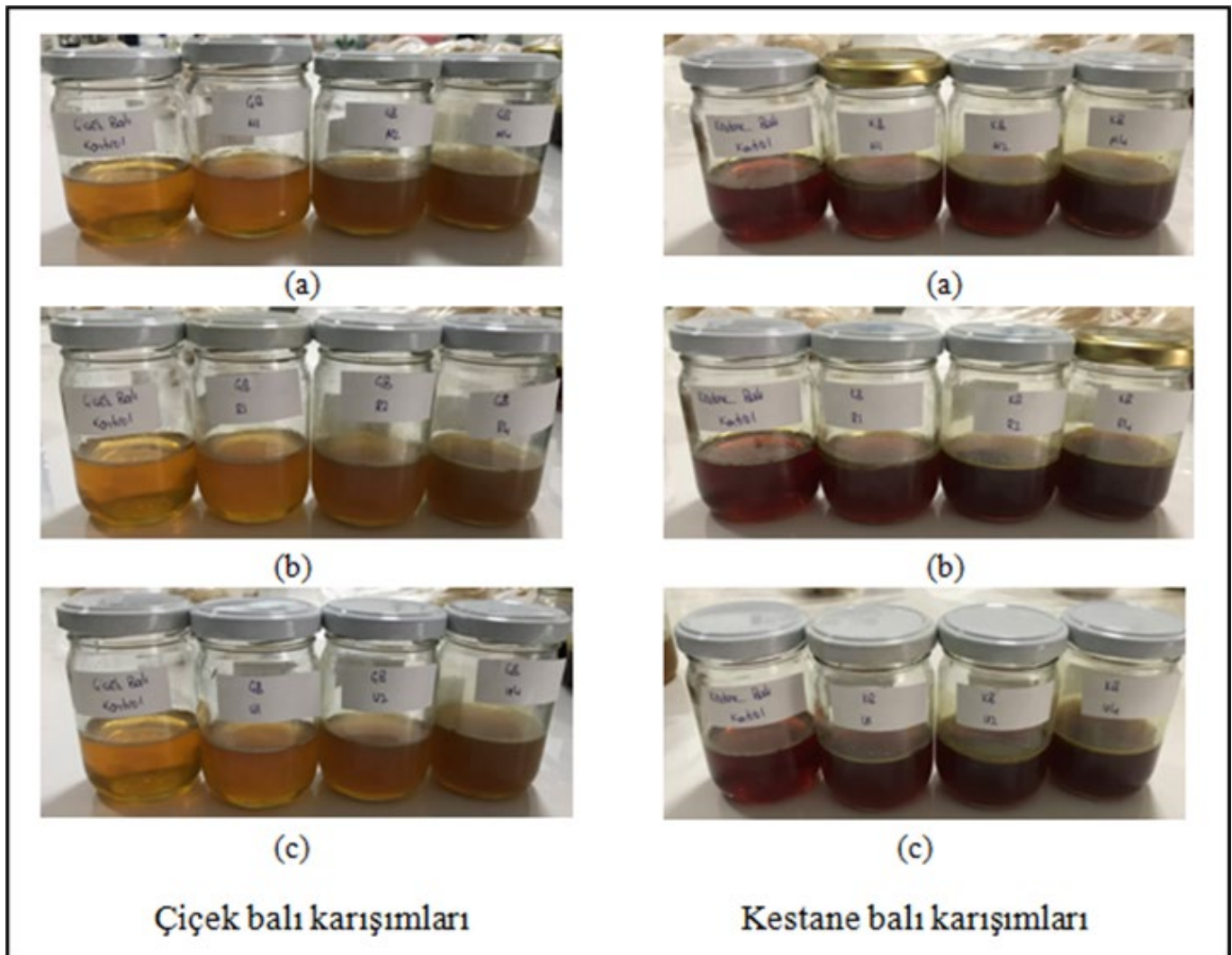
Benzer şekilde keklerin dış yüzey a^* değerleri de ekstraksiyon yönteminden etkilenmezken, propolis ilave oranına bağlı olarak a^* değerlerinin arttığı ancak bu artışın yalnızca ultrasonik destekli propolis ilaveli keklerde olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ultrasonik destekli ekstraksiyon ve %4 propolis ilaveli keklerde en yüksek a^* değerine (21.13) ulaşmıştır.

Keklerin tümünün iç yüzey b^* değerlerinin kestane propolis ilavesindeki artışa bağlı olarak arttığı görülmekle birlikte hem propolis ilave oranına hem de ekstraksiyon metoduna göre bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Propolis ilave oranına bağlı olarak b^* değerlerinin arttığı ancak bu artışın yalnızca ultrasonik destekli propolis ilaveli keklerde olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Acun ve Gül

(2021) tarafından yapılan çalışmada mikroenkapsüle çam propolisinin top keklerle 3 farklı oranda (%6, 9, 15) ilavesi sonucu iç ve dış yüzey a^* ve b^* değerlerinin kontrol gurubu örneğe göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yapılan farklı bir çalışmada da yoğurda farklı oranlarda (%0, 0.25, 0.5 ve 0.75) propolis ilavesi sonucu, propolisli yoğurtların depolama süresi ve propolis ilave oranı arttıkça L^* ve a^* değerlerinin düştüğü, b^* değerinin ise arttığı gözlemlenmiştir (Çiftçi, 2015).

Kek Örneklerinin Biyoaktif Nitelikleri

Elde edilen ürünlerin antioksidan aktivite, toplam fenolik, renk ve duyu analizi gerçekleştirilmiştir (Tablo 5).



Şekil 2. Maserasyon (a), Refluks (b) ve Ultrasonik destekli (c) ekstraksiyon ile üretilen propolis ekstraktlarının farklı oranlarda ilavesi ile hazırlanan çiçek ve kestane balı karışımları

Figure 2. Flower and chestnut honey mixtures prepared by adding different rates of propolis extracts produced by maceration (a), reflux (b) and ultrasonic assisted (c) extractions

Tablo 2. Kestane propolis ekstraktları (a) ve ilave edildiği bal örneklerinin (b) renk yoğunluğu, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içerikleri**Table 2.** Color intensity, antioxidant activity and total phenolic contents of chestnut propolis extracts (a) and added honey samples (b)

Örnek	Ekstraksiyon tipi	Antioksidan aktivite** (%inhibisyon)	Toplam fenolik madde** (µg GAE /g)	Renk yoğunluğu (mAU)
Propolis ekstraktı	M	88.61±2.05 ^a	977.5±4.11 ^a	2446.0 ^b
	R	79.50±1.95 ^{ab}	917.5±11.02 ^b	2494.0 ^a
	U	75.22±2.17 ^b	812.5±10.18 ^c	2508.0 ^a

(a)								
Örnek	Ekstraksiyon tipi	Propolis içeriği (%)	Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	AO _{ort}	Toplam fenolik madde (µg GAE /g)	TFM _{ort}	Renk yoğunluğu (mAU)	RY _{ort}
Çiçek balı	M	0	49.69±0.60 ^{Ad}	66.39 ^B	127.50±2.50 ^{Ad}	406.53 ^B	378.5±0.71 ^{Ad}	463.38 ^B
		1	56.70±1.26 ^{Ac}		402.50±8.20 ^{Ac}		424.5±6.36 ^{Bc}	
		2	80.00±0.02 ^{Ab}		432.50±2.00 ^{Bb}		451.0±1.41 ^{Bb}	
		4	89.86±0.02 ^{Aa}		917.50±4.20 ^{Aa}		534.5±3.54 ^{Ba}	
	R	0	49.69±0.60 ^{Ad}		127.50±2.50 ^{Ad}		378.5±0.71 ^{Ad}	
		1	57.98±0.20 ^{Ac}		422.50±3.15 ^{Ac}		425.5±0.71 ^{Bc}	
		2	64.30±0.04 ^{Bb}		455.00±1.80 ^{Ab}		497.0±5.66 ^{Ab}	
		4	89.88±0.04 ^{Aa}		862.50±9.40 ^{Ba}		585.0±4.24 ^{Aa}	
	U	0	49.69±0.60 ^{Ac}		127.50±2.50 ^{Ac}		378.5±0.71 ^{Ad}	
		1	58.75±0.30 ^{Ab}		292.50±2.10 ^{Bb}		455.5±2.83 ^{Ac}	
		2	59.89±0.08 ^{Cb}		350.00±4.30 ^{Ca}		484.0±7.21 ^{Ab}	
		4	90.26±0.50 ^{Aa}		360.80±1.50 ^{Ca}		568.5±6.36 ^{Aa}	
Kestane balı	M	0	82.96±0.70 ^{Ac}	86.80 ^A	412.50±0.98 ^{Ad}	649.58 ^A	1803.5±3.54 ^{Ad}	1883.42 ^A
		1	85.57±0.54 ^{Ab}		620.00±12.00 ^{Ac}		1828.5±3.54 ^{Bc}	
		2	89.14±0.00 ^{Aa}		900.00±2.80 ^{Ab}		1990.0±1.41 ^{Aa}	
		4	89.34±0.08 ^{Aa}		975.00±5.50 ^{Aa}		1881.5±9.19 ^{Bb}	
	R	0	82.96±0.70 ^{Ab}		412.50±0.98 ^{Ad}		1803.5±3.54 ^{Ac}	
		1	86.69±0.46 ^{Aa}		522.50±1.60 ^{Bc}		1908.0±15.56 ^{Aab}	
		2	88.16±0.02 ^{Ca}		692.50±0.85 ^{Bb}		1894.0±5.56 ^{Bb}	
		4	88.74±0.02 ^{Ba}		880.00±11.00 ^{Ba}		1938.0±4.24 ^{Aa}	
	U	0	82.96±0.70 ^{Ab}		412.50±0.98 ^{Ac}		1803.5±3.54 ^{Ab}	
		1	86.90±0.41 ^{Aa}		597.50±3.90 ^{Ab}		1921.5±3.54 ^{Aa}	
		2	89.01±0.00 ^{Ba}		677.50±7.20 ^{Ba}		1907.5±9.19 ^{Ba}	
		4	89.16±0.06 ^{Aa}		692.50±2.00 ^{Ca}		1921.5±13.44 ^{ABa}	

* Aynı sütunda küçük harflerdeki farklılık (a-d) aynı ekstraksiyonda (M: Maserasyon ekstraksiyon, R: Reflüks ekstraksiyon, U: Ultrasonik destekli ekstraksiyon) konsantrasyonlar arası farkın, büyük harflerdeki farklılık ise aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

** Propolis ekstraktları antioksidan aktivite ve fenolik madde analizi için 100 defa seyreltilmiştir.

Keklere artan oranlarda (%0, 1, 2 ve 4) propolis eklenmesi ile antioksidan aktivite değerlerinin ve toplam fenolik madde miktarlarının istatistiki olarak anlamlı ölçüde ($p<0,05$) artmasına neden olmuştur. Tüm ekstraksiyon yöntemlerine göre en yüksek biyoaktif niteliklere %4 propolis ilavesi durumunda ulaşılmıştır. Aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu, antioksidan aktivite açısından en yüksek değerlerin maserasyon ekstraksiyon ile elde edildiği, en yüksek antioksidan aktivite ve fenolik madde içeriğine %4 oranında maserasyon ekstraksiyon ile üretilmiş propolis ilavesi ile ulaşıldığı belirlenmiştir. En düşük fenolik madde içeriğinin ise ultrasonik destekli

ekstraksiyonla elde edilen propolisli kek örneklerinde olduğu tespit edilmiştir.

Bazı gıda modellerine propolis başta olmak üzere farklı arı ürünlerinin ilavesi ve biyoaktivite üzerine sınırlı sayıda yapılmış bazı çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada meyveli yoğurt örneklerine farklı oranlarda propolis ilavesi yapılması durumunda, propolis oranına bağlı olarak DPPH %inhibisyon oranının ve toplam fenolik madde miktarının arttığı tespit edilmiştir (Güney, 2016). Farklı bir çalışmada ise yoğurda propolis ve bal ilave edilmesi durumunda antioksidan aktivite (% inhibisyon) ve toplam fenolik madde miktarını artırdığı belirtilmiştir (Kıran, 2021).

Kek Örneklerinin Duyusal Özellikleri

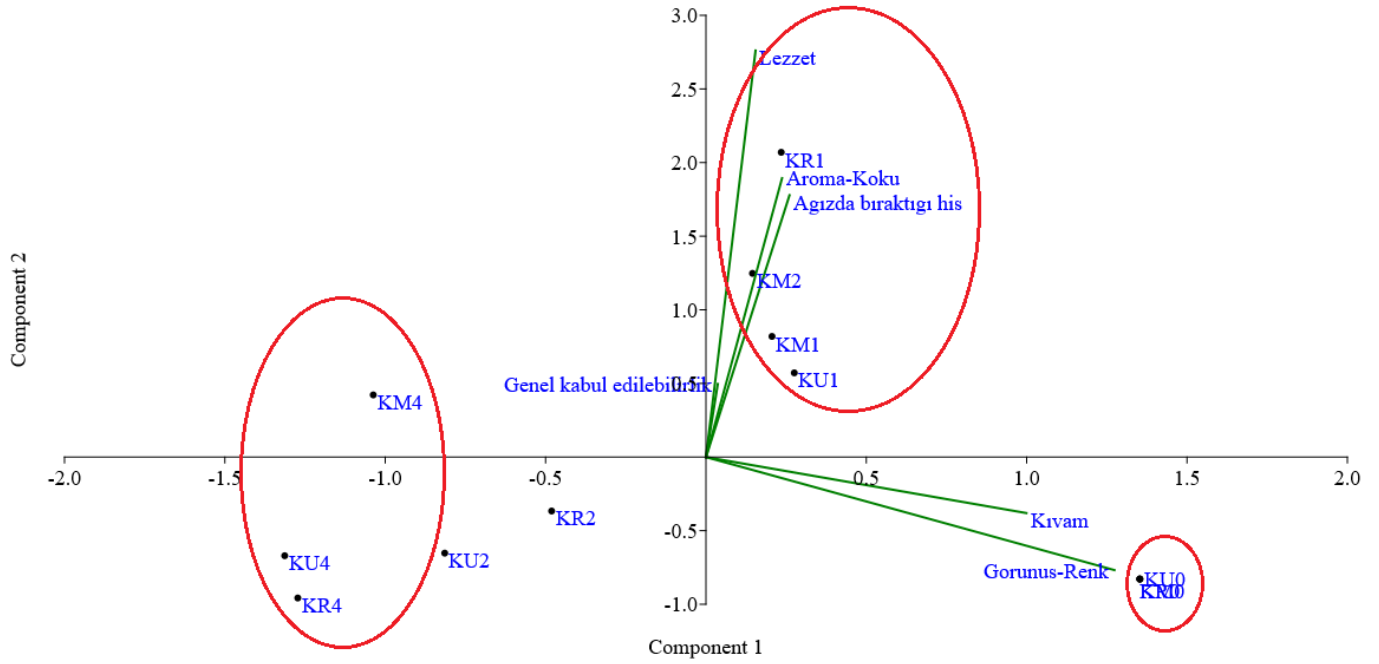
Farklı metotlar ile ekstrakte edilen kestane propolisi ilave edilmiş kek örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçları Tablo 6'da verilmiştir. Maserasyon ekstrakte propolis ilaveli kek örneklerinde, propolis ilavesindeki artışa bağlı olarak kek örneklerinin duyuşal beğeni skorlarında düşüş olmakla birlikte, bu durum istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Bu durum, maserasyon yöntemi ile elde edilen propolisin dört farklı oranda kullanımının da kabul edilebilir olduğu, kekin duyuşal niteliklerinde önemli bir değişime neden olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Refluks ekstrakte propolisin farklı oranlarda kullanımı durumunda lezzet ve çiğneme

özelliklerindeki değişimler önemsiz bulunmakla birlikte, %4 propolis ilavesiyle renk, şekil simetrisi, görünüş, doku, tatlılık ve iç renk; %2 propolis ilavesiyle birlikte de pişme düzgünlüğü ve genel kabul edilebilirlik niteliklerinde önemli değişim ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Ultrasonik destekli ekstraksiyonla üretilen propolis ilaveli kek örneklerinde, şekil simetrisi görünüş ve genel kabul edilebilirlik niteliklerine ait beğeni skorları %1 kullanım ile birlikte; renk ve doku %2 ilave oranı; pişme düzgünlüğü, tatlılık, iç renk ve lezzet ise %4 kullanım oranı ile birlikte önemli ($p<0.05$) değişim göstermiştir. Bu durum ultrasonik destekli ekstraksiyonla elde edilen propolisin kekte kullanımını sınırlandırmakta %1 kullanımda dahi duyuşal beğeni skorlarındaki düşüş önemli olmaktadır.

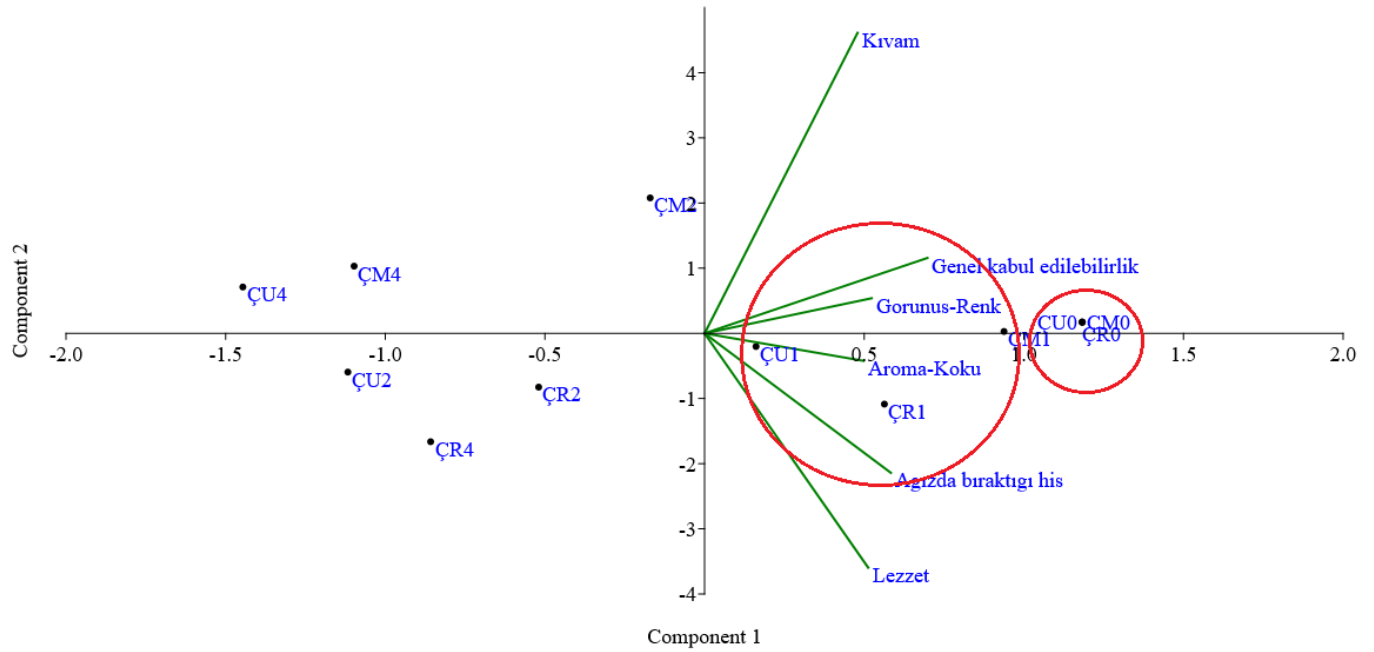
Tablo 3. Kestane propolisi ilave edilmiş kestane ve çiçek balının duyuşal değerlendirme sonuçları**Table 3.** Sensory evaluation results of chestnut and flower honey added with chestnut propolis

Bal	Ekstraksiyon tipi	Propolis içeriği (%)	Görünüş- Renk	Kıvam	Aroma-Koku	Lezzet	Ağızda bıraktığı his	Genel kabul edilebilirlik
Kestane balı	M	0	5.00±0.00 ^{Aa}	4.80±0.40 ^{Aa}	2.60±0.49 ^{Aa}	2.00±0.63 ^{Aa}	2.00±0.63 ^{Aa}	1.80±0.40 ^{Aa}
		1	3.60±0.49 ^{Ab}	4.00±0.63 ^{Aab}	2.60±0.49 ^{Aa}	2.60±0.49 ^{Aa}	2.20±0.40 ^{Aa}	2.00±0.63 ^{Aa}
		2	3.60±0.49 ^{Ab}	3.80±0.40 ^{Ab}	2.80±0.40 ^{Aa}	2.80±0.40 ^{Aa}	2.20±0.40 ^{Aa}	1.80±0.40 ^{Aa}
		4	2.60±0.49 ^{Ac}	2.80±0.40 ^{Ac}	3.00±0.63 ^{Aa}	2.00±0.63 ^{Aa}	1.60±0.49 ^{Aa}	1.80±0.40 ^{Aa}
	R	0	5.00±0.00 ^{Aa}	4.80±0.40 ^{Aa}	2.60±0.49 ^{Aab}	2.00±0.63 ^{Ab}	2.00±0.63 ^{Aa}	1.80±0.40 ^{Aa}
		1	3.60±0.49 ^{Ab}	3.80±0.40 ^{Ab}	3.00±0.00 ^{Aa}	3.00±0.00 ^{Aa}	2.60±0.49 ^{Aa}	2.00±0.00 ^{Aa}
		2	3.00±0.63 ^{Abc}	3.60±0.49 ^{Ab}	2.20±0.40 ^{Aab}	2.00±0.00 ^{Ab}	1.80±0.40 ^{Aa}	2.00±0.00 ^{Aa}
		4	2.60±0.49 ^{Ac}	2.60±0.49 ^{Ac}	2.00±0.63 ^{Ab}	1.60±0.49 ^{Ab}	1.60±0.49 ^a	1.80±0.40 ^{Aa}
	U	0	5.00±0.00 ^{Aa}	4.80±0.40 ^{Aa}	2.60±0.49 ^{Aa}	2.00±0.63 ^{Aa}	2.00±0.63 ^{Aa}	1.80±0.40 ^{Aa}
		1	4.00±0.00 ^{Ab}	3.60±0.49 ^{Ab}	2.80±0.40 ^{Aa}	2.20±0.40 ^{Aa}	2.40±0.49 ^{Aa}	2.00±0.63 ^{Aa}
		2	3.00±0.00 ^{Ac}	3.00±0.63 ^{Ab}	2.00±0.63 ^{Aa}	2.00±0.40 ^{Aa}	1.60±0.49 ^{Aa}	1.80±0.40 ^{Aa}
		4	2.20±0.40 ^{Ad}	3.00±0.63 ^{Ab}	2.00±0.63 ^{Aa}	1.80±0.00 ^{Aa}	1.60±0.49 ^{Aa}	1.60±0.49 ^{Aa}
Çiçek balı	M	0	4.60±0.49 ^{Aa}	4.80±0.40 ^{Aa}	4.40±0.49 ^{Aa}	4.20±0.40 ^{Aa}	4.00±0.63 ^{Aa}	4.00±0.63 ^{Aa}
		1	4.40±0.49 ^{Aa}	4.60±0.49 ^{Aa}	4.00±0.00 ^{Aa}	4.00±0.63 ^{Aa}	4.00±0.63 ^{Aa}	3.80±0.75 ^{Aa}
		2	3.60±0.49 ^{Aab}	4.40±0.49 ^{Aab}	3.20±0.40 ^{Ab}	2.80±0.40 ^{Ab}	2.60±0.49 ^{Ab}	3.00±0.63 ^{Aa}
		4	3.00±0.63 ^{Ab}	3.60±0.49 ^{Ab}	2.80±0.40 ^{Ab}	2.40±0.49 ^{Ab}	2.00±0.63 ^{Ab}	1.60±0.49 ^{Ab}
	R	0	4.60±0.49 ^{Aa}	4.80±0.40 ^{Aa}	4.40±0.49 ^{Aa}	4.20±0.40 ^{Aa}	4.00±0.63 ^{Ab}	4.00±0.63 ^{Aa}
		1	4.40±0.49 ^{Aab}	3.80±0.40 ^{Ab}	3.80±0.40 ^{Aab}	3.80±0.40 ^{Aab}	3.80±0.40 ^{Aab}	3.40±0.49 ^{Aa}
		2	3.60±0.49 ^{Ab}	3.20±0.40 ^{Ab}	3.20±0.40 ^{Ab}	3.00±0.63 ^{Ab}	2.80±0.75 ^{Abc}	2.20±0.40 ^{Ab}
		4	2.60±0.49 ^{Ac}	3.00±0.63 ^{Ab}	3.00±0.63 ^{Ab}	3.40±0.49 ^{Aab}	2.40±0.49 ^{Ac}	2.00±0.63 ^{Ab}
	U	0	4.60±0.49 ^{Aa}	4.80±0.40 ^{Aa}	4.40±0.49 ^{Aa}	4.20±0.40 ^{Aa}	4.00±0.63 ^{Aa}	4.00±0.63 ^{Aa}
		1	4.20±0.40 ^{Aa}	4.00±0.00 ^{Aa}	3.20±0.40 ^{Ab}	3.80±0.40 ^{Aa}	3.00±0.63 ^{Aab}	3.00±0.63 ^{Aa}
		2	3.00±0.63 ^{Ab}	3.00±0.63 ^{Ab}	2.60±0.49 ^{Ab}	2.60±0.49 ^{Ab}	2.40±0.49 ^{Abc}	1.60±0.49 ^{Ab}
		4	2.80±0.40 ^{Ab}	3.00±0.63 ^{Ab}	2.40±0.49 ^{Ab}	2.00±0.63 ^{Ab}	1.80±0.40 ^{Ac}	1.60±0.49 ^{Ab}

* Aynı sütunda küçük harflerdeki farklılık (a-d) aynı ekstraksiyonda (M: Maserasyon ekstraksiyon, R: Refluks ekstraksiyon, U: Ultrasonik destekli ekstraksiyon) konsantrasyonlar arası farkın, büyük harflerdeki farklılık ise aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.



(a)



(b)

Şekil 3. Kestane propolis ekstraktlı Kestane (a) ve Çiçek balı (b) karışımlarının duyu özelliklerinin temel bileşen analizi grafikleri

Figure 3. Principal component analysis graphs of sensory properties of mixtures of Chestnut (a) and Flower honey (b) prepared with chestnut propolis extract

Tablo 4. Kestane propolis ekstraktı ilaveli kek örneklerinin renk değerleri**Table 4.** Color values of chestnut propolis extract added cake samples

Ekstraksiyon tipi	Propolis içeriği (%)	İç			Dış		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*
M	0	59.42±1.81 ^{Aab}	2.54±0.21 ^{Ac}	23.38±0.65 ^{Aa}	42.12±0.33 ^{Aa}	17.88±0.27 ^{Aa}	30.78±0.60 ^{Aa}
	1	61.79±1.83 ^{Aa}	3.21±0.46 ^{Ab}	24.70±0.60 ^{Aa}	42.20±0.83 ^{Aab}	18.67±0.57 ^{Aa}	31.34±0.81 ^{Aa}
	2	61.20±2.80 ^{Aa}	3.35±0.40 ^{Ab}	25.07±0.62 ^{Aa}	41.65±0.50 ^{Aab}	19.09±0.43 ^{Aa}	31.98±0.33 ^{Aa}
	4	56.26±2.17 ^{Ab}	4.36±0.22 ^{Aa}	26.01±0.45 ^{Aa}	39.02±0.37 ^{Ab}	19.82±0.31 ^{Aa}	32.54±0.61 ^{ABa}
R	0	59.42±1.81 ^{Aa}	2.54±0.21 ^{Ad}	23.38±0.65 ^{Aa}	42.12±0.33 ^{Aab}	17.88±0.27 ^{Aa}	30.78±0.60 ^{Aa}
	1	57.17±1.66 ^{Aab}	3.36±0.20 ^{Ac}	24.79±0.80 ^{Aa}	43.79±0.99 ^{Aa}	18.84±0.51 ^{Aa}	20.80±0.91 ^{Bb}
	2	55.22±1.69 ^{Ab}	4.05±0.18 ^{Ab}	25.01±0.48 ^{Aa}	41.88±0.29 ^{Aab}	18.75±0.55 ^{Aa}	28.19±0.35 ^{Aa}
	4	54.11±0.27 ^{Ab}	4.59±0.23 ^{Aa}	25.98±0.70 ^{Aa}	39.09±0.71 ^{Ab}	19.81±0.28 ^{Aa}	31.19±0.29 ^{Ba}
U	0	59.42±1.81 ^{Aa}	2.54±0.21 ^{Ad}	23.38±0.65 ^{Aa}	42.12±0.33 ^{Aab}	17.88±0.27 ^{Ab}	30.78±0.60 ^{Ab}
	1	62.49±1.57 ^{Aa}	3.13±0.15 ^{Ac}	24.36±0.41 ^{Aa}	44.08±0.36 ^{Aa}	18.44±0.45 ^{Ab}	32.76±0.64 ^{Aab}
	2	60.46±1.63 ^{Aa}	3.50±0.17 ^{Ab}	25.01±0.50 ^{Aa}	43.17±0.58 ^{Aab}	20.16±0.70 ^{Aab}	34.20±0.67 ^{Aab}
	4	58.63±0.82 ^{Aa}	4.26±0.24 ^{Aa}	25.71±0.54 ^{Aa}	40.97±0.31 ^{Ab}	21.13±0.30 ^{Aa}	34.95±0.44 ^{Aa}

* Aynı sütunda küçük harflerdeki farklılık (a-d) aynı ekstraksiyonda (M: Maserasyon ekstraksiyon, R: Refluks ekstraksiyon, U: Ultrasonik destekli ekstraksiyon) konsantrasyonlar arası farkın, büyük harflerdeki farklılık ise aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Tablo 5. Kestane propolis ekstraktı ilaveli kek örneklerinin antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içerikleri**Table 5.** Antioxidant activities and total phenolic contents of chestnut propolis extract added cake samples

Ekstraksiyon tipi	Propolis içeriği (%)	Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	Toplam fenolik madde ($\mu\text{g GAE /g}$)
M	0	11.97±0.90 ^{Ad}	285.0±3.20 ^{Ad}
	1	25.73±0.25 ^{Ac}	402.5±1.80 ^{Bc}
	2	37.48±1.20 ^{Ab}	432.5±2.00 ^{Bb}
	4	47.67±0.85 ^{Aa}	917.5±0.95 ^{Aa}
R	0	11.97±0.90 ^{Ac}	285.0±3.20 ^{Ad}
	1	18.65±0.90 ^{Bb}	422.5±1.70 ^{Ac}
	2	24.64±1.20 ^{Bb}	455.0±2.20 ^{Ab}
	4	35.62±2.30 ^{Ba}	862.5±0.90 ^{Ba}
U	0	11.97±0.90 ^{Ac}	285.0±3.20 ^{Ac}
	1	24.18±0.70 ^{Ab}	292.5±0.25 ^{Cc}
	2	26.83±0.50 ^{Bab}	350.0±0.60 ^{Cb}
	4	30.29±0.90 ^{Ba}	360.8±0.40 ^{Ca}

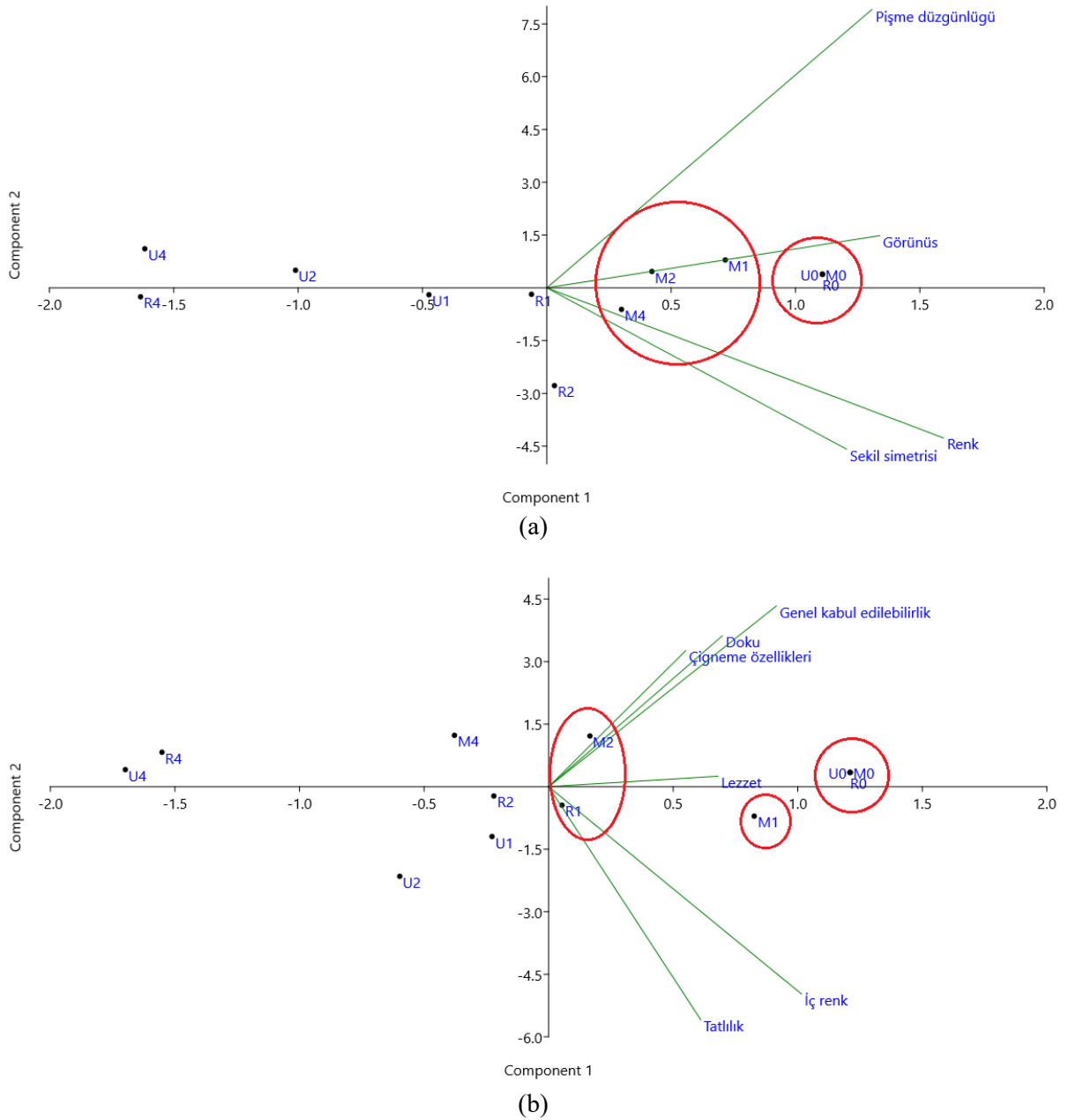
* Aynı sütunda küçük harflerdeki farklılık (a-d) aynı ekstraksiyonda (M: Maserasyon ekstraksiyon, R: Refluks ekstraksiyon, U: Ultrasonik destekli ekstraksiyon) konsantrasyonlar arası farkın, büyük harflerdeki farklılık ise aynı konsantrasyondaki ekstraksiyonlar arası farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Tablo 6. Kestane propolisi ilave edilmiş kek örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçları**Table 6.** Sensory evaluation scores of chestnut propolis extract added cake samples

Ekstraksiyon tipi	Propolis içeriği (%)	Dış zellikler					İ zellikler				
		Şekil simetrisi	Renk	Pişme düzgünlüğü	Görünüş	Doku (Gözenek)	Çiğneme zellikleri	Tatlılık	İ renk	Lezzet	Genel kabul edilebilirlik
M	0	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a	4,60±0,55 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a
	1	4,40±0,55 ^a	4,60±0,55 ^a	4,80±0,45 ^a	4,60±0,55 ^a	4,60±0,55 ^a	4,40±0,55 ^a	4,60±0,55 ^{ab}	4,80±0,45 ^a	4,60±0,55 ^a	4,80±0,45 ^a
	2	4,40±0,55 ^a	4,60±0,55 ^a	4,80±0,45 ^a	4,00±0,71 ^a	4,40±0,55 ^a	4,60±0,55 ^a	3,80±0,45 ^{ab}	4,40±0,55 ^a	4,20±0,45 ^a	4,40±0,45 ^a
	4	4,60±0,55 ^a	4,40±0,89 ^a	4,40±0,55 ^a	4,20±0,84 ^a	4,20±0,84 ^a	4,20±1,09 ^a	3,80±0,45 ^{ab}	3,80±1,10 ^a	4,00±1,00 ^a	4,20±0,84 ^a
R	0	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a	4,60±0,55 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a
	1	4,00±0,71 ^{ab}	4,40±0,55 ^a	4,20±0,84 ^{ab}	4,20±0,84 ^{ab}	4,40±0,55 ^{ab}	4,40±0,89 ^a	4,40±0,55 ^{ab}	4,20±0,45 ^a	4,00±1,00 ^a	4,20±0,84 ^{ab}
	2	4,60±0,55 ^{ab}	4,60±0,55 ^a	3,80±0,84 ^b	4,00±0,71 ^{ab}	4,20±0,45 ^{ab}	4,40±0,55 ^a	4,20±0,45 ^{ab}	4,00±1,00 ^a	4,00±0,71 ^a	4,00±0,00 ^b
	4	3,80±0,45 ^b	3,20±0,84 ^b	3,60±0,55 ^b	3,20±0,84 ^b	3,60±0,55 ^b	3,80±0,84 ^a	3,60±0,55 ^b	2,80±0,45 ^b	3,60±0,55 ^a	3,40±0,55 ^b
U	0	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a	4,60±0,55 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	4,80±0,45 ^a	5,00±0,00 ^a
	1	4,00±0,00 ^b	4,20±0,83 ^{ab}	4,20±0,45 ^{ab}	3,60±0,55 ^b	4,20±0,45 ^{ab}	4,00±0,71 ^a	4,20±0,45 ^{ab}	4,20±0,84 ^a	4,00±0,71 ^{ab}	4,00±0,71 ^b
	2	3,80±0,45 ^b	3,60±0,55 ^b	4,00±0,70 ^{ab}	3,60±0,55 ^b	3,60±0,55 ^b	4,20±0,45 ^a	4,20±0,45 ^{ab}	4,00±0,00 ^a	4,00±1,00 ^{ab}	3,60±0,55 ^b
	4	3,40±0,55 ^b	3,20±0,45 ^b	3,80±0,84 ^b	3,40±0,55 ^b	3,40±0,55 ^b	4,00±1,00 ^a	3,60±0,55 ^b	2,80±0,45 ^b	3,40±0,55 ^b	3,20±0,45 ^b

*Aynı sütündeki farklı harfler (a-c) veriler arası farkın istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.

** M: meserasyon ekstraksiyon, R: Refluks ekstraksiyon U: Ultrasonik destekli ekstraksiyon



Şekil 4. Kestane propolis ekstraktlı kek örneklerinin dış (a) ve iç (b) özelliklerine ait duysal analiz temel bileşen analizi grafikleri

Figure 4. Principal component analysis graphics of sensory analysis results of crust (a) and crumb (b) properties of chestnut propolis extract added cake samples

Panelistler tarafından, özellikle %4 propolis ekstraktı ilavesi sonucu kek iç rengindeki değişim panelistlerce beğenilmemiştir. Hem iç hem de dış renk açısından maserasyon ekstrakte propolis ilaveli keklerin renkleri refluks ve ultrasonik destekli propolis ekstraktı ilaveli örnekler göre daha koyu bulunmuştur. Tatlılık açısından en yüksek değeri kontrol keki alırken, %4 propolis ilaveli keklerde tatlılığın azaldığı belirtilmiştir ki, bu durum belirli oranın üzerinde propolis ilavesinin kekteki tatlılığı baskılaması olarak yorumlanmıştır. Genel bir sonuç olarak keklerin kabul edilebilirliği üzerinde propolis ekstraksiyon yönteminin ve propolis ilave oranının etkili olduğu görülmüştür. Acun ve Gül (2021), tarafından yapılan bir çalışmada mikroenkapsüle çam propolisinin top kek üretiminde kullanımı duyuşsal özellikler açısından incelenmiş, propolis kullanım oranının artmasıyla keklerin iç renklerine dair tüketici beğenisinin azaldığı tespit edilmiştir. Tekstür, çiğnenebilirlik, ağızda dağılma, koku, aroma, tat/lezzet ve genel kabul edilebilirlik puanlarının da mikro-enkapsüle çam propolisi ilave edilme oranının artmasıyla azaldığını belirtmişlerdir. Duyuşsal özellikleri bir bütün olarak incelediklerinde ise %6 oranına kadar mikroenkapsüle çam propolisi ilave edilerek üretilen fonksiyonel özellikteki keklerin duyuşsal özellikler açısından önemli bir farklılık oluşturmadığı sonucuna varmışlardır.

Panele alınan ürün çeşitliliği ve incelenen niteliklerin sayısındaki fazlalık göz önünde bulundurularak propolis ekstraksiyon metodu ve ekstrakt kullanım oranının ürün duyuşsal kalite nitelikleri açısından kümelenme eğilimini ifade edebilmek ve benzer ürün gruplarını tespit edebilmek için Temel Bileşen Analizi tekniği uygulanmış ve elde edilen grafikler Şekil 4’de verilmiştir.

Şekil 4a’da görüldüğü üzere, dış duyuşsal özellikler (pişme düzgünlüğü, görünüş, renk ve şekil simetrisi) açısından en yüksek skora sahip ürünler propolis ilave edilmemiş kontrol örnekleridir (M0, R0 ve U0) ve grafikte bir arada kümelendikleri görülmektedir. Bu ürünlere en yakın kek örnekleri sırasıyla M1, M2 ve M4 olarak belirlenmiştir. Grafikte birbirlerine yakın olarak kümelendikleri görülmektedir ki beğeni skoru açısından benzer buldukları şekilde yorumlanabilir. Diğer örnekler ise farklı dağılımlar göstermiş, beğeni skoru en düşük kekler %4 propolis ilaveli R4 ve U4 örnekleri bir arada kümelenmiş ve benzer nitelikte oldukları yorumlanmıştır. Program tarafından, iç duyuşsal özelliklerinden “Doku, Çiğneme özellikleri, Genel kabul edilebilirlik” bir arada değerlendirilirken, lezzet ayrı, tatlılık ve iç renk ise bir arada gruplanmış ve kek örnekleri aldıkları beğeni skorları doğrultusunda Şekil 2b’de kümelenmişlerdir. İç özellikler açısından da propolis ilave edilmemiş M0, R0 ve U0 örnekleri en yük-

sek beğeni skorlarına sahip örnekler olarak bir arada kümelenmişlerdir. Kontrol örneklerine en yakın yani en benzer olan örnek M1 örneği olarak grafikte konumlandırılırken, bunu R1 ve M2 örnekleri takip etmiştir. İç duyuşsal örneklerde de en düşük beğeni skoruna sahip %4 propolis ilaveli R4 ve U4 örnekleri benzer olarak bir arada kümelenmişlerdir.

Sonuç

Arı ürünleri insanlar için yüzyıllardır ilgi odağı olmuş hem günlük diyet içerisinde önemli bir besin maddesi olarak hem de fonksiyonel nitelikleri itibarıyla apiterapik amaçlı tüketilmiştir. En çok bilinen arı ürünü bal olmakla birlikte, antioksidan, antibakteriyel, antienflamatuvar gibi özellikleri açısından propolis geçmişten günümüze en önemli bal dışı arı ürünleri arasında yer almıştır. Propolis bu metabolik etkileri yapısında bulunan mineraller, esansiyel yağlar, organik maddeler ve polifenoller gibi bileşenlerden kaynaklanırken, bu bileşenler de propolisin elde edildiği bölgenin ekolojik koşulları, toplama şekli ve bölgenin sahip olduğu flora ile direkt ilişkilidir. Bu çalışmada kestane florasındaki arı kovanlarından hasat edilmiş ve baskın polen içeriği kestane olan, ham propolisden elde edilmiş sıvı ekstraktların iki farklı gıda modelinde kullanımıyla ürün biyoaktif nitelikleri ve duyuşsal beğenisine etkisi bir arada değerlendirilmiştir. Çalışma sonucu kestane balının propolis ilavesiz haliyle de antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı açısından çiçek balından daha yüksek olduğu, çiçek balına propolis ilavesi sonucu, polifloral çiçek balının biyoaktif niteliklerinin monofloral bir bal olan kestane balına eşit düzeye çıkarılabildiği belirlenmiştir ki bu sonuç ayçiçeği balı gibi kısmen besinsel ve aromatik açıdan zayıf ve nispeten daha az değerli görülen balların besinsel açıdan takviyesi ve zenginleştirilmesi nedeniyle önemlidir. Kestane balı renk yoğunluğu yüksek ve koyu renkli bir bal olması nedeniyle propolis ilavesi hem görsel hem de renk yoğunluğu ölçümü açısından önemli bir fark oluşturmazken, çok daha açık renkli çiçek balında renk yoğunluğunu önemli derecede artırdığı belirlenmiştir. Çiçek ve kestane balına propolis ilavesi karışımının antioksidan ve fenolik madde değerini artırdığından, bal-propolis karışımının günlük diyetle dahil edilerek apiterapik bir ürün olarak kullanımı tavsiye edilebilir. Hem biyoaktif nitelikler hem de ürün modellerinin tüketici beğenisi açısından ekstraksiyon yöntemlerinin farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Propolis, polifenollerce zengin ve buna bağlı yüksek antioksidan aktivitesiyle hem ilave edildiği gıda maddesine depolama sürecinde antioksidan ve antimikrobiyal aktivite sağlayabileceği gibi, hem de tüketici grubu için ürüne fonksiyonel nitelik sağlayacaktır. Bu çalışmada pişmiş ürün modeli olarak ele alınan kekler propolis ilavesi biyoaktif ve duyuşsal beğeni nitelikleri açısından incelenirken, kek üretiminin en önemli problemi olan raf ömrü süresince

küflenme sorununa etkisi incelenebilecek ayrı bir konu olarak görülmektedir. Bu nedenle ileride yapılacak çalışmalarda, propolisin ilave edildiği gıda modellerine sağlayacağı biyoaktif, besinsel ve fonksiyonel niteliklerin yanı sıra gıda raf ömrü ve depolama nitelikleri üzerindeki etkilerinin de incelenmesi faydalı olacaktır.

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Çalışma etik izin gerektirmemektedir.

Veri erişilebilirliği: Veriler talep üzerine sağlanacaktır.

Finansal destek: Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (KÜBAP) tarafından KÜ-BAP01/2021-14 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Teşekkür: Yazarlar desteğinden dolayı KÜBAP'a teşekkür ederler.

Açıklama: Bu çalışma Sevde Nur ŞENOL YAZKAN'ın yüksek lisans tez verilerinden hazırlanmıştır.

Kaynaklar

Acun, S., Gül, H. (2021). Mikroenkapsüle çam propolisinin top kek üretiminde kullanılması. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(2), 1205-1217. <https://doi.org/10.21597/jist.855038>

Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101, 1383–1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.045>

Anjum, S., Ullah, A., Khan, K., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Dash, C. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695-1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>

Atasoy, R., Hendek Ertop, M. (2021). Assessment of nutritional and bioactive properties for gluten-free tarhana containing various legumes and cereals. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7), e15606. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15606>

Baltrusaityte, V., Venskutonis, P.R., Ceksteryte, V. (2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and bee drea phenolic extract. *Food Chemistry*, 101, 502-514.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.007>

Bankova, V., Bertelli, D., Borba, R., Conti, B.J., Da Silva Cunha, I. B., Danert, C., Zampini, C. (2019). Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. *Journal of Apicultural Research*, 58(2), 1–49.

<https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1222661>

Bayram, N. E. (2015). Hakkari Bölgesi Propolislerinin Botanik Orijininin Ve Kimyasal İçeriğinin Saptanması. Doktora Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. İstanbul.

Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., Facino, R.M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.11.010>

Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food And Chemical Toxicology*, 36, 347–363.

[https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)00145-2](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)00145-2)

Büyüktuncel, E. (2012). “Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri” *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 2, 209–242.

Castaldo, S., Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, S1–S6.

[https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00185-5)

Chi Y., Luo L., Cui M., Hao Y., Liu T., Huang X., Guo X. (2020). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of Chinese propolis. *Chemistry & Biodiversity*, 17(1), e1900489.

<https://doi.org/10.1002/cbdv.201900489>

Coşkun, P., İnci. H. (2020). Propolisin kimyasal içeriği ile antibakteriyel, antiviral ve antioksidan aktivitesi. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 4(4), 1053-1070.

<https://doi.org/10.46291/ISPECJASvol4iss4pp1051-1068>

Coşkun, N.Ö. (2020). Püskürtmeli Kurutma Yöntemi ile Propolis Enkapsülasyonu Yüksek Lisans Tezi, *Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Aydın.

- Çiftçi, F. (2015).** Propolisın Yoğurt Üretiminde Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun.
- Dedebaş, T., Çapar, T.D., Ekici, L., Yalçın, H. (2021).** Yağlı tohumlarda ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ve avantajları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 21, 313-322.
- Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, E. (2008).** Antioxidant and antimicrobial effect of phenolic compounds extracts of northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3774-3779. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.062>
- Gallo, M., Ferrara, L., Naviglio, D. (2018).** Application of ultrasound in food science and technology: A Perspective, *Foods*, 7 (10), 164. <https://doi.org/10.3390/foods7100164>
- Ghisalberti, E.L., (1979).** Propolis: A review, *Bee World*, 60, 59-84. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1979.11097738>
- Güney, F. (2016).** Bazı Propolis Özülerinin Meyveli Yoğurtların Biyokimyasal, Fizikokimyasal ve Raf Ömrü Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. *Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ordu.
- Habryka, C., Socha, R., Juszczak, L. (2020).** The effect of enriching honey with propolis on the antioxidant activity, sensory characteristics, and quality parameters. *Molecules*, 25(5), 1176. <https://doi.org/10.3390/molecules25051176>
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. (2015).** Free Radicals in Biology and Medicine. 5th Edition. USA: Oxford University Press. ISBN: 9780198717478 (Online ISBN: 9780191802133)
- Hayta, M., Hendek Ertop, M. (2017).** Optimisation of sourdough bread incorporation into wheat bread by response surface methodology: bioactive and nutritional properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(8), 1828-1835. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13457>
- Jung, E., Weon, J.B., Ji, H., You, J., Oh, S.Y. Kim, H., Park, D. (2020).** Comparative study of the biological activity of propolis extracts with various countries of origin as cosmetic materials. *Journal of the School of Cosmetic Science of Korea*, 46(2), 159–166.
- Kassim, M., Achoui, M., Mustafa, M.R., Mohd, M.A., Yusoff, K.M. (2010).** Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate in vitro anti-inflammatory activity. *Nutrition Research*, 30, 650–659. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2010.08.008>
- Khalil, M.I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifa, M., Islam, M.A., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey, *Molecules*, 17, 11199-11215. <https://doi.org/10.3390/molecules170911199>
- Kıran, M.D. (2021).** Farklı Kültür Çeşidi Ve Prebiyotik Kaynak Kullanarak Üretilen Balı Propolisli Yoğurtların Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. *Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Manisa.
- Margeretha, I., Suniarti, D.F., Herda, E.M., Alim, Z. (2012).** Optimization and comparative study of different extraction methods of biologically active components of Indonesian propolis *Trigona* spp, *Journal of Natural Products*, 5, 233- 242.
- Mattila, P., Pihlava, J., Hellstro, J., (2005).** Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products, *Journal of The Agricultural Food Chemistry*, 53, 8290-8295. <https://doi.org/10.1021/jf051437z>
- Mendonça, M.A.D., Ribeiro, A.R., Lima, A.K.D., Bezerra, G.B., Pinheiro, M.S., de Júnior, R.L., Cardoso, J.C. (2020).** Red propolis and its dyslipidemic regulator formononetin: evaluation of antioxidant activity and gastroprotective effects in rat model of gastric ulcer. *Nutrients*, 12 (10), 2951. <https://doi.org/10.3390/nu12102951>
- Michalska, A., Ceglinska, A., Amarowicz, R., Piskula, M. K., Szawara-Nowak, D., Zielinski, H. (2007).** Antioxidant contents and antioxidative properties of traditional rye breads, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 734-740. <https://doi.org/10.1021/jf062425w>
- Moon, J.K., Shibamoto, T. (2009).** Antioxidant assays for plant and food components. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 57, 1655-1666.

<https://doi.org/10.1021/jf803537k>

Moreno, M.I.N., Isla, M.I., Sampietro, A.R., Vattuone, M.A. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 109–114.

[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-0)

Nori, M. P., Favaro Trindade, C.S., De Alencar, S.M., Thomazini, M., De Camargo Balieiro, J.C., Castillo, C.J. C. (2011). Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 429-435.

Oses, S.M., Pascual Mate, A., Fernandez Muiño, M.A., Lopez Díaz, T.M., Sancho, M.T. (2016). Bioactive properties of honey with propolis, *Food Chemistry*, 196, 1215–1223.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.050>

Rizzello, C.G., Curiel, J.A., Nionelli, L., Vincentini, O., Cagno, R.D., Silano, M., Gobetti, M., Coda, R. (2014). Use of fungal proteases and selected sour dough lactic acid bacteria for making wheat bread with an intermediate content of gluten. *Food Microbiology*, 37, 59-68.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.017>

Shahidi, F., Naczki, M. (1995). Methods of analysis and quantification of phenolic compounds. *Food Phenolic: Sources, Chemistry, Effects and Applications*, 287-293.

Silici, S., Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honey bees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 69–73.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.046>

Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of rhododendron honeys, *Food Chemistry*, 121 238–243.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.078>

Soylu, P., Bayram, B. (2020). Bal, propolis, arı sütü, çivan

perçemi (*Achillea millefolium*) ve ekinezya (*Echinacea paradoxa*) karışımından fonksiyonel gıda üretimi, ürünün fiziko-kimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(1), 25-38.

Şeker, İ.T., Hendek Ertop, M., Hayta, M. (2016). Physicochemical and bioactive properties of cakes incorporated with gilaburu fruit (*Viburnum opulus*) pomace. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 8(2), 261-266.

<https://doi.org/10.3920/QAS2014.0542>

Şenol Yazkan, S.N. (2022). Kestane Propolisinden Bioaktif Bileşik Ekstraksiyon Proseslerinin Yüzey Yanıt Yöntemi İle Optimizasyonu Ve Ekstraktların Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Kastamonu.

Taş-Küçükaydın, M., Tel-Çayan, G., Çayan, F., Küçükaydın, S., Çiftçi, B. H., Ceylan, Ö., Duru, M. E. (2023). Chemometric classification of chestnut honeys from different regions in Turkey based on their phenolic compositions and biological activities. *Food Chemistry*, 415, 135727.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135727>

Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (No: 2020/07). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2020/04/20200422-13.htm> (erişim tarihi 17.07.2023).

Yıldız, O. (2011). Bir Gıda Maddesi Olarak Kestane Poleninin Kimyasal Bileşimi, Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rolü. Doktora Tezi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Trabzon.

Yıldız, O., Karahalil, F., Can, Z., Sahin, H., Kolaylı, S. (2014). Total monoamine Oxidase (MAO) inhibition by chestnut honey, pollen and propolis. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 29(5), 690–694.

<https://doi.org/10.3109/14756366.2013.843171>

Zalibera, M., Stasko, A., Slebodova, A., Jancovicova, V., Cermakova, T., Brezova, V. (2008). Antioxidant and radical-scavenging activities of Slovak honeys—An electron paramagnetic resonance study. *Food Chemistry*, 110(2), 512-521.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.015>

Zeytinyağı oleojelinin şortening ikame maddesi olarak kullanılmasının kekin kalite özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi

Zeynep EROĞLU¹, Necla ÖZDEMİR ORHAN²

Cite this article as:

Eroğlu, Z., Özdemir Orhan, N. (2024). Zeytinyağı oleojelinin şortening ikame maddesi olarak kullanılmasının kekin kalite özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi. *Food and Health*, 10(1), 40-51. <https://doi.org/10.3153/FH24004>

¹ Munzur Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 62000 Tunceli, Türkiye

² Bitlis Eren Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 13100 Bitlis, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

Z.E. 0000-0002-6817-546X

N.Ö.O. 0000-0003-2581-1275

Submitted: 19.07.2023

Revision requested: 25.09.2023

Last revision received: 12.10.2023

Accepted: 17.10.2023

Published online: 10.12.2023

Correspondence:

Zeynep EROĞLU

E-mail: zeroglu@munzur.edu.tr



© 2023 The Author(s)

Available online at

<http://jfn.sscientificwebjournals.com>

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, zeytinyağı oleojelinin kek üretiminde katı yağ (şortening) ikamesi olarak kullanım potansiyelini araştırmaktır. Bu amaçla, kek formülasyonundaki şortening miktarı % 25 (% 25 Oleojel-kek) ve % 50 (% 50 Oleojel-kek) oranlarında oleojel ile ikame edilmiştir. Kontrol örneğinde (Kontrol-kek) ise yağ olarak sadece şortening kullanılmıştır. Kontrol-kek, % 25 Oleojel-kek ve % 50 Oleojel-kek hamurlarının özgül ağırlıkları, sırasıyla, 0.90 ± 0.00 , 0.98 ± 0.00 ve 1.06 ± 0.01 'dir. Kek hamurlarının tamamı kaymayla azalan akış özelliği ($n < 1$, psödoplastik) sergilemiş ve Herschel-Bulkley modeline uygunluk göstermiştir (R^2 , 0.9975-0.9950). Oleojel içeren kek hamurlarının görünür viskozite değerleri Kontrol-kek örneğine göre daha düşüktür ($p < 0.05$). Kek hamurlarının G' değerleri, G'' değerlerinden daha yüksektir ve bu durum örneklerin katı benzeri yapı sergilediğine işaret etmektedir. En yüksek sertlik değeri Kontrol-kek örneğine (403.92 ± 14.84 g) ait iken en düşük sertlik değeri % 50 Oleojel-kek örneğine (303.11 ± 12.10 g) aittir ($p < 0.05$). Formülasyona ilave edilen oleojel miktarı arttıkça keklerin elastikiyeti artmıştır ($p < 0.05$). Duyusal analiz parametreleri açısından örnekler arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$). Elde edilen sonuçlar, kek yapımında şortening yerine oleojel kullanımının umut vadeden bir geleceğinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Zeytinyağı, Oleojel, Şortening, Kek, Yağ ikamesi

ABSTRACT

Determination of the effect of olive oil oleogel as a shortening replacer on quality properties of cake

This study investigates the potential of using olive oil oleogel as a solid fat substitute in cake production. For this purpose, the shortening content in the cake formula was replaced with 25% (25% Oleogel-cake) and 50% (50% Oleogel-cake) of the oleogel. Only shortening was used as oil in the control sample (Control cake). The specific gravity values of the Control-cake, 25% Oleogel-cake, and 50% Oleogel-cake batters were 0.90 ± 0.00 , 0.98 ± 0.00 , and 1.06 ± 0.01 , respectively. All cake batters displayed shear thinning behaviour ($n < 1$, pseudoplastic) and conformed to the Herschel-Bulkley model (R^2 , 0.9975-0.9950). The apparent viscosity values of the cake batters containing oleogel were lower than those of the control cake. G' values were higher than G'' values in all cake batters, indicating that all samples had solid-like structures. The highest hardness value belonged to the Control-cake (403.92 ± 14.84 g), while the lowest belonged to the 50% Oleogel-cake (303.11 ± 12.10 g). As the amount of oleogel added to the cake formulation increased, the elasticity of the cakes increased. Differences between the samples regarding the sensory analysis parameters were statistically insignificant ($p > 0.05$). The results show that using oleogel as a substitute for shortening in cake preparation has a promising future.

Keywords: Olive oil, Oleogel, Shortening, Cake, Fat replacement

Giriş

Son yıllarda sağlık bilincinin artmasına paralel olarak gıda endüstrisi, sağlıklı ürün yelpazesini genişletmektedir. Beslenmeye daha az zaman ayırmak zorunda kalan ve atıştırılmalık seven bireylerin tercih ettiği kek, kraker, bisküvi ve gofret gibi ürünlerde de günden güne sağlıklı ürün arayışı artmaktadır (Doğan ve ark., 2012). Lezzeti, çeşitliliği, besleyicilik değeri ve tüketim kolaylığı ile yumuşak buğday ürünü olan kek, unlu mamüller endüstrisinin en önemli ürünüdür (Baltacıoğlu ve Uyar, 2017). Kek üretiminde un ve şekerden sonra temel bileşen olarak yağ kullanılmaktadır. Kekin çeşidine göre kullanılan yağ miktarı % 10-30 arasında değişmektedir ve istenilen yapısal özellikleri sağlamak için yüksek oranda doymuş yağ içeren katı yağlar kullanılmaktadır (Zhou ve ark., 2011). Endüstriyel kek üretiminde daha çok palm, pamuk, aspir, ayçiçeği ve kanola yağlarından hidrojenasyon, interesterefikasyon ve fraksiyone kristalizasyon gibi yöntemlerle elde edilen şortening tercih edilmektedir (Kaçar, 2010).

Doymuş ve trans yağ asitleri bakımından zengin olan beslenme biçimi; kardiyovasküler hastalıklar, tip-II diyabet, birçok metabolizma bozukluğu ve obezitenin önde gelen sebeplerinden biri olarak görülmektedir (Roche, 2005). Dünya Sağlık örgütü (WHO), 2018'de yayınladığı REPLACE politikası ile 2023 yılına kadar endüstriyel trans yağların gıda endüstrisinde kullanımının kaldırılmasını hedeflemiştir (Silva ve ark., 2023). Stender (2020) tarafından yapılan bir çalışmada; İran, Türkiye, Yunanistan, Ermenistan, Kırgızistan, Gürcistan, Sırbistan, Hırvatistan ve Slovenya'nın başkentlerinde bulunan büyük marketlerden kek, bisküvi ve gofret örnekleri toplanmış ve bu örneklerin trans yağ içerikleri belirlenmiştir. Ülkemizden 32 adet örnek toplanmış olup bunların 6 tanesinde toplam yağın % 2 ile % 5'i arasında trans yağ asidi tespit edilmiştir.

Yağları yapılandırmak için yukarıda bahsedilen yöntemler yerine daha yenilikçi ve sağlıklı yöntemler araştırılmaktadır. Bunlardan birisi olan oleojelasyon tekniğinde; bir oleojelatör (jel ajanı) yardımı ile sıvı bitkisel yağ, üç boyutlu jel ağında tutulur ve oleojel adı verilen yarı katı bir madde oluşturmak üzere jelleşir (Yu ve ark., 2022). Oleojelatör olarak bitkisel mumlar, yağ asitleri, yağ asidi esterleri, fitosteroller, lesitin ve selüloz türevleri gibi maddeler kullanılmaktadır. (Demirkesen, 2017; Badem ve Baştürk, 2023). Oleojelasyon tekniği zeytinyağı gibi değerli yağların yapılandırılmasında da kullanılmaktadır. Zeytinyağının % 80'ini trigliseritler oluşturmakta ve zeytinyağı esansiyel yağ asitlerinin tamamını bünyesinde bulundurmaktadır. Yağda çözünen vitaminlerin kaynağı olarak görülen zeytinyağı, doymamış yağ oranı yüksek bir meyve yağı olarak kardiyovasküler hastalıklara

karşı koruyucu etkiye sahiptir. Ayrıca içeriğinde bulunan fenolik bileşenler, squalen ve oleuropein gibi maddelerle anti-kanserojen, antibakteriyel ve anti-inflamatuar etkilere de sahiptir (Armutçu ve ark., 2013). Alongi ve ark. (2022) farklı oleojelatörler kullanarak, zeytinyağının oleojel kapasitesi ve biyokimyasal özelliklerini incelemiştir. Çalışmada; zeytinyağı oleojelinin, zeytinyağının farklı alanlarda fonksiyonel olarak kullanımını yaygınlaştırabileceği vurgulanmıştır ve zeytinyağında bulunan biyoaktif bileşenlerin, oleojel formunda korunduğu belirtilmiştir.

Oleojellerin doymuş yağ yapılarına benzer özellikler göstermeleri nedeniyle margarin, sürülebilir ürünler, et ürünleri, şekerleme ve unlu mamullerde kullanımını ile ilgili yapılan çalışmalar günden güne artmaktadır (Ferro ve ark., 2021; Roy ve ark., 2022). Oleojellerin toplumun birçok kesimi tarafından sevilerek tüketilen bir ürün olan kekin üretiminde de kullanımını söz konusudur. Malvano (2022) tarafından yapılan bir çalışmada; zeytinyağı oleojeli, peyniraltı suyu proteinleri ve emülgatörlerle karıştırılarak kek yapımında tereyağı yerine kullanılmıştır. Elde edilen karışım oranında tereyağı yerine kullanılmış ve karışımdaki oleojel oranı arttıkça, kek örneklerinin sertlik değerlerinde düşüş görülmüştür. Ayrıca, bu ürünlerin depolamada küflere karşı daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Farklı bir çalışmada; kandelila vaksı kullanılarak hazırlanan kanola yağı oleojeli, pandispanya keklerinin üretiminde tereyağına ikame olarak kullanılmıştır. Kek formülasyonlarında kullanılan oleojel miktarı arttıkça, kekin tekstürel özelliklerinin iyileştiği ve nişastanın sindirilebilirliğinin arttığı belirtilmiştir (Alvarez-Ramirez ve ark., 2020).

Bu çalışmada gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir oleojelatör olan balmumu yardımı ile zeytinyağı oleojeli üretilmiştir. Daha sonra, elde edilen oleojel belirli oranlarda şortening ile ikame edilerek (% 25 ve % 50) kek yapımında kullanılmıştır. Çalışmanın amacı, zeytinyağı oleojelinin şortening ikame maddesi olarak kullanılmasının kek hamuru reolojisi ve kekin fiziksel ve tekstürel özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesidir.

Materyal ve Metot

Materyal

Balmumu (KahlWax 8108 White Food Beeswax, *Apis mellifera*'nın peteklerinden elde edilmiştir, E901 kodlu gıda katkı maddesidir.) IMCD Türkiye (İstanbul, Türkiye) firması tarafından ücretsiz olarak temin edilmiştir. Şortening yerel bir

pastaneden satın alınmıştır. Çalışmada kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır. Analizler en az 2 tekerrür halinde yürütülmüştür.

Oleojel Üretimi

Oleojel üretiminde daha önce yapmış olduğumuz çalışma baz alınmış olup, yöntemde küçük değişiklikler yapılmıştır (Orhan-Ozdemir ve Eroglu, 2022). Zeytinyağı uygun bir behere alınmış ve ısıtıcı yardımı ile 70°C'a ısıtılmıştır. Daha sonra üzerine balmumu ilave edilmiş (zeytinyağı: % 90, balmumu: % 10, m/m) ve manyetik karıştırıcı yardımıyla 5 dk. karıştırılmıştır. Ardından, zeytinyağı-balmumu karışımı sıcaklığı 70°C'a sabitlenmiş olan su banyosunda 1 saat boyunca çalkalanmıştır (200 rpm). Su banyosundan alınan karışım oda sıcaklığında soğutulmuş zeytinyağı-balmumu oleojeli elde edilmiştir. Elde edilen oleojel buzdolabında (4°C) saklanmış olup analizden 1 saat önce buzdolabından çıkarılmıştır.

Yağ Bağlama Kapasitesinin Belirlenmesi

Zeytinyağı-balmumu oleojeli 70°C sıcaklıktaki su banyosunda eritilmiştir. Eritilen oleojelden 1 mL alınarak ağırlığı önceden kaydedilmiş olan Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra Eppendorf tüpleri buzdolabında soğumaya bırakılmıştır (24 saat). Ardından, içerisinde oleojel bulunan tüplerin ağırlığı tartılmış ve oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir (6000 rpm / 15 dk). Santrifüj işleminden sonra oleojel yapısından ayrılan sıvı yağ alınmış ve tüpün ağırlığı tekrar tartılmıştır (Choi ve ark., 2020). Oleojelden salınan yağ miktarı ve buna bağlı olarak da oleojelin yağ bağlama kapasitesi aşağıda verilmiş olan eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Salınan yağ (\%)} = \frac{\text{Salınan yağ kütlesi (g)}}{\text{Numunenein toplam kütlesi (g)}} \times 100$$

$$\text{Yağ bağlama kapasitesi (\%)} = 100 - \text{Salınan yağ (\%)}$$

Kek Yapımı

Kek yapımında 100 g un için; 120 mL su, 80 g şeker, 50 g şortening, 12 g yağsız süt tozu, 8 g yumurta akı tozu, 3 g kabartma tozu, 1 g vanilin ve 1.5 g tuz kullanılmıştır (AACCI, 2010). Formülasyonun bu haliyle kontrol örneği (Kontrol-kek) hazırlanmış olup, şortening miktarının % 25 ve % 50'sinin yerine zeytinyağı oleojeli kullanılarak, sırasıyla, % 25 Oleojel-kek ve % 50 Oleojel-kek formülasyonları hazırlanmıştır. Bu oranlar daha önce yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak belirlenmiştir (Khiabani ve ark., 2020; Adili ve ark., 2020; Kim ve ark., 2017). Su dışındaki bütün malzemeler karıştırma kabına alınmış (Cookplus Promix Ef802, Karaca Züccaciye Tic. ve San. A.Ş., Türkiye) ve üzerine formülasyonda belirtilen suyun % 60'ı ilave edilmiştir. Karışım,

önce düşük devirde (devir 3) 30 s ve ardından hızlı devirde (devir 6) 4 dk. karıştırılmıştır. Ardından kalan suyun yarısı ilave edilmiş ve aynı karıştırma işlemi tekrarlanmıştır. Son olarak, kalan su ilave edilip malzemeler tekrar aynı şekilde karıştırılarak kek hamuru elde edilmiştir. Kek hamuru ortalama 4 cm çapa sahip metal kek kalıplarına doldurulup 200°C'da 25 dk. pişirilmiştir. Pişirilen kekler oda sıcaklığında soğumaya bırakılmış (1 saat) ve ardından analizler yapılmıştır.

Hamurun Özgül Ağırlığı

Sabit ağırlığa getirilerek darası alınan bir kap içerisine saf su ilave edilerek kabın hacmi belirlenmiştir. Ardından aynı kaba kek hamuru ilave edilmiş ve ağırlığı kaydedilmiştir. Aşağıdaki formül kullanılarak kek hamurunun özgül ağırlığı hesaplanmıştır (AACCI, 2010).

$$\text{Özgül ağırlık} = \frac{\text{Bilinen hamur hacminin ağırlığı (g)}}{\text{Eşit hacimdeki suyun ağırlığı (g)}}$$

Hamurun Reolojik Analizi

Kek hamurlarının reolojik ölçümlerinde sıcaklık kontrol ünitesi ile kombine edilmiş Anton Paar MCR 102 reometre (Anton Paar GmbH, Graz, Avusturya) kullanılmıştır. Tüm ölçümler 25°C'da yapılmıştır. Analiz için paralel plaka konfigürasyonu kullanılmış olup, plakalar arasındaki boşluk 1 mm olarak ayarlanmıştır.

Sabit Kayma Akış Davranış Özelliklerinin Belirlenmesi

Kek hamurlarının viskozitesi 1-100 s⁻¹ kayma hızı aralığında elde edilmiş ve ölçümler 25°C'da gerçekleştirilmiştir. Analiz esnasında 10 s aralıklar ile toplam 30 veri alınmıştır. Elde edilen veriler Herschel-Bulkley modeline uygunluk göstermiştir.

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n$$

Burada τ : kayma gerilimi (Pa), τ_0 : akma gerilimi (Pa), K: kıvam indeksi (Pa.s), $\dot{\gamma}$: kayma hızı (s⁻¹) ve n: akış davranış indeksidir.

Dinamik Kayma Akış Davranış Özelliklerinin Belirlenmesi

Kek hamurlarının bulunduğu lineer viskoelastik bölge (LVB), sabit bir frekansta (1 Hz) stres tarama testi (stress sweep, 0.01-10 Pa) yapılarak belirlenmiştir. LVB; modül değerlerinin sabitlendiği bölgedir ve bu bölgede belirlenen kritik stres değeri frekans kayma analizinde kullanılır. Kek hamurlarının kritik stres değerleri; Kontrol-kek, % 25 Oleojel-kek ve % 50 Oleojel-kek hamurları için, sırasıyla, 1.75, 0.6 ve 0.3 Pa olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, dinamik

kayma davranış özelliklerinin belirlenmesi için kullanılacak değerler; sırasıyla, 1, 0.5 ve 0.2 Pa olarak seçilmiştir. Daha sonra örneklerin viskoelastik özelliklerinin belirlenmesi için frekans taramasına geçilmiştir ve bu işlem 0.1–10 Hz aralığında 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Frekans taramasından önce örnekler 5 dk. bekletilerek sıcaklıklarının dengelenmesi ve örneklerin rahatlaması sağlanmıştır. Anton Paar's RheoCompass™ yazılımı kullanılarak örneklerin elastik modülü (G') ve viskoz modülü (G'') değerleri elde edilmiştir.

Pişme Kaybı Analizi

Kek yapımında kullanılan kalıpların darası alınmış ve kalıba ilave edilen hamurun ağırlığı kaydedilmiştir. Ardından pişirme işlemi uygulanmış ve kekler soğumaya bırakılmıştır. Soğuma işleminin ardından pişen keklerin ağırlığı kaydedilmiş ve aşağıda verilen formül kullanılarak pişme kaybı hesaplanmıştır (Yang ve ark., 2021).

$$\text{Pişme Kaybı (\%)} = \frac{\text{Hamur ağırlığı (g)} - \text{Kek ağırlığı (g)}}{\text{Hamur ağırlığı (g)}} \times 100$$

Nem Analizi

Keklerin nem içeriğinin belirlenmesi için 2 g ufalanmış örnek tartılmış ve 102°C'da etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletilmiştir. Ağırlık farkından yararlanılarak örneklerin sahip olduğu nem hesaplanmıştır (AOAC, 2000).

Renk Analizi

Kek örneklerinin renk değerleri Minolta CR-400 model renk cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Konica Minolta CR-400, Tokyo, Japan). Cihaz ölçümlerden önce Minolta kalibrasyon plakası kullanılarak kalibre edilmiş olup, sonuçlar L^* , a^* ve b^* değerleri şeklinde verilmiştir. L^* değeri 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişen değerlerle parlaklığı; a^* değeri kırmızı (+a) ve yeşilliği (-a); b^* değeri ise sarılık (+b) ve maviliği (-b) ifade etmektedir.

Tekstür Analizi

Kek örneklerinin tekstürel özelliklerinin belirlenmesinde silindirik prob (çap: 36 mm) ile kombine edilmiş tekstür analiz cihazı kullanılmıştır (TA.XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere). Test parametreleri; ön test hızı: 1 mm/s, test hızı: 1 mm/s, test sonrası hız: 10 mm/s, sıkıştırma derinliği % 25 (strain), tetikleme tipi: otomatik 0.049 N ve temas süresi (hold time): 60 s olarak seçilmiştir. Analizde sıkıştırma metodu kullanılmış olup, sertlik (hardness) ve elastikiyet (springiness) değerleri tekstür cihazının yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (Texture Exponent Software, ver: 6.1.18.0, Stable Micro System, Surrey, İngiltere). Analiz 25°C'da yapılmıştır.

Duyusal Analiz

Kek örneklerinin duyu analizinde en az 10 adet eğitimli panelist yer almıştır. Kekler görünüş, renk, koku, tat, tekstür ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirilmiş olup, değerlendirmede 9 puanlı hedonik skala kullanılmıştır (1 = çok kötü, 9 = çok iyi). Örnekler 3 haneli rakamlar ile rastgele numaralandırılmış ve servis esnasında rastgele dizilmiştir. Panelistlerin örnekleri tattıktan sonra tat algısını yenilemeleri ve ağızlarını çalkalamaları için galeta ve su servis edilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS yazılımı (Windows, sürüm 16; IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki anlamlı farkları saptamak için Duncan testi kullanılmıştır ($p < 0.05$).

Bulgular ve Tartışma

Yağ Bağlama Kapasitesi

Bu analiz sonucunda zeytinyağı oleojelinde herhangi bir yağ salınımı gözlenmemiş ve buna bağlı olarak yağ bağlama kapasitesi % 100 olarak bulunmuştur. Ghazani ve ark. (2022) çeşitli mumlar ve bunların farklı kombinasyonlarını kullanarak zeytinyağı oleojelleri elde etmiştir. % 3 oranında balmumu ilave edilerek hazırlanan oleojelde meydana gelen yağ kaybının oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir (% 28). Çalışmada mum oleojellerinin yağ bağlama kapasitesinin, mumların kimyasal bileşimi ve bünyesinde bulunan minör bileşenler (safsızlıklar) ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Tarafımızca yapılan çalışmada elde edilen zeytinyağı oleojelinin daha yüksek yağ bağlama kapasitesine sahip olması, kullanılan mumların kimyasal bileşimlerinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca kullanılan mum miktarının farklı olması da yağ bağlama kapasitesini etkileyen önemli bir etkidir. Daha önce tarafımızca yapılmış olan bir çalışmada; çörekotu yağı-balmumu (90:10, m/m) oleojelinin % 3.88 oranında yağ saldığı görülmüştür (Orhan-Ozdemir ve Eroglu, 2022). Bu durum olejel yapımında kullanılan yağların da farklı özelliklerde ve kimyasal bileşimde olması nedeniyle jel yapısını etkilediğini göstermektedir.

Hamurun Özgül Ağırlığı

Özgül ağırlık, hamurun hava tutma kapasitesini belirlemede kullanılmaktadır (Khalil, 1998; Willett ve Akoh, 2019). Kek hamurlarının özgül ağırlıkları Tablo 1’de gösterilmiştir. En düşük özgül ağırlık değeri kontrol örneğine ait iken en yüksek değer % 50 Oleojel-kek örneğine aittir ($p < 0.05$). Şortening yerine kullanılan oleojel miktarı arttığında, kek hamurunun özgül ağırlığının arttığı görülmektedir. Hava kabarcıkları hamur sisteminin yağ fazında hapsolmaktadır (Jeong ve ark., 2021) ve şortening gibi katı kristallere sahip olan yağlar hava kabarcıklarını adsorbe edebilmekte ve onları stabil hale getirebilmektedir (Willett ve Akoh, 2019). Çalışmamızda kullanılan oleojeller hamurun hava hücrelerini tutma yeteneğini olumsuz etkilemiştir. Bu durum da hamur hacminin azalmasına ve özgül ağırlığın artmasına neden olmuştur. Ayrıca, oleojel içeren kek hamurlarının yüksek özgül ağırlığa sahip olması, bu hamurların düşük viskozitesi ile de ilgili olabilir. Düşük hamur viskozitesi, hava kabarcıklarının hamur yüzeyine göç etmesini önleyemeyebilir ve böylece hava kabarcıklarının hamur içerisinde tutulması güçleşir (Kim ve ark., 2017).

Jeong ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada elde edilen bulgular çalışmamızda elde edilen sonuçları desteklemektedir. Bahsi geçen çalışmada yağ fazı olarak ayçiçek yağı kullanılmış olup oleojelatör olarak da farklı kombinasyonlarda kandelila mumu ve gliserol monostearat kullanılmıştır. Daha sonra elde edilen oleojellerin şortening ikamesi olarak muffin yapımında kullanımı araştırılmıştır. Şortening kullanılan hamurun özgül ağırlığı, oleojellerin kullanıldığı hamurların özgül ağırlığından daha düşük bulunmuştur.

Hamurun Reolojik Yapısı

Sabit Kayma Akış Davranış Özellikleri

Kek hamurlarının sabit kayma hızında göstermiş olduğu akış davranış özellikleri Şekil 1’de gösterilmiştir. Örneklerin tamamı kaymayla azalan akış özelliği (psödoplastik) göstermiş

olup, kayma hızı arttıkça kek hamurlarının viskozitesi azalmıştır. 25°C’da kek hamurlarının kayma gerilimi ve kayma hızı verileri Herschel-Bulkley modeline uygunluk göstermiştir (R^2 , 0.9975-0.9950). Bu modele ait τ_0 (akma gerilimi), K (kıvam indeksi), n (akış davranış indeksi) ve R^2 (determinasyon katsayısı) parametreleri Tablo 1’de verilmiştir.

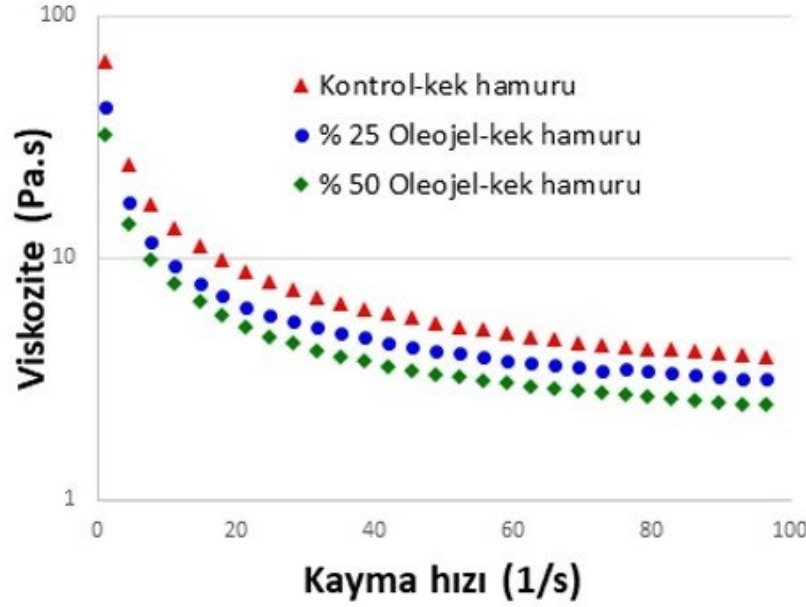
En yüksek n değeri % 25 Oleojel-kek hamuruna ait iken (0.72 ± 0.01) en düşük n değeri Kontrol-kek hamuruna aittir (0.56 ± 0.02) ($p < 0.05$). Bu durum kek hamurlarının kaymayla azalan akış özelliği (psödoplastik) gösterdiğini kanıtlamaktadır ($n < 1$). Akma gerilimi (τ_0), kayma stresi belirli bir seviyeye gelinceye kadar katı özellik gösteren akışkanlarda var olan bir değerdir ve akışın başlaması için ihtiyaç duyulan en düşük kayma stresine denir (Ramaswamy ve Marcotte, 2006; Arıkan 2008). En yüksek τ_0 değerinin Kontrol-kek hamuruna ait olduğu ($p < 0.05$) ve kek formülasyonundaki oleojel oranı arttıkça da bu değer düşüğü görülmektedir. Demirkese ve Mert (2019) tarafından yapılan çalışmada; balmumu-ayçiçek yağı oleojeli elde edilmiş ve çeşitli oranlarda şortening ile ikame edilerek glutensiz kek yapımında kullanılmıştır. Bu çalışmadaki bulgular bizim çalışmamızda elde edilen bulguları desteklemektedir. Demirkese ve Mert (2019) tarafından yapılan kek hamurları kayma ile azalan akış özelliği sergilemiş ve Herschel-Bulkley modeline uygunluk göstermiştir. Örneklerin τ_0 değerleri de oleojel içeren hamurlarda düşmüştür. Oh ve ark. (2017) tarafından çeşitli mum bazlı (pirinç kepeği mumu, kandelila mumu ve balmumu) ayçiçek yağı oleojelleri elde edilmiş ve bu oleojeller yağ ikame maddesi olarak kek yapımında kullanılmıştır. Mum bazlı oleojelleri içeren kek hamurlarının da kaymayla azalan akış özellikleri gösterdiği belirtilmiştir. Benzer sonuçlar Kim ve ark. (2017) tarafından da rapor edilmiştir. Ancak bu çalışmalarda kek hamurlarının Power Law modeline uygun olduğu belirtilmiştir. Bu farklılık kek hamurlarının formülasyonlarının farklı olmasından kaynaklanabilir.

Tablo 1. Kek hamurlarının özgül ağırlık değerleri ve Herschel-Bulkley model parametreleri

Table 1. Specific gravity values and Herschel-Bulkley model parameters of cake batters

Örnek	Özgül Ağırlık	τ_0 (Pa)	K (Pa.s)	n	R^2	η_{50}
Kontrol-kek hamuru	0.90 ±0.00 ^a	49.14 ±0.27 ^c	24.24 ±0.42 ^b	0.56 ±0.02 ^a	0.9975	5.66 ±0.24 ^c
% 25 Oleojel-kek hamuru	0.98 ±0.00 ^b	42.14 ±1.26 ^b	9.84 ±0.66 ^a	0.72 ±0.01 ^b	0.9960	4.11 ±0.13 ^b
% 50 Oleojel-kek hamuru	1.06 ±0.01 ^c	32.75 ±2.15 ^a	10.41 ±0.58 ^a	0.67 ±0.03 ^b	0.9950	3.50 ±0.13 ^a

τ_0 : Akma gerilimi, K: kıvam indeksi, n: akış davranış indeksi, R^2 : determinasyon katsayısı, η_{50} : görünür viskozite Aynı sütunda yer alan “a-c” harfleri örnek grupları arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0.05$).



Şekil 1. Kek hamurlarının görünür viskozite-kayma hızı davranışları

Figure 1. Apparent viscosity-shear rate behavior of cake batters

Kontrol-kek hamurunun K değerinin oleojel ilaveli kek hamurlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, Kontrol-kek hamurunun daha viskoz ve daha güçlü emülsiyon yapısında olduğuna işaret etmektedir (Ng ve ark., 2014). Örneklerin görünür viskozite (η_{50}) sonuçları da Kontrol-kek hamurunun oleojel içeren hamurlara göre daha viskoz yapıda olduğunu kanıtlamaktadır. Bu durum mum bazlı oleojellerin güçlü jeller olmalarına rağmen, yapıları deforme olduğu zaman sertlik değerlerinin hızla azalması ile ilgili olabilir (Demirkesen ve Mert, 2019).

Dinamik Kayma Akış Davranış Özellikleri

Kek hamurlarının elastik modülü (G'), viskoz modülü (G'') ve $\tan \delta$ (G''/G') değerleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Örneklerin viskoelastik özelliklerini belirlemek amacıyla frekans kayma (Frequency Sweep) testi uygulanmıştır. Bütün kek hamurlarının G' değerleri, G'' değerlerinden daha yüksektir ve bu durum katı benzeri bir yapı sergilediklerini göstermektedir (Demirkesen ve Mert, 2019). Kontrol-kek hamurunun G' değerlerinin oleojel içeren kek hamurlarına göre daha yüksek olduğu görülmektedir. G' değerleri ürünün esnekliğini ve deformasyona karşı olan direncini göstermektedir (Brito ve ark., 2022) ve bu nedenle, Kontrol-kek hamurunun oleojel içeren kek hamurlarına göre deformasyona karşı daha güçlü olduğu söylenebilir. Oh ve Lee (2018) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kek hamurlarının

daki oleojel oranı arttıkça G' değerleri azalmıştır. G'' değerlerine bakıldığında, bütün kek hamurlarında artan frekans ile birlikte bu değerde artış söz konusudur. Şorteningin oleojel ile ikame edilmesi sonucunda elde edilen hamurların G'' değerlerinin, Kontrol-kek hamuruna göre daha düşük olduğu görülmektedir. G'' değerinin düşük olması ise emülsiyonun akması için daha az strese ihtiyaç olduğunu ifade eder (Di Mattia ve ark., 2015).

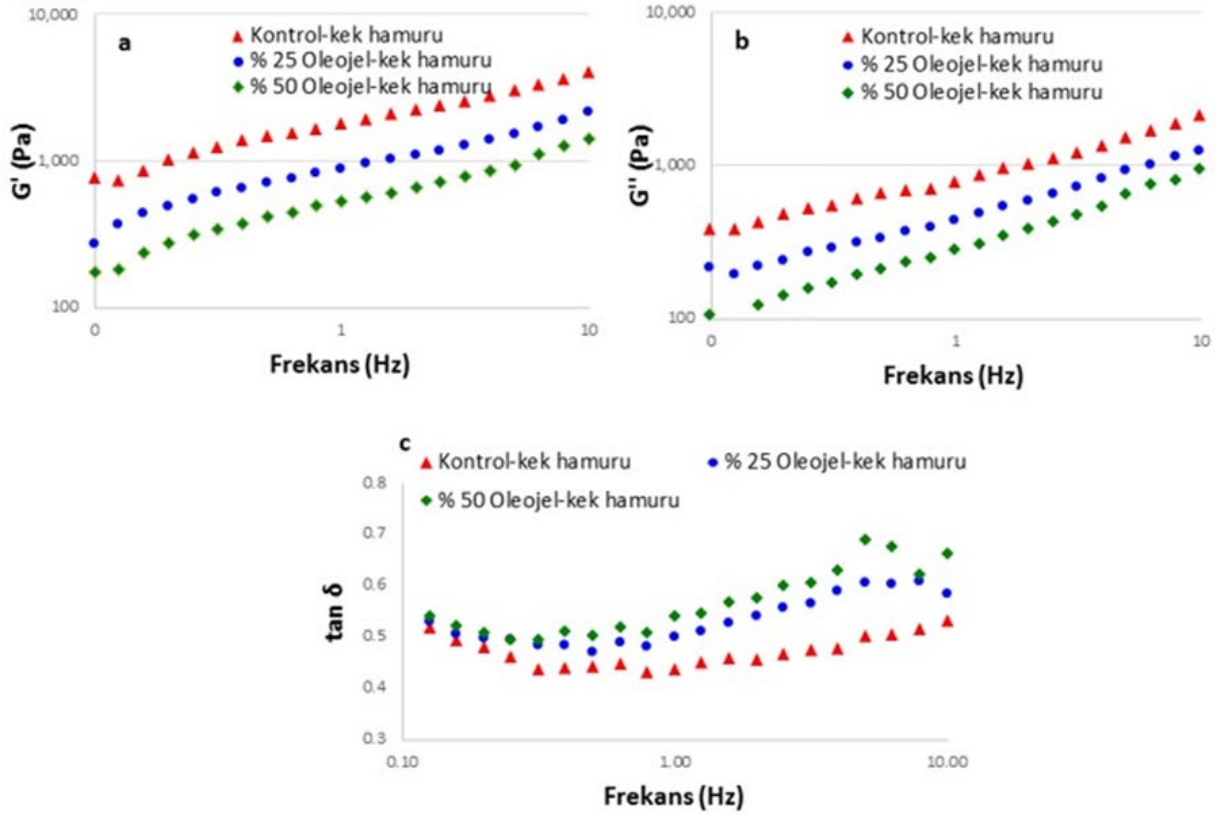
Kek hamurlarının $\tan \delta$ değerlerinin 1'den küçük olması ($\tan \delta < 1$) durumu yine kek hamurlarının katı benzeri bir davranış sergilediklerini göstermektedir (Guadarrama-Lezama ve ark., 2023). Kek hamurlarının $\tan \delta$ değerleri oleojellerle daha fazla şortening ikame edildiğinde artmıştır. Bu durum oleojel içeren kek hamurlarının daha viskoz yapıda olduğunu göstermektedir. Kim ve ark. (2017) ve Oh ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmalarda da kek hamurlarına belirli oranlarda oleojel ikame edildiğinde $\tan \delta$ değerlerinin arttığı bildirilmiştir.

Kek örneklerinin pişme kaybı analizi sonuçları Tablo 2'de görülmektedir. Kek yapımında kullanılan şorteningin oleojel ile ikame edilmesi durumunda, örneklerin pişme kaybı değerlerinin azaldığı görülmektedir. Bu durum; oleojelin, keklerin pişirilmesi esnasında nem kaybına karşı bariyer görevi görmesinden kaynaklanabilir. Benzer sonuçlar hayvansal yağ yerine oleojel kullanılan burger köftesi gibi et ürünlerinde de görülmüştür (Moghtadaei ve ark., 2021; Moghtadaei ve ark., 2018).

Pişme Kaybı

Kek hamurlarının reolojik analiz sonuçlarına bakıldığında kontrol örneğinin elastik modülü değerlerinin oleojel içeren kek hamurlarından çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum oleojelin şorteninge göre daha fazla yağ globülleri

içerdiğini göstermekte olup, hamur içerisinde bu globülleri sarmak için de daha fazla proteine ihtiyaç olduğuna işaret etmektedir. Böylece, ortamda daha fazla hidrofilik grubun bulunması ve bu grupların daha fazla suyu absorbe etmesi söz konusu olabilir (Moghtadaei ve ark., 2021).



Şekil 2. Kek hamurlarının viskoelastik özellikleri: (a) elastiklik modülü (G'); (b) viskoz modülü (G''); (c) $\tan \delta$

Figure 2. Viscoelastic properties of cake batters: (a) storage modulus (G'); (b) loss modulus (G''); (c) $\tan \delta$

Tablo 2. Kek örneklerinin pişme kaybı ve nem içeriği değerleri

Table 2. Cooking loss and moisture content of cake samples

Örnek	Pişme Kaybı (%)	Nem İçeriği (%)
Kontrol-kek	17.45 ± 0.93 ^b	18.08 ± 0.55 ^a
% 25 Oleojel-kek	16.12 ± 0.24 ^a	20.09 ± 0.53 ^b
% 50 Oleojel-kek	15.94 ± 0.04 ^a	20.03 ± 0.75 ^b

Aynı sütunda yer alan "a-b" harfleri örnek grupları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0.05$).

Nem İçeriği

Kek örneklerinin nem içeriği sonuçları Tablo 2’de verilmiştir. Pişme kaybı analizinde elde edilen sonuçların nem analizi sonuçlarını desteklediği görülmektedir. Oleojel içeren kek örneklerinde suyun daha iyi tutulmasına bağlı olarak, kontrol örneğine göre daha yüksek nem değerleri elde edilmiştir ($p < 0.05$). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar konu ile ilgili daha önce yapılmış olan çalışmalar tarafından desteklenmektedir. Giacomozzi ve ark. (2018) yağ fazı olarak yüksek oleik asitli ayçiçek yağı ve jelatör olarak da monostearin and monopalmitin karışımını kullanarak farklı oleojel formülasyonları elde etmiştir. Yapılan optimizasyonda en iyi sonucu veren oleojelleri, muffin yapımında ticari margarin yerine kullanmıştır. Oleojel kullanılan muffinlerin nem oranlarının kontrol örneğine göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışmada kitosan-kanola yağı oleojeli, şortening ikamesi olarak kurabiye yapımında kullanılmış ve oleojel içeren kurabiyelerin nem içeriğinin şortening içeren örnekler göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Brito ve ark., 2022).

Renk Analizi

Kek örneklerinin renk analizi sonuçları Tablo 3’de verilmiştir. Aydınlik değeri olarak bilinen L^* değerinin oleojel içeren kek örneklerinde azaldığı görülmektedir ($p < 0.05$). Bu durum zeytinyağı oleojelinin ($L = 54.80 \pm 1.77$) şorteninge ($L = 93.52 \pm 0.26$) göre daha koyu renkli olmasından kaynaklanmaktadır (veri tabloda gösterilmemiştir). Kek formülasyonunda zeytinyağı oleojeli kullanımı, zeytinyağının sarımsı renge ($b^* = 33.71 \pm 1.44$) sahip olması nedeniyle b^* değerlerinde artışa neden olmuştur ($p > 0.05$).

Oh ve Lee (2018) tarafından yapılan çalışmada elde edilen bulgular, çalışmamızda elde edilen sonuçları desteklemektedir. Kek yapımında şortening ikamesi olarak kullanılan ayçiçek yağı-hidroksipropil metilselüloz oleojeli, L^* değerinin azalmasına ve b^* değerinin artmasına neden olmuştur. Başka

bir çalışmada glutensiz kek yapımında şortening ikamesi olarak balmumu-ayçiçek yağı oleojeli kullanılmıştır. Oleojel kullanımı keklerin L^* değerlerinde azalmaya neden olurken a^* ve b^* değerlerinde ise önemli bir değişikliğe neden olmamıştır (Demirkesen ve Mert, 2019). Bu farklılıklar muhtemelen oleojel yapımında kullanılan yağ ve oleojelatörlerin farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Tekstür Analizi

Kek örneklerinin tekstürel özellikleri Tablo 3’de verilmiştir. Kek yapımında kullanılan şorteningin % 25 ve % 50 oranında oleojel ile ikame edilmesi durumunda, elde edilen keklerin sertlik değerlerinin azaldığı görülmektedir ($p < 0.05$). Bu durum, oleojel içeren kek hamurlarının özgül yoğunluğunun daha yüksek olmasına bağlı olarak, daha yoğun yapıya ve daha düşük hava tutma kapasitesine sahip olmalarından kaynaklanabilir (Oh ve Lee, 2018). Oleojel ikamesi ile sertliği azalan kekler daha yumuşak olmuş ve buna bağlı olarak elastikiyet değerleri artmıştır (Faber ve ark., 2017).

Oleojelatör olarak hidroksipropil metilselüloz kullanılarak ayçiçek yağı oleojelinin elde edildiği bir çalışmada; elde edilen oleojel, kruvasan yapımında farklı oranlarda şortening ikame maddesi olarak kullanılmıştır (% 50, % 60, % 70 ve % 100) (Espert ve ark., 2023). Oleojel ilaveli kruvasanların sertlik (penetrasyon testi) değerlerinin azaldığı görülmüştür. Bu durum, oleojel içeren örneklerde katı yağ kristallerinin az bulunmasına veya hiç bulunmamasına bağlanmıştır. Ayrıca oleojel içeren kruvasanların tekstür profil analizinde elastikiyet değerlerinin de arttığı ifade edilmiştir. Oh ve Lee (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada; kek yapımında farklı oranlarda şortening ikame maddesi olarak ayçiçek yağı oleojeli kullanılmıştır (% 25, % 50 ve % 100). Tarafımızca yapılan çalışmada olduğu gibi, yağ içeriğinin % 25 ve % 50’si oleojel ile ikame edilen keklerin sertlik değerlerinin düştüğü elastikiyet değerlerinin de arttığı belirtilmiştir.

Tablo 3. Kek örneklerinin renk parametreleri ve tekstür özellikleri

Table 3. Color and texture parameters of cake samples

Örnek	L^*	a^*	b^*	Sertlik (g)	Elastikiyet (%)
Kontrol-kek	79.04 ± 1.99 ^b	-1.02 ± 0.10 ^a	18.79 ± 0.60 ^a	403.92 ± 14.84 ^c	42.29 ± 1.99 ^a
% 25 Oleojel-kek	76.91 ± 1.05 ^{ab}	-1.02 ± 0.05 ^a	20.42 ± 0.28 ^a	338.36 ± 28.60 ^b	45.64 ± 1.57 ^b
% 50 Oleojel-kek	72.67 ± 2.26 ^a	-0.92 ± 0.01 ^a	21.00 ± 1.63 ^a	303.11 ± 12.10 ^a	46.31 ± 3.37 ^b

Aynı sütunda yer alan “a-c” harfleri örnek grupları arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0.05$).

Duyusal Analiz

Kek örneklerinin duyusal analiz sonuçları Tablo 4' de verilmiştir. En yüksek görünüş değerine % 50 Oleojel-kek örneği sahiptir. Kekler renk açısından değerlendirildiğinde, oleojel ikamesinin renk beğenisini düşürdüğü görülmektedir. Ancak, bu farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Renk analizi sonuçları da örnekler arasındaki farklılığı doğrulamaktadır. Kek formülasyonunda zeytinyağı oleojeli kullanımına bağlı olarak, aydınlık değerinin azalması ve sarılık değerinin artması panelistler açısından standart kek görüntüsünden farklı algılanmış olabilir.

Koku değerlerine bakıldığında ise en çok beğenilen örneğin % 25 Oleojel-kek olduğu görülmektedir ($p > 0.05$). Zeytinyağı kokusu % 25 Oleojel-kek örneğinde beğenilmiş iken % 50 Oleojel-kek örneğinde tam tersi bir etki göstermiştir. Bu durum şortening ile ikame edilmiş oleojel miktarının artmasından kaynaklanabilir. Miktar artışına bağlı olarak zeytinyağı kokusu baskın hale gelmiş ve diğer örneklerle göre daha düşük puan almıştır. Kontrol-kek ve % 25 Oleojel-kek örnekleri lezzet açısından en yüksek puanlara sahip iken, % 50 Oleojel-kek örneği en az beğenilen örnek olmuştur ($p > 0.05$). Kek örnekleri tekstür açısından değerlendirildiğinde ise lezzet ile benzer sonuçların alındığı görülmektedir. % 25 Oleojel-kek örneği genel beğeni açısından en yüksek değeri alırken, kontrol örneği en düşük değeri almıştır ($p > 0.05$). % 50 Oleojel-kek örneği; renk, koku, lezzet ve tekstür bakımından kontrol örneğinden daha düşük puanlar almasına rağmen genel beğeni değerlendirmesinde kontrol örneğinden daha yük-

sek puan almıştır ($p > 0.05$). Bu durum zeytinyağı oleojelinden gelen renk, koku, lezzet ve tekstür farklılığının tüketicide kötü olarak algılanmadığının göstergesi olabilir. Wettlaufer ve Floter (2022) tarafından benzer sonuçlar elde edilmiş ve mum bazlı oleojellerin kek formülasyonunda iyi performans sergilediği belirtilmiştir.

Sonuç

Kek yapımında kullanılan şorteningin % 25 ve % 50 oranlarında zeytinyağı oleojeli ile ikame edilmesi, hem kek hamurunda hem de kek örneklerinde bir takım değişikliklere neden olmuştur. Oleojel ilavesi ile kek hamurlarının hava tutma kapasitesi azalmış, ancak oleojellerin nem kaybına karşı bariyer görevi görmesi ile pişme kaybı azalmıştır. Kek yapımında oleojel kullanımı ile tekstürel açıdan daha yumuşak ve daha elastik kekler elde edilmiştir. Duyusal değerlendirmede oleojel ilave edilen kekler, genel beğeni kategorisinde panelistler tarafından daha çok beğenilmiştir. Özellikle % 25 Oleojel-kek örneği lezzet açısından Kontrol-kek örneği ile aynı puanı aldığından, kek formülasyonundaki şorteningin % 25 oranında zeytinyağı oleojeli ile ikame edilmesi önerilmektedir. Bu durum, fırıncılık ürünlerinde şortening yerine oleojel kullanımının büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu ürünlerde oleojel kullanımı ile doymuş yağ kullanımını sınırlandırılmış olacak ve daha sağlıklı ürünler tüketime sunulacaktır. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda, zeytinyağı oleojeli kullanımından kaynaklı ürüne kazandırılmış olan fonksiyonel özellikler irdelenmelidir. Ayrıca, oleojel kullanımının ürünün raf ömrüne olan etkisi araştırılmalıdır.

Tablo 4. Kek örneklerinin duyusal özellikleri

Table 4. Sensory evaluation results of cake samples

Örnek	Görünüş	Renk	Koku	Lezzet	Tekstür	Genel Beğeni
Kontrol-kek	7.15 ±0.07	7.50 ±0.28	6.95 ±0.35	7.35 ±0.35	6.75 ±0.49	7.00 ±0.14
% 25 Oleojel-kek	7.10 ±0.42	7.45 ±0.21	7.10 ±0.00	7.35 ±0.07	6.75 ±0.35	7.35 ±0.21
% 50 Oleojel-kek	7.35 ±0.64	7.30 ±0.00	6.85 ±0.21	6.65 ±0.64	6.60 ±0.14	7.25 ±0.21

Örnekler arasındaki fark istatistiki olarak önemli değildir ($p > 0.05$).

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar, bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Çalışma etik izin gerektirmemektedir.

Veri erişilebilirliği: Veriler talep üzerine sağlanacaktır.

Finansal destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Teşekkür: -

Açıklama: -

Kaynaklar

AACCI (2010). *Approved Methods of Analysis* (11 ed.). Method 10-00.01 Baking quality of cake flour; Method 10-15.01 Baking quality of angel-cake flour. AACCI International, St Paul, MN, USA.

Adili, L., Roufegarinejad, L., Tabibiazar, M., Hamishekar, H., Alizadeh, A. (2020). Development and characterization of reinforced ethyl cellulose based oleogel with adipic acid: Its application in cake and beef burger. *LWT-Food Science and Technology*, 126, 109277. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109277>

Alongi, M., Paolo, L., Clodoveo M.L., Schena, P.F. (2022). Oleogelation of extra virgin olive oil by different oleogelators affects the physical properties and the stability of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 368, 130779. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130779>

Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E.J., Carrera-Tarrela, Y., Garcia, A., Roldan-Cruz, C. (2020). Effects of candelilla wax/canola oil oleogel on the rheology, texture, thermal properties and in vitro starch digestibility of wheat sponge cake bread. *LWT-Food Science and Technology* 130,109701. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109701>

AOAC (2000). *Official methods of analysis of AOAC International* (17 ed.). Method 935.36 Solid (total) in bread. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA.

Arıkan, B. (2008). Sıcaklık, pH ve konsantrasyonun ayva püresinin reolojik özellikleri üzerine etkisi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 84 s.

Armutçu, F., Namuslu, M., Yüksel, R., Kaya M. (2013). Zeytinyağı ve sağlık: biyoaktif bileşenleri, antioksidan özellikleri ve klinik etkiler. *Konuralp Tıp Dergisi*, 5(1), 60-68.

Badem, Ş., Baştürk, A. (2023). Oxidative stability and characterization of oleogels obtained from safflower oil-based beeswax and rice bran wax and their effect on the quality of cake samples. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1–15. <https://doi.org/10.1002/aocs.12694>

Baltacıoğlu, C., Uyar M. (2017). Kabak (*Cucubita pepo* L.) Tozunun kek üretiminde potansiyel kullanımı ve kek kalite parametrelerine etkisi. *Akademik Gıda*, 15(3), 274-280. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.345267>

Brito, G.B., Peixoto, V.O.D.S., Martins, M.T., Rosário, D.K.A., Ract, J.N., Conte-Júnior, C.A., Torres, A.G., Castelo-Branco, V.N. (2022). Development of chitosan-based oleogels via crosslinking with vanillin using an emulsion templated approach: Structural characterization and their application as fat-replacer. *Food Structure*, 32, 100264. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2022.100264>

Choi, K.O., Hwang, H.S., Jeong, S., Kim, S., Lee, S. (2020). The thermal, rheological, and structural characterization of grapeseed oil oleogels structured with binary blends of oleogelator. *Journal of Food Science*, 85(10), 3432-3441. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15442>

Demirkesen, İ. (2017). Farklı mumlarla oluşturulan oleojellerin reolojik ve tekstürel özellikleri. *GIDA / The Journal of Food*, 42(1). <https://doi.org/10.15237/gida.GD16059>

Demirkesen, I., Mert, B. (2019). Utilization of beeswax oleogel-shortening mixtures in gluten-free bakery products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(5), 545-554. <https://doi.org/10.1002/aocs.12195>

Di Mattia, C., Balestra, F., Sacchetti, G., Neri, L., Mastroluca, D., Pittia, P. (2015). Physical and structural properties of extra-virgin olive oil-based mayonnaise. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 764-770. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.065>

Doğan, İ.S., Akbaş, Ö., Tunçtürk, Y. (2012). Yağı azaltılmış kek üretiminde ekzopolisakkarit kullanımı. *GIDA / The Journal of Food*, 37(3), 141-148

Espert, M., Wang, Q., Sanz, T., Salvador, A. (2023). Sunflower oil-based oleogel as fat replacer in croissants: textural and sensory characterisation. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1943–1952.

<https://doi.org/10.1007/s11947-023-03029-w>

Faber, T.J., Jaishankar, A., McKinley, G.H. (2017). Describing the firmness, springiness and rubberiness of food gels using fractional calculus. Part II: Measurements on semi-hard cheese. *Food Hydrocolloids*, 62, 325–339.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.038>

Ferro, A.C., de Souza Paglarini, C., Rodrigues Pollonio, M.A., Lopes Cunha, R. (2021). Glyceryl monostearate-based oleogels as a new fat substitute in meat emulsion. *Meat Science*. 174, 108424.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108424>

Ghazani, S. M., Dobson, S., Marangoni, A. G. (2022). Hardness, plasticity, and oil binding capacity of binary mixtures of natural waxes in olive oil. *Current Research in Food Science*, 5, 998–1008.

<https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.06.002>

Giacomozi, A.S., Carrin, M.E., Palla, C.A. (2018). Muffins elaborated with optimized monoglycerides oleogels: from solid fat replacer obtention to product quality evaluation. *Journal of Food Science*, 83(6), 1505–1515.

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.14174>

Guadarrama-Lezama, A.Y., Carrillo-Navas, H., Pérez-Alonso, C., Vernon-Carter, E.J., Hoda, H.H., Saad, A.M. (2023). Utilization of carob bean pulp and seeds in preparing functional cup-cake and tortilla bread. *Food Technology Research Journal*, 1(1), 1–14.

<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2097487/v2>

Jeong, S., Lee, S., Oh, I. (2021). Development of antioxidant-fortified oleogel and its application as a solid fat replacer to muffin. *Foods*, 10(12).

<https://doi.org/10.3390/foods10123059>

Kaçar, D. (2010). Kimyasal interesterefikasyon yöntemi ile zeytinyağı bazlı yeni ibir yağ ürününün geliştirilmesi ve kek-bisküvi üretiminde kullanılabilirliğinin araştırılması. Hacettepe Üni., Fen Bil. Ens., Gıda Müh. A.B.D., Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye. 71 s.

Khalil, A.H. (1998). The influence of carbohydrate-based fat replacers with and without emulsifiers on the quality characteristics of lowfat cake. *Plant Foods for Human Nutrition*, 52, 299–313.

<https://doi.org/10.1023/A:1008096031498>

Khiabani, A.A., Tabibiazar, M., Roufegarinejad, L., Hamishehkar, H., Alizadeh, A. (2020). Preparation and characterization of carnauba wax/adipic acid oleogel: A new reinforced oleogel for application in cake and beef burger. *Food Chemistry*, 333, 127446.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127446>

Kim, J.Y., Lim, J., Lee, J., Hwang, H.S., Lee, S. (2017). Utilization of oleogels as a replacement for solid fat in aerated baked goods: physicochemical, rheological, and tomographic characterization. *Journal of Food Science*, 82(2), 445–452.

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.13583>

Malvano, F., Laudisio, M., Albanese, D., d'Amore, M., Marra, F. (2022). Olive Oil-Based Oleogel as Fat Replacer in a Sponge Cake: A Comparative Study and Optimization. *Foods MDPI*, 11, 2643.

<https://doi.org/10.3390/foods11172643>

Moghtadaei, M., Soltanizadeh, N., Goli, S.A.H. (2018). Production of sesame oil oleogels based on beeswax and application as partial substitutes of animal fat in beef burger. *Food Research International*, 108, 368–377.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.051>

Moghtadaei, M., Soltanizadeh, N., Goli-Hosseini, S.A., Sharifimehr, S. (2021). Physicochemical properties of beef burger after partial incorporation of ethylcellulose oleogel instead of animal fat. *Journal Food Science Technology*, 58(12), 4775–4784.

<https://doi.org/10.1007/s13197-021-04970-4>

Ng, S.P., Lai, O.M., Abas, F., Lim, H.K., Tan, C.P. (2014). Stability of a concentrated oil-in-water emulsion model prepared using palm olein-based diacylglycerol/virgin coconut oil blends: Effects of the rheological properties, droplet size distribution and microstructure. *Food Research International*, 64, 919–930.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.045>

Oh, I.K., Amoah, C., Lim, J., Jeong, S., Lee, S. (2017). Assessing the effectiveness of wax-based sunflower oil oleogels in cakes as a shortening replacer. *LWT-Food Science and Technology*, 86, 430-437.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.021>

Oh, I.K., Lee, S. (2018). Utilization of foam structured hydroxypropyl methylcellulose for oleogels and their application as a solid fat replacer in muffins. *Food Hydrocolloids*, 77, 796-802.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.022>

Orhan-Ozdemir, N., Eroglu, Z. (2022). Structural characterization and oxidative stability of black cumin oil oleogels prepared with natural waxes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(12).

<https://doi.org/10.1111/jfpp.17211>

Ramaswamy, H., Marcotte, M. (2006). *Food processing: principles and applications*. CRC Press, Boca Raton, USA, 407 p. ISBN: 978-0-203-48524-8.

Roche, H.M. (2005). Fatty acids and the metabolic syndrome. *Proceeding of the Nutrition Society*. 64, 23-29.

<https://doi.org/10.1079/PNS2004405>

Roy, S., Hussain, S. A., Prasad, W. G., Khetera, Y. (2022). Quality attributes of high protein ice cream prepared by incorporation of whey protein isolate. *Applied Food Research*, 2, 100029.

<https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100029>

Silva, R.C.d., Ferdaus, M. J., Foguel, A., da Silva, T.L.T. (2023). Oleogels as a fat substitute in food: a current review. *Gels*, 9, 180.

<https://doi.org/10.3390/gels9030180>

Stender, S., (2020). Trans fat in foods in Iran, South-Eastern Europe, Caucasia and Central Asia: a market basket investigation. *Food Policy*, 96, 101877.

<https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2020.101877>

Wettlaufer, T., Floter, E. (2022). Wax based oleogels and their application in sponge cakes. *Food & Function*, 13(18), 9419-9433.

<https://doi.org/10.1039/D2FO00563H>

Willett, S. A., Akoh, C. C. (2019). Physicochemical characterization of yellow cake prepared with structured lipid oleogels. *Journal of Food Science*, 84(6), 1390-1399.

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.14624>

Yang, C., Liu, Z., Zhang, M., Woo, M.W., Li, S., Xiong, H., Zhao, Q. (2021). Effects of fermentable carbohydrates on the quality properties and in vitro digestibility of Yiyang rice cake. *LWT-Food Science and Technology*, 148, 111800.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111800>

Yu, Y., Wang, T., Gong, Y., Wang, W., Wang, X., Yu, D., Wu, F., Wang, L. (2022). Effect of ultrasound on the structural characteristics and oxidative stability of walnut oil oleogel coated with soy protein isolate-phosphatidylserine. *Ultrasonics Sonochemistry*, 83, 105945.

<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105945>

Zhou, J., Faubion, J.M., Walker, C.E. (2011). Evaluation of different types of fats for use in high-ratio layer cakes. *LWT-Food Science and Technology*, 44(8), 1802-1808.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.013>

Partikül büyüklüğünün üzüm posasının kompozisyonuna ve hidrasyon, yağ tutma, termal, teknolojik özelliklerine etkisi

Duygu BAŞKAYA SEZER

Cite this article as:

Başkaya Sezer, D. (2024). Partikül büyüklüğünün üzüm posasının kompozisyonuna ve hidrasyon, yağ tutma, termal, teknolojik özelliklerine etkisi. *Food and Health*, 10(1), 52-63. <https://doi.org/10.3153/FH24005>

Amasya Üniversitesi Amasya Sosyal Bilimler Meslek Yüksekokulu Amasya, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

D.B.S. 0000-0003-2724-1923

Submitted: 01.08.2023

Revision requested: 03.10.2023

Last revision received: 17.10.2023

Accepted: 18.10.2023

Published online: 21.12.2023

Correspondence:

Duygu BAŞKAYA SEZER

E-mail: duygu.baskaya@amasva.edu.tr



© 2023 The Author(s)

Available online at

<http://jfhns.scientificwebjournals.com>

ÖZ

Üzüm posası, içecek endüstrisinin bir yan ürünüdür. Bu çalışmada 595 µm'den büyük, 298-595 µm, 150-297 µm, 149-106 µm, 75-105 µm ve 74 µm'den küçük partiküle sahip üzüm posasının kompozisyon, hidrasyon, yağ tutma, termal ve bazı teknolojik özellikleri ile renk değerlerinin farklı olduğu bulunmuştur. 595 µm'den büyük partiküllü örneklerde kül, ham yağ, karbonhidrat içeriği, suda ve yağda çökelti hacim fraksiyonu, pH, ısıl yayılma ve renkte açıklık (*L*) değeri diğer örneklerden yüksek ölçülmüştür. Su tutma kapasitesi, su absorpsiyon indeksi, yağ tutma kapasitesi, yağda şişme gücü ise 150-297 µm partikül büyüklüğüne sahip örneklerde en yüksek olarak bulunmuştur. Nem, ham protein içeriği, çözünürlük indeksi, suda şişme gücü, hacimsel ve sıkıştırılmış yoğunluk, su aktivitesi, briks, refraktif indeks, ısıl iletkenlik, özgül ısı, kırmızılık (*a*), sarılık (*b*) ve renk farklılığı (ΔE) özellikleri ise 74 µm'den küçük partiküllü örneklerde en yüksek olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Partikül, Öğütme, Boyut, Atık, Su tutma, Isıl, Briks

ABSTRACT

The effect of particle size on the composition and the hydration, oil holding, thermal, and technological properties of grape pomace

Grape pomace is a by-product of the beverage industry. In this study, composition, hydration, oil holding, thermal, and some technological properties, in addition to the colour values of grape pomace with particles larger than 595 µm, 298-595 µm, 150-297 µm, 149-106 µm, 75-105 µm and smaller than 74 µm were found to be different. In the sample with particles larger than 595 µm, ash, crude fat, carbohydrate content, sediment volume fraction in water and oil, pH, thermal diffusivity, and colour lightness (*L*) were measured higher than in the other samples. The water holding capacity, absorption index, oil holding capacity, and swelling power in oil were the highest in samples with 150-297 µm particle size. Moisture, crude protein content, solubility index, swelling power in the water, bulk and packed density, water activity, brix, refractive index, thermal conductivity, specific heat, redness (*a*), yellowness (*b*) and colour difference (ΔE) properties were determined to be the highest in samples with particle sizes smaller than 74 µm.

Keywords: Particle, Grinding, Size, Waste, Water holding, Thermal, Brix

Giriş

Dünya’da üretilen gıdaların yaklaşık üçte biri (1.3 milyar ton) atık olmaktadır (World Economic Forum, 2019). Bu miktar endüstriyel düzeyde azaltılmaya çalışılsa da atıkların büyük kısmı toprak altına gömme, kompostlama ya da evsel atık bertaraf metotları ile yok edilmeye çalışılmaktadır. Bu durum ekonomik kaybın yanı sıra dekompozisyon sırasında oksijen ihtiyacı ve dönüşüm sonucu oluşan ürünler nedeni ile ekolojik dengeye bir yük oluşturmakta bu da iklim krizini tetiklemektedir.

Yılda 74 milyon ton ile tüm dünyada en çok üretilen gıda maddelerinden biri üzümdür (Faostat, 2021). Üzüm, taze olarak tüketilse de esas olarak meyve suyu, reçel, sirke, jöle, kuru üzüm, meyve suyu, şıra, şarap ve tohum yağı üretiminde kullanılan gıda endüstrisinin önemli bir hammaddesidir. Fakat endüstriyel olarak işlenen üzümün % 20’den fazlası atığa dönüşmektedir (García-Lomillo ve González-SanJosé, 2017). Bu atığın büyük kısmını meyve eti (posa) oluşturmaktadır. Posa, meyvenin özelliklerini taşır ve yapısında meyvedeki protein, diyet lif, fenolik maddeler, antosiyaninler, flavonoidlerin yaklaşık % 60’ını bulundurur (Rockenbach ve ark., 2011; Rodríguez Montealegre ve ark., 2006). Bu biyoaktif bileşenler sayesinde ürün antioksidatif, anti-enflamatuar ve anti-kanser etkiler göstermektedir (Yang ve ark., 2022).

Üzüm posası uzun yıllardır şarap alkolü üretiminde, hayvan yemi katkısı olarak veya gübreye dönüştürülerek kullanılmaktadır (García-Lomillo ve González-SanJosé, 2017). Diğer taraftan gıda endüstrisinde sentetik maddelerin yerini alabilecek sağlıklı ve doğal gıda katkı maddelerine olan ihtiyaç devam etmektedir (Garrido ve ark., 2011). Üzüm posasının biyoteknolojik potansiyele sahip olması, bu yan ürünün gıda zenginleştirmede kullanılmasına imkan sağlamaktadır. Bu sayede eklenen ürünün besin profili iyileştirilerek fonksiyonel özellikleri artırılabilir (Ianni ve ark., 2019). Yapılan çalışmalarda üzüm posası; et ürünleri (Bennato ve ark., 2020; Garrido ve ark., 2011), yoğurt (Marchiani ve ark., 2016), çay (Bekhit ve ark., 2011), içecek zenginleştirme (Gerardi ve ark., 2020), kek (Bender ve ark., 2017), bisküvi (Maner ve ark., 2017; Theagarajan ve ark., 2019), biyo rafineri (Sirohi ve ark., 2020) gibi proseslerde hammadde olarak kullanılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Öğütme işlemi ürün işlenebilirliğini artırmak, homojenliği sağlamak, ürün kalitesini belirleyebilmek ve materyalin fonksiyonelliğini artırmak için uygulanan bir ön işlemdir. Öğütme sonrasında yapılan eleme işlemi ise birbirine benzer özellik gösteren, yakın partikül büyüklüğüne sahip örneklerin elde edilmesi için uygulanmaktadır. Değişen partikül büyüklüğü

materyalin teknolojik, fonksiyonel ve bazı fiziksel özelliklerini doğrudan etkilemektedir (Zhao ve ark., 2018). Hatta ürünlerin besin değerini artırmak, fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek için eklenen katkı maddeleri, partikül büyüklüğüne bağlı olarak işlem verimini ve son ürün kalitesini düşürebilir. Jacobs ve ark. (2015); Robin ve ark. (2012); Zhao ve ark. (2018)’nın yapmış oldukları çalışmalar, materyalin su ve yağ fazındaki davranışı ve eklendiği ürünün reolojik, tekstürel ve duyuşsal özelliklerinin belirlenmesinde partikül büyüklüğünün önemini açıkça ortaya koymaktadır.

Son zamanlarda meyve-sebze posalarında partikül büyüklüğünün etkisi yaban mersini (Calabuig Jiménez ve ark., 2018; Mayer-Miebach ve ark., 2019), şeker pancarı (Huang ve ark., 2018), armut (Rocha-Parra ve ark., 2019b), elma (Rocha Parra ve ark., 2019a), havuç (Feng ve ark., 2021), narenciye (Feng ve ark., 2023), turp (Gupta ve Premavalli, 2010), üzüm (Troilo ve ark., 2022), fındık zarı (Putra ve ark., 2018), patates (Waliullah ve ark., 2021) için araştırılmıştır. Ancak bu çalışmalarda örneklerin sınırlı özelliklerine yer verilmiş ya da eklendiği ürünün özellikleri ölçülerek partikül büyüklüğünün etkileri raporlanmıştır. Üzüm ile ilgili yapılan çalışmalar da çoğunlukla elde edilen posanın potansiyel kullanım alanları üzerine gerçekleştirilmiştir (Brahim ve ark., 2014; Lachman ve ark., 2013). Üzüm posasının özellikleri üzerine yapılan çalışmalar ise toplam polifenoller, tokoferoller, antosiyaninler ve flavan-3-ollerin ekstraksiyonu gibi bazı fonksiyonel bileşenlerin geri kazanılmasına yöneliktir (Brahim ve ark., 2014; Lachman ve ark., 2013; Zhao ve ark., 2015). Söz konusu çalışmaların hiçbirinde partikül büyüklüğüne göre değişen teknolojik, fonksiyonel, termal ve fiziksel özelliklere kapsamlı şekilde yer verilmemiştir. Bu çalışmada literatürdeki çalışmalardan farklı olarak değişen partikül büyüklüğüne göre üzüm posası karakterize edilerek belirtilen özelliklerdeki değişimler birbiri ile ilişkilendirilerek tartışılmıştır. Bu açıardan literatürdeki sınırlı çalışmaların açığını kapatacağı düşünülmektedir. Ayrıca çalışmadan elde edilen bulgular endüstriyel ve laboratuvar ölçeğinde işlenen meyve posalarının işlem parametrelerinin belirlenmesine, ön denemelerin yapılmasına ya da optimum koşulların belirlenmesinde kullanılacak değişken aralıklarının seçilmesine yardımcı olacaktır. Literatürde farklı meyve posalarının kompozisyonu ve buna bağlı fiziksel veya fonksiyonel özelliklerinin benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Liang ve ark., 2016; Reißner ve ark., 2019; Yan ve ark., 2023). Bu nedenle içecek endüstrisinin atıklardan birinin partikül büyüklüğüne bağlı özelliklerinin belirlenmesi diğer atıklar için de fikir verecektir. Bu çalışmanın asıl amacı, farklı partikül büyüklüklerindeki üzüm posasının 25 °C ve

70°C' deki hidrasyon özelliklerinin, yağ ortamındaki davranışlarının, örnek kompozisyonunun, termal özelliklerinin, su aktivitesinin, yoğunluğunun, pH değerinin, çözülebilir madde içeriğinin ve renk özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. Çalışmanın ikincil amacı ise üzüm posasının özelliklerini değiştirmede hangi partikül büyüklüğünün kritik olduğunu belirlemektir. Böylece katkı maddesi potansiyeli olan bu materyalin ürün zenginleştirmede ve ikame ürün olarak kullanımında partikül boyutu seçimi kolaylaşabilir.

Materyal ve Metot

Örnek Hazırlama

Meyve suyu fabrikasından temin edilen üzüm posaları sıcak hava yardımı ile % 30 bağıl nemde çalışan tepsili kurutucuda (R5A, Harvest Saver, Oregon, ABD) 60°C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutulan 50 gram örnek, tezgâh üstü öğütücüde (KG7070, Braun, Hong Kong, Çin) 30 saniye boyunca öğütülmüştür. Öğütülen örnekler 30, 50, 100, 140, 200 ve 230 mesh açıklığa sahip standart elek sisteminden (Endecotts, Londra, İngiltere) geçirilmiştir. Elde edilen farklı partikül büyüklüğüne sahip örnekler >595 µm (+30 mesh), 298-595 µm (-30 mesh; +50 mesh), 150-297 µm (-50 mesh; +100 mesh), 149-106 µm (-100 mesh; +140 mesh), 75-105 µm (-140 mesh; +200 mesh) ve <74 µm (-200 mesh; +230 mesh) olarak kodlanmıştır. Buna ek olarak öğütülen ama elenmemiş örneklerin sonuçları da tablolarda sunulmuştur. Örnekler hazırlandıktan sonra hava almayacak bir kaptan 4°C'de analizler gerçekleştirilene kadar saklanmıştır.

Kompozisyon Analizi

Üzüm posası örneklerinin kompozisyonları, AOAC (2003) prosedürü kullanılarak ölçülmüş ve nem, kül, ham protein, ham yağ ve toplam karbonhidrat miktarları belirlenmiştir.

Hidrasyon Özellikleri

Üzüm posasının su tutma kapasitesi (STK), su absorpsiyon indeksi (SAİ), suda çökelti hacim fraksiyonu (SÇHF), çözünürlük indeksi (Çİ), suda şişme gücü (SŞG) 25 °C ve 70 °C'de santrifüj tekniği kullanılarak ölçülmüştür (Raungrusmee ve Anal, 2019). Buna göre 0.5 g örnek 20 mL distile su ile 60 saniye vortekslenmiştir. Dispersiyon gün boyunca 25 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra 2500 x g'de 30 dakika santrifüjlenmiştir (Beckman GS-6R, Kaliforniya, ABD). Üst faz, önceden ağırlığı kaydedilmiş behere aktarılarak 120 °C'de buharlaşana kadar tutulmuştur. Sonuçlar aşağıdaki denklemler ile hesaplanmıştır.

$$STK (\%) = \frac{\text{örneğin absorbe ettiği su miktarı (g)}}{\text{kuru örnek ağırlığı (g)}} \times 100 \quad [1]$$

$$SAİ = \frac{\text{santrifüjlenen örnek ağırlığı (g)}}{\text{kuru örnek ağırlığı (g)}} \quad [2]$$

$$SÇHF (\%) = \frac{\text{sediment yüksekliği (cm)}}{\text{toplam dispersiyon yüksekliği (cm)}} \times 100 \quad [3]$$

$$Çİ (\%) = \frac{\text{kurutulmuş üst faz ağırlığı (g)}}{\text{kuru örnek ağırlığı (g)}} \times 100 \quad [4]$$

$$SŞG = \frac{\text{sediment ağırlığı (g)}}{\text{kuru örnek ağırlığı (g)}} \quad [5]$$

Yağ Tutma Özellikleri

Örneklerin yağ tutma özellikleri, Raungrusmee ve Anal (2019)'de uygulanan yöntem ile belirlenmiştir. Bunun için 10 mL ayçiçek yağı, 50 mL'lik bir santrifüj tüpündeki 100 mg örnekle karıştırılarak 30 dakika boyunca 2500 x g'de santrifüjlenmiştir (Beckman GS-6R, CA, US). Yağ tutma kapasitesi (YTK); denklem [1], yağda çökelti hacim fraksiyonu (YÇHF); denklem [3], yağda şişme gücü (YŞG) ise denklem [5] kullanılarak yağ için hesaplanmıştır.

Fizikokimyasal Özellikler

Örneklerin su aktivitesi (a_w) bir masaüstü su aktivitesi ölçer (AquaLab, Decagon, ABD) ile belirlenmiştir. Hacimsel yoğunluk (ρ) 100 mL dereceli bir silindire örneğin doldurulması ile ölçülmüştür. Sıkıştırılmış yoğunluk (ρ_s) ise 100 mL dereceli bir silindire dökülen örneğin sıkıştırılmasından sonra hesaplanmış ve sonuçlar $g \cdot mL^{-1}$ olarak sunulmuştur. Örneklerin pH değerleri, % 10 (w:v) örnek:distile su dispersiyonunun 30 saniye vortekslenip 30 dakika bekletilmesinden sonra ayrılan üst fazda ölçülmüştür (7110, Thermo Scientific, Ohio, ABD). Örneklerin çözünür madde içerikleri, refraktometre (Anton Paar, Virginia, ABD) yardımı ile refraktif indeks (kırılma indisi) ve briks olarak belirlenmiştir.

Termal Özellikler

Örneklerin ısı iletkenlik ($k [W \cdot mK^{-1}]$), özgül ısı ($C_p [J \cdot kgK^{-1}]$) ve ısı yayılma ($\alpha [m^2 \cdot s^{-1}]$) özellikleri geçici düzlem kaynağı (transient plane source) yöntemi ile termal iletkenlik analiz cihazı (HotDisk TPS 500, Göteborg, İsveç) kullanılarak ölçülmüştür.

Renk

Örneklerin renk değerleri kolorimetre (Color Flex, Hunter, Reston, ABD) ile belirlenmiştir. Cihaz, standart karolarla kalibre edilerek beyaz karonun renk değerleri ($L_o = 93.45$, $a_o = -1.03$, $b_o = -0.48$) renk değişimi için referans alınmış ve denklem [6] ile hesaplanmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{(L_o - L)^2 + (a_o - a)^2 + (b_o - b)^2} \quad [6]$$

İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizi SPSS programı (versiyon 23, 2018, IBM Corp., New York, ABD) ile hesaplanmıştır. Örnekler arasındaki karşılaştırmalar için ANOVA ve Tukey HSD aracı kullanılmıştır. Üç paralelli olarak gerçekleştirilen ölçüm sonuçları ortalama \pm SD olarak sunulmuş, istatistiksel harflendirme $p < 0.05$ koşuluna göre yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Tablo 1’de görüldüğü gibi posaların majör bileşen içerikleri, partikül büyüklüğüne göre değişmiştir ($p < 0.05$). En yüksek nem ve protein içeriği $74 \mu\text{m}$ ’den küçük partikül büyüklüğüne sahip örnekte bulunurken en düşük değerler $595 \mu\text{m}$ ’den büyük partiküllü örnekte bulunmuştur. En yüksek kül, yağ ve karbonhidrat miktarı $595 \mu\text{m}$ ’den büyük partikül büyüklüğüne sahip örnekte ölçülmüştür.

Bu farklılık, görsel değerlendirmede de belirlendiği gibi $595 \mu\text{m}$ ’den büyük partikül büyüklüğüne sahip örneklerin çekirdek oranının fazla olmasından kaynaklanabilir. Bu durum, kül ve yağ miktarının yüksek olması ve nem miktarının düşük olması ile desteklenmektedir. Partikül boyutu ile nem değeri arasındaki ilişki ise küçük partiküllerin aglomerasyon nedeni ile kümelenerek daha fazla nem tutması ile açıklanabilir. Beckett (2008) partiküllerin sınırlı miktarda su bulunan ortamdaki davranışını benzer şekilde açıklamıştır. Jozinović ve ark. (2012) ise küçük partiküllerin yüksek nem içeriğine sahip olduğunu belirlemiştir. Tablo 2’deki $595 \mu\text{m}$ ’den büyük partiküllü örneklerin su tutma kapasitelerinin düşük olması da bu sonucu desteklemektedir.

Tablo 2 verilerine göre posaların oda sıcaklığındaki hidrasyon özellikleri partikül büyüklüğüne göre değişiklik göstermiştir ($p < 0.05$). En düşük değerler çökelti hacim fraksiyonu (SCHF) hariç $595 \mu\text{m}$ ’den büyük partiküle sahip örnekte bulunmuştur. Su tutma kapasitesi, su absorpsiyon indeksi için en yüksek değerler; $150\text{-}297 \mu\text{m}$ örneğinde, en yüksek çökelti hacim fraksiyonu ise $595 \mu\text{m}$ ’den büyük partiküle sahip örnekte ölçülmüştür. $74 \mu\text{m}$ ’den düşük partiküle sahip örneğin ise çözünürlük özelliğinin (Çİ) ve suda şişme gücünün en iyi olduğu belirlenmiştir. Auffret ve ark. (1994); Suksomboon ve ark. (2011); Zhang ve Moore (1997) büyük partiküllerin daha fazla su tutma eğilimi gösterdiğini raporlamıştır. Zhao ve ark. (2015) ise ince öğütmenin gıdanın (zencefil posası) su tutma özelliğini % 41 azalttığını bildirmiştir. Büyük partiküllerde

öne çıkan etken, öğütme nedeni ile bozulmamış mikropor ve kapiler düzeyindeki yapılar olabilir. Çünkü suyun kılcal yapılara çekilebilmesi ve mikro boşluklarda hapsolmesi materyalin su bağlama özelliklerini doğrudan etkiler. Chaplin (2003); Jacobs ve ark. (2015) de büyük partiküllerin su ile olan etkileşimini benzer mekanizma ile açıklamıştır. Tablo 2’de bu kritere uymayan $297 \mu\text{m}$ ’den büyük partiküllerin ise su tutabilecek özellikte bileşen konsantrasyonu az olan çekirdek kalıntılarından oluştuğu söylenebilir. $297 \mu\text{m}$ ’den büyük partiküllü örnekler arasındaki partikül boyutundaki azalmaya bağlı su tutma özelliklerindeki artış ise De la Hera ve ark. (2013)’nin ifade ettiği gibi yüzey alanındaki artışa bağlı gerçekleşmiş olabilir. Benzer şekilde Raghavendra ve ark. (2006) da hindistan cevizi posasının parçacık boyutundaki azalmanın ($1127 \mu\text{m}$ ’den $550 \mu\text{m}$ ’ye) artan hidrasyon özellikleriyle sonuçlandığını, $550 \mu\text{m}$ ’den daha düşük partikül büyüklüğüne ait örneklerde ise hidrasyon özelliklerinin zayıfladığını gözlemlemiştir. $297 \mu\text{m}$ ’den düşük partiküllü örneklerde partikül boyutu azaldıkça hidrasyon özelliklerinin zayıflaması su tutma kabiliyeti olan yapıların ve hidrojen, van der Waals gibi kovalent olmayan zayıf yapıdaki ama su bağlamada aktör olan bağların zarar görmesi ile açıklanabilir. Raghavendra ve ark. (2004) küçük parçacıklarda öğütmeye bağlı lif matrisinin zarar görmesi nedeni ile hidrasyon özelliklerinin zayıfladığını belirlemiştir. Grover ve ark. (2003) da boyut küçültme işlemlerinin yüzey özelliklerini değiştirdiğini ve bunun hidrasyon özelliklerine belirgin etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle öğütme süresinin hidrasyon özelliklerinin bir belirleyicisi olduğu düşünülmektedir. Proseslerde kullanılacak materyalin öğütme süresinin optimize edilmesi güçlü hidrasyon özellikleri elde etmek için önemli olacaktır.

Üzüm posasının oda sıcaklığındaki ve yüksek sıcaklıktaki hidrasyon özellikleri benzer şekilde değişmiştir. Tablo 3 ve Tablo 2’deki değerlerin ortalamalarına göre örneklerin 70°C ’deki sonuçları 25°C verilerine göre su tutma kapasitesi için % 21, su absorpsiyon indeksi % 46, suda çökelti hacim fraksiyonu % 15, çözünürlük indeksi % 15, suda şişme gücü % 39 artmıştır. Buna göre sıcaklık artışının en çok su absorpsiyon indeksini arttırdığı en az ise suda çökelti hacim fraksiyonu ve çözünürlük indeksinde artış meydana getirdiği görülmektedir. Yüzey yapısı materyalin ıslanabilirlik ve yüzey gerilimini doğrudan etkilemektedir (Bledzki ve ark. 2010). Dolayısıyla su absorpsiyonunun yüzey özellikleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Sıcaklık artışının oluşturduğu deformasyon sonucu yüzey alanındaki genişleme ve materyal morfolojisinde poröz bir yapı oluşturması ile su absorpsiyonunun diğer özelliklerden daha çok artış gösterdiği ifade edilebilir.

Tablo 1. Kompozisyon profilleri (%)**Table 1.** Composition profiles (%)

Parçacık boyutu (μm) <i>Particle size (μm)</i>	Nem <i>Moisture</i>	Kül <i>Ash</i>	Ham protein <i>Crude Protein</i>	Ham yağ <i>Crude fat</i>	Karbonhidrat <i>Carbohydrate</i>
>595	2.49±0.21 ^e	3.37±0.12 ^a	4.63±0.17 ^c	7.59±0.04 ^a	81.92±0.53 ^a
298-595	3.24±0.27 ^d	3.06±0.08 ^b	7.62±0.18 ^d	5.30±0.04 ^b	80.79±0.21 ^{ab}
150-297	5.05±0.04 ^c	2.48±0.04 ^c	9.70±0.25 ^c	4.54±0.12 ^c	78.24±0.34 ^d
106-149	5.66±0.28 ^b	2.02±0.15 ^d	9.53±0.20 ^c	2.93±0.04 ^d	79.86±0.57 ^{bc}
75-105	5.72±0.16 ^b	0.46±0.02 ^e	10.91±0.57 ^b	1.84±0.12 ^e	81.06±0.61 ^{ab}
<74	6.75±0.10 ^a	0.11±0.04 ^f	11.79±0.30 ^a	0.86±0.11 ^f	80.50±0.30 ^b
Elenmemiş örnek <i>Unsieved sample</i>	4.70±0.23 ^c	2.12±0.07 ^d	9.40±0.17 ^c	4.76±0.10 ^c	79.02±0.34 ^{cd}

Tablo 2. Hidrasyon özellikleri (25°C)**Table 2.** Hydration properties (25°C)

Parçacık boyutu (μm) <i>Particle size (μm)</i>	STK (%) <i>WHC (%)</i>	SAİ <i>WAI</i>	SÇHF (%) <i>SVFW (%)</i>	Çİ (%) <i>SI (%)</i>	SŞG <i>SPW</i>
>595	147.52±4.08 ^f	1.79±0.11 ^f	45.94±4.58 ^a	16.20±0.40 ^d	2.42±0.22 ^f
298-595	186.82±9.85 ^e	2.23±0.06 ^c	41.08±2.28 ^{ab}	18.31±0.19 ^c	3.30±0.09 ^e
150-297	440.54±3.55 ^a	4.46±0.16 ^a	36.90±0.65 ^{bc}	24.16±0.57 ^b	5.48±0.25 ^d
106-149	391.77±7.04 ^b	3.82±0.17 ^b	34.31±0.11 ^c	25.21±0.36 ^{ab}	6.56±0.45 ^c
75-105	350.24±3.65 ^c	3.40±0.07 ^{cd}	17.93±0.70 ^d	26.56±0.29 ^a	8.50±0.12 ^b
<74	275.35±2.59 ^d	3.19±0.07 ^d	13.80±2.29 ^d	26.70±0.91 ^a	10.54±0.16 ^a
Elenmemiş örnek <i>Unsieved sample</i>	426.56±7.48 ^a	3.62±0.03 ^{bc}	36.12±0.69 ^{bc}	24.98±0.69 ^b	5.99±0.38 ^{cd}

STK: Su tutma kapasitesi, SAİ: Su absorpsiyon indeksi, SÇHF: Suda çökelti hacim fraksiyonu, Çİ: Çözünürlük indeksi, SŞG: Suda şişme gücü

WHC: Water holding capacity, WAI: Water absorption index, SVFW: Sediment volume fraction in water, SI: Solubility index, SPW: Swelling power in water

Tablo 3. Hidrasyon özellikleri (70°C)**Table 3.** Hydration properties (70°C)

Parçacık boyutu (μm) <i>Particle size (μm)</i>	STK (%) <i>WHC (%)</i>	SAİ <i>WAI</i>	SÇHF (%) <i>SVFW (%)</i>	Çİ (%) <i>SI (%)</i>	SŞG <i>SPW</i>
>595	171.57±7.22 ^f	1.63±0.13 ^d	49.05±0.86 ^a	15.33±0.21 ^f	3.86±0.09 ^e
298-595	228.34±9.41 ^e	2.36±0.27 ^d	42.14±0.20 ^b	17.56±0.28 ^e	4.77±0.13 ^e
150-297	548.38±2.31 ^a	6.58±0.23 ^a	40.25±1.33 ^c	25.06±0.66 ^d	7.75±0.38 ^d
106-149	480.41±3.74 ^b	6.43±0.25 ^a	36.53±0.27 ^d	28.82±0.30 ^c	9.59±0.28 ^c
75-105	412.90±4.05 ^c	5.62±0.30 ^b	29.44±1.35 ^e	31.96±0.55 ^b	11.54±0.44 ^b
<74	350.72±2.77 ^d	4.59±0.51 ^c	24.32±0.12 ^f	38.67±0.45 ^a	12.55±0.77 ^a
Elenmemiş örnek <i>Unsieved sample</i>	486.28±4.07 ^b	5.57±0.13 ^b	38.47±0.14 ^c	29.47±0.92 ^c	9.53±0.17 ^c

STK: Su tutma kapasitesi, SAİ: Su absorpsiyon indeksi, SÇHF: Suda çökelti hacim fraksiyonu, Çİ: Çözünürlük indeksi, SŞG: Suda şişme gücü

WHC: Water holding capacity, WAI: Water absorption index, SVFW: Sediment volume fraction in water, SI: Solubility index, SPW: Swelling power in water

Örneklerin hidrasyon kabiliyetlerindeki bu iyileşme, posaların yüksek sıcaklık ile oluşan yüzey alanı ve buna bağlı hacimsel genişlemenin yanı sıra nem geçirgenliğindeki artıştan kaynaklanabilir. Khazaei ve Mohammadi (2009); Sharanagat ve ark. (2018) da sıcaklık ile hidrasyon özelliklerinin güçlendiğini gözlemlemiştir. Hatta Sharanagat ve ark. (2018) sıcaklığın 55°C'ye yükselmesi ile hidrasyon özelliklerinin % 54 artış gösterdiğini belirlemiştir. Chen ve ark. (2014) ön işlem sıcaklığının artması ile soya fasulyesi atıklarının yüzey bütünlüğünün bozulduğunu, bütünden ayrılan parçaların hidrojenu bağı ve/veya dipol oluşumuna zemin hazırladığını bu sayede de daha fazla su molekülünün etkileşimine olanak tanıdığını belirtmiştir. Etkileşim sonucunda materyalin suda çözünürlük, su tutma kapasitesi ve şişme gücü gibi özelliklerinin gelişebileceği ifade edilmiştir. Benzer şekilde Ullah ve ark. (2018) da ısıtma işlemi ile soya fasulyesi atığının yüzeyinde parçalanmaların oluştuğunu ve bunun düzensiz yapı meydana getirdiğini tespit etmiştir. Bulgular değerlendirildiğinde hidrasyon özelliklerinin sıcaklık ile iyileşebileceği ön görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre 25°C – 70°C aralığındaki işlem sıcaklıklarında posa materyalinin hidrasyon özellikleri

güçlendiği için bu ılımlı sıcaklıklarda çalışılarak posa ve kompozisyon olarak benzer materyallerin düşük sıcaklıklara göre iyileşmiş özelliklerinden yararlanılabilmektedir. 70°C'nin üzerindeki ısıtma işlemlerinde beklenenden farklı olarak gerçekleşen hidrasyon özelliklerinin zayıflama olasılığına karşı ölçümlerin yenilenmesi önerilir. Çünkü yüksek sıcaklıklarda hücre duvarının aşırı büzülmesine bağlı meyve posasının hidrasyon özelliklerinin azaldığı bilinmektedir (Rana ve ark., 2015).

Tablo 4'teki verilere göre 297 µm'den daha büyük partiküllü örneklerde yağ tutma kapasitesi, yağda şişme gücü değerleri diğer örneklerle göre düşüktür. Yağda çökelti hacim fraksiyonu ise partikül boyutu ile azalmış ve en düşük değerler 297 µm'den küçük partiküllü örneklerde ölçülmüştür. Benzer değişim trendi su tutma özelliğinde de meydana geldiği için bu durumun muhtemel nedeni aşırı boyut küçülmesine bağlı hücre yapılarının zarar görmesinden kaynaklı yağ tutma kabiliyetinde zayıflama meydana gelmesidir.

Tablo 4. Yağ tutma özellikleri (25°C)

Table 4. Oil holding properties (25°C)

Parçacık boyutu (µm) <i>Particle size (µm)</i>	YTK (%) <i>OHC (%)</i>	YÇHF (%) <i>SVFO (%)</i>	YŞG <i>SPO</i>
>595	259.60±33.14 ^a	26.28±1.22 ^a	3.41±0.34 ^a
298-595	279.55±34.41 ^a	25.58±0.04 ^{ab}	3.61±0.34 ^a
150-297	308.22±15.77 ^a	24.19±1.20 ^{abc}	3.97±0.22 ^a
106-149	309.45±18.74 ^a	22.12±1.18 ^{bcd}	3.91±0.15 ^a
75-105	292.72±25.58 ^a	20.73±1.22 ^d	3.74±0.25 ^a
<74	286.17±16.92 ^a	21.39±2.07 ^{cd}	3.68±0.23 ^a
Elenmemiş örnek <i>Unsieved sample</i>	290.98±14.32 ^a	24.84±1.23 ^{abc}	3.85±0.12 ^a

YTK: Yağ tutma kapasitesi, YÇHF: Yağda çökelti hacim fraksiyonu, YŞG: Yağda şişme gücü
WHC: Oil holding capacity, SVFO: Sediment volume fraction in oil, SPO: Swelling power in oil

Tablo 5. Fizikokimyasal özellikler

Table 5. Physicochemical properties

Parçacık boyutu (µm)	a _w	ρ (g·mL ⁻¹)	ρ _s (g·mL ⁻¹)	pH	°Briks °Brix	Refraktif indeks <i>Refractive index</i>
>595	0.32±0.00 ^d	1.02±0.00 ^d	1.10±0.02 ^d	4.56 ^a	4.70±0.03 ^d	1.75±0.01 ^c
298-595	0.32±0.00 ^d	1.01±0.02 ^d	1.17±0.01 ^c	4.43 ^b	4.82±0.02 ^c	1.83±0.01 ^b
150-297	0.34±0.01 ^c	1.09±0.01 ^c	1.19±0.02 ^c	4.44 ^b	4.91±0.01 ^b	1.86±0.01 ^a
106-149	0.35±0.00 ^{bc}	1.10±0.01 ^c	1.26±0.01 ^b	4.44 ^b	4.94±0.03 ^{ab}	1.87±0.00 ^a
75-105	0.37±0.01 ^a	1.16±0.01 ^b	1.32±0.00 ^a	4.43 ^b	4.98±0.03 ^a	1.87±0.01 ^a
<74	0.37±0.00 ^a	1.24±0.01 ^a	1.35±0.02 ^a	4.44 ^b	4.99±0.04 ^a	1.88±0.00 ^a
Elenmemiş örnek <i>Unsieved sample</i>	0.36±0.00 ^b	1.19±0.03 ^{ab}	1.24±0.00 ^b	4.42 ^b	4.92±0.01 ^{ab}	1.88±0.02 ^a

a_w: Su aktivitesi, ρ: Hacimsel yoğunluk, ρ_s: Sıkıştırılmış yoğunluk, °Brix: Çözülebilir madde içeriği
a_w: Water activity, ρ: Bulk density, ρ_s: Packed density, °Brix: Soluble solid content

Huang ve ark. (2020); Qiu ve ark. (2022) çalışmasında da fazla öğütmenin, materyalin su ve yağ ile olan ilişkilerine zarar verdiğini gözlemlenmiştir. Elleuch ve ark. (2012) çalışmasında da partikül boyutunun azalması ile yağ tutma kapasitesi arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir. Örneklerin yağ tutma özelliklerinin su tutma özelliklerine göre daha zayıf olduğu belirlenmiştir. Tablo 2 ve Tablo 4'deki değerlerin ortalamaları karşılaştırıldığında örneklerin yağ tutma kapasitesi su tutma kapasitesine göre % 9, yağda şişme özelliği suda şişme özelliğine göre % 39, yağda çökelti hacim fraksiyonu suda çökelti hacim fraksiyonuna göre % 27 oranında daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlara göre posaların lipofilikten ziyade hidrofilik olduğu söylenebilir.

Örneklerin bazı fizikokimyasal özellikleri Tablo 5'te sunulmuştur. Buna göre, su aktivitesi değerleri nem oranları ile benzer şekilde değişiklik göstermiştir. Hacimsel yoğunluk ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri partikül küçüldükçe artmıştır. Bunun nedeni, partikül arasındaki boşlukların daha az olmasından dolayı küçük partiküllü örneklerin aynı hacimde bulunabilecek miktarının daha fazla olmasındandır. Sıkıştırılmış yoğunluk değeri de aynı nedenden dolayı partikül küçüldükçe artmış ve sıkıştırmanın etkisi ile birim hacimde yer alan kütlelerin artması ile hacimsel yoğunluktan daha yüksek ölçülmüştür.

Örnekler arasında 595 μm 'den büyük partiküllü örneklerin pH değeri (4.56) diğer posalardan daha yüksek bulunmuş fakat diğer örneklerin pH değerleri istatistiksel olarak aynı bulunmuştur ($p > 0.05$). Bunun nedeni, örneklerin çekirdek içerisinden kaynaklı meyve etinin asiditesini düşürmesi olabilir. Tablo 5'te ayrıca örneklerin çözülebilir madde miktarı briks ve refraktif indeks olarak sunulmuştur. İki değerde de partikül büyüklüğüne göre benzer değişiklikler gözlemlen-

miştir. Çözülebilir madde içeriğinin küçük partiküller sayesinde artış göstermesi beklenen bir sonuçtur. Çünkü, yüzey alanının artması ile ekstakte olan madde miktarı artış göstermiş olabilir. Ayrıca öğütmeye daha fazla maruz kalmasından dolayı küçük partiküllerin hücreleri (duvarları) zarar görek çözülebilir maddelerin hücre dışına daha çok salınımı gerçekleşmiş olabilir.

Tablo 6, örneklerin termal özelliklerini sunmaktadır. Buna göre, posaların ısı iletkenlik ve özgül ısı değerleri partikül büyüklüğü azaldıkça artmaktadır. Burada yine 297 μm 'den büyük partiküller için diğer özelliklerde de görülen çekirdek içeriğine bağlı sonuç sapmaları söz konusu olup çekirdeklerin bulunduğu >595 ve 298-595 μm grupları arasında istatistiksel farklılık mevcuttur. Örneklerin ısı yayılma özelliklerini ısı iletkenlik, özgül ısı ve yoğunluk parametreleri doğrudan etkilediği için ısı yayılmadaki değişim trendi diğer termal özelliklerin tam tersi yönde bulunmuş; partikül büyüklüğü azaldıkça ısı yayılma değerleri azalmıştır. Özgül ısıdaki artış ise parçacık boyutunun küçülmesinden kaynaklı ısının depolanabileceği yüzey alanının genişlemesi ile açıklanabilir. Yüzey alanına bağlı özgül ısı değişimini Raigar ve Mishra (2015) da gözlemlenmiştir. Diğer taraftan, termal özelliklerdeki değişimin başka bir nedeninin, partikül büyüklüğünden ziyade partikül boyutuna bağlı nem içeriklerine bağlı olduğunu söylemek mümkündür. Aviara ve Haque (2001); Raigar ve Mishra (2015) da partikül boyutunun azalması ile artan nem içeriğine bağlı termal özelliklerin arttığını belirtmiştir. Lewicki (2004) de donma noktasının üstündeki sıcaklıklarda, ısı iletkenliğinin nem içeriği ile arttığını ifade etmiştir. Buna göre nem içeriği yüksek olan örneklerin ısı iletkenlik ve özgül ısılarının yüksek ölçüldüğü, ısı yayılma özelliklerinin ise nem artışı ile zayıfladığı belirlenmiştir. Sonuçlar Greiby ve ark. (2014)'de öne sürülen etki mekanizmaları ile uyumludur.

Tablo 6. Termal özellikler

Table 6. Thermal properties

Parçacık boyutu (μm) <i>Particle size (μm)</i>	k ($\text{W}\cdot\text{mK}^{-1}$)	C_p ($\text{J}\cdot\text{kgK}^{-1}$)	α ($\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$)
>595	4.08±0.15 ^c	2.12±0.02 ^f	1.88±0.01 ^a
298-595	4.09±0.12 ^c	2.73±0.08 ^e	1.45±0.02 ^b
150-297	4.37±0.19 ^{bc}	2.91±0.06 ^d	1.36±0.01 ^c
106-149	4.54±0.19 ^b	3.59±0.08 ^b	0.63±0.01 ^f
75-105	4.68±0.11 ^b	3.74±0.07 ^{ab}	0.62±0.00 ^f
<74	5.73±0.01 ^a	3.85±0.04 ^a	1.17±0.00 ^d
Elenmemiş örnek <i>Unsieved sample</i>	4.49±0.05 ^b	3.36±0.04 ^c	1.11±0.01 ^e

k : Isıl iletkenlik, C_p : Özgül ısı, α : Isıl yayılma

k : Thermal conductivity, C_p : Specific heat, α : Thermal diffusivity

Tablo 7. Renk değerleri

Table 7. Color values

Parçacık boyutu (μm) <i>Particle size (μm)</i>	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ΔE
>595	56.64±0.90 ^a	14.94±0.10 ^f	13.45±0.20 ^f	42.47±0.87 ^f
298-595	50.58±0.49 ^b	16.50±0.29 ^e	14.25±0.24 ^e	48.61±0.46 ^e
150-297	47.69±0.14 ^c	17.94±0.17 ^d	15.42±0.39 ^d	52.02±0.16 ^d
106-149	44.72±0.09 ^d	19.74±0.55 ^c	16.76±0.21 ^c	55.71±0.22 ^c
75-105	42.64±0.30 ^e	22.50±0.36 ^a	19.41±0.20 ^b	59.43±0.17 ^b
<74	40.64±0.38 ^f	23.25±0.23 ^a	20.66±0.26 ^a	61.85±0.37 ^a
Elenmemiş örnek <i>Unsieved sample</i>	48.31±0.24 ^c	21.20±0.15 ^b	15.31±0.25 ^d	52.74±0.34 ^d

L: Açıklık/parlaklık indeksi, *a*: Kırmızılık (+)-yeşillik (-) indeksi, *b*: Sarılık (+)-mavilik (-) indeksi, ΔE : Renk farklılığı
L: Lightness/brightness index, *a*: Redness (+)-greenness (-) index, *b*: Yellowness (+)-blueness (-) index, ΔE : Color difference

Örneklerin renk değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Partikül küçüldükçe kırmızılık (*a*) ve sarılık (*b*) değerlerinde artış parlaklık indeksinde (*L*) ise düşüş meydana gelmiştir. Bunun nedeni renk pigmentlerinin öğütme gücü ile hücre dışına çıkışının kolaylaşması olabilir. Diğer taraftan, parlaklık (*L*) değerindeki düşüş ile sarılık (*a*) değerindeki yükselişin nedeninin, partikül boyutunun azalması ile yüzey alanının genişlemesi ve dolayısıyla oksidasyon maruziyeti ile rengin koyulaşması olduğu söylenebilir. Benzer şekilde Rocha Parra ve ark. (2019a) da küçük partiküllü elma posası eklenen bisküvilerin daha kırmızı renkte olduğunu belirlemiştir.

Sonuç

Çalışmanın önemi, yeniden işlenerek değerlendirilen ve ürün zenginleştirmede kullanılan bir atık ürünün kompozisyonunun, hidrasyon, termal ve fizikokimyasal özelliklerinin partikül büyüklüğüne göre değiştiğinin tespit edilmesidir. Başka bir ifade ile; materyale uygulanacak işlemlerde, yapılacak proses hesaplamalarında ve ürün formülasyonlarına eklenecek materyal seçiminde partikül büyüklüğünün önemli olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 297 μm ve 74 μm partikül boyutu kritik bulunmuştur. Su tutma kapasitesi, su absorpsiyon indeksi, yağ tutma kapasitesi, yağda şişme gücü 150-297 μm partikül büyüklüğüne sahip örneklerde en yüksek bulunmuştur. Nem, protein içeriği, çözünürlük indeksi, suda şişme gücü, su aktivitesi, hacimsel ve sıkıştırılmış yoğunluk, briks, refraktif indeks, ısı iletkenlik, özgül ısı, kırmızılık, sarılık ve renk farklılığı özellikleri ise 74 μm ’den küçük partiküllü örneklerde en yüksektir. Çalışma verileri, materyalin ürün katkısı olarak kullanılacağı çalışmalarda zenginleştirme oranlarının belirlenmesine ve zenginleştirilmiş ürün özelliklerinin açıklanmasına yardımcı olabilir. Gelecek çalışmalarda farklı partikül büyüklüğünün ekstraksiyon sonrası saflaştırma aşamalarının verimine etkisi araştırılabilir. Farklı boyutlardaki posalara uygulanan yüksek basınç, çok

düşük veya çok yüksek sıcaklık ile bu materyalin basınç-sıcaklık kombinasyonlarına verdiği yanıt incelenebilir. Ayrıca bu ve benzer materyallerin partikül büyüklüğüne bağlı değişen antioksidan aktivitelerinde, eklendiği ürünün raf ömrüne etkisinde, mikrobiyal yükünde ve duyuşsal özelliklerinde meydana getirdiği değişim belirlenebilir.

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar, bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Araştırma etik izin gerektirmemektedir.

Veri erişilebilirliği: Veriler talep üzerine sağlanacaktır.

Finansal destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Teşekkür: -

Açıklama: -

Kaynaklar

AOAC (2003). Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. (17th Edition., C. 2). Arlington, Virginia, ABD.

Auffret, A., Ralet, M.C., Guillon, F., Barry, J.L., Thibault, J.F. (1994). Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. *LWT - Food Science and Technology*, 27(2), 166-172. <https://doi.org/10.1006/fstl.1994.1033>

- Aviara, N.A., Haque, M.A. (2001).** Moisture dependence of thermal properties of sheanut kernel. *Journal of Food Engineering*, 47(2), 109-113.
[https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00105-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00105-9)
- Beckett, S.T. (2008).** Traditional Chocolate Making. Industrial Chocolate Manufacture and Use içinde (ss. 1-9). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch1>
- Bekhit, A.E.D.A., Cheng, V.J., McConnell, M., Zhao, J. H., Sedcole, R., Harrison, R. (2011).** Antioxidant activities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion. *Food Chemistry*, 129(3), 837-845.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.032>
- Bledzki, A.K., Mamun, A.A., Volk, J. (2010).** Barley husk and coconut shell reinforced polypropylene composites: The effect of fibre physical, chemical and surface properties. *Composites Science and Technology*, 70(5), 840-846.
<https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2010.01.022>
- Bender, A.B.B., Speroni, C.S., Salvador, P.R., Loureiro, B.B., Lovatto, N.M., Goulart, F.R., Penna, N.G. (2017).** Grape pomace skins and the effects of its inclusion in the technological properties of muffins. *Journal of Culinary Science & Technology*, 15(2), 143-157.
<https://doi.org/10.1080/15428052.2016.1225535>
- Bennato, F., Di Luca, A., Martino, C., Ianni, A., Marone, E., Grotta, L., Martino, G. (2020).** Influence of grape pomace intake on nutritional value, lipid oxidation and volatile profile of poultry meat. *Foods*, 9(4), 508.
<https://doi.org/10.3390/foods9040508>
- Brahim, M., Gambier, F., Brosse, N. (2014).** Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. *Industrial Crops and Products*, 52, 18-22.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.030>
- Calabuig Jiménez, L., Barrera Puigdollers, M.C., Seguí Gil, L., Betoret Valls, N. (2018).** Effect of particle size of blueberry pomace powder on its properties (ss. 1131-1138). IDS (2018). 21st International Drying Symposium Proceedings, Editorial Universitat Politècnica de València.
<https://doi.org/10.4995/IDS2018.2018.7879>
- Chaplin, M.F. (2003).** Fibre and water binding. Proceedings of the Nutrition Society, 62(1), 223-227.
<https://doi.org/10.1079/PNS2002203>
- Chen, Y., Ye, R., Yin, L., Zhang, N. (2014).** Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and in vivo evaluation. *Journal of Food Engineering*, 120, 1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.07.011>
- De la Hera, E., Gomez, M., Rosell, C.M. (2013).** Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 421-427.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.002>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2012).** Dietary fibre characteristics and antioxidant activity of sesame seed coats (Testae). *International Journal of Food Properties*, 15(1), 25-37.
<https://doi.org/10.1080/10942911003687231>
- FAOSTAT (2021).** Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim tarihi: 24.06.2023).
- Feng, L., Wu, J., Song, J., Li, D., Zhang, Z., Xu, Y., Zhang, M. (2021).** Effect of particle size distribution on the carotenoids release, physicochemical properties and 3D printing characteristics of carrot pulp. *LWT - Food Science and Technology*, 139, 110576.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110576>
- Feng, X., Yu, B., Regenstein, J.M., Wang, L. (2023).** Effect of particle size on composition, physicochemical, functional, and structural properties of insoluble dietary fiber concentrate from citrus peel. *Food Science and Technology International*, 29(3), 195-203.
<https://doi.org/10.1177/10820132211063973>
- García-Lomillo, J., González-SanJosé, M.L. (2017).** Applications of wine pomace in the food industry: Approaches and functions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 3-22.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12238>
- Garrido, M. D., Auqui, M., Martí, N., Linares, M. B. (2011).** Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2238-2243.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.07.003>

Gerardi, C., D'amico, L., Migoni, D., Santino, A., Salomone, A., Carluccio, M.A., Giovinazzo, G. (2020). Strategies for reuse of skins separated from grape pomace as ingredient of functional beverages. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00645>

Greiby, I., Mishra, D.K. ve Dolan, K.D. (2014). Inverse method to sequentially estimate temperature-dependent thermal conductivity of cherry pomace during nonisothermal heating. *Journal of Food Engineering*, 127, 16-23.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.039>

Grover, S.S., Chauhan, G.S. ve Masoodi, F.A. (2003). Effect of particle size on surface properties of apple pomace. *International Journal of Food Properties*, 6(1), 1-7.

<https://doi.org/10.1081/JFP-120016620>

Gupta, P., Premavalli, K.S. (2010). Effect of particle size reduction on physicochemical properties of ashgourd (*Benincasa hispida*) and radish (*Raphanus sativus*) fibres. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(1), 18-28.

<https://doi.org/10.3109/09637480903222186>

Huang, X., Li, D., Wang, L. (2018). Effect of particle size of sugar beet pulp on the extraction and property of pectin. *Journal of Food Engineering*, 218, 44-49.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.001>

Huang, X., Liang, K., Liu, Q., Qiu, J., Wang, J., Zhu, H. (2020). Superfine grinding affects physicochemical, thermal and structural properties of Moringa Oleifera leaf powders. *Industrial Crops and Products*, 151, 112472.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112472>

Ianni, A., Di Maio, G., Pittia, P., Grotta, L., Perpetuini, G., Tofalo, R., Martino, G. (2019). Chemical–nutritional quality and oxidative stability of milk and dairy products obtained from Friesian cows fed with a dietary supplementation of dried grape pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(7), 3635-3643.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.9584>

Jacobs, P.J., Hemdane, S., Dornez, E., Delcour, J.A., Courtin, C.M. (2015). Study of hydration properties of wheat bran as a function of particle size. *Food Chemistry*, 179, 296-304.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.117>

Jozinović, A., Šubarić, D., Ačkar, Đ., Babić, J., Planinić, M., Pavoković, M., Blažić, M. (2012). Effect of screw configuration, moisture content and particle size of corn grits on properties of extrudates. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 4(2), 95-101.

Khazaei, J., Mohammadi, N. (2009). Effect of temperature on hydration kinetics of sesame seeds (*Sesamum indicum* L.). *Journal of Food Engineering*, 91(4), 542-552.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.10.010>

Lachman, J., Hejtmánková, A., Hejtmánková, K., Horníčková, Š., Pivec, V., Skala, O., Přibyl, J. (2013). Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocopherols and essential elements content as a by-product of winemaking. *Industrial Crops and Products*, 49, 445-453.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.022>

Lewicki, P.P. (2004). Water as the determinant of food engineering properties. A review. *Journal of Food Engineering*, 61(4), 483-495.

[https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00219-X)

Liang, X., Sun, J., Ma, H. (2016). Effect of superfine grinding on physicochemical properties of apple pomace. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 38(02), 192.

Maner, S., Sharma, A.K., Banerjee, K. (2017). Wheat flour replacement by wine grape pomace powder positively affects physical, functional and sensory properties of cookies. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 87(1), 109-113.

<https://doi.org/10.1007/s40011-015-0570-5>

Marchiani, R., Bertolino, M., Belviso, S., Giordano, M., Ghirardello, D., Torri, L., Zeppa, G. (2016). Yogurt enrichment with grape pomace: effect of grape cultivar on physicochemical, microbiological and sensory properties. *Journal of Food Quality*, 39(2), 77-89.

<https://doi.org/10.1111/jfq.12181>

Mayer-Miebach, E., Briviba, K., Schiffer, C., Geiger, L., Behnlian, D., Greiner, R. (2019). Particle size of milled chokeberry pomace did not influence in vitro cellular absorption and transport efficiencies of anthocyanins, phenolic acids and flavonols. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(8), 932-940.

<https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1595542>

Putra, N.R., Rizkiyah, D.N., Zaini, A.S., Yunus, M.A.C., Machmudah, S., Idham, Z. Binti Hazwan Ruslan, M.S. (2018). Effect of particle size on yield extract and antioxidant activity of peanut skin using modified supercritical carbon dioxide and soxhlet extraction. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(8), e13689.

<https://doi.org/10.1111/jfpp.13689>

Qiu, L., Zhang, M., Xu, B., Wang, B. (2022). Effects of superfine grinding on the physicochemical properties, antioxidant capacity, and hygroscopicity of *Rosa rugosa* cv. Plena powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(10), 4192-4199.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.11768>

Raghavendra, S.N., Ramachandra Swamy, S.R., Rastogi, N. K., Raghavarao, K.S.M.S., Kumar, S., Tharanathan, R.N. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 281-286.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.12.008>

Raghavendra, S.N., Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., Tharanathan, R.N. (2004). Dietary fiber from coconut residue: effects of different treatments and particle size on the hydration properties. *European Food Research and Technology*, 218, 563-567.

<https://doi.org/10.1007/s00217-004-0889-2>

Raigar, R.K., Mishra, H.N. (2015). Effect of moisture content and particle sizes on physical and thermal properties of roasted bengal gram flour. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1839-1844.

<https://doi.org/10.1111/jfpp.12419>

Rana, S., Gupta, S., Rana, A., Bhushan, S. (2015). Functional properties, phenolic constituents and antioxidant potential of industrial apple pomace for utilization as active food ingredient. *Food Science and Human Wellness*, 4(4), 180-187.

<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.10.001>

Raungrusmee, S., Anal, A.K. (2019). Effects of lintnerization, autoclaving, and freeze-thaw treatments on resistant starch formation and functional properties of pathumthani 80 rice starch. *Foods*, 8(11), 558.

<https://doi.org/10.3390/foods8110558>

Reißner, A.-M., Al-Hamimi, S., Quiles, A., Schmidt, C., Struck, S., Hernando, I., Turner, C., Rohm, H. (2019).

Composition and physicochemical properties of dried berry pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1284-1293.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.9302>

Robin, F., Schuchmann, H.P., Palzer, S. (2012). Dietary fiber in extruded cereals: Limitations and opportunities. *Trends in Food Science & Technology*, 28(1), 23-32.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.008>

Rocha Parra, A.F., Sahagún, M., Ribotta, P.D., Ferrero, C., Gómez, M. (2019a). Particle size and hydration properties of dried apple pomace: effect on dough viscoelasticity and quality of sugar-snap cookies. *Food and Bioprocess Technology*, 12(7), 1083-1092.

<https://doi.org/10.1007/s11947-019-02273-3>

Rocha-Parra, A.F., Belorio, M., Ribotta, P.D., Ferrero, C., Gomez, M. (2019b). Effect of the particle size of pear pomace on the quality of enriched layer and sponge cakes. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1265-1275.

<https://doi.org/10.1111/ijfs.14078>

Rockenbach, I.I., Gonzaga, L.V., Rizelio, V.M., Gonçalves, A.E. de S.S., Genovese, M.I., Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*, 44(4), 897-901.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.049>

Rodríguez Montealegre, R., Romero Peces, R., Chacón Vozmediano, J. L., Martínez Gascuña, J., García Romero, E. (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis, Biodiversity and Nutrition: A Common Path*, 19(6), 687-693.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.05.003>

Sharanagat, V. S., Kansal, V. Kumar, K. (2018). Modeling the effect of temperature on the hydration kinetic whole mung grain. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(3), 268-274.

<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.05.005>

Sirohi, R., Tarafdar, A., Singh, S., Negi, T., Gaur, V.K., Gnansounou, E., Bharathiraja, B. (2020). Green processing and biotechnological potential of grape pomace: Current

trends and opportunities for sustainable biorefinery. *Bioresource Technology*, 314, 123771.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123771>

Suksomboon, A., Limroongreungrat, K., Sangnark, A., Thititumjariya, K., Noomhorm, A. (2011). Effect of extrusion conditions on the physicochemical properties of a snack made from purple rice (Hom Nil) and soybean flour blend. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(1), 201-208.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02471.x>

Theagarajan, R., Malur Narayanaswamy, L., Dutta, S., Moses, J.A., Chinnaswamy, A. (2019). Valorisation of grape pomace (cv. Muscat) for development of functional cookies. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1299-1305.

<https://doi.org/10.1111/ijfs.14119>

Troilo, M., Difonzo, G., Paradiso, V.M., Pasqualone, A., Caponio, F. (2022). Grape pomace as innovative flour for the formulation of functional muffins: How particle size affects the nutritional, textural and sensory properties. *Foods*, 11(12), 1799.

<https://doi.org/10.3390/foods11121799>

Ullah, I., Yin, T., Xiong, S., Huang, Q., Zhang, J., Javaid, A. B. (2018). Effects of thermal pre-treatment on physicochemical properties of nano-sized okara (soybean residue) insoluble dietary fiber prepared by wet media milling. *Journal of Food Engineering*, 237, 18-26.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.017>

Waliullah, Md. H., Mu, T., Ma, M., Chen, J. (2021). Effects of particle size on structural, physicochemical, and functional properties of potato residue from starch isolation and quality characteristics of residue-based starch noodles. *Food Science and Technology International*, 27(5), 392-403.

<https://doi.org/10.1177/1082013220954606>

World Economic Forum (2019). Innovation with a Purpose: Improving Traceability in Food Value Chains through Technology Innovations. World Economic Forum Geneva, Switzerland. http://www3.weforum.org/docs/WEF_Traceability_in_food_value_chains_Digital.pdf (Erişim tarihi: 20.06.2023).

Yan, T., Liu, R., Shi, L., Wang, Y., Meng, X., Shen, Y. (2023). Superfine grinding improves the physicochemical, sensory and functional characteristics of Hanfu apple pomace. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(4), 2077-2084.

<https://doi.org/10.1111/ijfs.15934>

Yang, C., Han, Y., Tian, X., Sajid, M., Mehmood, S., Wang, H., Li, H. (2022). Phenolic composition of grape pomace and its metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1-17.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2146048>

Zhang, D., Moore, W. R. (1997). Effect of wheat bran particle size on dough rheological properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(4), 490-496.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199708\)74:4<490::AID-JSFA822>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199708)74:4<490::AID-JSFA822>3.0.CO;2-0)

Zhao, G., Zhang, R., Dong, L., Huang, F., Tang, X., Wei, Z., Zhang, M. (2018). Particle size of insoluble dietary fiber from rice bran affects its phenolic profile, bioaccessibility and functional properties. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 450-456.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.016>

Zhao, X., Zhu, H., Zhang, G., Tang, W. (2015). Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders. *Powder Technology*, 286, 838-844.

<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.09.025>

Modifiye atmosfer ile paketlemenin etli mantının raf ömrü ve kalite özelliklerine etkisi

Esra AKKAYA

Cite this article as:

Akkaya, E. (2024). Modifiye atmosfer ile paketlemenin etli mantının raf ömrü ve kalite özelliklerine etkisi. *Food and Health*, 10(1), 64-76. <https://doi.org/10.3153/FH24006>

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,
Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve
Teknolojisi Bölümü, İstanbul, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

E.A. 0000-0002-2665-4788

Submitted: 01.08.2023

Revision requested: 03.10.2023

Last revision received: 17.10.2023

Accepted: 18.10.2023

Published online: 27.12.2023

Correspondence:

Esra AKKAYA

E-mail: esra.akkaya@iuc.edu.tr



© 2023 The Author(s)

Available online at
<http://jfhns.scientificwebjournals.com>

Öz

Bu çalışmada, modifiye atmosfer paketlemenin buzdolabı koşullarında muhafaza edilen etli mantıların raf ömrü ve kalite özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu doğrultuda, ön kurutma işlemi (180°C'de 4 dakika) ile nem değeri %34'e düşürülen mantılar farklı gaz karışımları (ortam havası, %80 CO₂ + %20 N₂, %60 CO₂ + %40 N₂, %40 CO₂ + %60 N₂, %20 O₂ + %40 CO₂ + %40 N₂) ile paketlenmiş ve 90 gün süreyle soğuk muhafaza altında tutulmuştur. Manti örnekleri bu süreçte fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal parametreler yönünden analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, hiçbir mantı örneğinde *Escherichia coli*, sülfid redükte eden anaerob bakteri ve *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir. Toplam aerobik mezofilik mikroorganizma ve küfmaya sayıları tüm muhafaza süresince artış gösterirken, %80 CO₂ içeren paketlerde en düşük seviyede seyretmiştir. Ortam havası ile paketlenen örneklerdeki yüksek mikroorganizma sayısı lipid oksidasyon değerleri ile de paralellik göstermiş olup, muhafazanın 60. gününden itibaren duysal olarak ürünlerin kabul edilebilir sınırların altında kalmasına yol açmıştır. Modifiye atmosfer paketleme uygulamasında paket içindeki artan karbondioksit miktarı, mantıların raf ömrü süresince tekstür ve lezzet özelliklerinin ilk güne yakın değerlerde olmasına katkıda bulunmuştur.

Sonuç olarak, modifiye atmosfer paketleme uygulaması etli mantıların uzun süre kalite özelliklerini koruyarak reyonda kalma sürelerini arttırmış ve tüketiciler tarafından kabul edilebilir olmasına olanak sağlamıştır. Özellikle gaz bileşimindeki artan CO₂ miktarı ile koruyucu etki yükselirken, ürünün duysal özellikleri de muhafaza süresince korunmuş ve ekonomik kayıplar önlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Manti, MAP, Raf ömrü, Kalite özellikleri

ABSTRACT

Effect of modified atmosphere packaging on shelf-life and quality characteristics of meat pasty (manti)

This study aimed to evaluate the effects of modified atmosphere packaging on the shelf-life and quality characteristics of manti (a meat-filled pasta product) stored in refrigerator conditions.

In this direction, manti, whose humidity value is reduced to 34% with the pre-drying process, were packaged with different gas mixtures (ambient air, 80% CO₂ + 20% N₂, 60% CO₂ + 40% N₂, 40% CO₂ + 60% N₂, 20% O₂ + 40% CO₂ + 40% N₂) and kept in cold storage for 90 days. In this process, manti samples were analysed regarding physico-chemical, microbiological, colour and sensory parameters. According to the findings, *Escherichia coli*, sulfide-reducing anaerobic bacteria and *Salmonella* spp. were not detected. While total aerobic mesophilic microorganism and mould yeast counts increased throughout storage, they were lowest in packages containing 80% CO₂. The high count of microorganisms in the samples packaged with ambient air also showed parallelism with the lipid oxidation values, causing the products to remain below acceptable sensory levels starting from the 60th day of storage. In the modified atmosphere packaging application, the increased amount of carbon dioxide in the package ensured that the texture and flavour properties of the manti were preserved close to the first day during their shelf life.

As a result, the modified atmosphere packaging application preserved the quality characteristics of manti for a long time, increased their stay in the aisle and allowed them to be acceptable to consumers. While the protective effect increased, especially with the increasing amount of CO₂ in the gas composition, the product's sensory properties were also preserved during storage, and economic losses could be prevented.

Keywords: Manti, MAP, Shelf-life, Quality characteristics

Giriş

Mantı, çeşitli baharatlar ile karıştırılan kıymanın küçük hamur parçalarına konulduktan sonra hamurun farklı şekillerde kapatılmasıyla elde edilen ve haşlanarak tüketilen geleneksel bir Türk yemeğidir (Gökmen, 2021; Kasar, 2022). Ülkemizde farklı yörelere özgü olarak değişik boyut ve formlarda üretilen mantı, besleyici özelliği ve kendine özgü lezzetiyle yaygın olarak tüketilmektedir (Yüce-tepe, 2011; Aygün, 2021).

Mantı, yüksek nem içeriği ve üretiminde kullanılan kıyma nedeniyle mikroorganizma gelişimine ve hızlı bozulmaya elverişli bir üründür. Soğuk muhafaza altında tutulan mantının raf ömrü, temelde mikrobiyal bozulma ve lipid oksidasyona bağlı olarak sınırlanmaktadır. Bu bağlamda, endüstriyel mantı üretiminde kurutma ve dondurma gibi işlemlerden yararlanarak üründe oluşabilecek mikrobiyolojik ve kimyasal bozulmanın engellenmesi, böylece ürünün raf ömrünün artırılması hedeflenmektedir. Ancak bu uygulamalar raf ömrünü uzatırken, üründe renk, lezzet ve tekstür gibi duyu-sal kalite özelliklerinde kayıplara yol açmaktadır (Yüce-tepe, 2011; Yüce-tepe ve Güneş, 2016; Uzunlu, 2019; Gökmen ve Çağlar, 2021). Bu noktada, mantı gibi yumuşak unlu gıdaların duyu-sal özelliklerini koruyarak raf ömrünü arttırmak amacıyla çeşitli ambalajlama yöntemlerinden faydalanılmaktadır (Sitti, 2011).

Modifiye atmosfer paketlenme (MAP), gıdalardaki enzimatik ve oksidatif bozulma reaksiyonlarını en aza indirmek, mikrobiyal üremeyi yavaşlatmak ya da durdurmak ve bu sayede ürünün raf ömrünü uzatmak amacıyla ambalaj içerisinde ürünü çevreleyen hava bileşiminin değiştirilerek uygun ambalaj materyalleri ile ürünün ambalajlanma tekniğidir (Han, 2005; Kızıllırmak Esmer ve ark., 2011). MAP uygulaması ürünlerin raf ömründe %50-400 civarında artış ile depolama ve dağıtımında kolaylık sağlamakta, kimyasal katkı kullanımını minimize ederek veya tamamen kaldırarak kaliteli ürünün tüketiciyle buluşmasını mümkün kılmaktadır (Han, 2005).

Modifiye atmosfer paketlenmede kullanılan gazlar gıdanın yapısına göre değişmekle birlikte, oksijen (O₂), karbondioksit (CO₂) ve azot (N₂) en yaygın kullanılan gazlardır (Han, 2005). Modifiye atmosfer paketlenmede kullanılan CO₂, bakteriyostatik ve fungistatik etkileri ile fırıncılık ürünlerinde aerobik bozulmayı özellikle de küf gelişimini engellemektedir (Yüce-tepe, 2011).

Etlı mantılarda azaltılmış O₂ ve yüksek CO₂ içeren modifiye atmosfer paketlenme ile mikrobiyal üremenin baskılanması ve lipid oksidasyonun azaltılması mümkün olmaktadır (Yüce-

tepe ve Güneş, 2016). Ayrıca, MAP uygulaması soğuk muhafaza ile birleştirildiğinde gıdaların kalite özelliklerini koruyarak daha uzun süreli depolanmasını sağlamaktadır (Uzunlu ve Var, 2016).

Bu doğrultuda, modifiye atmosfer paketlenme uygulaması soğuk muhafaza altındaki mantıların raf ömrünü uzatmanın yanı sıra, üretim formlarını da koruyarak kalite özelliklerinin sürdürülmesini sağlayan bir ambalajlama tekniği olarak görülmektedir (Uzunlu ve Var, 2016; Yüce-tepe ve Güneş, 2016).

Bu çalışmada, farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen etli mantıların buzdolabı koşullarında depolanma süresi boyunca fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik, renk ve duyu-sal özellikleri ile raf ömründe gözlenen değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Mantı Örneklerinin Hazırlanması

Mantı örneklerinin hazırlanmasında kullanılan buğday unu, kıyma, kuru soğan ve baharatlar İstanbul'daki yerel bir marketten temin edilmiş olup, üretim sürecine kadar İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü laboratuvarlarında uygun koşullarda muhafaza edilmiştir.

Çalışmada kullanılacak etli mantı örneklerinin üretimi laboratuvar koşullarında oda sıcaklığında (20±2°C) gerçekleştirilmiştir. Mantı hamurunun hazırlanmasında kullanılan buğday unu (Tip 550, Yüksel Un, Çorum) ağırlığının %35-40'ı oranında su ve %2'si oranında tuz ile karıştırılarak manuel olarak yoğrulmuştur. Yaklaşık 10 dakika süreyle dinlendirilen hamur, merdane ile açılarak kare (1.5×1.5 cm) parçalar halinde kesilmiştir. Mantının dolgu malzemesi olarak kullanılacak harç; kıyma (%10-15 yağ içeren dana eti), kuru soğan, tuz ve karabiberin karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Harç yaklaşık 1 gram olacak şekilde kesilen hamur parçaları üzerine yerleştirilerek manuel olarak kapatılmıştır. Hazırlanan mantı örnekleri, oda sıcaklığında 10 dakika süreyle havalandırıldıktan sonra, 180°C'deki fırında 4 dakika süre ile kısmi kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Oda sıcaklığında 30 dakika süreyle soğutulan ve nem değeri %34'e düşürülen mantı örnekleri paketlenme işlemi için hazır hale getirilmiştir.

Mantı Örneklerinin Paketlenmesi ve Muhafazası

Modifiye atmosfer paketlenme uygulamasına tabi tutulacak olan mantı örnekleri, düşük O₂ geçirgenliğine (8–12

cm³/m²/24 sa) sahip polietilen kaplar içerisine yerleştirilmiş ve düşük O₂ geçirgenliğindeki (3 cm³/m²/24 sa) kaplama filmi ile Tablo 1’de verilen farklı gaz karışımları kullanılarak vakumlu kapama makinası (VTK 40 SC, Ponapack, İstanbul, Türkiye) aracılığıyla paketlenmiştir. Paketlenen mantılar, 90 gün süre ile buzdolabı sıcaklığında (4 ± 1°C) muhafazaya alınmış ve depolamanın 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde ilgili analizlere tabi tutulmuştur. Deneysel mantı üretimi, farklı tarihlerde üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Mantı örneklerinin paketlenmesinde kullanılan gaz karışımları

Table 1. Gas mixtures used in packaging of mantı samples

Grup	Gaz karışımları
Hava	Ortam havası
MAP-1	%80 CO ₂ + %20 N ₂
MAP-2	%60 CO ₂ + %40 N ₂
MAP-3	%40 CO ₂ + %60 N ₂
MAP-4	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂

Fiziko-Kimyasal Analizler

Mantı örneklerinin pH ile nem miktarları AOAC (2005) tarafından önerilen metotlara göre ölçülmüştür. Homojenize edilmiş mantı örneklerinin (10 g/100 mL distile su) pH değerleri, dijital bir pH metre (Hanna HI 9321, ABD) ile oda sıcaklığında belirlenmiştir. Küçük parçalar haline getirilen mantı örneklerinin su aktivitesi değerleri (a_w), a_w metre (Decagon AquaLab LITE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Nem içeriği, 2 g homojenize örneğin dijital nem tayin cihazında (Sartorius MA45, Germany) 105°C’de sabit tartıma kadar kurutulmasıyla saptanmıştır.

Muhafaza sürecindeki mantı örneklerinin lipid oksidasyon düzeyi, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) değerinin ölçülmesi ile belirlenmiştir. Örneklerin absorbanı, Shrestha ve Min (2006) tarafından geliştirilen yöntemle göre 530 nm’de T80+ UV/VIS spektrometre (PG Instruments Ltd., Londra, İngiltere) aracılığıyla ölçülmüştür. TBARS değeri, aşağıda verilen formüle göre kg başına mg malondialdehit (MDA) olarak hesaplanmıştır:

$$TBARS \text{ değeri} = \frac{[(\text{absorbans} - 0.0121) \times (72.06 \div 94)]}{0.1379 \text{ mg MDA/kg}}$$

Mikrobiyolojik Analizler

Mantı örneklerinden her bir grup için aseptik koşullar altında steril poşetlere 25 g örnek alınarak, üzerine 225 mL steril peptonlu su (Oxoid, CM0061) ilave edilmiş ve stomacherde (Interscience, Fransa) homojenize edilmiştir. Ana dilüsyondan sulandırıcı kullanılarak seri dilüsyonlar hazırlanmış ve ilgili mikroorganizmalar yönünden analize tabi tutulmuştur (ISO 6887-1, 2017).

Mantı örneklerinin toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı, Standard Plate Count Agar (Oxoid, CM0463)’a yapılan ekimi takiben 30°C’de 72 saat süreyle inkübe edilmesi sonucunda üreyen tüm kolonilerin sayılmasıyla belirlenmiştir (ISO 4833-1, 2013).

Koliform bakteri sayımında, Violet Red Bile Agar (Oxoid CM0107)’a çift tabaka dökme ekim yöntemiyle inoküle edilen örnekler 37°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra üreyen tipik koloniler koliform mikroorganizması yönünden değerlendirilmiştir (ISO 4832, 2006).

Staphylococcus aureus koloni sayısının belirlenmesi için, Baird–Parker Agar (Oxoid CM0275)’a yayma plak yöntemiyle ekim yapıldıktan sonra 35°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, şüpheli görülen koloniler DNase, koagülaz ve katalaz testlerine tabi tutulmuştur (ISO 6888-1, 2021).

Küf-maya sayısı, Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (Oxoid PO5032A)’a yayma plak yöntemiyle inoküle edilen örneklerin 25°C’de 5 gün inkübasyonun ardından üreyen kolonilerin değerlendirilmesiyle belirlenmiştir (ISO 21527-1, 2008).

Escherichia coli sayımı, Tryptone Bile X-glucuronide Agar (Oxoid, CM0945) besiyerine inoküle edilen örneklerin 44°C’de 24 saat inkübe edilmesi sonucunda üreyen tipik kolonilerin değerlendirilmesiyle gerçekleştirilmiştir (ISO 16649-2, 2001).

Sülfite redükte eden anaerob bakteri sayısının belirlenmesi için, Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC) Agar (Oxoid CM0587)’a çift tabaka ekimin ardından plaklar 37°C’de 20 ± 2 saat anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından tespit edilen tipik siyah kolonilerin doğrulaması için sülfite, gelatinaz ve hareketlilik-nitrat testleri yapılmıştır (ISO 7937, 2004).

Salmonella spp. varlığının aranması, ISO 6579-1 (2017) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda, tamponlanmış peptonlu su (Oxoid CM1049) ilave edilen mantı örnekleri 37°C’de 18 ± 2 saat inkübe edilerek ön zenginleştirmeye

tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda 0.1 mL ön zenginleştirme sıvısı 10 mL Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth (Oxoid CM0866)'a, 1 mL örnek ise 10 mL Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Broth (Oxoid CM 1048)'a geçilerek sırasıyla 41.5°C'de 24 ±3 saat ve 37°C'de 24 ±3 saat inkübe edilmiştir. Akabinde örnekler XLD (Oxoid CM0469) ve Hektoen Enteric (Oxoid CM 0419) agarlara inoküle edilerek, 37°C'de 24 ±3 saat inkübe edilmiştir. Doğrulama için Nutrient Agar'a geçilen şüpheli koloniler 37°C'de 24 ±3 saat inkübasyonun ardından biyokimyasal ve serolojik (O ve H-Vi polyvalent antiserumlar ile) testlere tabi tutulmuştur.

Renk Analizi

Kısmi kurutma işlemine tabi tutulmuş çığ mantı örneklerinin renk analizi, CIE L^* , a^* , b^* renk sistemine göre HunterLab ColorFlex renk ölçüm cihazı (Hunter Associates Laboratory, Inc., ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bütün renk ölçümleri, cihazın "gün ışığı" modunda 8 mm görüş açıklığı ve 25 mm bağlantı noktası boyutu ile diffüz aydınlatma (D65 2° observer) kullanılarak değerlendirilmiştir. Her analiz gününde her bir gruba ait beş farklı mantı örneğinin ölçümü yapılmış ve elde edilen sonuçların aritmetik ortalamaları hesaplanmıştır (AMSA, 2012).

Duyusal Analiz

Mantı örneklerinin organoleptik özellikleri, eğitimli 12 panelist tarafından duyusal olarak değerlendirilmiştir (ISO 8586, 2023).

Panelistler, her bir gruba ait mantı örneklerini çığ ve haşlanmış (kaynamakta olan suya atılan mantılar, 12-15 dakika süreyle pişirilmiştir) olarak görünüm, koku, tekstür (parmak ve ağız hissi), lezzet (sadece pişmiş örneklerde) ve genel kabul edilebilirlik yönünden 5 puanlık bir skala (1: çok kötü; 5: çok iyi) üzerinde puanlama testi ile değerlendirmiştir.

İstatistiksel Analiz

Verilerin varyans analizleri, zaman periyoduna göre gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırmanın SPSS 21.00 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programının General Linear Model (GLM) prosedürü kullanılarak hesaplanmıştır. İnteraksiyonların önemli çıktığı durumlarda gruplar arasındaki farkın önem kontrolü için ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ve Duncan testleri uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Fiziko-Kimyasal Özelliklerdeki Değişimler

Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinin muhafaza süresi boyunca fiziko-kimyasal parametrelerinde gözlenen değişimler Tablo 2'de verilmiştir.

Muhafaza periyodu boyunca bütün gruplara ait pH değerlerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlılık gösterirken ($p < 0.001$), gruplar arasındaki farklılık da önemli bulunmuştur. Özellikle ortam havası ile paketlenen örneklerin pH değerleri başlangıç düzeylerine yakın bir seyir göstermiş olsa da modifiye atmosfer paketlenen örneklerde muhafazanın ilk gününden itibaren anlamlı bir azalma kaydedilmiştir. Ayrıca, CO₂ oranı daha yüksek olan (%80-60 CO₂) paketlerin pH değerleri, diğer modifiye atmosfer paketlenen gruplardan daha düşük bulunmuştur.

Uzunlu ve Var (2016), modifiye atmosfer paketlenen soğuk muhafaza altındaki mantılara etkilerini araştırdıkları çalışmalarında pH değerlerinin muhafazanın 119. ve 126. günlerinde anlamlı bir farklılık ($p < 0.05$) gösterdiğini ve en fazla düşüşün (6.52'den 6.04'e) %80 CO₂ içeriğine sahip MA paketli örneklerde gözlemlendiğini belirtmişlerdir. %40 ve %60 CO₂ ile paketlenen mantı örneklerinde de azalma tespit edilirken, hava ile paketlenen örneklerde muhafazanın 21. gününde pH değeri 6.54'ten 6.95'e yükseldiği bildirilmiştir. Sitti (2011), MAP (%30 CO₂ + %70 N₂) uygulanan mantıların pH değerlerinde muhafazanın 30. gününe kadar anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma belirlerken, 90. günde bir artış ile birlikte 7. gün seviyesine ulaşıldığını ifade etmiştir. Yüce ve Güneş (2016) ise ortam havası ile paketlenen mantı örneklerine ait pH değerinin 35 günlük depolama boyunca değişmediğini ($p > 0.05$), %70 CO₂ içeren paketlerdeki mantılara ait pH değerinin kademeli olarak arttığını ($p < 0.05$) belirtmişlerdir. Aksu ve ark. (2005), bazı et ürünlerinde muhafaza sırasında proteoliz nedeniyle oluşan azotlu bileşiklere bağlı olarak pH değerinde bir artış olabileceğini vurgulamıştır.

Kısmi kurutma işlemi uygulanmadan önce 0.967 olan su aktivitesi değeri, kurutma sonrasında 0.915'e düşmüştür. Muhafaza süresinin 75. gününe kadar mantı örneklerinin su aktivitesi değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterirken ($p < 0.05$), ortam havası ile paketlenen örneklerin a_w değerleri diğer gruplara göre tüm muhafaza periyodu boyunca daha yüksek olarak kaydedilmiştir. Paket içerisindeki CO₂ oranının artışı ile mantı örneklerinin a_w değerlerinde azalma tespit edilmiştir. Ancak, muhafazanın son günü ortam havası ve farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örnekleri arasındaki farklılık anlamlılık göstermemiştir.

Tablo 2. Farklı gaz karışımları ile paketlenen mantıların 90 günlük muhafaza süresince fiziko-kimyasal özelliklerindeki değişimler**Table 2.** Changes in physico-chemical properties of mantı packaged with different gas mixtures during 90-day storage

Özellik	Paketleme	0. GÜN	15. GÜN	30. GÜN	45. GÜN	60. GÜN	75. GÜN	90. GÜN	P
pH	Ortam havası	6.200 ^F	6.320 ^{aD}	6.390 ^{aC}	6.460 ^{aA}	6.440 ^{aB}	6.380 ^{aC}	6.290 ^{aE}	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	6.200 ^A	6.100 ^{cB}	6.020 ^{dC}	5.890 ^{dD}	5.710 ^{cE}	5.620 ^{dF}	5.350 ^{cG}	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	6.200 ^A	6.110 ^{cB}	6.050 ^{cC}	5.930 ^{cdD}	5.760 ^{cE}	5.680 ^{cF}	5.320 ^{cG}	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	6.200 ^A	6.140 ^{bB}	6.060 ^{bC}	5.970 ^{bcD}	5.880 ^{bE}	5.730 ^{bF}	5.480 ^{bcG}	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	6.200 ^A	6.150 ^{bA}	6.090 ^{bB}	6.000 ^{bC}	5.910 ^{bC}	5.790 ^{bD}	5.680 ^{bE}	0.000
	SE	-	0.017	0.012	0.023	0.029	0.015	0.046	-
	p	-	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-
a _w	Ortam havası	0.915 ^A	0.902 ^{aB}	0.897 ^{aBC}	0.894 ^{aCD}	0.890 ^{aCD}	0.888 ^{aDE}	0.882 ^E	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	0.915 ^A	0.886 ^{cB}	0.883 ^{cBC}	0.879 ^{cCD}	0.876 ^{bCD}	0.870 ^{dDE}	0.868 ^E	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	0.915 ^A	0.893 ^{bB}	0.882 ^{cC}	0.880 ^{cC}	0.878 ^{bCD}	0.871 ^{dDE}	0.869 ^E	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	0.915 ^A	0.892 ^{bB}	0.889 ^{bB}	0.885 ^{bcBC}	0.880 ^{bCD}	0.875 ^{cDE}	0.871 ^E	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	0.915 ^A	0.893 ^{bB}	0.892 ^{bBC}	0.888 ^{abBCD}	0.885 ^{abCD}	0.881 ^{bDE}	0.875 ^E	0.000
	SE	-	0.002	0.002	0.003	0.005	0.007	0.008	-
	p	-	0.001	0.000	0.006	0.038	0.000	0.268	-
Nem (%)	Ortam havası	34.620 ^A	32.210 ^{dB}	30.550 ^{cC}	29.240 ^{cD}	28.550 ^{dE}	24.240 ^{cF}	21.790 ^{cG}	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	34.620 ^A	34.590 ^{aA}	33.840 ^{aB}	32.960 ^{aC}	31.840 ^{aD}	28.960 ^{aE}	24.030 ^{aF}	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	34.620 ^A	34.280 ^{bB}	32.910 ^{bC}	32.290 ^{bC}	30.910 ^{abD}	28.290 ^{bE}	23.400 ^{aF}	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	34.620 ^A	34.090 ^{bB}	32.820 ^{cC}	31.890 ^{cD}	30.320 ^{bcE}	27.890 ^{cF}	22.900 ^{bG}	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	34.620 ^A	33.310 ^{cB}	31.750 ^{dC}	31.580 ^{dD}	29.750 ^{cE}	26.580 ^{dF}	22.720 ^{bG}	0.000
	SE	-	0.248	0.127	0.081	0.202	0.185	0.277	-
	p	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	-
TBARS	Ortam havası	0.115 ^E	0.286 ^{aD}	0.494 ^{aC}	0.625 ^{aC}	0.894 ^{aB}	1.162 ^{aA}	1.732 ^{aA}	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	0.115 ^E	0.139 ^{cDE}	0.174 ^{cDE}	0.206 ^{cCD}	0.266 ^{cBC}	0.317 ^{cAB}	0.375 ^{bA}	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	0.115 ^E	0.158 ^{cDE}	0.202 ^{cCD}	0.238 ^{bcC}	0.274 ^{bcC}	0.346 ^{bcB}	0.409 ^{abA}	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	0.115 ^E	0.186 ^{bDE}	0.242 ^{bCD}	0.304 ^{abBC}	0.356 ^{abcB}	0.362 ^{bB}	0.438 ^{abA}	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	0.115 ^E	0.195 ^{bD}	0.251 ^{abCD}	0.313 ^{abBC}	0.365 ^{abB}	0.378 ^{bB}	0.464 ^{abA}	0.000
	SE	-	0.017	0.012	0.023	0.029	0.017	0.046	-
	p	-	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-

^{a-d}: Aynı sütundaki farklı küçük harfler, farklı gaz karışımlarıyla paketlenen uygulama grupları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05)

^{A-G}: Aynı satırdaki farklı büyük harfler, ilgili paketleme grubunun muhafaza günleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Uzunlu ve Var (2016), muhafaza periyodunun ve farklı gaz karışımları içeren modifiye atmosfer paketlemenin örneklerin a_w değerleri üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığını bildirmişlerdir (p<0.05). Buna karşın, Sitti (2011), modifiye atmosfer paketlenen (%30 CO₂ + %70 N₂) mantılarda muhafazanın 30. gününe kadar a_w değerinde anlamlı bir artış (p<0.05) olduğunu, 90 günlük muhafazanın sonuna kadar olan depolama sürecinde ise a_w değerlerinin düştüğünü belirtmiştir.

Gıdalardaki yüksek su aktivitesi değeri hem mikrobiyolojik hem de kimyasal bozulma riskini artırarak, ürünün güvenli bir şekilde muhafazasını engellemektedir. Mantı gibi kıyma

içeren unlu mamullerde su aktivitesi değerinin düşürülmesi ve ürünün uygun sıcaklıkta, uygun paketleme koşullarıyla muhafazası, mikrobiyal üremeyi ve kimyasal reaksiyonları sınırlandırarak raf ömrünü arttırmaktadır (Sitti, 2011; Kızıllık Esmer ve ark., 2011).

Mantı örneklerinin başlangıç %45 olan nem değeri, uygulanan kısmi kurutma işlemi ile %34.62'e düşmüştür. 90 günlük muhafaza süresi boyunca buzdolabı koşullarında saklanan mantı örneklerinin nem değerleri, %21.79 - %24.03'e kadar azalmıştır. Muhafaza periyodu boyunca bütün uygulama gruplarının nem değerlerinde gözlenen değişimler istatistiksel olarak önemli bulunurken, tüm analiz günlerinde gruplar

arasındaki farklılıklar da anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinin nem değerleri, ortam havası ile paketlenen örneklerden daha yüksek seyrederken, %80 CO₂ içeren paketlerde muhafaza süresi boyunca en yüksek nem içeriği tespit edilmiştir.

Uzunlu ve Var (2016), farklı gaz karışımlarıyla modifiye atmosfer paketlenen mantıların nem değerleri arasında muhafazanın 98., 119. ve 126. günlerinde anlamlı bir farklılık tespit etmişlerdir. Benzer olarak, Sitti (2011), modifiye atmosfer paketlenen (%30 CO₂ + %70 N₂) mantıların nem değerlerinde depolamanın 30. gününden itibaren anlamlı bir artış ($p<0.05$) gözlemlendiğini belirtmiştir.

Nem içeriği, mantının bozulması üzerine etkili faktörlerden biridir. Bu nedenle, mantı gibi neme duyarlı unlu mamullerin paketlenmesinde atmosfer neminin engellenmesi esas alınmakta ve paketlenmede kullanılan nem engelleyici bariyerler ile ürüne dağıtım, depolama gibi aşamalarda nem geçişi engellenmelidir (Biçer, 2011; Sitti, 2011).

Lipid oksidasyonu, yağ ihtiva eden gıdaların kalite ve raf ömrünü etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. Mantı örneklerinin TBARS değerleri bütün paketlenme gruplarında muhafaza periyodu boyunca zamana bağlı olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.001$). Ortam havasıyla paketlenen mantı örneklerinin TBARS değerleri, modifiye atmosfer paketlenen gruplara kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, et ve et ürünleri için lipid oksidasyon düzeyi bakımından kritik limit olarak kabul edilen 1 mg/MDA kg değerinin (Bingol ve ark., 2012), sadece ortam havası ile paketlenen örneklerde muhafazanın 75. gününden itibaren geçildiği gözlenmiştir. Tüm muhafaza süresi boyunca farklı gaz karışımları ile paketlenen mantı örneklerinin TBARS değerleri, 0.464 mg/MDA kg'ı aşmamıştır.

Mantı içerisinde bulunan kıyma ve yağlar sebebiyle raf ömrü kısa bir üründür ve oksidasyona oldukça yatkındır. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerin neden olduğu lipid oksidasyon sonucu gıdalarda meydana gelen acılaşıma, üründe istenmeyen değişikliklere yol açmakta ve gıda bozulmasının bir işareti olarak kabul edilmektedir. Lipid oksidasyonun bir göstergesi olan TBARS değerinin artışı, et ve et bazlı gıda ürünlerinde raf ömrünü kısaltmaktadır (Gökmen ve Çağlar, 2021).

Uzunlu ve Var (2016), farklı gaz karışımları ile paketlenen mantı örneklerinin TBARS değerleri arasında depolamanın 98. gününe kadar anlamlı bir farklılık tespit etmezken ($p<0.05$); 21 günlük muhafaza süresi boyunca hava ile paketlenen örneklerde modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerine kıyasla daha yüksek TBARS değerleri saptadıklarını

belirtmişlerdir. Yücepete (2011), modifiye atmosferde ambalajlamanın etli mantıların TBARS değeri üzerine etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğunu ve hava ile ambalajlanan mantı örneklerinin TBARS değerinin, modifiye atmosferde ambalajlanmış örneklerle göre önemli ölçüde yüksek olduğunu bildirmiştir. Yücepete ve Güneş (2016), modifiye atmosfer koşulları altında paketlenen mantı örneklerindeki lipid oksidasyon düzeyinin paket üst boşluğundaki O₂ konsantrasyonuna bağlı olarak arttığını; paket üst boşluğunda yaklaşık %20 oranında O₂ bulunan örneklerin TBARS değerlerinin, CO₂ ve düşük O₂ (%5) içeren modifiye atmosfer paketlenmiş mantılara kıyasla daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Azaltılmış O₂ içeren modifiye atmosfer paketlenme kullanımı az yağlı et ürünlerinde düşük TBA değerine yol açarken, mantı gibi bileşiminde yağ oranı yüksek kıyma kullanılacak ürünlerde muhafaza süresince yüksek lipid oksidasyon oluşumuna neden olabileceği bildirilmiştir (Yücepete, 2011; Uzunlu ve Var, 2016). Özellikle gıdalarda TBA değerinin 3 mg/kg'dan fazla olması üründe kötü koku ve tat oluşumunun algılanması ile sonuçlanabileceği vurgulanmıştır (Yılmaz ve Demirci, 2010; Kocabaş ve Gökmen, 2017). Mantı üretiminde gözlenen yüksek lipid oksidasyon düzeyi etin yağ oranının yanı sıra, dolgu malzemesinin uzun süre bekletilmesi, içeriğin kavrulmasına bağlı oksidasyon stabilitesinin azalması, dolum ve kapama aşamalarında ışık ve oksijene maruziyet gibi durumlara bağlı olarak oluşabilmektedir (Yücepete, 2011).

Mikrobiyolojik Değerlendirme

Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen mantıların muhafaza süresi boyunca mikrobiyolojik parametrelerinde gözlenen değişimler Tablo 3'de verilmiştir.

Bütün paketlenme gruplarındaki mantı örneklerinin toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı zamana bağlı olarak 90 günlük muhafaza süresince anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.01$). Muhafaza süresi boyunca tüm paketlenme grupları arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken, ortam havası ile paketlenen mantı örneklerinin toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı modifiye atmosfer paketlenen mantılara göre daha yüksek seyretmiştir. 90 günlük muhafaza süresince en düşük TAMB sayısı, 80/20 CO₂:N₂ gaz içeriğine sahip modifiye atmosfer paketlenme uygulanan örneklerde tespit edilmiştir. Ortam havası ile paketlenen mantı örneklerinin TAMB sayısı, 90 günlük muhafaza süresi boyunca başlangıç değerinden yaklaşık 5 log kob/g artış göstermişken, yüksek CO₂ içeren modifiye atmosfer paketlenen örneklerde yaklaşık 3 log kob/g artış gözlenmiştir (Tablo 3).

Tüm paketlenme gruplarındaki mantı örneklerinin koliform ve *S. aureus* sayılarındaki değişim muhafaza süresi boyunca an-

lamli bulunurken ($p < 0.05$ ve $p < 0.01$), paketleme grupları arasındaki farklılıklar muhafazanın 30., 45., 60. ve 75. günlerinde önemli bulunmuştur. Muhafazanın 60. gününe kadar bütün gruplarda artış gösteren koliform bakteri sayıları, mu-

hafazanın bugününden itibaren 90. güne kadar azalma göstermiştir. Mantı örneklerine ait *S. aureus* sayıları ise muhafazanın 45. gününe kadar artarken, depolamanın devam eden günlerinde azalma trendine girmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Farklı gaz karışımları ile paketlenen mantıların 90 günlük muhafaza süresince mikrobiyolojik özelliklerindeki değişimler (log kob/g)

Table 3. Changes in microbiological properties of mantı packaged with different gas mixtures during 90-day storage (log cfu/g)

Özellik	Paketleme	0. GÜN	15. GÜN	30. GÜN	45. GÜN	60. GÜN	75. GÜN	90. GÜN	P
TAMB	Ortam havası	2.534 ^F	4.099 ^{aE}	5.644 ^{aD}	6.014 ^{aC}	6.724 ^{aB}	7.248 ^{aA}	7.396 ^{aA}	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	2.534 ^F	2.633 ^{dE}	3.056 ^{cD}	3.715 ^{cC}	4.132 ^{cB}	5.124 ^{dA}	5.654 ^{dA}	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	2.534 ^F	2.792 ^{cE}	3.229 ^{bcD}	3.968 ^{cC}	4.315 ^{cB}	5.613 ^{cA}	5.949 ^{cA}	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	2.534 ^F	2.869 ^{cE}	3.368 ^{bD}	4.363 ^{bC}	5.206 ^{bB}	5.886 ^{cA}	6.158 ^{cA}	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	2.534 ^F	3.114 ^{bE}	3.500 ^{bD}	4.538 ^{bC}	5.536 ^{bB}	6.276 ^{bA}	6.531 ^{bA}	0.000
	SE	-	0.233	0.115	0.231	0.289	0.119	0.162	-
	p	-	0.000	0.000	0.000	0.001	0.002	0.002	-
Koliform	Ortam havası	1.000 ^F	2.000 ^E	2.230 ^{aD}	2.929 ^{aC}	3.642 ^{aA}	3.230 ^{aB}	2.342 ^D	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	1.000 ^E	1.301 ^C	1.505 ^{cB}	1.579 ^{cB}	1.699 ^{dA}	1.208 ^{dD}	1.000 ^E	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	1.000 ^E	1.380 ^D	1.579 ^{bcC}	1.699 ^{cB}	1.845 ^{cA}	1.699 ^{cB}	1.000 ^E	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	1.000 ^F	1.447 ^D	1.645 ^{abcC}	1.845 ^{bB}	2.000 ^{cA}	1.845 ^{bB}	1.208 ^E	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	1.000 ^E	1.580 ^D	1.845 ^{abC}	2.000 ^{bB}	2.342 ^{bA}	2.000 ^{bB}	1.699 ^C	0.000
	SE	-	0.208	0.139	0.266	0.087	0.289	0.358	-
	p	-	0.213	0.026	0.032	0.000	0.007	0.102	-
S. aureus	Ortam havası	1.000 ^E	1.602 ^D	2.301 ^{aC}	2.778 ^{aA}	2.699 ^{aA}	2.477 ^{aB}	1.778 ^D	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	1.000 ^E	1.182 ^D	1.238 ^{cC}	1.565 ^{dA}	1.477 ^{dB}	1.301 ^{cC}	1.000 ^E	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	1.000 ^F	1.238 ^E	1.323 ^{cD}	1.602 ^{cA}	1.566 ^{cdB}	1.477 ^{cBC}	1.206 ^E	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	1.000 ^E	1.301 ^{CD}	1.500 ^{bBC}	1.878 ^{cA}	1.644 ^{cB}	1.500 ^{cBC}	1.339 ^C	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	1.000 ^D	1.477 ^C	2.000 ^{aB}	2.301 ^{bA}	2.078 ^{bB}	2.000 ^{bB}	1.500 ^C	0.000
	SE	-	0.115	0.173	0.058	0.144	0.115	0.173	-
	p	-	0.131	0.006	0.000	0.001	0.000	0.078	-
Küf-Maya	Ortam havası	1.698 ^E	2.596 ^{aD}	3.516 ^{aC}	4.122 ^{aB}	5.256 ^{aB}	6.044 ^{aA}	6.945 ^{aA}	0.000
	%80 CO ₂ + %20 N ₂	1.698 ^E	1.933 ^{cD}	2.342 ^{cC}	3.079 ^{dB}	3.944 ^{dAB}	4.304 ^{cA}	5.058 ^{dA}	0.000
	%60 CO ₂ + %40 N ₂	1.698 ^E	2.047 ^{cD}	2.477 ^{cC}	3.263 ^{cC}	4.176 ^{cB}	4.682 ^{cA}	5.223 ^{cA}	0.000
	%40 CO ₂ + %60 N ₂	1.698 ^E	2.109 ^{bD}	2.623 ^{cD}	3.316 ^{cC}	4.201 ^{cB}	5.033 ^{bA}	5.587 ^{cA}	0.000
	%20 O ₂ + %40 CO ₂ + %40 N ₂	1.698 ^F	2.513 ^{aE}	2.876 ^{bD}	3.704 ^{bC}	4.503 ^{bB}	5.380 ^{bA}	6.024 ^{bA}	0.000
	SE	-	0.233	0.115	0.231	0.087	0.144	0.242	-
	p	-	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	-

^{a-d}: Aynı sütundaki farklı küçük harfler, farklı gaz karışımlarıyla paketlenen uygulama grupları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$)

^{A-F}: Aynı satırdaki farklı büyük harfler, ilgili paketleme grubunun muhafaza günleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$)

Mantı örneklerinin küf ve maya sayıları tüm paketleme uygulamalarında muhafaza süresi boyunca anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$). Ortam havası ile paketlenen mantı örneklerinin küf ve maya sayılarında 90. günde başlangıç mikroorganizma yüküne göre 5 log kob/g artış kaydedilirken, muhafaza periyodu boyunca en düşük küf ve maya sayısı, %80 CO₂ içeren modifiye atmosfer paketleme uygulanan mantı örneklerinde tespit edilmiştir (Tablo 3).

Sitti (2011), modifiye atmosfer paketlenen (%30 CO₂ + %70 N₂) mantıların toplam aerobik mezofil bakteri sayılarında 90 günlük muhafaza süresince anlamlı ($p<0.05$) bir artış tespit ettiğini bildirmiştir. Bunun yanı sıra, 3 aylık muhafaza süresi boyunca *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella* spp. gelişimi gözlenmediğini ifade etmiştir.

Yücestepe ve Güneş (2016), modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinin küf-maya sayısının 35 günlük depolama boyunca ortam havası ile paketlenen örneklerden düşük seyrettiğini; MAP uygulanan örneklerde küf-maya sayısının 2 log kob/g'ın altında kaldığını, hava paketlenen örneklerde ise 4.62 log kob/g'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu durum, CO₂'in mikroorganizmalar üzerindeki inhibe edici etkisi ve modifiye atmosfer paketler içerisindeki O₂'in sınırlandırılması ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, unlu mamullerde özellikle küflere bağlı bozulmanın, a_w değerinin 0.80'e düşürülmesi ve paketlemede %70 CO₂ kullanılması ile önlenileceği bildirilmiştir (Giorni ve ark., 2008).

Renk Özelliklerdeki Değişimler

Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen mantıların muhafaza süresi boyunca parlaklık (L^*), kırmızılık (a^*) ve sarılık (b^*) değerlerindeki değişimler Şekil 1'de verilmiştir.

Mantı örneklerinin L^* değeri ortam havası ile paketlenen mantılarda muhafaza süresi boyunca zamana bağlı olarak anlamlılık gösterirken, modifiye atmosfer paketlenen örneklerde 90 günlük muhafaza boyunca istatistiksel olarak bir farklılık şekillenmemiştir. Paketleme yöntemine bağlı olarak gruplar arasındaki farklılık sadece muhafazanın 90. gününde anlamlı bulunurken ($p<0.01$), diğer günlerde L^* değeri bakımından paketlemenin etkisi önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Bütün paketleme gruplarındaki mantı örneklerinin parlaklık değerleri muhafazanın 30. gününe kadar artış gösterirken, 30. günden itibaren muhafazanın sonuna kadar bir azalma şekillenmiştir. Muhafaza periyodu boyunca en yüksek L^* değerleri, %80 CO₂ içeren modifiye atmosfer paketlenmiş mantı örneklerinde kaydedilmiştir (Şekil 1).

Muhafaza süresi boyunca, mantı örneklerinin a^* ve b^* değerlerindeki değişimler hiçbir paketleme uygulamasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Mantı örneklerinin kırmızılık değerleri bütün gruplarda muhafazanın 30. gününe kadar artarken, 45. günden itibaren azalmaya başlamıştır. Mantı örneklerinin sarılık değerleri ise bütün gruplarda muhafazanın 60. gününe kadar artmış, bugünden itibaren muhafazanın sonuna kadar azalmıştır. Muhafaza süresi boyunca en yüksek kırmızılık ve sarılık değerleri, ortam havası ile paketlenen mantı örneklerinde gözlenmiştir (Şekil 1).

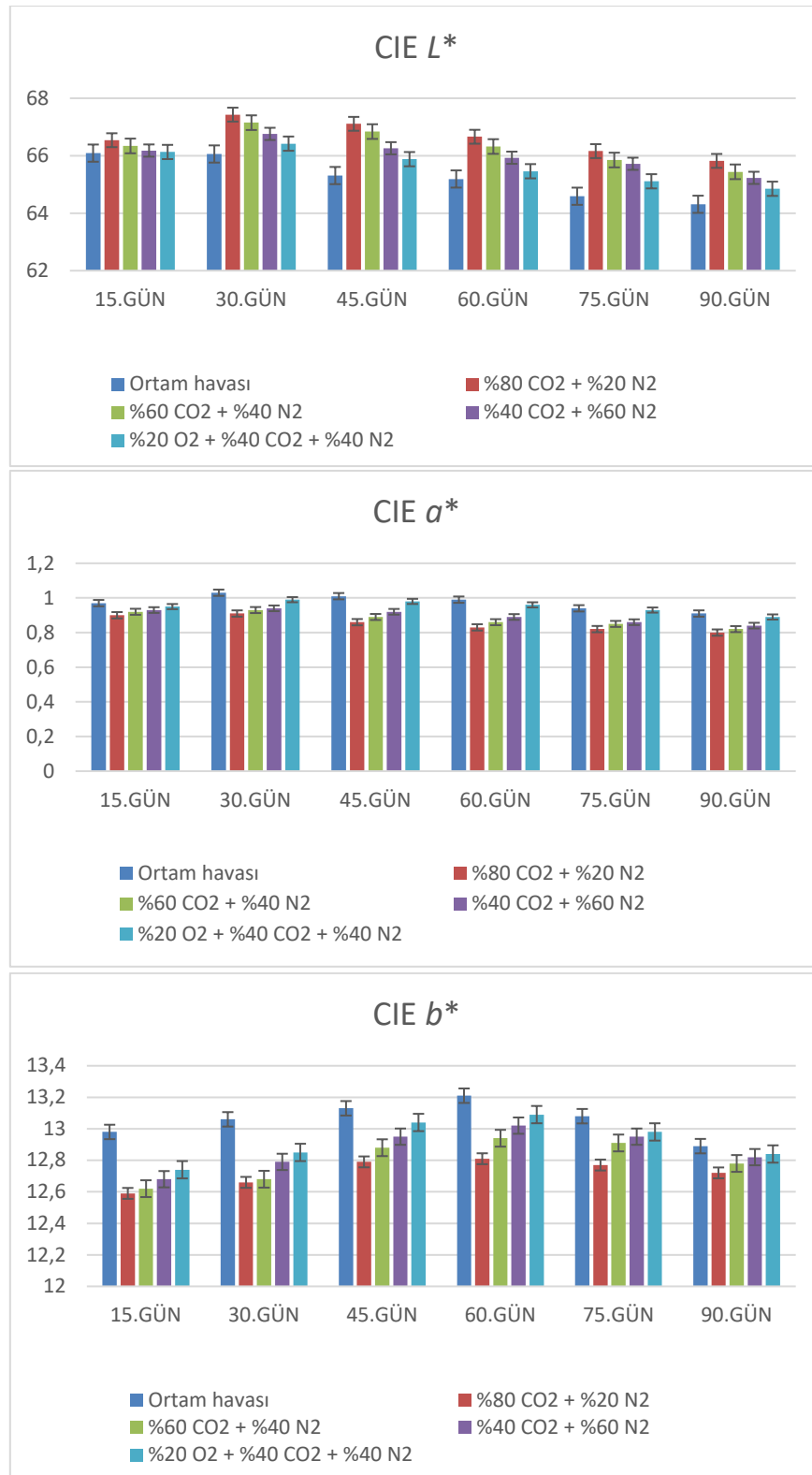
Sitti (2011), modifiye atmosfer paketlenen mantıların L^* değerinin 90 günlük muhafaza süresi boyunca nispi bir artış gösterdiğini, ancak bu artışın istatistiksel açıdan önemli olmadığını vurgulamıştır ($p>0.05$). Mantının yapıldığı andaki parlak beyaz rengini korunmasının tüketici tercihi açısından etkili olduğu ifade edilirken, modifiye atmosfer paketleme uygulanan mantıların başlangıç renk değerlerinin muhafaza süresince korunduğu ve beyaz parlak renkte bir değişim gözlenmediği bildirilmiştir. Ayrıca, depolama süresince mantıların a^* değerinde bir değişim gözlenmediği ve b^* değerinde gözlenen değişimlerin de anlamlı bulunmadığı belirtilmiştir.

Duyusal Değerlendirme

Muhafaza süresi boyunca mantı örneklerine ait duyuşal değişimler Şekil 2'de gösterilmiştir. Bütün paketleme gruplarındaki mantı örneklerinin görünüm, koku, lezzet ve tekstür değerleri muhafaza süresince azalma göstermiştir.

Ortam havası ve farklı gaz karışımları ile paketlenen mantı örneklerinin görünüm değerleri, artan muhafaza süresine bağlı olarak panelistler tarafından başlangıç değerlerinden daha düşük puanlanmıştır. Muhafazanın 45. gününden sonra gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuş, ortam havası ile paketlenen mantılar 60. günden, %20 O₂ içeren MAP grubu 75. günden itibaren kabul edilebilirlik sınırının altına inmeye başlamıştır. Buna karşın, yüksek CO₂ içeren paketler muhafazanın son günü bile görünüm kriterleri bakımından kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir.

Mantı örneklerinin koku değerleri tüm paketleme grupları için muhafazanın 45. gününe kadar istatistiksel olarak farklılık göstermezken, bugünden sonra ortam havası ve modifiye atmosfer ile paketlenen mantı örnekleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p<0.05$). Bakteriyel üreme ve lipid oksidasyona bağlı olarak paket içerisinde oluşan nahoş koku panelistler tarafından ortam havası ile paketlenen mantı örneklerinde 60. günden itibaren algılanmıştır. Buna karşın, CO₂ içeren paketler muhafazanın son gününde bile kabul edilebilir koku profiline sahip olarak değerlendirilmiştir (Şekil 2).



Şekil 1. Farklı gaz karışımları ile paketlenen mantıların 90 günlük muhafaza süresince CIE L^* , a^* , b^* değerlerindeki değişimler

Figure 1. Changes in CIE L^* , a^* , b^* values of mantı packaged with different gas mixtures during 90-day storage



Şekil 2. Farklı gaz karışımları ile paketlenen mantıların 90 günlük muhafaza süresince duyu özelliklerindeki değişimler

Figure 2. Changes in sensory properties of manti packaged with different gas mixtures during 90-day storage

Panelistler tarafından tekstürel özellikler çiğ ve haşlanmış mantı örnekleri için muhafazanın 60. gününe kadar kabul edilebilir sınırlar içerisinde puanlanmıştır. Çiğ üründe yapılan parmak hissi değerlendirmesi ortam havası ve %20 O₂ içeren mantı örnekleri için 75. günden itibaren arzu edilmeyen tekstürel yapıyı işaret ederken, muhafazanın son günü sadece %80 CO₂ içeren modifiye atmosfer paketli mantı örnekleri kabul edilebilir olarak nitelendirilmiştir (Şekil 2).

Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinin lezzet değerleri ortam havası ile paketlenen örneklere göre daha yüksek puanlanırken, modifiye atmosfer uygulamasında kullanılan CO₂ oranı arttıkça, lezzet puanlarının da yükseldiği gözlenmiştir. Panelistler tarafından %80 CO₂ + %20 N₂ gaz karışımı ile paketlenen mantı örneklerinin lezzet profilleri 60 günlük değerlendirmede hemen hemen ilk günkü kalite özelliklerini koruduğu belirtilmiş, sadece ortam havası ile paketlenen mantılar 60. gün değerlendirmesinde kabul edilebilir sınırın altında bulunmuştur (Şekil 2). Ortam havası ve düşük CO₂ ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinde muhafazanın 60. gününden sonra paket içerisindeki bazı örneklerde küf oluşumuna rastlanması nedeniyle lezzet değerlendirmesi yapılmamıştır.

Mantı örneklerinin genel kabul edilebilirlik değerleri muhafazanın 45. gününe kadar birbirine yakın seyrederken, 45. günden sonra gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenmiştir. Ortam havası ile paketlenmiş mantı örnekleri muhafazanın 60. gününden itibaren genel kabul edilebilirlik sınırlarının altında kalmıştır. Panelistler tarafından kabul edilmez olarak değerlendirme %40 CO₂ içeren gruplarda 75. günde, %60 CO₂ içeren grupta ise 90. günde olurken, %80 CO₂ içeren grup 90 günlük muhafaza boyunca kabul edilebilir sınırlar içerisinde puanlanmıştır (Şekil 2).

Sitti (2011), modifiye atmosfer altında paketlenen (%30 CO₂ + %70 N₂) mantıların koku, görünüş, tat ve ağız hissi puanlarında muhafaza süresi boyunca anlamlı (p<0.05) bir azalma saptadığını belirtirken, muhafazanın 90. gününde duyuşal değerlendirmenin belirlenemediğini ifade etmiştir. Uzunlu ve Var (2016), pişmiş mantı örneklerine ait görünüm, tat, koku ve tekstür puanlarının muhafazanın 126. gününe kadar benzer bir eğilim gösterdiğini tespit etmişlerdir. pH değerleri ve lipid oksidasyonda gözlenen değişkenliğin duyuşal algıyı olumsuz etkilemediğini vurgulamışlardır. Benzer şekilde Gökmen ve Çağlar (2021), mantı örneklerinin lipid oksidasyon değerindeki artışın duyuşal kalitede olumsuz bir değişikliğe yol açmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca Uzunlu ve Var (2016), çiğ örneklere ait puanların, buzdolabı koşullarında muhafaza süresince benzer bir azalma gösterdiğini belirtmişlerdir. Duyuşal değerlendirme sonucunda, muhafaza süresince pişmiş

mantı örnekleri için en çok %40 CO₂ + %60 N₂ içeren modifiye atmosfer paketli örneklerin tercih edildiğini, çiğ mantı örnekleri için en yüksek puanları %80 CO₂ + %20 N₂ içeren modifiye atmosfer paketli örneklerin aldığını bildirmişlerdir. Bu doğrultuda, modifiye atmosfer paketlemenin çiğ mantıların buzdolabı koşullarında saklanmasını ortam havası ile paketlenmeye kıyasla altı kata kadar uzatabildiği ve %80 CO₂ + %20 N₂ bileşenini içeren modifiye atmosfer paketli mantıların 126 günlük depolama süresinin sonuna kadar kalite özelliklerini koruyabildiği sonucuna varmışlardır (Uzunlu ve Var, 2016). Yüçetepe ve Güneş (2016) ise modifiye atmosfer paketlenen çiğ mantı örneklerinin 35 günlük muhafaza süresince taze örneklere benzer bir duyuşal kaliteye sahip olduklarını, ancak ortam havası ile paketlenen çiğ mantıların duyuşal kalitesinin muhafazanın 21. gününden itibaren kabul edilebilir sınırın altına düştüğünü bildirmişlerdir. Bununla birlikte, %70 CO₂ içeren modifiye atmosfer paketli pişmiş mantı örneklerinin muhafazanın 35. gününde kabul edilebilir duyuşal kalite özelliklerine sahip olduğunu ve taze örneklere benzer puanlar aldıklarını ifade etmişlerdir.

Sonuç

Bu çalışmada, farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen etli mantıların 90 günlük muhafaza süresi boyunca fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik, renk ve duyuşal özelliklerindeki değişimler belirlenmiştir. Yüksek CO₂ ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinin kalite özelliklerinin muhafaza süresi boyunca ortam havası ile paketlenen örneklere kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır. Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinin duyuşal özellikleri ortam havası ile paketlenen örneklere göre daha yüksek puanlanmış ve modifiye atmosfer uygulamasında kullanılan CO₂ oranı arttıkça, örneklerin görünüm, tekstür ve lezzet puanlarının da yükseldiği gözlenmiştir. %80 CO₂ + %20 N₂ ile modifiye atmosfer paketlenen mantı örneklerinin 90 günlük muhafaza süresi boyunca kalite özelliklerini koruduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, yüksek CO₂ içeren modifiye atmosfer paketlenme uygulaması ile etli mantıların kalite özellikleri korunarak, raf ömrünün uzatılabileceği ve ekonomik kayıpların önüne geçilebileceği belirlenmiştir.

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar, bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Araştırma niteliği bakımından etik izne tabii değildir.

Veri erişilebilirliği: Veriler talep üzerine sağlanacaktır.

Finansal destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Teşekkür: -

Açıklama: -

Kaynaklar

Aksu, M.I., Kaya, M., Ockerman, H.W. (2005). Effect of modified atmosphere packaging and temperature on the shelf life of sliced pastırma produced from frozen/thawed meat. *Journal of Muscle Foods*, 16, 192-206.

<https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2005.08404.x>

AMSA (2012). American Meat Science Association. Meat Color Measurement Guidelines. Champaign, IL.

AOAC (2005). Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists (18th Ed.) (Washington). Determination of pH and moisture. Method 940.23 and 950.46B.

Aygün, G. (2021). Kinoa ve amarant unu ilavesinin Türk mantısının kalite özelliklerine etkilerinin belirlenmesi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ.

Biçer, H.G. (2011). Farklı Mantı Çeşitlerinde Mikrobiyolojik Kalite Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Bingöl, E.B., Colak, H., Cetin, O., Kahtaman, T., Hampikyan, H., Ergun O. (2012). Effects of high-oxygen modified atmosphere packaging on the microbiological quality and shelf life of Tekirdağ kofte: A Turkish type meatball. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(17), 3148-3155.

<https://doi.org/10.3923/javaa.2012.3148.3155>

Giorni, P., Battilani, P., Pietri, A., Magan, N. (2008). Effect of a_w and CO_2 level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology*, 122, 109-113.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.051>

Gökmen, S. (2021). Effect of different thawing methods on quality properties of stuffed pasta (manti). *Italian Journal of Food Science*, 33(SP1), 170-178.

<https://doi.org/10.15586/ijfs.v33iSP1.2128>

Gökmen, S., Çağlar, A. (2021). The effect on sensory quality of the stuffed pasta (manti) of increased malondialdehyde amount with the UV-C radiation and storage. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(9), 10586-10591.

Han, J. (2005). Innovations in Food Packaging. Elsevier, London: Academic Press. ISBN-10: 0123116325

ISO 16649-2 (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*, Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.

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.

ISO 4832 (2006). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coliforms, Colony-count technique.

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.

ISO 6579-1 (2017). Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*, Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

ISO 6887-1 (2017). Microbiology of the food chain. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination-Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.

ISO 6888-1 (2021). Microbiology of the food chain. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 1: Method using Baird-Parker agar medium.

ISO 7937 (2004). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens*, Colony-count technique.

ISO 8586 (2023). Sensory analysis. Selection and training of sensory assessors.

Kasar, H. (2022). Mikrodalga plazma teknolojisi ve gıda/ye-mek sanayinde kullanımı: Manti örneği. Karamanoğlu Meh-metbey Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Li-sans Tezi, Karaman.

Kızılırmak Esmer, O., Irkin, R., Değirmencioğlu, N., Değirmencioğlu, A. (2011). The effects of modified atmo-sphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. *Meat Science*, 88, 221-226.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.021>

Kocabaş, A., Gökmen, S. (2017). Lipid peroxidation and its antimicrobial effect in foods. *Science within Food: Up-to-date Advances on Research and Educational Ideas*. 164.

Shrestha, S., Min, Z. (2006). Effect of lactic acid pretreat-ment on the quality of fresh pork packed in modified atmo-sphere. *Journal of Food Engineering*, 72, 254-260.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.12.004>

Sitti, S. (2011). Vakum ve modifiye atmosfer ambalajlama-nın Kayseri mantısının bazı kalite nitelikleri üzerine etkisi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri.

Uzunlu, S. (2019). Effect of active antimicrobial films on the growth of pathogenic bacteria in Manti. *Food Science and Technology*, 39(1), 203-209.

<https://doi.org/10.1590/fst.01118>

Uzunlu, S., Var, I. (2016). Effect of modified atmosphere packaging on the refrigerated storage of manti. *Turkish Jour-nal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(1), 36-40.

<https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i1.36-40.535>

Yılmaz, I., Demirci, M. (2010). Effect of different packaging methods and storage temperature on microbiological and physicochemical quality characteristics of meatball. *Food Science and Technology International*, 16(3), 259-265.

<https://doi.org/10.1177/1082013210366779>

Yüce-tepe, A. (2011). Modifiye atmosferde ambalajlamanın etli mantının kalitesi üzerine etkileri. İstanbul Teknik Üniver-sitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Yüce-tepe, A., Güneş, G. (2016). Quality of ‘Manti’ (Meat-Filled Pasta Product) as affected by modified atmosphere packaging during refrigerated storage. *Journal of Food and Health Science*, 2, 189-198.

<https://doi.org/10.3153/JFHS16020>

Introduction

Ice cream is a dairy product obtained by freezing pasteurized milk, cream, skimmed milk solids, sugar, emulsifier, stabilizer, colour, and flavouring mixtures (Fetsch et al., 2014). High nutritional value, nearly neutral pH, and extended storage conditions are convenient factors for microbial growth in ice cream (Gücüköğlü et al., 2013). The increased consumption of ice cream in summer can create a suitable environment for producing pathogens and mediate the transmission of pathogenic microorganisms in forming food-borne diseases (Zhang et al., 2022). Microbial contamination may occur due to insufficient pasteurization during the ice cream production process, the use of contaminated raw materials and additives, tools and equipment, and the lack of hygienic conditions during distribution (Salehian et al., 2013). Several studies pointed out that *Staphylococcus aureus* is among the most common microorganisms in ice cream (Zhang et al., 2022).

Staphylococcus aureus is a Gram-positive, coagulase-positive, facultative anaerobic bacterium and can tolerate 0-20% salt concentration at a temperature of 6-48 °C, pH 4-10 (Cretenet et al., 2011). Although it is a pathogenic microorganism, it is naturally found in humans' skin flora and nasal mucosa, the main factors in contamination are humans and milk obtained from human animals with mastitis (Al-Bahry et al., 2014). *Staphylococcus aureus* is considered the most common cause of food poisoning worldwide due to the potential of enterotoxigenic strains to produce staphylococcal enterotoxins in food. Enterotoxin-producing *S. aureus* strains also have lecithinase, coagulase, thermonuclease and DNase enzyme activities (Sergelidis & Angelidis, 2017). Food poisoning symptoms begin 2-5 hours after ingestion of the toxin, and the main symptoms are nausea, vomiting, abdominal pain and fatigue (Fetsch et al., 2014). The occurrence of *S. aureus* in foods above 10⁵ cfu/g can present a potential risk to public health due to enterotoxin production that can cause food poisoning (Martin et al., 2016).

The type of strain, food composition, temperature, physical and chemical parameters and the presence of inhibitors play a role in the formation of toxins (İrfan & İşeri, 2004). Dairy products, including cheese, milk, and ice cream, are often contaminated by antibiotic-resistant and enterotoxigenic *S. aureus*. Zhang et al. (2022) found the rate of *Staphylococcus* enterotoxins in dairy products as 39.31% in a meta-analysis study. Besides, the pathogenicity of *S. aureus* strains could be related to the secretion of extracellular toxins and enzymes such as DNase and coagulase (Zhang et al., 2022). Gündoğan et al. found DNase activity in 94.5% of *S. aureus* in ice cream samples (Gündoğan et al., 2006). Hunt et

al. reported 49 of 63 coagulase-positive *S. aureus* in raw milk (Hunt et al., 2012).

Antibiotic resistance is a worldwide health problem (Lee et al., 2018). The development of antibiotic resistance in pathogenic microorganisms has been associated with the therapeutic overuse of antibiotics and their use as growth promoters in animal production (Samir et al., 2018). Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is an essential cause of hospital-acquired infections, which can be transmitted through the consumption and processing of unpasteurized dairy products; identifying MRSA strains in contaminated food is of great importance in public health. (Algammal et al., 2020). Several studies indicated the presence of Methicillin-resistant *S. aureus* strains in dairy products (Al-Ashmawy et al., 2016; Gücüköğlü et al., 2013; Güçlü et al., 2022; Perry et al., 2004; Zhang et al., 2022).

This study aimed to investigate the enterotoxigenic and methicillin-resistant potential of *Staphylococcus aureus* strains isolated from unpackaged ice cream samples sold in the Istanbul markets.

Materials and Methods

In the study, 101 unpackaged ice cream samples, including milk (n=25), chocolate (n=23), lemon (n=18), caramel (n=17), strawberry (n=15), banana (n=2) and cherry (n=1) were obtained from different manufacturers in district of Istanbul where are Beykoz, Umraniye, Uskudar, Sariyer and Besiktas, between August-September 2015 with random sampling method. All samples were preserved in ice packs (4- 8 °C) and transported to the laboratory. The microbiological analyses began immediately upon arrival under aseptic conditions. Microbiological analyses were performed in the Istanbul Medipol University Food Microbiology Laboratory.

Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* strains

The isolation and analyses of *S. aureus* were performed by the methodology referred to by Normanno et al. (2005) with minor modifications. Ten grams of each ice cream sample were diluted with 90 mL physiological saline solution and homogenized with a stomacher (Interscience-Bag Mixer® 400) for 60 seconds. Further dilutions were also obtained from the homogenate. 0.1 mL of dilutions were inoculated onto sterile Baird Parker Agar (BPA, Fluka) medium containing egg-yolk tellurite (Merck) and incubated at 37 °C for 24-

48 hours under aerobic conditions. Black, shiny, convex colonies with clear and dull halos were considered typical of *S. aureus*, whereas colonies with black colour without zones were atypical of *S. aureus*. Typical and atypical colonies were selected and purified in Tryptic Soy Broth medium and stored at -20°C in media containing 30% glycerol. Gram stain, catalase, and mannitol fermentation tests were performed to identify the isolates (Normanno et al., 2005).

Coagulase Test

The coagulase test was performed on typical and atypical *S. aureus* isolates. 0.5 mL of rabbit blood plasma with EDTA (diluted 1:5) and 0.1 mL of isolates placed into the sterile tube and incubated at 37 °C. The tubes were observed for 6 hours for clot formation. Isolates where clotting did not occur were incubated for an additional 24 hours. Clotted samples were evaluated as coagulase-positive *S. aureus* (Sperber & Tatini, 1975). *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain was used as a positive control.

DNase Test

A deoxyribonuclease (DNase) test was performed to confirm the isolates' pathogenicity potential. 24-hour active cultures were inoculated into DNase Test Agar (Merck) medium and incubated for 24-48 hours at 37°C under aerobic conditions. After incubation, 1 mL of 30% HCl solution was transferred onto the colonies. Clear zones around the bacterial colonies indicated DNase-positive colonies (Winn et al., 2006).

Meticillin Resistance Test

In order to control the methicillin resistance properties of typical and atypical *S. aureus* isolates, 25-hour active cultures inoculated into Orsab (Oxoid) Agar medium and incubated at 37°C for 24-48 hours. Following incubation, the isolates that produced blue colonies were evaluated as methicillin-resistant (Perry et al., 2004).

Results and Discussion

In the present study, out of 101 ice cream samples, the incidence rate of *S. aureus* was 65.3% (n=66). and the load were ranged between <2 and 6.02 log cfu/g with a mean 3.2±1.0 log cfu/g. The prevalence of *S. aureus* strains in the examined ice cream samples, including milk, chocolate, lemon, caramel, strawberry, banana and cherry species, were represented in Table 1. According to the Turkish Food Codex Communiqué on Microbiological Criteria (28157), the maximum number of *S. aureus* in ice creams should not exceed 10² – 10³ cfu/g. The latest communiqué on microbiological criteria for ice cream was published in 2011. According to the 2011 criteria, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* and *L. monocytogenes* bacteria species are expected to be detected in ice creams. However, there is no declared data for *S. aureus*; therefore, the data were obtained from 2009 criteria (Turkish Food Codex, 2011; Anonymous, 2009). As seen in Table 1, 65.3% of samples contain *S. aureus* strains, whereas 34.6% of samples (n=35) exceed the Turkish Food Codex limit.

Table 1. Prevalence of *S. aureus* in the ice cream samples.

Examined samples	Number of samples	Positive samples		Log cfu/g			Samples above Turkish Food Codex				
		No.	Proportion	Min	Max	Mean ± SD	no	%	Coagulase (%)	DNase (%)	Methicillin Resistance (%)
Ice cream, milk	25	19	0.76	<2	5.4	3.3±0.97	9	36.0	64.0	12.0	20.0
Ice cream, chocolate	23	19	0.82	<2	6.02	3.49±1.17	13	56.5	53.8	38.4	23.0
Ice cream, Lemon	18	8	0.44	<2	3.7	2.65±0.67	2	11.1	63.6	18.1	18.1
Ice cream Caramel	17	14	0.82	<2	5.5	3.25±1.19	8	47.0	68.4	21.0	5.2
Ice cream Strawberry	15	4	0.26	<2	4.6	3.4±0.85	2	13.3	71.4	14.2	42.8
Ice cream, banana	2	1	0.50	<2	3.51	2.75±1.06	1	50.0	100	0	0
Ice cream, cherry	1	1	1	2.3	2.3	2.3	0	0	100	0	0
Total	101	66	0.65	<2	6.02	3.2±1.0	35	34.6	64.8	22.3	19.1

The high occurrence of *S. aureus* strains in unpackaged ice cream samples may be related to inadequate pasteurization of milk, use of contaminated raw materials, additives, tools and equipment, ambient air, working personnel, packaging materials, and failure to provide appropriate conditions during distribution (Shaheen et al., 2018). The presence of *S. aureus* in ice cream is an essential issue for public health, and researchers worldwide from different countries have focused on this field. Gucukoglu et al. (2013) reported that 23% of ice creams contained *S. aureus* between 2.0×10^2 and 4.0×10^3 in Samsun province, Turkey (Gücüköğlü et al., 2013). Güçlü et al. investigated the microbiological quality of ice creams in Turkey during the COVID-19 pandemic. They found that the *S. aureus* load ranged between 0 - 3.2×10^3 , and 5.3% of ice cream samples exceeded the upper limit according to the Turkish Food Codex limit. The results also concluded that despite COVID-19 hygiene rules, high contamination was observed in ice cream samples (Güçlü et al., 2022).

Similarly, Samir et al. (2018) determined that 22% of ice cream samples were positive for *S. aureus* in Qena City, Egypt (Samir et al., 2018). Rahimi et al. detected no strains of *S. aureus* in commercial ice cream, whereas 9.1% of traditional ice cream samples contained *S. aureus* in Iran (Rahimi, 2013). Consistent with our results, Ahmed et al. found a prevalence of *S. aureus* in ice cream, 74%, with a mean load of $3.74 \pm 1.03 \log \text{ cfu/g}$ (Ahmed et al., 2019). The researchers of these studies indicated that the *S. aureus* loads of the ice creams may attributed to contamination of milk during milking, environmental contamination with animal wastes, unsanitary production and storage conditions, unpasteurized milk from the infected mammary glands of dairy animals (Ahmed et al., 2019; Gücüköğlü et al., 2013; Rahimi, 2013; Samir et al., 2018). Zhang et al. examined 240 ice cream samples in Shaanxi, China, and only 4.2% contained *S. aureus*; however, no sample exceeded the permissible limits of Chinese Standards. Zhang et al. also noted that, despite the low detecting rate of *S. aureus* (0.8%), its spreading potential in the food chain should not be ignored, especially regarding MRSA infection (Zhang et al., 2022). In addition to all these results, evaluating the *S. aureus* presence and load in terms of ice cream species and location is essential. Gucukoglu et al. indicated chocolate species had the lowest *S. aureus* load, whereas Güçlü et al. reported no *S. aureus* in fruit species. Like Güçlü et al., ice cream samples with lemon and cherry had the lowest *S. aureus* load among all samples, which can be attributed to the acidity of fruits. Also, no *S. aureus* was reported in commercial ice creams, whereas *S. aureus* presence was reported by Ahmed et al. (74%) in Egypt, Gucukoglu et al. (23%) in Turkey, Samir et al. (22%) in Egypt, Rahimi in Egypt (9.1%) and Zhang et al. in China (4.2%).

The high prevalence rate reported by Ahmed et al. in Egypt may attributed to handling operations and improper storage conditions. Although Zhang et al. stated low prevalence in China, MRSA strains may represent a health hazard due to pathogenicity potential (Ahmed et al., 2019; Gücüköğlü et al., 2013; Rahimi, 2013; Samir et al., 2018; Zhang et al., 2022).

This study isolated 36 typical and 58 atypical *S. aureus* strains from 66 (65.3%) ice cream samples. It was found that all (n=94) *S. aureus* isolates obtained from ice cream samples were Gram-positive, had typical staphylococcal (grape cluster) appearance in microscopic examination and also catalase positive.

In addition to these results, to evaluate the pathogenicity potential of *S. aureus* strains is important. DNase, coagulase and Methicillin resistance test results were also given in Table 1. The positive reactions for DNase and methicillin resistance tests were also given in Figure 1 and Figure 2, respectively.

DNase measures the ability of microorganisms to synthesize the heat-stable DNase enzyme. The enzyme decomposes deoxyribonucleic acid (DNA) in the cell nucleus by depolymerizing it. DNase activity distinguishes pathogenic staphylococci from nonpathogenic resident flora members (Kateete et al., 2010). DNase activity was tested in isolated strains in the present study (Table 1) for that purpose.

DNase activity was shown in 22.3% (n=21) of *S. aureus* isolates. DNase-positive isolates may pose a threat to public health in terms of enterotoxin production potential. Meyrand et al. found an excellent correlation between DNase activity and enterotoxin production potential and suggested the test to confirm enterotoxin results (Meyrand et al., 1999). Bartolomeoli et al. also reported DNase activity in all *S. aureus* strains isolated from raw milk (Bartolomeoli et al., 2009). Besides DNase activity, coagulase-positive staphylococci strains also potentially produce enterotoxins (Bingöl & Toğay, 2017). It was seen that 64.8% of *S. aureus* isolates were coagulase-positive. Staphylococcal intoxication occurs after enterotoxigenic staphylococci reach at least 10^5 cfu/g (Veras et al., 2008). In this study, *S. aureus* growth over 10^5 cfu/g was observed in 5 samples, and these strains were coagulase-positive. Enterotoxins production risk of *S. aureus* is higher in these five samples than in all.

As presented in Table 1, the present study detected MRSA in 19.1% of *S. aureus* isolates in ice cream samples. Additionally, 4.25% of isolates were Methicillin-resistant, coagulase-positive and DNase-positive, which indicates the pathogenicity potential.



Figure 1. Figure 1. DNase test results in *S. aureus* isolates.

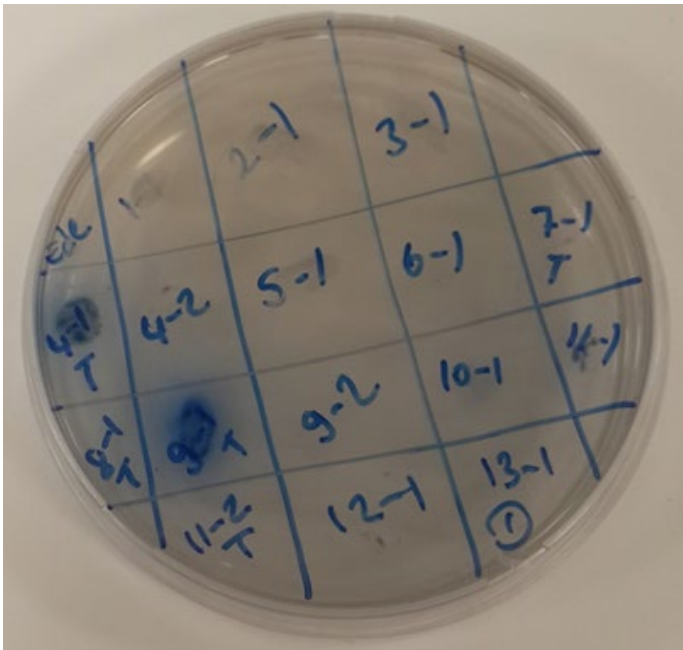


Figure 2. Methicillin resistance test results in *S. aureus* isolates.

Similar to our results, Ahmed et al. (Ahmed et al. 2019) also found MRSA in 15.4% of dairy products, whereas Al-Ashmawy et al. found 53%, which was relatively high (Al-Ashmawy et al., 2016). On the contrary, Zhang et al. detected

only 2 MRSA isolates from 240 ice cream samples. However, Zhang et al. indicated that even though the detection rate was low (%0.8), it can not be ignored because of its spread in the food chain (Zhang et al., 2022). Masihinejad et al. reported a significant correlation between the number of enterotoxin genes and antibiotic resistance in *S. aureus* isolates in creamy pastries. (Masihinejad et al., 2023). Since ice cream is not heated before consumption, MRSA can enter the digestive tract by ingesting contaminated foods and may colonize the digestive tract (Lee, 2003). MRSA also can complicate the treatment of *S. aureus* strains in foods and increase the risk of infection. Therefore, it is essential to apply food safety measures, hygiene practices, and appropriate food processing methods. Controlling the use of antibiotics can limit the occurrence of methicillin resistance (Lee et al., 2018). Antibiotic use regulation is essential in controlling pathogens given the human-animal-food environment. Suggested solutions to reduce the demand for antibiotics may include Antimicrobial Management Programs, determining the dose and status of inappropriate antibiotic use, reducing unnecessary antibiotic use, prescription, and developing new antibiotics (Findik, 2022). Food safety problems should be solved given the 'One Health' approach, which involves cooperation and collaboration among the many professional disciplines and organizations with the intersection of human, animal, and environmental health (Qian et al., 2023).

Conclusion

In conclusion, the present study revealed a high presence of *S. aureus* strains isolated from different ice cream samples in Istanbul, Turkey. The presence of *S. aureus* in ice creams may attributed to insufficient pasteurization, contaminated equipment, poor personnel hygiene, or inappropriate storage conditions. Also, it was determined that some of the *S. aureus* isolates were coagulase positive and DNase positive, indicating the potential to produce enterotoxin and was Methicillin-resistant. MRSA-containing ice creams increase the risk of food poisoning and MRSA infections and may pose risks to the community. Regulating the use of antibiotics in a human-animal-food-environment context and establishing solutions based on the One Health perspective is required. These results represent health hazards for consumers and indicate the need for improved hygiene standards in the production and distribution process. It was concluded that the application of the Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) system is essential in the ice cream production process.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interests: The author(s) declares that for this article, they have no actual, potential, or perceived conflict of interest.

Ethics committee approval: Authors declare that this study includes no experiments with human or animal subjects. Ethics committee approval is not required for this study.

Data availability: Data will be made available on request.

Funding: The author has received no financial support for this work's research, authorship or publication.

Acknowledgements: The author thanks all participants in this study.

Disclosure: -

References

Ahmed, A.A.-H., Maharik, N.M.S., Valero, A., & Kamal, S.M. (2019). Incidence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk and Egyptian artisanal dairy products. *Food Control*, 104, 20–27.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.017>

Al-Ashmawy, M.A., Sallam, K.I., Abd-Elghany, S.M., Elhadidy, M., & Tamura, T. (2016). Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products. *Foodborne Pathogens and Disease*, 13(3), 156–162.

<https://doi.org/10.1089/fpd.2015.2038>

Al-Bahry, S., Mahmoud, I., Al-Musharafi, S., & Sivakumar, N. (2014). *Staphylococcus aureus* contamination during food preparation, processing and handling. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 388.

<https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.415>

Algammal, A.M., Hetta, H.F., Elkelish, A., Alkhalifah, D.H.H., Hozzein, W.N., Batiha, G. E.-S., El Nahhas, N., & Mabrok, M.A. (2020). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): One health perspective approach to the bacterium epidemiology, virulence factors, antibiotic-resistance, and zoonotic impact. *Infection and Drug Resistance*, 3255–3265.

<https://doi.org/10.2147/IDR.S272733>

Anonymous. Ministry of Food, Agriculture and Livestock Turkish Food Codex Microbiological Criteria Regulation. T.C. Official Gazette, 2009.

Bartolomeoli, I., Maifreni, M., Frigo, F., Urli, G., & Marino, M. (2009). Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk for cheesemaking. *International Journal of Dairy Technology*, 62(3), 366–371.

<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00498.x>

Bingöl, K.K., & Toğay, S.Ö. (2017). Urfa peynirlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında enterotoksin üretim potansiyeli ve metisilin dirençliliği. *Akademik Gıda*, 15(1), 29–35.

<https://doi.org/10.24323/akademik-gida.305772>

Cretenet, M., Even, S., & Le Loir, Y. (2011). Unveiling *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in dairy products: A review of recent advances to face new challenges. *Dairy Science & Technology*, 91(2), 127–150.

<https://doi.org/10.1007/s13594-011-0014-9>

Fetsch, A., Contzen, M., Hartelt, K., Kleiser, A., Maassen, S., Rau, J., Kraushaar, B., Layer, F., & Strommenger, B. (2014). *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. *International Journal of Food Microbiology*, 187, 1–6.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.017>

Fındık, A. (2022). Tek Sağlık Yaklaşımında Antibiyotik Dirençliliği. *Doğanın Sesi*, 5(10), 53–64.

Gücükoğlu, A., Çadirci, Ö., Terzi, G., Kevenk, T.O., & Alisharli, M. (2013). Determination of enterotoxigenic and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in ice cream. *Journal of Food Science*, 78(5), M738–M741.

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12093>

Güçlü, D., Güneş-Bayır, A., Erdoğan, Ö., & Özkan, B. (2022). Determination of microbiological quality of ice cream sold in Istanbul and their evaluation in terms of public health. *KASAV International Journal of Health Sciences*, 5(3), 86-93.

Gündoğan, N., Citak, S., & Turan, E. (2006). Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. *Food Control*, 17(5), 389–392.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.01.006>

Hunt, K., Schelin, J., Rådström, P., Butler, F., & Jordan, K. (2012). Classical enterotoxins of coagulase-positive *Staphylococcus aureus* isolates from raw milk and products for raw milk cheese production in Ireland. *Dairy Science & Technology*, 1–13.

<https://doi.org/10.1007/s13594-012-0067-4>

İrfan, E., & İşeri, Ö. (2004). Stafilkokkal enterotoksinler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 51(3), 239–249.

Kateete, D.P., Kimani, C.N., Katabazi, F.A., Okeng, A., Okee, M.S., Nanteza, A., Joloba, M.L., & Najjuka, F.C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(1), 1–7.

<https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-23>

Lee, A.S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1–23.

<https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>

Lee, J.H. (2003). Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6489–6494.

<https://doi.org/10.1128/AEM.69.11.6489-6494.2003>

Li, H., Tang, T., Stegger, M., Dalsgaard, A., Liu, T., & Leisner, J.J. (2021). Characterization of antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus* from retail foods in Beijing, China. *Food Microbiology*, 93, 103603.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103603>

Martin, J.G.P., e Silva, G. de O., da Fonseca, C.R., Morales, C.B., Silva, C.S.P., Miquelluti, D.L., & Porto, E. (2016). Efficiency of a cleaning protocol for the removal of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains in dairy plants. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 295–301.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.018>

Masihinejad, A., Bonyadian, M., & Motamedifar, M. (2023). Detection of genes encoding enterotoxins (SEA-D) in *Staphylococcus aureus* strains isolated from workers' nasal samples and creamy pastries of Shiraz confectioneries. *Iranian Journal of Microbiology*, 15(2), 251.

<https://doi.org/10.18502/ijm.v15i2.12477>

Meyrand, A., Atrache, V., Bavai, C., Montet, M., & Vernozy-Rozand, C. (1999). An automated method for the detection of staphylococcal heat stable deoxyribonuclease in dairy products. *Letters in Applied Microbiology*, 29(4), 216–220.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00595.x>

Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., Decastelli, L., Mioni, R., Scuota, S., & Bolzoni, G. (2005). Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 98(1), 73–79.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.008>

Perry, J.D., Davies, A., Butterworth, L.A., Hopley, A.L., Nicholson, A., & Gould, F.K. (2004). Development and evaluation of a chromogenic agar medium for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(10), 4519–4523.

<https://doi.org/10.1128/JCM.42.10.4519-4523.2004>

Qian, J., Wu, Z., Zhu, Y., & Liu, C. (2023). One Health: A holistic approach for food safety in livestock. *Science in One Health*, 100015.

<https://doi.org/10.1016/j.soh.2023.100015>

Rahimi, E. (2013). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from traditional and commercial dairy products marketed in Iran. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 393–399.

<https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200008>

Salehian, M., Salehifar, E., Esfahanizadeh, M., Karimzadeh, L., Rezaei, R., & Molanejad, M. (2013). Microbial contamination in traditional ice cream and effective factors. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 23(99), 18–33.

Samir, H., Younis, W., Sultan, S., & Abd El-Azeem, M. (2018). Isolation of *Staphylococcus aureus* from ice-cream samples. *Journal of Veterinary and Animal Research*, 1, 204.

Sergelidis, D., & Angelidis, A. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A controversial food-borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology*, 64(6), 409–418.

<https://doi.org/10.1111/lam.12735>

Shaheen, S., Jaffer, M., Aslam, B., Hussain, K., Khan, A., Ashfaq, M., Ulfat, M., Sardar, A.A., Ahmad, M., & Zafar, M. (2018). Microbial assessment of pathogenic bacterial growth in ice cream and kulfa. *Microscopy Research and Technique*, 81(12), 1501–1505. <https://doi.org/10.1002/jemt.23150>

Sperber, W. zH, & Tatini, S. (1975). Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology*, 29(4), 502–505. <https://doi.org/10.1128/am.29.4.502-505.1975>

Turkish Food Codex. (2011). *Food Codex Regulation on Microbiological Criteria, Official Gazette* (29.12.2011/28157). Available at: <https://www.mevzuat.gov.tr/File/GeneratePdf?mevzuatNo=15690&mevzuatTur=KurumVeKurulusYonetmeligi&mevzuatTertip=5> (accessed 2023, July 18).

Veras, J.F., do Carmo, L.S., Tong, L.C., Shupp, J.W., Cummings, C., Dos Santos, D.A., Cerqueira, M.M.O.P., Cantini, A., Nicoli, J.R., & Jett, M. (2008). A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive staphylococcal isolates from food poisoning outbreaks in

Minas Gerais, Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*, 12(4), 410–415. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2007.09.018>

Winn, W., Allen, S., & Janda, W. (2006). *Woods: Kone-man's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6. Baski.

Zhang, J., Wang, J., Jin, J., Li, X., Zhang, H., & Zhao, C. (2022). Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin genes of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products worldwide: A systematic review and meta-analysis. *Food Research International*, 111969. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111969>

Zhang, P., Liu, X., Zhang, M., Kou, M., Chang, G., Wan, Y., Xu, X., Ruan, F., Wang, Y., & Wang, X. (2022). Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characteristics of *staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *staphylococcus aureus* from retail ice cream in Shaanxi Province, China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 19(3), 217–225. <https://doi.org/10.1089/fpd.2021.0069>

Green tea extracts and substantial catechin derivatives: Evaluation of their potential against breast cancer

Nadire ÖZENVER¹, Sıla ÜNLÜ^{1,2}, Seren GÜNDOĞDU¹, L. Ömur DEMİREZER¹

Cite this article as:

Özenver, N., Ünlü, S., Gündoğdu, S., Demirezer, L.Ö. (2024). Green tea extracts and substantial catechin derivatives: Evaluation of their potential against breast cancer. *Food and Health*, 10(1), 85-95. <https://doi.org/10.3153/FH24008>

¹ Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, 06100, Ankara, Türkiye

² Güven Hospital, 06540, Çankaya, Ankara, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

N.Ö. 0000-0001-9561-8994

S.Ü. 0009-0000-1007-1193

S.G. 0000-0003-4295-2520

O.D. 0000-0002-5284-0744

Submitted: 21.07.2023

Revision requested: 10.10.2023

Last revision received: 20.10.2023

Accepted: 24.11.2023

Published online: 30.12.2023

Correspondence:

Nadire ÖZENVER

E-mail: nadire@hacettepe.edu.tr

ABSTRACT

Breast cancer is one of the most predominant types of cancer. Although assorted treatment options are available to cope with breast cancer (e.g. chemotherapy, radiotherapy, surgery, hormone therapy, targeted therapy), chemotherapy regimens still hold vital importance. Studies on the discovery of drug-candidate molecules that can create an alternative in the treatment of breast cancer continue at full speed. At this point, nature has a substantial place offering great diversity. Natural products may exhibit anticancer properties directly through molecular targets such as genes or indirectly through metabolic pathways. Moreover, they may be adjuvant agents and contribute to conventional therapy, and thus, they can enhance the efficacy of chemotherapeutics or even ease their side effects. Green tea, a critical dietary source of polyphenols and flavonoids, is obtained from the minimally fermented or unfermented leaves of the *Camellia sinensis* L. plant and is used in traditional Chinese medicine for many important conditions, including cancer. The phytochemical content of green tea is extremely rich, including (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC); (-)-epicatechin-3-gallate (ECG) and (-)-epicatechin (EC) as the main catechins in the composition of green tea. Within the scope of our study, we proposed the cytotoxicity and toxicity comparison of the water and 80% ethanolic extract of the green tea extracts as well as of (-)-epicatechin (EC) and (-)-epigallocatechin (EGC) in terms of their cytotoxicity and toxicity based on the structure-activity relationship on breast cancer. Therefore, we tested aqueous and 80% ethanolic extracts of green tea and EGC and EC on MDA-MB-231, MDA-BMB-468, MCF-7 and SK-BR-3 breast cancer cells. Their toxicity on healthy rat myoblastoma H9c2 cells was further examined. Resazurin reduction assay was used to detect cytotoxicity and toxicity. Both water and 80% ethanolic extract of green tea exhibited remarkable cytotoxicity on MCF-7 cancer cells deserving further investigation, including phytochemical characterization of the extract. Epigallocatechin was also cytotoxic on MCF-7 cells with an IC₅₀ value of 20.07 µM. The possible therapeutic potentials of green tea extracts and their substantial catechin derivatives were assessed for breast cancer therapy.

Keywords: Breast cancer, Epicatechin, Epigallocatechin, Cytotoxicity, Green tea, Toxicity



© 2023 The Author(s)

Available online at
<http://jfh.sscientificwebjournals.com>

Introduction

Breast cancer is among the most prevalent cancer types in the world causing 685000 deaths in 2020 (WHO, 2023). Assorted treatment regimens are available for breast cancer, such as targeted therapy, hormonal therapy, radiation therapy, surgery and chemotherapy (Akram et al., 2017; WHO, 2023). Chemotherapy, a substantial treatment option in cancer therapy, varies based on different factors such as the cancer type (*i.e.* if it is estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) or human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)/neu dependent or not), stage and grade of cancer, patient's overall health (WHO, 2023). Cyclophosphamide, cisplatin, and doxorubicin are among the common chemotherapeutics against breast cancer, but their effects on healthy cells also cause serious side effects (WHO, 2023; Waks & Winer, 2019). At this point, nature provides undeniable options for the discovery of new agents that can either become potential drug candidates against cancer or may support cancer therapy by alleviating the side effects of chemotherapeutics, boosting the immune system. The search for less toxic, more effective, and less costly natural compounds with anticancer therapeutic potential has been maintained for decades. Newman and Cragg (2020) reported that only 29% of small molecule drugs approved between 1981 and 2019 were totally synthetic drugs while others were natural products, their mimics or derivatives (Newman & Cragg, 2020). Therefore, phytochemicals hold great potential to prevent or cure cancer. They can act directly through molecular targets such as genes or indirectly through metabolic pathways (Saldanha & Tollefsbol, 2012).

Green tea, an important dietary source of polyphenols and flavonoids, is obtained from the minimal or unfermented leaves of the plant *Camellia sinensis* L. and its production is characterized by a heating process that kills the enzyme polyphenol oxidase, which is responsible for the conversion of leaf flavanols into dark polyphenolic compounds (Ranjan et al., 2019; Ruchika & Sehgal, 2022). Green tea consumption first started in China and spread quickly to different cultures. Its use increased when its health benefits became clear. In traditional Chinese medicine, green tea has been considered to have cardioprotective, anti-cancer, and anti-infective effects. The chemical composition of green tea includes proteins, amino acids, carbohydrates, lipids, sterols, vitamins, pigments such as chlorophyll and carotenoids, alcohols, esters, aldehydes, hydrocarbons, and lactones. It further consists of minerals and trace elements. Green tea is rich in catechins; the four main catechins in its composition, (-)-epicatechin-3-gallate (EGC) (about 13.6%), (-)-epicatechin (EC) (approximately 6.4%), (-)-epigallocatechin

(EGC) (about 19%) and (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) (about 59%) (Chacko et al., 2010). Polyphenols, including catechins, directly activate copper bound to chromatin and induce the formation of reactive oxygen species, leading to cellular DNA breaks (Farhan et al., 2015). Moreover, due to their antioxidant capacity, catechins are also involved in the prevention/treatment of diseases associated with free radical damage, such as cancer, Alzheimer's disease, cardiovascular diseases, Parkinson's disease, and diabetes (Braicu et al., 2013).

Tea polyphenols are chelators of metal ions, and the polyphenolic structure provides scavenging of free radicals by electron delocalization. It suggests that both antioxidant and prooxidant activities of catechins are important against malignancy, especially for the prevention of cancer (Shirakami & Shimizu, 2018). The oxidant and pro-oxidant nature of EGCG is important in terms of its antitumor effect. EGCG leads the generation of reactive oxygen species to activate pro-oxidative pathways by covalently bonding with antioxidants and induces the death of cancer cells. EGCG has been shown to inhibit cell proliferation by suppressing STAT3, ERK1/2, Akt/PI3K, Wnt and NF-KB pathways (Alam et al., 2022). MCF-7 cells under the treatment of EGCG showed that both p21 and p27 proteins were overexpressed, with an increased proportion of cells arrested at G1. EGCG has been shown to be effective in both estrogen receptor (ER) negative and positive cell lines (Stuart et al., 2006). EGCG has also been found to exhibit significant chemopreventive effects and anti-cancer stem cell activity in a variety of ways (Abd El-Rahman et al., 2017). In another study, human breast cancer cells when treated with EGCG, the protein expression, mRNA expression level, and the activity of MMP-2 lessened. It is a beneficial situation. Because MMP-2 overexpression was reported to be linked to many cancers' malignant and invasive phenotypes (Chen et al., 2011).

Similar to EGCG, EGC and EC (Figure 1) are phenolic compounds, and their possible antioxidant potentials, as well as their structural similarities with EGCG, make us think that they may be important molecules in anticancer drug discovery. Within the scope of our project, we planned to evaluate the antitumor potentials of green tea extracts (water and 80% ethanolic extracts), EGC and EP on breast cancer cells, as well as their toxicity on healthy H9c2 rat myoblastoma cells.

In our project, the cytotoxic effects of aqueous (infusion) and 80% ethanolic extracts of green tea and EGC and EC, which

are intensely found in green tea, on breast cancer cells with different origin and their toxicity on healthy rat myoblastoma cells were investigated. Thus, we aimed to unravel the possible antitumor potentials of the extracts and catechin derivatives in breast cancer.

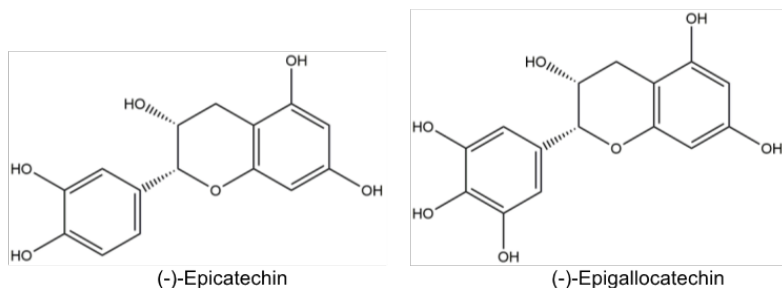


Figure 1. Chemical structures of (-)-epicatechin and (-)-epigallocatechin. The structures were drawn by using ChemDraw® (Cambridge, MA).

Materials and Methods

Chemicals

(-)-Epicatechin, (-)-epigallocatechin and doxorubicin were purchased from Cayman Chemical, Türkiye. The media used in the present study were commercially purchased. Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) and Minimum Essential Medium (MEM) were obtained from Sigma, Türkiye. McCoy's 5A media, Fetal Bovine Serum (FBS) and Penicillin-Streptomycin Solution were purchased from Biowest, Türkiye.

Cell Culture

The cell lines used in the present work, their origins, and sustainment were previously reported (ATTC, 2023). In brief, various breast cancer cells with different origins (MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-468 and SKBR-3) and healthy rat myoblastoma cells (H9c2) were used for experimental studies.

Preparation of the Extracts

Green tea is commercially obtained from the market. To obtain 80% ethanolic extract of green tea leaves, green tea leaves (20 g) were extracted with 80% ethanol (2 x 100 mL) in a water bath at 40 °C, concentrated to dryness under decreased pressure and lyophilized *in vacuo*.

To acquire the water extract from green tea leaves, boiling water (2 x 100 mL) was poured on green tea leaves (20 g) for

30 min. each, concentrated to dryness under decreased pressure and lyophilized *in vacuo*.

The extracts were dissolved in DMSO to prepare the stock solutions. The stock solutions of the extracts and catechin derivatives were prepared as 10 mM. Then, the required concentrations were prepared via stock solution.

Cytotoxicity and Toxicity Determination

We performed a resazurin reduction assay to test the cytotoxicity. In this case, the resazurin is reduced to resorufin by viable cells (O'Brien et al., 2000). Non-viable cells do not display blue staining due to losing their metabolic capacity. Briefly, aliquots of 5×10^5 adherent cells were seeded in 96-well plates and were allowed to attach overnight. In the following, the cells were incubated with or without the addition of varying concentrations of the test substance to get a total volume of 200 μ L/well. After 72 h incubation and the addition of resazurin (Sigma-Aldrich, Turkey) for 4 h, staining was measured by an Infinite 200 M Plex plate reader (Tecan, Turkey) using an excitation wavelength of 544 nm and an emission wavelength of 590 nm. Each assay was independently performed thrice, with six parallel replicates each. The protocol has been recently reported (Kuate et al., 2016). GraphPad Prism v6.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). It was used to prepare dose-response curves of the extracts and catechin derivatives. The 50% inhibition concentrations (IC_{50}) were calculated by nonlinear regression using Microsoft Excel. The results were expressed as \pm standard deviations (SD).

Results and Discussion

Cytotoxicity of the Green Tea Extracts and of Catechin Derivatives in a Variety of Breast Cancer Cells

We investigated the cytotoxic activity of the water and 80% ethanolic extracts of green tea as well as of epicatechin and epigallocatechin on assorted breast cancer cells with different origins. Therefore, we tested the cytotoxicity of the water and 80% ethanolic extracts of green tea at ranging concentrations from 1 to 100 μ g/mL. Moreover, we treated the breast cancer cells with ranging concentrations of epicatechin and epigallocatechin from 1 to 100 μ M to evaluate their potential cytotoxic activity on these cells. We treated the breast cancer cells MDA-MB-231, MDA-MB-468, MCF-7 and SK-BR-3. The cell viability percentages of the breast cancer cells under the treatment of the water and 80% ethanolic extracts of green tea as well as of epicatechin and epigallocatechin are shown in Figures (2-4) below.

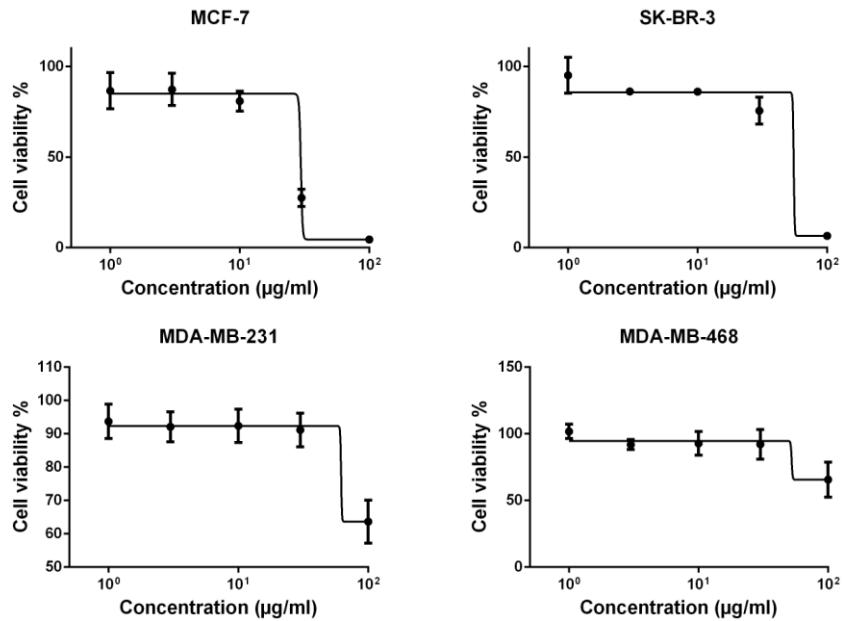


Figure 2. The effect of 80% ethanolic extract of green tea on a variety of breast cancer cells. GraphPad Prism v6.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) was used to generate dose–response curves of the extracts. The results were expressed as ± standard deviations (SD).

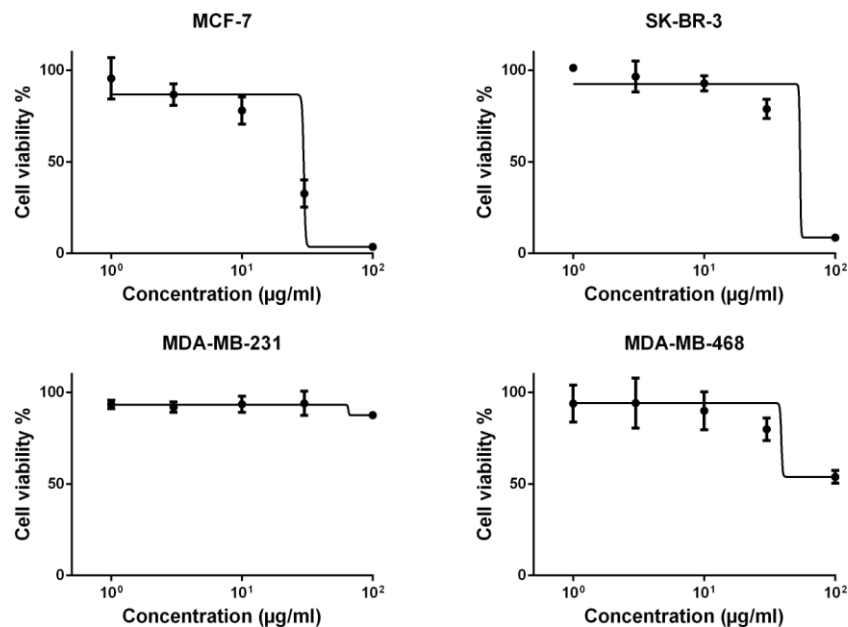


Figure 3. The effect of green tea's water extract on various breast cancer cells. GraphPad Prism v6.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) generated dose–response curves for the green tea extracts. The results were expressed as ± standard deviations (SD).

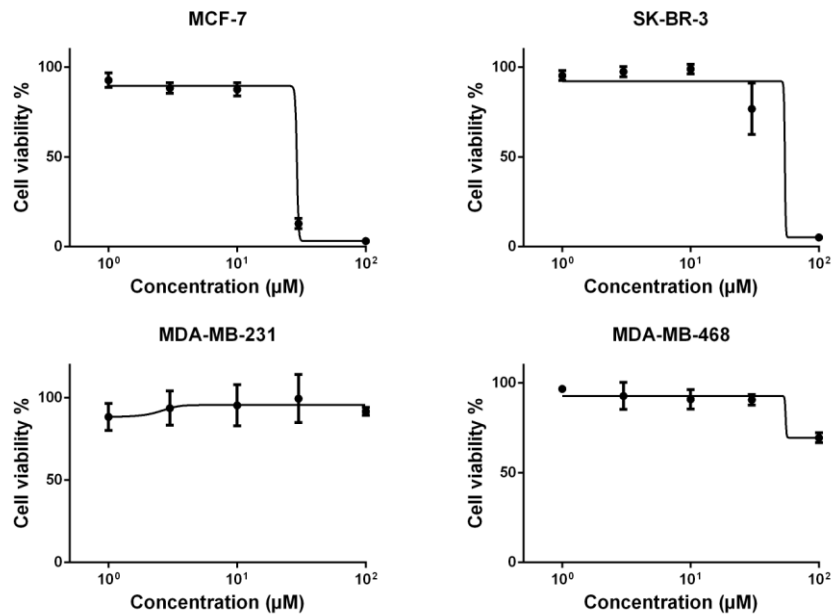


Figure 4. The effect of epigallocatechin on a variety of breast cancer cells. GraphPad Prism v6.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) was used to generate dose–response curves of epigallocatechin. The results were expressed as \pm standard deviations (SD).

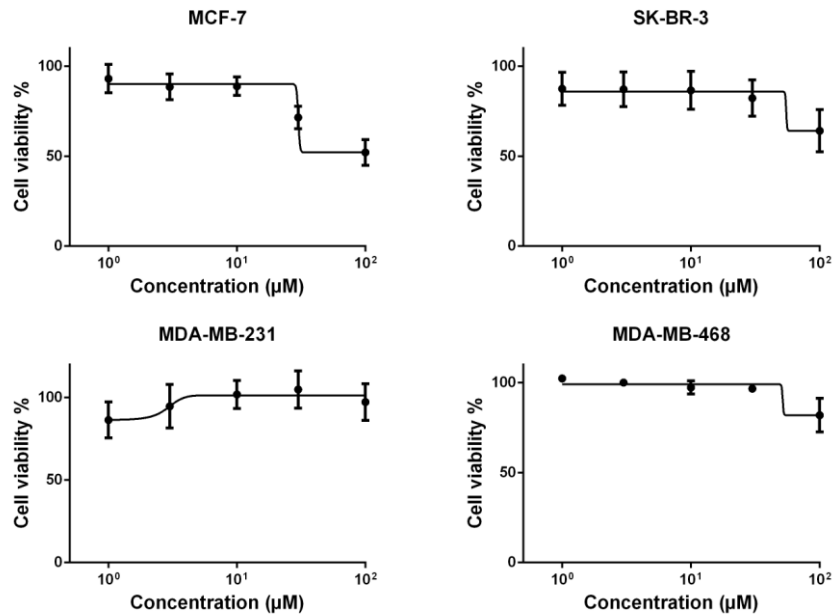


Figure 5. The effect of epicatechin on a variety of breast cancer cells. GraphPad Prism v6.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) was used to generate dose–response curves of epicatechin. The results were expressed as \pm standard deviations (SD).

As seen in Table 1 and Figure 2, 80% ethanolic extract of green tea exhibited greater cytotoxicity than that of water extract (Table 1, Figure 3). The hydroethanolic extract of green tea displayed the strongest cytotoxicity on MCF-7 cells with an IC_{50} value of 21.58 $\mu\text{g/mL}$ in addition to possessing moderate cytotoxicity on SK-BR-3 cells with an IC_{50} value of 55.94 $\mu\text{g/mL}$. Likewise, the water extract of green tea presented greater cytotoxicity on MCF-7 and SK-BR-3 cells, respectively with IC_{50} values of 22.38 (MCF-7) and 58.81 $\mu\text{g/mL}$ (SK-BR-3). The green tea extracts were not cytotoxic enough on MDA-MB-231 and MDA-MB-468 cells that the cell viability of these cells did not even go down below 50% at 100 $\mu\text{g/mL}$. The comparison of the cytotoxic properties of the catechin derivatives indicated the cytotoxic activity of epigallocatechin (Table 1, Figure 4) on MCF-7 and SK-BR-3 cells, while no cytotoxic activity profile was observed in epicatechin (Table 1, Figure 5). The IC_{50} values of the extracts and catechin derivatives are summarized in Table 2.

Toxicity of the Green Tea Extracts and of Catechin Derivatives in a Variety of Breast Cancer Cells

We also demonstrated the toxicity of the water and 80% ethanolic extracts of green tea as well as of epicatechin and epigallocatechin on healthy rat cardiac H9c2 myoblastoma cells. Therefore, we treated the healthy rat cardiac H9c2 myoblastoma cells with diverse concentrations of the extracts (1 to 100 $\mu\text{g/mL}$) and catechins (1 to 100 μM). We observed that neither extracts nor catechin derivatives exhibited potent toxicity on H9c2 cells (Table 1, Figure 6), confirming their safety profile in comparison to clinically used doxorubicin which killed nearly half of the cells at the lowest concentrations tested (0.003 μM) (Figure 6).

Cardiotoxicity is a critical adverse effect of clinically used chemotherapeutics such as doxorubicin (Chatterjee et al., 2010; Rawat et al., 2021; Volkova & Russell, 2011). Therefore, discovering potential anticancer agents with remarkable cytotoxicity and minimal toxicity is a primary objective in anticancer drug development. Drug discovery is a long and tough process in which preclinical studies hold great importance. Identification of agents with potent cytotoxic activity and lessened toxicity is vital in that they may hold potency as potential drug leads or as a part of drug combination regimens in cancer therapy.

Emerging literature data has pointed out that botanicals are considered efficient cytotoxic agents if their IC_{50} values are lower than 20 $\mu\text{g/mL}$ following the 72 h incubation period

(Mbaveng et al., 2019). Besides, according to the National Cancer Institute USA (NCI), botanicals yielding IC_{50} values below or around 30 $\mu\text{g/mL}$ should be applied to purification to acquire cytotoxic substances (Mbaveng et al., 2019; Stiffness et al., 1990). Assessed the cytotoxicity of the water and 80% ethanolic extracts of green tea, both extracts exhibited strong cytotoxicity on MCF-7 cells with the IC_{50} values of 22.38 $\mu\text{g/mL}$ and 21.58 $\mu\text{g/mL}$, respectively, deserving further purification steps to obtain remarkable drug leads. Having identical IC_{50} values on MCF-7 cells makes us think their chemical composition should be similar, probably due to the polarity of the solvents used for the extraction. On the other hand, unfortunately, the water and 80% ethanolic extracts of green tea displayed modest to slight cytotoxic activity on other breast cancer cells. Green tea infusion exhibited moderate cytotoxic activity on SK-BR-3 cells (IC_{50} : 58.81 $\mu\text{g/mL}$) while possessing slight cytotoxicity on MDA-MB-231 and MDA-MB-468 cells ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$).

Regarding catechin derivatives, epigallocatechin substantially repressed the cell viability% of MCF-7 cells with the IC_{50} value of 20.07 μM . It inhibited SK-BR-3 cells with the IC_{50} value of 56.19 μM , unlike its slight cytotoxicity on MDA-MB-468 and MDA-MB-231 cells ($IC_{50} > 100 \mu\text{M}$). On the other hand, epicatechin was not cytotoxic enough to affect the tested breast cancer cells. It lessened the cell viability of MCF-7 and SK-BR-3 up to 52.08% and 64.11%, respectively, while almost no cytotoxic activity was observed in MDA-MB-468 and MDA-MB-231 cells.

To sum up the cytotoxic activity profiles of the extracts and catechin derivatives from a general perspective, the extracts and catechin derivatives displayed slight or no cytotoxicity on MDA-MB-231 and MDA-MB-468 cells that are both triple-negative breast cancer cells and are not ER, PR, or HER2-dependent cancer cells. On the other hand, assessing the cytotoxic activities of green tea extracts and catechin derivatives, MCF-7 was the most sensitive cell line whose cell viability was significantly inhibited when treated with green tea extracts and catechin derivatives. The gallo form of epicatechin, epigallocatechin, demonstrated a greater cytotoxic capacity, indicating the importance of the presence of the galloyl group for enhanced cytotoxic activity. MCF-7 cells are ER-dependent and HER2-independent cells (Holliday & Speirs, 2011), pointing out their anticancer potential on ER-positive and HER2-negative breast cancer cells.

Table 1. The effect of the green tea extracts/catechin derivatives on a variety of breast cancer cells and healthy cells.

The tested concentrations	Cell survival (%) MDA-MB-468 cell line	Cell survival (%) MDA-MB-231 cell line	Cell survival (%) MCF-7 cell line	Cell survival (%) SK-BR-3 cell line	Cell survival (%) H9c2 cell line
80% ethanolic extract					
1 µg/mL	101.87 ± 5.48	93.72 ± 5.14	86.82 ± 10.02	95.09 ± 9.93	93.70 ± 5.98
3 µg/mL	91.74 ± 3.71	92.12 ± 4.48	87.34 ± 8.84	86.23 ± 1.74	87.82 ± 3.02
10 µg/mL	92.87 ± 8.85	92.40 ± 5.04	80.90 ± 5.53	86.16 ± 1.96	82.32 ± 2.27
30 µg/mL	92.18 ± 11.10	91.16 ± 5.05	27.52 ± 4.72	75.60 ± 7.39	69.49 ± 6.46
100 µg/mL	65.64 ± 13.09	63.66 ± 6.45	4.55 ± 0.38	6.52 ± 0.39	47.04 ± 4.39
Water extract					
1 µg/mL	93.89 ± 10.15	93.44 ± 2.28	95.58 ± 11.32	101.37 ± 1.99	97.95 ± 3.95
3 µg/mL	94.18 ± 13.67	91.92 ± 2.90	86.73 ± 5.88	96.61 ± 8.48	91.96 ± 4.46
10 µg/mL	89.95 ± 10.35	93.55 ± 4.36	78.05 ± 7.39	92.87 ± 4.07	74.55 ± 0.73
30 µg/mL	79.86 ± 6.16	94.04 ± 6.66	32.72 ± 7.39	78.90 ± 5.23	56.93 ± 6.86
100 µg/mL	53.89 ± 3.53	87.56 ± 1.99	3.60 ± 0.29	8.67 ± 1.31	34.38 ± 4.19
Epicatechin					
1 µM	102.32 ± 2.12	86.47 ± 10.83	93.09 ± 7.93	87.47 ± 9.15	91.29 ± 13.20
3 µM	100.01 ± 2.04	94.75 ± 13.22	88.48 ± 7.74	87.19 ± 9.70	87.47 ± 8.37
10 µM	97.32 ± 3.71	101.94 ± 8.47	88.87 ± 5.12	86.59 ± 10.54	78.64 ± 5.89
30 µM	96.65 ± 1.66	104.91 ± 11.3	71.54 ± 6.23	82.24 ± 10.07	74.33 ± 8.12
100 µM	81.92 ± 9.38	97.34 ± 11.11	52.08 ± 7.11	64.11 ± 11.75	51.26 ± 9.90
Epigallocatechin					
1 µM	96.69 ± 1.85	88.42 ± 8.19	92.71 ± 4.05	95.33 ± 2.75	92.99 ± 8.46
3 µM	92.75 ± 7.58	93.77 ± 10.45	88.33 ± 2.98	97.49 ± 2.87	91.48 ± 7.77
10 µM	90.85 ± 5.44	95.48 ± 12.54	87.63 ± 3.59	98.98 ± 2.66	85.74 ± 10.62
30 µM	90.60 ± 2.98	99.60 ± 14.54	12.92 ± 2.80	76.77 ± 14.27	78.92 ± 10.18
100 µM	69.47 ± 2.69	91.79 ± 2.44	3.17 ± 0.42	5.22 ± 0.77	53.43 ± 6.28

Table 2. IC₅₀ values of the green tea extracts/catechin derivatives on a variety of breast cancer cells.

Extracts/catechin derivatives	MCF-7	SK-BR-3	MDA-MB-231	MDA-MB-468
80% Ethanolic extract	21.58 µg/mL	55.94 µg/mL	>100 µg/mL	>100 µg/mL
Water extract	22.38 µg/mL	58.81 µg/mL	>100 µg/mL	>100 µg/mL
Epicatechin	>100 µM	>100 µM	>100 µM	>100 µM
Epigallocatechin	20.07 µM	56.19 µM	>100 µM	>100 µM

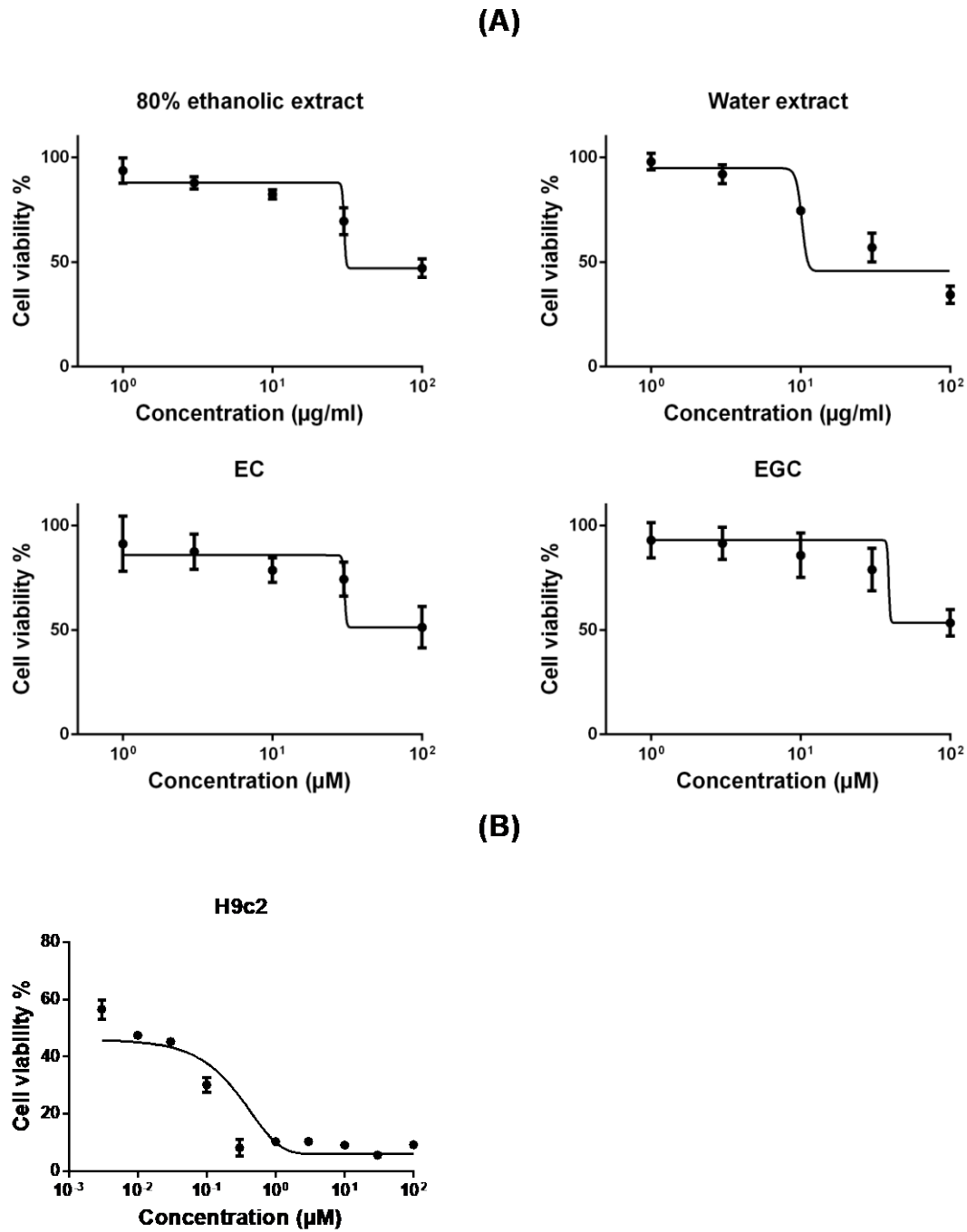


Figure 6. The effects of (A) green tea extracts and catechin derivatives (B) doxorubicin on H9c2 rat cardiac myoblastoma cells at various concentrations. GraphPad Prism v6.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) was used to generate dose–response curves of the extracts and catechin derivatives. The results were expressed as \pm standard deviations (SD).

We further evaluated the toxicity profiles of green tea extracts and catechin derivatives on H9c2 healthy rat myoblastoma cells. Although the toxicity profiles of both extracts and catechin derivatives appeared similar, the water extract of green tea extracts displayed the highest toxicity in all, inducing 34.38% cell viability at 100 µg/mL. Still, compared to green tea extracts, epigallocatechin exhibited the lowest toxicity profile, and the cell viability of H9c2 cells was above 80% under the treatment of its corresponding IC₅₀ value on MCF-7 cells, indicating its relative safety.

In this research, we assessed the cytotoxicity and toxicity profiles of water and 80% ethanolic extract of green tea extracts and their containing catechin derivatives epicatechin and epigallocatechin. We worked on various breast cancer cells with different origins to test the cytotoxicity. Emerging evidence has ascertained the anticancer potential of green tea extracts and catechin derivatives (Chen et al., 2011; Chen et al., 2022; Cheng et al., 2020; Yu et al., 2019). Even more, ongoing clinical studies exist about the effects of green tea extracts and green tea catechins on various cancers, including breast cancer (ClinicalTrials.gov, 2023). Still, the investigations mostly focus on either green tea or EGCG. Therefore, in the present research, our primary focus was investigating and comparing the cytotoxic and toxic effects of water and 80% ethanolic extracts of green tea and other catechin derivatives (EP and EGC) rather than EGCG. Our study also holds importance because tested breast cancer cells have different origins. Examining the extracts and the catechin derivatives towards these cell lines is a rationale approach enabling the assessment of their efficiency and selectivity in breast cancer therapy. The breast cancer cells were selected based on their origin (*i.e.* whether they carry ER, PR, or HER2/neu or not), and thereby, unlike much of the existing knowledge in the literature, which encompasses the cytotoxic activity of green tea extracts or EGCG on assorted cancer cells which are usually randomly selected. We intended to give a general overview of the cytotoxic evaluation of the extracts and catechin derivatives on breast cancer cells and their safety profile with a rationale approach.

In addition to the existing literature data, which puts special emphasis on either green tea or EGCG, we studied and made a comparable evaluation about the anticancer potential of water and 80% ethanolic green tea extracts as well as EC and EGC rather than EGCG on a variety of breast cancer cells with different origins. Detecting both extracts and EGC with remarkable cytotoxicity and relative safety, specifically on hormone-dependent breast cancer cells, makes us think they are prospective natural agents worthy of being studied in

more detail against future breast cancer regimens connected to ER/PR.

Conclusion

The present study gave a perspective on the cytotoxic and toxic characteristics of green tea extracts and catechin derivatives. Green tea extracts and epigallocatechin exhibited anticancer potential against hormone-dependent breast cancer. Our findings were expected to significantly contribute to assessing and comparing the bioactivities of green tea extracts and catechin derivatives.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interests: The author(s) declares that for this article, they have no actual, potential, or perceived conflict of interest.

Ethics committee approval: Authors declare that this study includes no experiments with human or animal subjects. Ethics committee approval is not required for this study.

Data availability: Data will be made available on request.

Funding: This study was supported by TÜBİTAK 2209-A University Students Research Projects Support Program (Project No: 1919B012211398).

Acknowledgements: -

Disclosure: -

References

- Abd El-Rahman, S.S., Shehab, G., & Nashaat, H. (2017). Epigallocatechin-3-gallate: The prospective targeting of cancer stem cells and preventing metastasis of chemically-induced mammary cancer in rats. *American Journal of the Medical Sciences*, 354(1), 54-63.
<https://doi.org/10.1016/j.amjms.2017.03.001>
- Akram, M., Iqbal, M., Daniyal, M., & Khan, A.U. (2017). Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biological Research*, 50, 1-23.
<https://doi.org/10.1186/s40659-017-0140-9>
- Alam, M., Ali, S., Ashraf, G.M., Bilgrami, A.L., Yadav, D.K., & Hassan, M.I. (2022). Epigallocatechin 3-gallate: From green tea to cancer therapeutics. *Food Chemistry*, 379, 132135.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132135>

- ATTC. (2023). <https://www.atcc.org> (accessed 28.08.2023).
- Braicu, C., Ladomery, M.R., Chedea, V.S., Irimie, A., & Berindan-Neagoe, I. (2013). The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins. *Food Chemistry*, 141(3), 3282-3289. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.122>
- Chacko, S.M., Thambi, P.T., Kuttan, R., & Nishigaki, I. (2010). Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chinese Medical Journal*, 5, 13. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-5-13>
- Chatterjee, K., Zhang, J., Honbo, N., & Karliner, J.S. (2010). Doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiology*, 115(2), 155-162. <https://doi.org/10.1159/000265166>
- Chen, D., Wan, S. B., Yang, H., Yuan, J., Chan, T. H., & Dou, Q. P. (2011). EGCG, green tea polyphenols and their synthetic analogs and prodrugs for human cancer prevention and treatment. *Advances in Clinical Chemistry*, 53, 155-177. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-385855-9.00007-2>
- Chen, Y., Abe, S. K., Inoue, M., Yamaji, T., Iwasaki, M., Nomura, S., Hashizume, M., Tsugane, S., Sawada, N., Sawada, N., Tsugane, S., Iwasaki, M., Inoue, M., Yamaji, T., Katagiri, R., Miyamoto, Y., Ihira, H., Abe, S.K., Tanaka, S., . . . Past members of the committee external, e. (2022). Green tea and coffee consumption and risk of kidney cancer in Japanese adults. *Scientific Reports*, 12(1), 20274. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24090-z>
- Cheng, Z., Zhang, Z., Han, Y., Wang, J., Wang, Y., Chen, X., Shao, Y., Cheng, Y., Zhou, W., Lu, X., & Wu, Z. (2020). A review on anti-cancer effect of green tea catechins. *Journal of Functional Foods*, 74, 104172. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104172>
- ClinicalTrials.gov, U.S.N.L.o.M. (2023). <https://clinicaltrials.gov/search?cond=cancer&intr=Green%20Tea&page=2> (accessed 07.09.2023).
- Farhan, M., Zafar, A., Chibber, S., Khan, H.Y., Arif, H., & Hadi, S.M. (2015). Mobilization of copper ions in human peripheral lymphocytes by catechins leading to oxidative DNA breakage: A structure activity study. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 580, 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.06.019>
- Holliday, D.L., & Speirs, V. (2011). Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast Cancer Research*, 13(4), 215. <https://doi.org/10.1186/bcr2889>
- Kuete, V., Mbaveng, A.T., Nono, E.C., Simo, C.C., Zeino, M., Nkengfack, A.E., & Efferth, T. (2016). Cytotoxicity of seven naturally occurring phenolic compounds towards multi-factorial drug-resistant cancer cells. *Phytomedicine*, 23, 856–863. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.04.007>
- Mbaveng, A.T., Damen, F., Simo Mpetga, J.D., Awouafack, M.D., Tane, P., Kuete, V., & Efferth, T. (2019). Cytotoxicity of crude extract and isolated constituents of the *Dichrostachys cinerea* bark towards multifactorial drug-resistant cancer cells. *Evidence- Based Complementary Alternative Medicine*, 2019, 8450158. <https://doi.org/10.1155/2019/8450158>
- Newman, D.J., & Cragg, G.M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770-803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
- O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T., & Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 267, 5421–5426. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01606.x>
- Ranjan, A., Ramachandran, S., Gupta, N., Kaushik, I., Wright, S., Srivastava, S., Das, H., Srivastava, S., Prasad, S., & Srivastava, S.K. (2019). Role of phytochemicals in cancer prevention. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 4981. <https://doi.org/10.3390/ijms20204981>
- Rawat, P.S., Jaiswal, A., Khurana, A., Bhatti, J.S., & Navik, U. (2021). Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111708. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111708>
- Ruchika, & Sehgal, A. (2022). An update on disease preventing potential of green tea in comparison with some tisanes. *South African Journal of Botany*, 144, 92-96.

<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.08.027>

Saldanha, S.N., & Tollefsbol, T.O. (2012). The role of nutraceuticals in chemoprevention and chemotherapy and their clinical outcomes. *Journal of Oncology*, 192464.

<https://doi.org/10.1155/2012/192464>

Shirakami, Y., & Shimizu, M. (2018). Possible mechanisms of green tea and its constituents against cancer. *Molecules*, 23(9), 2284.

<https://doi.org/10.3390/molecules23092284>

Stuart, E.C., Scandlyn, M.J., & Rosengren, R.J. (2006). Role of epigallocatechin gallate (EGCG) in the treatment of breast and prostate cancer. *Life Sciences*, 79(25), 2329-2336.

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.07.036>

Suffness, M., Pezzuto, J.M., & Hostettmann, K. (1990). Methods in plant biochemistry: assays for bioactivity. *Methods in Plant Biochemistry*, 6th ed.; Hostettmann, K., Ed, 33-71.

Volkova, M., & Russell, R., 3rd. (2011). Anthracycline cardiotoxicity: prevalence, pathogenesis and treatment. *Current Cardiology Reviews*, 7(4), 214-220.

<https://doi.org/10.2174/157340311799960645>

Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast cancer treatment: a review. *Jama*, 321(3), 288-300.

<https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323>

World and Health Organization (WHO), (2023). *Breast cancer*.

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer> (accessed 22.08.2023).

Yu, S., Zhu, L., Wang, K., Yan, Y., He, J., & Ren, Y. (2019). Green tea consumption and risk of breast cancer: A systematic review and updated meta-analysis of case-control studies. *Medicine (Baltimore)*, 98(27), e16147.

<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016147>

FOOD and HEALTH



FOOD
and
HEALTH
E-ISSN 2602-2834

Instructions to Reviewers and Authors

The journal “**FOOD and HEALTH**” establishes the highest standards of publishing ethics and benefits from the contents of the [International Committee of Medical Journal Editors \(ICMJE\)](#), [World Association of Medical Editors \(WAME\)](#), [Council of Science Editors \(CSE\)](#), [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#), [European Association of Science Editors \(EASE\)](#), [Open Access Scholarly and Publishers Association \(OASPA\)](#), and [Directory of Open Access Journals \(DOAJ\)](#).

The “**FOOD and HEALTH**” journal provides a platform for the open public discussion of the journal contents. To secure accountability and to encourage sincere professional inputs without incivilities, the system is set up to require registration and logging for the recording of inputs. Some website contents will be available without logging, but no peer review comments can be posted without disclosing the reviewer’s identity to the journal editors.

The copyright of any open-access article in the “**FOOD and HEALTH**” journal published on the “ScientificWeb-Journals” web portal hosted by “[DergiPark](#)” belongs to the author(s).

Journal Publisher Policy

1. Aims and Scope

Our journal started its publication life as “Journal of Food and Health Sciences” between 2015-2017. In 2018, its name was changed to “Food and Health”. The journal “**FOOD AND HEALTH**” publishes peer-reviewed (double-blind) original research, communication and review articles covering all aspects of food science and its effects on health. Our journal will be published quarterly in English or Turkish language.

2. Scientific Quality and Objectivity

The journal evaluates and publishes research articles and reviews, adhering to high scientific standards. Adhering to the principle of impartiality, it strictly complies with ethical rules to prevent conflicts of interest among editors, referees, and authors.

3. Open Access

The journal adopts an open-access policy that supports open and free access to information. This aims to increase access to scientific knowledge in society at large by making science available to a wider audience.

Open-access articles in the journal are licensed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

FOOD and HEALTH



**FOOD
and
HEALTH**
E-ISSN 2602-2834

5. Ethical Standards

The journal maintains a rigorous attitude towards upholding ethical standards among authors and reviewers. The processes of evaluating the effects of research on humans, animals and the environment are carried out in full compliance with national and international ethical rules.

6. Peer Review

The journal employs a double-blind referee system. Referees are selected among experts and experienced people in their fields. The peer review process involves subjecting articles to rigorous review in terms of scientific content, methodology and ethics.

7. Author Rights and Licensing

The journal respects the property rights of authors and grants appropriate licenses to articles. It allows articles to be freely shared and used by others using appropriate licensing models, such as Creative Commons licenses.

8. Diversity and Inclusion

The journal encourages diversity among authors, editors, and reviewers. It fights against inequalities in the scientific world, considering gender, geographical origin, discipline, and other elements of diversity.

9. Communication and Transparency

The journal promotes open communication between authors, reviewers, and readers. Publisher policies, article evaluation processes and other important information are transparently published on the journal's website.

10. Archiving

Journal archiving is conducted following the **Republic of Türkiye Ministry of Industry and Technology TÜBİTAK Turkish Academic Network and Information Center (ULAKBİM) "DergiPark"** publication policy ([LOCKSS](#)).

Publication Ethics

1. Scientific Neutrality and Objectivity:

All publications must reflect an impartial and objective perspective. If there are any conflicts of interest, authors must clearly state these conflicts of interest.

2. Scientific Soundness:

Articles should be based on a solid methodology and reliable results. The accuracy of statistical analyses should be at the forefront.

3. Ethical Standards:

The journal supports the principles of the Basel Declaration (<https://animalresearchtomorrow.org/en>) and the guidelines published by the International Council for Laboratory Animal Science (<https://iclas.org/>). In this regard, the research must fully comply with the relevant ethical rules and standards. International ethics committees must conduct studies on humans, animals, or the environment and must be confirmed by the authors of the journal.

For research submitted to this journal, authors are advised to comply with the [IUCN Policy Statement on Research Involving Species at Risk of Extinction and the Convention on Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora for research involving plants](#).

4. Originality and Plagiarism:

Publications must be original, and appropriate attribution must be made when quoting other sources. In our journal, plagiarism is considered a serious crime. For this reason, all articles submitted to the "Aquatic Research" journal must undergo a preliminary evaluation. Advanced Plagiarism Detection Software (iThenticate, etc.) tools will be used.

FOOD and HEALTH



**FOOD
and
HEALTH**
E-ISSN 2602-2834

5. Language:

Articles should be written to a scientific journal standard, and care should be taken regarding grammar and spelling errors.

Editors' Responsibilities

1. Maintaining High Scientific Standards:

To ensure that the articles published in the journal comply with high scientific standards.

To ensure full compliance with ethical rules and journal policies.

2. Managing the Article Evaluation Process:

To effectively manage the article evaluation process and support a rapid publication process.

To adopt the principles of double-blind arbitration and maintain the principles of expertise and impartiality in selecting arbitrators.

3. Making Editorial Decisions:

Consider referee evaluations to make decisions about accepting or rejecting articles for publication.

Maintaining transparency and openness in the editorial process.

4. Contact with Authors:

Maintaining effective and constructive communication with authors.

They provide authors with regular updates on the status of their articles, correction requests, and publication dates.

5. Managing Journal Policies:

Keep the journal's policies and guidelines updated and revise them as needed.

To provide a reliable platform between readers and writers.

Responsibilities of Referees

1. Objectivity and Expertise:

To comply with the principles of double-blind refereeing and to evaluate articles impartially.

Evaluating articles by focusing on areas of expertise on the subject.

2. Privacy and Reliability:

To protect the confidentiality of the article evaluation process.

Provide reliable and constructive feedback to authors, journal editors, and other reviewers.

3. Timely Evaluation:

Evaluating articles by the timelines determined by the journal.

Informing editors promptly in case of delays.

4. Compliance with Ethical Rules:

To ensure full compliance with ethical standards and journal policies.

Clearly express conflicts of interest and withdraw from the evaluation process when necessary.

5. Constructive Feedback to Writers:

Provide clear and constructive feedback to authors and suggest improving the article when necessary.

FOOD and HEALTH



FOOD
and
HEALTH
E-ISSN 2602-2834

Preparation of the Manuscript

Manuscripts prepared in Microsoft Word must be converted into a single file before submission. Please start with the title page and insert your graphics (schemes, figures, *etc.*) and tables in the one main text (Word Office file).

Title (should be clear, descriptive, and not too long)

Full Name(s) and Surname (s) of author(s)

ORCID ID for all author (s) (<http://orcid.org/>)

Authors complete correspondence Address (es) of affiliations and e-mail (s)

Abstract

Keywords (indexing terms), usually 3-6 items

Introduction

Material and Methods

Results and Discussion

Conclusion

Compliance with Ethical Standards

- **Conflict of Interest:** When you (or your employer or sponsor) have a financial, commercial, legal, or professional relationship with other organisations or people working with them, a conflict of interest may arise that may affect your research. A full description is required when you submit your article to a journal.
- **Ethics committee approval:** Ethical committee approval is routinely requested from every research article based on experiments on living organisms and humans. Sometimes, studies from different countries may not have the ethics committee's approval, and the authors may argue that they do not need support for their work. In such situations, we consult COPE's "Guidance for Editors: Research, Audit, and Service Evaluations" document, evaluate the study with the editorial board, and decide whether or not it needs approval.
- **Data availability:** The data availability statement/data access statement informs the reader where research data associated with an article is available and under what conditions the data can be accessed, and may include links to the dataset, if any.

One of the following should be selected and stated in the submitted article;

1. No data was used for the research described in the article.
2. The data that has been used is confidential.
3. The authors do not have permission to share the data.
4. Data will be made available on request.
5. The author is unable to specify which data has been used or has chosen not to.
6. Other (please explain; for example, I have shared the link to my data in the attached file step).

• **Funding:** If there is any, the institutions that support the research and the agreements with them should be given here.

• **Acknowledgment:** Acknowledgments allow you to thank people and institutions who assist in conducting the research.

• **Disclosure:** Explanations about your scientific / article work that you consider ethically important.

References

Tables (all tables given in the main text)

Figures (all figures/photos shown in the main text)

Manuscript Types

Original Articles: This is the most essential type of article since it provides new information based on original research. The main text should contain "Title", "Abstract", "Introduction", "Materials and Methods", "Results and Discussion", "Conclusion", "Compliance with Ethical Standards", and "References" sections.

Statistical analysis to support conclusions is usually necessary. International statistical reporting standards must conduct statistical analyses. Information on statistical analyses should be provided with a separate sub-heading under the Materials and Methods section, and the statistical software used during the process must be specified.

Units should be prepared by the International System of Units (SI).

FOOD and HEALTH



**FOOD
and
HEALTH**
E-ISSN 2602-2834

Review Articles: Reviews prepared by authors with extensive knowledge of a particular field and whose scientific background has been translated into a high volume of publications with a high citation potential are welcomed. The journal may even invite these authors. Reviews should describe, discuss, and evaluate the current knowledge level of a research topic and should guide future studies. The main text should start with the Introduction and end with the Conclusion sections. Authors may choose to use any subheadings in between those sections.

Short Communication: This type of manuscript discusses important parts, overlooked aspects, or lacking features of a previously published article. Articles on subjects within the journal’s scope that might attract the readers’ attention, particularly educative cases, may also be submitted as a “Short Communication”. Readers can also comment on the published manuscripts as a “Short Communication”. The main text should contain “**Title**”, “**Abstract**”, “**Introduction**”, “**Materials and Methods**”, “**Results and Discussion**”, “**Conclusion**”, “**Compliance with Ethical Standards**”, and “**References**” sections.

Table 1. Limitations for each manuscript type

Type of manuscript	Page	Abstract word limit	Reference limit
Original Article	≤30	200	40
Review Article	no limits	200	60
Short Communication	≤5	200	20

Tables

Tables should be included in the main document and presented after the reference list, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations in the tables should be defined below them by footnotes (even if they are defined within the main text). Tables should be created using the “insert table” command of the word processing software and arranged clearly to provide easy reading. Data presented in the tables should not be a repetition of the data presented within the main text but should support the main text.

Figures and Figure Legends

Figures, graphics, and photographs should be submitted through the submission system in the main document’s Word files (in JPEG or PNG format). Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blinded. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. To prevent delays in the evaluation process, all submitted figures should be clear in resolution and large (minimum dimensions: 100 × 100 mm). Figure legends should be listed at the end of the primary document.

All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition.

When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company (including the state if in the USA), should be provided in parentheses in the following format: “Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA).”

All references, tables, and figures should be referred to within the main text and numbered consecutively in the order they are referred to within it.

Limitations, drawbacks, and shortcomings of original articles should be mentioned in the Discussion section before the conclusion paragraph.

References

The citation style and methods that comply with the scientific standards that should be used in the “FOOD and HEALTH” journal for the sources used by the authors in their works are given below.

Reference System is APA 6th Edition (with minor changes)

The APA style calls for three kinds of information to be included in in-text citations. The author's last name and the work's publication date must always appear, and these items must match exactly the corresponding entry in the references list. The third kind of information, the page

FOOD and HEALTH



FOOD
and
HEALTH
E-ISSN 2602-2834

number, appears only in a citation to a direct quotation.

....(Erkan, 2011).

....(Mol and Erkan, 2009).

....(Özden et al., 2021).

....(Mol and Erkan, 2009; Erkan, 2011; Özden et al., 2021).

Citations for a Reference Section:

An article

Olcay, N., Aslan, M., Demir, M.K., Ertas, N. (2021). Development of a functional cake formulation with purple carrot powder dried by different methods. *Food and Health*, 7(4), 242-250.

<https://doi.org/10.3153/FH21025>

(if a DOI number is available)

A book in print

Harrigan, W.F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, pp. 308. ISBN: 9780123260437

A book chapter

Craddock, N. (1997). Practical management in the food industry A case study. In Food Allergy Issues for the Food Industry; Lessof, M., Ed.; Leatherhead Food RA: Leatherhead, U.K., pp 25-38. ISBN: 4546465465

A webpages

CDC (2020). Rift Valley Fever | CDC.

<https://www.cdc.gov/vhf/rvf/index.html> (accessed 20.08.2020).

Revisions

When submitting a revised version of a paper, the author must submit a detailed “Response to the reviewers” that states point by point how each issue raised by the reviewers has been covered and where it can be found (each reviewer’s comment, followed by the author’s reply and line numbers where the changes have been made) as well as an annotated copy of the primary document. Revised manuscripts must be submitted within 15 days from the date of the decision letter. If the revised version of the manuscript is not submitted within the allocated time, the revision option may be cancelled. If the submitting author(s) believe that additional time is required, they should request this extension before the initial 15-day period is over.

Accepted manuscripts are copy-edited for grammar, punctuation, and format. Once the publication process of a manuscript is completed, it is published online on the journal’s webpage as an ahead-of-print publication before it is included in its scheduled issue. A PDF proof of the accepted manuscript is sent to the corresponding author, and their publication approval is requested within two days of their receipt of the proof.