

## KAVUN ÇEKİRDEĞİ ŞERBETİNDE (SÜBYE) FENOLİK BİLEŞİKLERİN BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nurdan Özdemirli<sup>1</sup>, Senem Kamiloğlu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

<sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTUAM), Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 27.08.2022; Kabul / Accepted: 22.11.2022; Online baskı / Published online: 05.12.2022

Özdemirli, N., Kamiloğlu, S. (2022). Kavun çekirdeği şerbetinde (sübye) fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (6) 1130-1139 doi: 10.15237/gida.GD22083

Özdemirli, N., Kamiloğlu, S. (2022). *Evaluation of bioaccessibility of phenolic compounds in melon seed sherbet (subye)*. *GIDA* (2022) 47 (6) 1130-1139 doi: 10.15237/gida.GD22083

### ÖZ

Sübye; kavun çekirdekleri, şeker ve su ile hazırlanan geleneksel bir soğuk içecektir. Bu çalışmada ağız, mide ve bağırsaktaki sindirimi taklit eden in vitro bir model kullanılarak şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimlerin belirlenerek gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar sübye formülasyonlarında şeker ilavesinin toplam fenolik madde (%42–64) ( $P < 0.05$ ) ve toplam antioksidan kapasite (%13–172) biyoerişilebilirliğini arttırdığını göstermiştir. Tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında ise içeceklerin büyük kısmında fenolik bileşik (%80) ve antioksidanların (%16–62) biyoerişilebilirliği artmakla beraber bazı formülasyonlarda tatlandırıcının toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite biyoerişilebilirliği açısından önemli düzeyde bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular şeker veya tatlandırıcı varlığının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini genel anlamda olumlu yönde etkilediğine dikkat çekmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Cucumis melo* L., bitki bazlı süt, in vitro sindirim, gıda matrisi, toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite

## EVALUATION OF BIOACCESSIBILITY OF PHENOLIC COMPOUNDS IN MELON SEED SHERBET (SUBYE)

### ABSTRACT

Subye is a traditional cold drink prepared with melon seeds, sugar and water. The aim of this study was to investigate the food matrix effect on the bioaccessibility of phenolic compounds by determining the changes in total phenolics and total antioxidant capacity of subye formulations prepared with sugar/sweetener, using an in vitro model mimicking the digestion in the mouth, stomach and intestine. The results showed that presence of sugar in subye formulations increases the bioaccessibility of total phenolics (42–64%) ( $P < 0.05$ ) and total antioxidant capacity (13–172%). Although bioaccessibility of phenolics and antioxidants increased in most of the beverages prepared with sweetener (80% and 16–62%, respectively), for some formulations presence of sweetener did not induce a significant effect on the bioaccessibility of total phenolics and total antioxidant capacity.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: skamiloglu@uludag.edu.tr,

☎: (+90) 224 2755447

☎: (+90) 224 294 1402

Nurdan Özdemirli; ORCID no: 0000-0001-8741-1416

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

Overall, the findings obtained in this study pointed out that in general presence of sugar/sweetener positively affects the bioaccessibility of phenolics.

**Keywords:** *Cucumis melo* L., plant-based milk, in vitro digestion, food matrix, total phenolic content, total antioxidant capacity

### GİRİŞ

Son yıllarda laktoz intoleransı, alerjiler veya farklı tüketim tercihleri sebebiyle bitki bazlı süt alternatiflerine olan ilgi artmıştır (Reyes-Jurado vd., 2021). “Sübye” ya da “İzmir şerbeti” olarak adlandırılan geleneksel soğuk içecek kavun çekirdekleri, şeker ve su ile hazırlanmakta olup (Tamer vd., 2019) bitki bazlı süt alternatifi olarak tüketilebilmektedir. Kavun çekirdekleri meyvenin sanayide işlenmesi neticesinde ortaya çıkmakta olup kavun kabukları ile birlikte dünya çapında yılda yaklaşık 8 ila 20 milyon tonluk bir atık oluşturmaktadır (Rolim vd., 2020). Sanayide üretim sonucunda açığa çıkan atıkların bertarafı hem çevre üzerinde olumsuz etkiler yaratmakta hem de gıda üreticisine ciddi bir maliyet oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalar sanayi atıklarının pek çoğunun potansiyel olarak biyoaktif özellikler gösteren bileşiklerin kaynağı olabileceğini ortaya koymuştur (Dueñas ve García-Estévez, 2020). Nitekim, *Cucurbita* cinsi bitkilerden kavunun (*Cucumis melo* L.) çekirdeklerinin antidiyabetik, antiülser, analjezik, nefroprotektif ve antikanser aktiviteler gibi farklı farmakolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Salehi vd., 2019). Görülen bu hastalıklara karşı koruyucu etkiler antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşiklerin varlığı ile de ilişkilendirilmektedir.

Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki potansiyel olumlu etkileri gastrointestinal sistemdeki salınımlarına diğer bir deyişle biyoerişilebilirliklerine bağlıdır. Gastrointestinal koşulların taklidi için hızlı, güvenilir ve in vivo yöntemlerde olduğu gibi etik kaygılarla kısıtlaması olmayan in vitro sindirim yöntemleri yaygın olarak uygulanmaktadır (Wojtunik-Kulesza vd., 2020). Özellikle INFOGEST grubu tarafından geliştirilmiş olan in vitro sindirim modelinin (Minekus vd., 2014) uygulanması, standart deneysel koşulları ve prosedürlerin net olarak tanımlanmasından dolayı oldukça avantajlıdır. Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini etkileyen pek çok parametre olup bunlardan biri gıda matrisi ile olan etkileşimdir. Bu bağlamda şekerin

fenolik bileşikler bakımından zengin gıdalarla birlikte tüketiminin, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini çoğunlukla arttırdığı görülmüştür (Kamiloglu vd., 2021). Bu çalışmada da sübyenin ana bileşenleri olan kavun çekirdeği ile şekerin birlikte tüketiminin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Öte yandan, şekerli içeceklerin tüketimi sağlık üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğinden dolayı şeker yerine düşük kalorili doğal tatlandırıcı kullanılarak alternatif formülasyonlar da geliştirilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalarda sübyenin reolojik, kimyasal, duyusal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiş olup (Sabancı vd., 2014; Apan ve Zorba, 2018) bilindiği kadarıyla daha önce yapılan hiçbir çalışmada gıda matrisinin sübyedeki fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisi incelenmemiştir. Literatürdeki bu eksiklik de dikkate alınarak, bu çalışmada INFOGEST in vitro sindirim modeli kullanılarak şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Gıda işleme sonucu açığa çıkan Mimoza ve Canpolat cinsi kavunların (*Cucumis melo* L.) çekirdekleri Ağustos 2021’de endüstriyel bir dondurulmuş gıda işleme fabrikasından (Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Bursa) temin edilmiştir. Kavun çekirdekleri liflerinden ayrılarak 48 saat boyunca oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmış ve sonrasında blender (Tefal, Türkiye) yardımıyla 0.2-1.2 mm boyutunda ince bir toz halinde öğütülmüştür. Sübye formülasyonları oluşturulurken daha önce literatürde yapılmış çalışmalar dikkate alınmış ve (Sabancı vd., 2014; Apan ve Zorba, 2018), hazırlanan karışımlar Çizelge 1’de verilmiştir. Toplam 6 formülasyon oluşturulmuş olup, formülasyon 1, 2 ve 3 Mimoza cinsi kavunların

çekirdekleri formülasyon 4, 5 ve 6 ise Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri kullanılarak elde edilmiştir. Formülasyon 1 ve 4 şeker ve tatlandırıcı içermeyen kontrol numuneleri olup, formülasyon

2 ve 5 şeker ile, formülasyon 3 ve 6 da tatlandırıcı ile hazırlanmıştır. İçecekler süzülerek numune kaplarına alınmış ve ertesi gün in vitro sindirime tabi tutulana kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 1. Kavun çekirdeği şerbeti (Sübye) formülasyonları  
Table 1. Melon seed sherbet (Subye) formulations

Bileşenler Constituents	F1 <sup>1</sup>	F2	F3	F4	F5	F6
Kavun çekirdeği (Mimoza) Melon seed (Mimoza)	50 g	50 g	50 g			
Kavun çekirdeği (Canpolat) Melon seed (Canpolat)				50 g	50 g	50 g
Şeker Sugar		25 g			25 g	
Tatlandırıcı <sup>2</sup> Sweetener			12.5 g			12.5 g
Su Water	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

<sup>1</sup>F: Formülasyon. <sup>2</sup>F: Formulation

<sup>2</sup>Stevia (Takita®, Almanya). Şekerden 2 kat tatlıdır. <sup>2</sup>Stevia (Takita®, Germany). Twice sweet as sugar.

### Kimyasallar

In vitro sindirim modeli için potasyum klorür, sodyum bikarbonat (Isolab, Türkiye), monopotasyum fosfat (Honeywell, ABD), magnezyum klorür heksahidrat, hidroklorik asit, sodyum hidroksit (Merck, Almanya), kalsiyum klorür (Tekkim, Türkiye), sodyum klorür, amonyum karbonat, α-amilaz, pepsin, pankreatin ve safra (Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite tayinleri için gallik asit, Folin-Ciocalteu reaktifi, neokuproin, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu)), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin), demir (III) klorür (Sigma-Aldrich, Almanya), sodyum karbonat, bakır (II) klorür, metanol (Merck, Almanya), Troloks® (Acros, ABD), amonyum asetat (Isolab, Türkiye), monopotasyum fosfat ve dipotasyum fosfat (Carlo Erba, Almanya) kullanılmıştır.

### In Vitro Sindirim Modeli

Sübye formülasyonlarında fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin tespiti için sırasıyla ağız,

mide ve bağırsak sindirimini taklit eden INFOGEST in vitro sindirim modeli uygulanmıştır (Minekus vd., 2014). Ağız, mide ve bağırsak elektrolit solüsyonları potasyum klorür, monopotasyum fosfat, sodyum bikarbonat, sodyum klorür, magnezyum klorür heksahidrat, amonyum karbonat ve hidroklorik asit içermekte olup, protokolde belirtilen şekilde hazırlanmıştır.

Ağız sindirimini taklit etmek için 10 mL içeceğe 7 mL ağız elektrolit solüsyonu, 1 mL α-amilaz (1500 U/mL), 50 µL 0.3 M kalsiyum klorür ve 1.95 mL distile su eklenerek karışım çalkalayıcı su banyosunda (Nüve ST 30, Türkiye) 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 2 dakika inkübasyonun ardından, her bir içecekten 4 mL örnek toplanmıştır.

Mide sindirimini taklit etmek için, kalan solüsyona 12 mL mide elektrolit solüsyonu, 2.56 mL pepsin (25000 U/mL), 8 µL kalsiyum klorür eklenmiş ve 1 M hidroklorik asit ile pH 3'e ayarlanmıştır. Ardından distile eklenerek toplam hacim 16 mL'ye tamamlanmış ve karışım çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 2

saat inkübasyonun ardından, her bir içecekten 4 mL örnek toplanmıştır.

Bağırsak sindirimini taklit etmek için, kalan karışıma 15.4 mL bağırsak elektrolit solüsyonu, 7 mL pankreatin (800 U/mL), 3.5 mL 160 mM safra, 56 µL 0.3 M kalsiyum klorür ilave edilmiş ve 1 M sodyum hidroksit ile pH 7'ye ayarlanmıştır. Sonrasında toplam hacim 28 mL olacak şekilde distile su eklenmiş ve karışım çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 2 saat inkübasyonun ardından, her bir içecekten örnekler toplanmıştır.

Ağız, mide ve bağırsak sindirimleri sonrası toplanan örnekler 4 °C'de, 20000 g hızında 5 dakika santrifüjlenmiştir (Hitachi CF15RN, Japonya). Toplanan üst fazlar toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite analizlerine kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Bu işlemlere ek olarak, sübye katılmadan aynı koşullar altında inkübasyonlar gerçekleştirilmiş ve elde edilen kör örnekler sindirim sıvılarından kaynaklanan etkileşimlerin düzeltilmesi amacıyla kullanılmıştır.

### Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayini spektrofotometre (Agilent Cary 60, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 0.75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Karışıma 0.75 mL %6 sodyum karbonat solüsyonu ilave edilmiş ve 90 dakika inkübasyonun ardından 725 nm dalga boyunda absorban ölçümü gerçekleştirilmiştir (Velioglu vd., 1998). Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE) /100 mL olarak ifade edilmiştir (lineer aralık: 10–600 mg/L,  $R^2= 0.9999$ ).

### Toplam Antioksidan Kapasite Tayini

Toplam antioksidan kapasite CUPRAC (bakır iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu)) yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm toplam antioksidan kapasite ölçümleri spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar mg Trolox®

eşdeğeri (TE)/100 mL olarak ifade edilmiştir (lineer aralık: 1–800 mg/L,  $R^2= 0.9923$ –0.9996).

CUPRAC yönteminde 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 1'er mL 10 mM bakır (II) klorür, 7.5 mM neokuproin ve 1 M amonyum asetat ile karıştırılmıştır. Karışıma 1 mL distile su da ilave edilerek hacim 4.1 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyonun ardından 450 nm dalga boyunda absorban ölçümü gerçekleştirilmiştir (Apak vd., 2004).

DPPH yönteminde 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 2 mL 0.1 mM metanolde çözünmüş, DPPH reaktifi ile karıştırılmış ve 30 dakika inkübasyonun ardından 517 nm dalga boyunda absorban ölçümü gerçekleştirilmiştir (Kumaran ve Karunakaran, 2006).

ABTS yönteminde çalışma solüsyonu, pH 8 olan 50 mM potasyum fosfat tamponu içerisinde 734 nm dalga boyunda 0.90 ( $\pm 0.05$ ) absorban derecesine seyreltilerek hazırlanmıştır. 100 µL sindirilmemiş ve sindirilmiş içecek 1 mL ABTS çalışma solüsyonu ile karıştırılmış ve 1 dakika inkübasyonun ardından 734 nm dalga boyunda absorban ölçümü gerçekleştirilmiştir (Miller ve Rice-Evans, 1997).

### İstatistiksel Analiz

Analizler üç tekrarlı olarak hazırlanan içeceklerin her birinde üçer ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. SPSS (IBM, ABD) kullanılarak tek yönlü ANOVA uygulanmış olup, içecekler arasındaki farklar Tukey testi ile belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite analizleri arası korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) ise Excel (Microsoft, ABD) ile tespit edilmiştir.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Toplam Fenolik Madde

In vitro sindirimin sübye formülasyonlarının toplam fenolik madde içeriğine olan etkileri Çizelge 2'de verilmiştir. Sindirilmemiş sübye formülasyonları için Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerin toplam fenolik madde içeriklerinin, Canpolat cinsi

kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerle kıyasla ortalama %15 daha yüksek olduğu görülmüştür. Diğer taraftan, her iki cins kavun çekirdeği ile hazırlanan sübye formülasyonlarının toplam fenolik madde içeriklerinin pirinç sütü, fındık sütü ve hindistan cevizi sütü gibi bazı bitkisel bazlı sütlerden yüksek olduğu görülmüştür (5.13–13.11 mg GAE/100 mL) (Aly vd., 2022). Literatürde daha önce yapılmış olan bazı çalışmalar partikül boyutu (Brewer vd., 2014; Sparrow vd., 2016) ve ürünün hasat zamanının (Ariza vd., 2015; Özcan vd., 2019) fenolik bileşen içeriğine etki edebileceğini göstermiştir. Ağız sindirimi sonrasında tespit edilen toplam fenolik madde içeriği ile sindirilmemiş içecekler için yapılan ölçümler arasında önemli bir fark görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). Öte yandan mide sindirimi sonrasında tüm içeceklerin toplam fenolik madde içeriklerinde istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüştür (1.5–3.5 kat) ( $P < 0.05$ ). Bu bulgu daha önce sebze suları (Wootton-Beard vd., 2011), kuru meyve ve kuruyemişlerle (Kamiloglu vd., 2014) yapılmış

olan çalışmalarda elde edilen veriler ile uyumludur. Toplam fenolik madde içeriğinde gözlenen bu artışlar, mide sindirimi boyunca fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunun devam ettiğine ve serbest kalan fenolik bileşiklerin midedeki asidik ortamda stabil kaldığına işaret etmektedir. Bağırsak sindiriminden sonra Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerin toplam fenolik madde içeriğinde mide sindirimi sonrası elde edilen verilere kıyasla düşüşler ya da önemsiz değişiklikler görülürken, Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerde toplam fenolik madde içeriğinde istatistiksel olarak önemli artışlar gözlenmiştir (%22–58) ( $P < 0.05$ ). Daha önce yapılmış olan bazı çalışmalarda da bağırsak sindirimi sonrasında toplam fenolik madde içeriğinde artışlar görülmüş ve bu durum gıdaların bağırsak sıvıları ile olan temas süresinin artması ve bağırsak enzimlerinin fenolik bileşiklerin salınımını kolaylaştırması ile açıklanmıştır (Bouayed vd., 2011; Kamiloglu, 2019).

Çizelge 2. In vitro sindirim sırasında kavun çekirdeği şerbeti (Sübye) formülasyonlarının toplam fenolik madde içeriğinde meydana gelen değişimler

Table 2. Changes in total phenolic content of melon seed sherbet (Subye) formulations during in vitro digestion

Formülasyon <i>Formulation</i>	Sindirilmemiş <i>Undigested</i>	Ağız <i>Mouth</i>	Mide <i>Stomach</i>	Bağırsak <i>Intestine</i>
F1	30.8 ± 0.7 C,a	32.4 ± 1.4 C,a	76.3 ± 3.6 A,de	57.8 ± 8.7 B,d
F2	29.7 ± 1.3 C,a	32.6 ± 1.3 C,a	129.5 ± 1.6 A,a	94.9 ± 7.5 B,c
F3	27.0 ± 0.7 B,b	30.4 ± 0.5 B,ab	101.4 ± 9.3 A,bc	103.8 ± 8.8 A,bc
F4	24.1 ± 0.2 D,c	28.3 ± 0.5 C,b	74.9 ± 0.8 B,e	118.1 ± 2.8 A,b
F5	25.6 ± 1.5 C,bc	32.7 ± 0.2 C,a	114.8 ± 4.8 B,b	168.1 ± 3.9 A,a
F6	26.4 ± 0.9 C,bc	32.1 ± 0.9 C,a	90.3 ± 5.4 B,cd	110.3 ± 8.9 A,bc

Bu tabloda gösterilen veriler üç tekrarlı olarak hazırlanan içeceklerde yapılan ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir (mg GAE/100 mL). Satırlardaki büyük harfler ve sütunlardaki küçük harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $P < 0.05$ ). Formülasyonlar için kullanılan kısaltmalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Data presented in this table consist of average values ± standard deviation of three beverages (mg GAE/100 mL). Capital letters in the rows and small letters in the columns represent statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Abbreviations used for formulations are expressed in Table 1.

Gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırılması amacıyla sadece Mimoza ve Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ve su ile kontrol formülasyonları (F1 ve F4) (Çizelge 1) oluşturulmuş ve şeker/tatlandırıcı kullanılarak hazırlanan içecekler ile toplam fenolik madde içeriği açısından karşılaştırılmıştır. Sindirilmemiş

sübye formülasyonları için genel olarak içeceklerin şeker ya da tatlandırıcı ile hazırlanması arasında toplam fenolik madde içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemekle beraber ( $P > 0.05$ ) in vitro sindirim sonrasında bu durum değişmiştir. Hem Mimoza hem de Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan sübye formülasyonlarında şeker ilavesi

fenolik madde biyoerişilebilirliğini istatistiksel olarak önemli düzeyde arttırmıştır (%42–64) ( $P < 0.05$ ). Tatlandırıcı ilavesi için ise değişken sonuçlar elde edilmiştir. Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerde tatlandırıcı ilavesi fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini arttırmakla beraber (%80) ( $P < 0.05$ ) Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerde tatlandırıcının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği üzerine bir etkisi görülmemiştir. Literatürde yapılan çalışmaların çoğunda, şeker veya tatlandırıcı varlığının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini olumlu yönde etkilediği öne sürülmüştür (Neilson vd., 2009; Carbonell-Capella vd., 2015; Kamiloğlu vd., 2022). Şekerin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini artırıcı etkisi fenolik bileşiklerin çözünürlüğü üzerindeki etkisiyle ilişkilendirilmektedir (Peters vd., 2010). Folin–Ciocalteu metodu basit, sağlam ve tekrarlanabilir olma avantajlarına sahip olmasına rağmen bu yöntemin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin yanı sıra basit şekerler, askorbik asit, sitrik asit veya bazı amino asitler gibi indirgeyici ajanlar girişim yapabilmekte ve bu sebeple de elde edilen sonuçlar gerçek değerinden yukarıda değerlendirilebilmektedir. İlaveten Folin–Ciocalteu metodu sulu ortamda gerçekleştirildiğinden dolayı lipofilik fenolik bileşiklerin ölçümü sınırlı olarak gerçekleştirilmektedir (Capanoğlu vd., 2021).

### Toplam Antioksidan Kapasite

Sübye formülasyonlarında *in vitro* sindirim neticesinde toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişiklikler üç farklı yöntem (CUPRAC, DPPH ve ABTS) kullanılarak tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. En yüksek toplam antioksidan kapasite değerleri CUPRAC yöntemi ile elde edilmiş olup sonrasında sırasıyla ABTS ve DPPH yöntemleri gelmiştir: CUPRAC > ABTS > DPPH. Toplam antioksidan kapasite ölçüm metodları arasında görülen bu farklılıklar CUPRAC ve ABTS metodları ile hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar ölçülürken, DPPH yöntemi ile sadece lipofilik antioksidanların ölçülmesinden kaynaklanıyor olabilir (Capanoğlu vd., 2021). Nitekim, literatürde yapılan çalışmalarda bitki bazlı süt ikamelerinin işlenmesi

sırasında, hidrofobik fenolik bileşiklerin çoğunun uzaklaştırıldığı ifade edilmiştir (Aydar vd., 2020; Aly vd., 2022). İlaveten, DPPH yönteminde biyolojik olarak ilgisiz olan nitrojen radikalinin oluşumu antioksidan kapasitenin gerçek değerinden düşük olarak tahmin edilmesine neden olmaktadır (Capanoğlu vd., 2021). Sindirilmemiş formülasyonlar için toplam fenolik madde içeriğinde olduğu gibi Mimoza cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklerin toplam antioksidan kapasitelerinin, Canpolat cinsi kavunların çekirdekleri ile hazırlanan içeceklere kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde daha yüksek olduğu görülmüştür (ortalama %24–95) ( $P < 0.05$ ). Ağız sindirimi sonrasında da yine toplam fenolik madde içeriğindeki gibi toplam antioksidan kapasitede genel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ( $P > 0.05$ ). Mide sindiriminden sonra toplam antioksidan kapasite değerlerinde artışlar görülmekle beraber bağırsak sindirimi sonrasında değişken sonuçlar elde edilmiştir. DPPH ve ABTS yöntemleri ile elde edilen toplam antioksidan kapasite değerlerinde mide sindirimine kıyasla düşüşler olmakla beraber (%2–80) CUPRAC yöntemi ile elde edilen sonuçlar toplam antioksidan kapasite değerlerinde artışlar olduğuna işaret etmiştir (0.7–2.8 kat) ( $P < 0.05$ ). Tüm sübye formülasyonları için sindirim sonrasında toplam antioksidan kapasite değerlerinde sindirilmemiş içeceklere kıyasla istatistiksel olarak önemli oranda artışlar olduğu görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Bu bulgu literatürde daha önce bitki bazlı sütler için yapılmış bir çalışma ile uyumlu olup, toplam antioksidan aktivitedeki artış sindirim sonrasında enzim faaliyetleri ile fenolik bileşenlerin serbest kalması ya da antioksidan özellikte yeni bileşiklerin oluşabilmesi ile açıklanmıştır (Aly vd., 2022).

Sindirilmemiş sübye formülasyonları için CUPRAC metodu ile elde edilen sonuçlar haricinde, içeceklerin şeker/tatlandırıcı ile hazırlanması toplam antioksidan kapasitelerini arttırmıştır (%6–42). Benzer durum sindirilmiş içecekler için de geçerli olup şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan formülasyonlarda antioksidan biyoerişilebilirliği sırasıyla %13–172 artış göstermiştir. Toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasite arası korelasyonlar da

hesaplanmıştır. In vitro sindirim öncesinde toplam fenolik madde içeriği ile toplam antioksidan kapasite arasında nispeten lineer bir ilişki elde edilmiş olup en yüksek değer CUPRAC yöntemi ile tespit edilmiştir ( $R^2 = 0.6907$ ). Toplam antioksidan kapasite metotları arasında da özellikle CUPRAC ve ABTS metotları arasında iyi bir korelasyon olduğu görülmüştür ( $R^2 = 0.6042$ ). Görülen bu lineer ilişki ağız sindirimi sonrasında görülmemekle beraber mide ve bağırsak sindirimleri sonrasında toplam fenolik madde

içeriği ile ABTS yöntemi arasında yine iyi bir korelasyon elde edilmiştir (sırasıyla  $R^2 = 0.7162$  ve  $R^2 = 0.6824$ ). Neticede gıda ürünlerinin antioksidan kapasitelerinin ölçümünün tek bir antioksidan kapasite ölçüm metodu kullanarak yapılması ile yeterli bir değerlendirme yapılmasının mümkün olamayacağı anlaşılmıştır. Nitekim literatürde de toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde farklı mekanizmalara sahip birden çok yöntemin uygulanması önerilmektedir (Capanoglu vd., 2021).

Çizelge 3. In vitro sindirim sırasında kavun çekirdeği şerbeti (Sübye) formülasyonlarının toplam antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler

Table 3. Changes in total antioxidant capacity of melon seed sherbet (Subye) formulations during in vitro digestion

Formülasyon Formulation	Sindirilmemiş Undigested	Ağız Mouth	Mide Stomach	Bağırsak Intestine
CUPRAC (Bakır İyonu İndirgenme Antioksidan Kapasitesi) CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)				
F1	18.1 ± 0.8 B,a	12.8 ± 2.4 B,ab	15.0 ± 3.0 B,b	36.0 ± 7.0 A,c
F2	15.9 ± 2.0 B,a	7.2 ± 1.8 B,b	30.3 ± 6.1 B,a	75.1 ± 17.8 A,ab
F3	12.6 ± 1.5 C,b	14.7 ± 3.6 C,a	32.8 ± 5.0 B,a	58.1 ± 5.1 A,bc
F4	7.7 ± 0.2 C,c	9.4 ± 1.2 BC,ab	19.6 ± 1.1 B,ab	37.8 ± 8.6 A,c
F5	8.2 ± 0.5 B,c	8.4 ± 2.5 B,b	27.2 ± 5.9 B,ab	102.7 ± 20.6 A,a
F6	6.7 ± 0.8 C,c	10.4 ± 0.2 C,ab	31.9 ± 7.6 B,a	55.0 ± 3.3 A,bc
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)				
F1	6.5 ± 0.9 C,bc	5.9 ± 0.6 C,a	45.0 ± 4.8 A,c	25.1 ± 4.2 B,c
F2	8.1 ± 0.7 C,ab	4.2 ± 1.4 C,a	158.2 ± 4.6 A,a	34.0 ± 2.9 B,ab
F3	8.2 ± 0.6 C,a	4.4 ± 1.2 C,a	152.2 ± 1.9 A,a	37.6 ± 3.7 B,a
F4	5.7 ± 0.5 C,c	3.8 ± 0.6 C,a	121.2 ± 0.6 A,b	27.3 ± 1.8 B,bc
F5	6.5 ± 0.2 C,abc	5.1 ± 0.5 C,a	150.9 ± 3.6 A,a	30.7 ± 1.7 B,abc
F6	8.1 ± 0.6 C,a	4.5 ± 0.5 C,a	150.2 ± 5.9 A,a	31.7 ± 0.2 B,abc
ABTS (2,2-azınobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu)) ABTS (2,2-azınobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)				
F1	13.2 ± 0.2 D,c	16.5 ± 0.1 C,c	57.4 ± 0.4 A,e	40.2 ± 1.7 B,e
F2	14.8 ± 0.3 D,a	17.6 ± 0.1 C,b	79.9 ± 0.8 A,a	49.6 ± 0.3 B,c
F3	14.0 ± 0.3 D,b	23.6 ± 0.5 C,a	74.4 ± 0.9 A,b	53.8 ± 0.4 B,b
F4	9.6 ± 0.2 C,e	15.7 ± 0.1 B,d	49.6 ± 0.4 A,f	48.8 ± 0.6 A,c
F5	11.6 ± 0.03 D,d	18.0 ± 0.2 C,b	64.8 ± 0.6 A,c	58.6 ± 0.3 B,a
F6	11.2 ± 0.1 D,d	18.0 ± 0.2 C,b	61.7 ± 0.3 A,d	45.1 ± 1.9 B,d

Bu tabloda gösterilen veriler üç tekrarlı olarak hazırlanan içeceklerde yapılan ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir (mg TE/100 mL). Satırlardaki büyük harfler ve sütunlardaki küçük harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $P < 0.05$ ). Formülasyonlar için kullanılan kısaltmalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Data presented in this table consist of average values ± standard deviation of three beverages (mg TE/100 mL). Capital letters in the rows and small letters in the columns represent statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Abbreviations used for formulations are expressed in Table 1.

**SONUÇ**

Bilindiği kadarıyla bu çalışma şeker ve tatlandırıcı ile hazırlanan sübye formülasyonlarında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitedeki değişimlerin belirlenerek gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmada elde edilen bulgular şeker veya tatlandırıcı varlığının fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini genel anlamda olumlu yönde etkilediğine dikkat çekmekle beraber şeker eklenmesinin spektrofotometrik yöntemler üzerine yalnızca pozitif sonuç verme durumu söz konusu olabileceğinden, elde edilen bulguların kromatografik yöntemle fenolik bileşen tayini yapılarak teyit edilmesi gereklidir. İlave olarak, elde edilen sonuçlar sadece bu formülasyonlar için geçerlidir. Şeker/tatlandırıcının kavun çekirdeğine oranının farklı olduğu formülasyonlarda, başka cins ya da toz boyutuna sahip kavun çekirdekleri veyahut farklı zamanda hasat edilen kavunlardan elde edilen çekirdekler kullanıldığında, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin değişmesi olasıdır. Bununla birlikte, bu çalışma ile endüstriyel atık olarak ayrılan kavun çekirdeklerinin sübye yapımında kullanılarak değerlendirilmesi ile fenolik bileşik biyoerişilebilirliği yüksek fonksiyonel bir ürün geliştirilebileceği görülmüştür. Gıda matrisinin fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğine olan etkisini tam anlamıyla kavramak için in vivo çalışmalara da ihtiyaç vardır. Ayrıca, ileride gerçekleştirilecek çalışmalarda sübye formülasyonlarının duyu analizinin de yapılması faydalı olacaktır.

**ÇIKAR ÇATIŞMASI**

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

**YAZARLARIN KATKISI**

Nurdan Özdemirli deneysel çalışmaların yürütülmesine; Senem Kamiloğlu çalışmanın kurgulanması, sonuçların değerlendirilmesi ve makale yazımına katkı sağlamıştır.

**TEŞEKKÜR**

Yazarlar Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Tic. A.Ş. firmasına kavun çekirdeklerinin teminindeki desteklerinden dolayı teşekkür eder.

**KAYNAKLAR**

Aly, E., Sánchez-Moya, T., Darwish, A. A., Ros-Berruete, G., López-Nicolás, R. (2022). In vitro digestion effect on CCK and GLP-1 release and antioxidant capacity of some plant-based milk substitutes. *Journal of Food Science*, 87(5): 1999-2008, doi: 10.1111/1750-3841.16140.

Apak, R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981, doi: 10.1021/jf048741x.

Apan, M.A., Zorba, M. (2018). Improvement of quality and shelf-life of Sübye, a traditional beverage of Turkey. *Food Science and Technology*, 38(4):719-725, doi: 0.1590/1678-457X.12517.

Ariza, M. T., Martínez-Ferri, E., Domínguez, P., Medina, J. J., Miranda, L., Soria, C. (2015). Effects of harvest time on functional compounds and fruit antioxidant capacity in ten strawberry cultivars. *Journal of Berry Research*, 5(2): 71-80, doi: 10.3233/JBR-150090.

Aydar, E.F., Tutuncu, S., Ozcelik, B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *Journal of Functional Foods*, 70: 103975, doi: 10.1016/j.jff.2020.103975.

Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1):14-21, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.02.052.

Brewer, L. R., Kubola, J., Siriamornpun, S., Herald, T. J., Shi, Y. C. (2014). Wheat bran particle size influence on phytochemical extractability and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 152: 483-490, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.128.

Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Demirci Cekic, S., Sozgen Baskan, K., Avan, A. N., Uzunboy, S., Apak, R. (2021). Antioxidant activity and capacity



- measurement. In: Plant Antioxidants and Health, Ekiert, H.M., Ramawat, K.G., Arora, J. (Eds.), Springer, pp. 709-773, doi: 10.1007/978-3-030-45299-5\_22-1.
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Esteve, M.J., Frígola, A. (2015). Effect of Stevia rebaudiana addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed with oat following simulated human digestion. *Food Chemistry*, 184: 122–130. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.095.
- Dueñas, M., García-Estévez, I. (2020). Agricultural and food waste: Analysis, characterization and extraction of bioactive compounds and their possible utilization. *Foods*, 9(6): 817, doi: :10.3390/foods9060817.
- Kamiloglu, S. (2019). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA*, 44(3): 409-418, doi: 10.15237/gida.gd19026.
- Kamiloglu, S., Ozdal, T., Bakir, S., Capanoglu, E. (2022). Bioaccessibility of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) coffee polyphenols: Influence of milk, sugar and sweetener addition. *Food Chemistry*, 374: 131728, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131728.
- Kamiloglu, S., Pasli, A.A., Ozcelik, B., Capanoglu, E. (2014). Evaluating the *in vitro* bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 284-289, doi: 10.1016/j.lwt.2013.11.040.
- Kamiloglu, S., Tomas, M., Ozdal, T., Capanoglu, E. (2021). Effect of food matrix on the content and bioavailability of flavonoids. *Trends in Food Science and Technology*, 117:15-33, doi: 10.1016/j.tifs.2020.10.030.
- Kumaran, A., Karunakaran R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1): 109-114, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.032.
- Miller, N.J., Rice-Evans C. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radical Research*, 26(6): 195-199, doi: 10.3109/10715769709097799.
- Minekus, M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carriere F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D.J., Menard O., Recio I., Santos C.N., Singh R.P., Vegarud G.E., Wickham M.S.J., Weitschies W., Brodkorb A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6): 1113-1124, doi: 10.1039/C3FO60702J.
- Neilson, A.P., George, J.C., Janle, E.M., Mattes, R.D., Rudolph, R., Matusheski, N.V., Ferruzzi, M.G. (2009). Influence of chocolate matrix composition on cocoa flavan-3-ol bioaccessibility *in vitro* and bioavailability in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20): 9418–9426. doi: 10.1021/jf902919.
- Özcan, M. M., Fındık, S., Aljuhaimi, F., Ghafoor, K., Babiker, E. E., Adiamo, O. Q. (2019). The effect of harvest time and varieties on total phenolics, antioxidant activity and phenolic compounds of olive fruit and leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 56(5): 2373-2385, doi: 10.1007/s13197-019-03650-8.
- Peters, C.M., Green, R.J., Janle, E.M., Ferruzzi, M.G. (2010). Formulation with ascorbic acid and sucrose modulates catechin bioavailability from green tea. *Food Research International*, 43(1): 95–102, doi: 10.1016/J. foodres.2009.08.016.
- Reyes-Jurado, F., Soto-Reyes, N., Dávila-Rodríguez, M., Lorenzo-Leal, A.C., Jiménez-Munguía, M. T., Mani-López, E., López-Malo, A. (2021). Plant-based milk alternatives: Types, processes, benefits, and characteristics. *Food Reviews International*, doi: 10.1080/87559129.2021.1952421.
- Rolim, P.M., Seabra, L.M.A.J., de Macedo, G.R. (2020). Melon by-products: Biopotential in human health and food processing. *Food Reviews*

- International*, 36(1): 15-38, doi: 10.1080/87559129.2019.1613662.
- Sabancı, S., Celebi, C., Icier, F. (2014). Rheological properties of sübye, traditional beverage. *Akademik Gıda*, 12(1): 11-15.
- Salehi, B., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., Jaffer, M., Giri, L., Suyal, R., Jugran, A.K., Calina, D., Docea, A.O., Kamiloglu, S., Kregiel, D., Antolak, H., Pawlikowska, E., Sen, S., Acharya, K., Selamoglu, Z., Sharifi-Rad, J., Martorell, M., Rodrigues, C.F., Sharopov, F., Martins, N., Capasso, R. (2019). *Cucurbits* plants: A key emphasis to its pharmacological potential. *Molecules*, 24(10): 1854, doi: 10.3390/molecules24101854.
- Sparrow, A. M., Smart, R. E., Damberg, R. G., Close, D. C. (2016). Skin particle size affects the phenolic attributes of Pinot noir wine: Proof of concept. *American Journal of Enology and Viticulture*, 67(1): 29-37, doi: 10.5344/ajev.2015.15055.
- Tamer, C.E., Yolci Ömeroğlu, P., Çopur, Ö.U. (2019). Functional and traditional non-alcoholic beverages in Turkey. In: Non-alcoholic beverages, Grumezescu, A.M., Holban, A.M. (Eds.), Volume 6: The science of beverages, Woodhead Publishing, pp. 483-521, doi: 10.1016/B978-0-12-815270-6.00015-3.
- Velioglu, Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10): 4113-4117, doi: 10.1021/jf9801973.
- Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczuk, A., Oniszczuk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., Matwijczuk, A. (2020). Influence of *in vitro* digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols—A non-systematic review. *Nutrients*, 12(5): 1401, doi: 10.3390/nu12051401.
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1):217-224, doi: 10.1016/j.foodres.2010.10.033.