

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 47

SAYI / NUMBER : 1

YIL / YEAR : 2022

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör/ Editor-in Chief	Danışma Kurulu / Advisory Board
ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey	Akköse, Ahmet; <i>Atatürk University, Turkey</i> Ank, Gökşen G.; <i>Balıkesir University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Baysal, A. Handan; <i>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey</i> Bezirtzoğlu, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Bozkır, Hamza; <i>Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey</i> Çilak, Gizem Ö.; <i>Hittit University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> El Soda, <i>Morsi University of Alexandria, Egypt</i> Erbay, Zafer; <i>Adana Bilim ve Teknik University, Turkey</i> Evren, Mustafa; <i>Öndokuz Mayıs University, Turkey</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Gerçekaslan, K. Emre; <i>Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Güneşer, Onur; <i>Uşak University, Turkey</i> Güven, Esra Ç.; <i>İstanbul Teknik University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Hoşoğlu, Müge I.; <i>Gebze Teknik University, Turkey</i> Hüner, İrem D.; <i>Trakya University, Turkey</i> Kahraman, Kevser; <i>Abdullah Gül University, Turkey</i> Karaca, Hakan; <i>Pamukkale University, Turkey</i> Koçan, Deniz; <i>Aksaray University, Turkey</i> Konuskan, Dilşat B.; <i>Mustafa Kemal University, Turkey</i> Kuleşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Meral, Raciye; <i>Yüzüncü Yıl University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muştaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Mutlu, Türkan K.; <i>Çukurova University, Turkey</i> Öztürk, Fatma; <i>Kâtip Çelebi University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> San, Ferda; <i>Cumburiyet University, Turkey</i> Şengün, İlkin Y.; <i>Ege University, Turkey</i> Soyer, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Toğay, Sine Ö.; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Gökçe P.; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yolaçaner, Elif; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Zorba, Murat; <i>Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey</i>
Editörler / Editors AVCI, Ayşe; <i>Sakarya University, Turkey</i> ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> DEMİRKESEN, Mert; <i>İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey</i> DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> EYİLER, Esen; <i>Akdeniz University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i> TORUN, Mehmet; <i>Akdeniz University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>İstanbul University, Turkey</i>	
Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org	
Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli	
Hazırlayan / Prepared Sim Ajans 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
Yayın Tarihi / Publication Date 18 02 2022	

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Menevseoglu, A., Peren Aykas, D. *Authentication of hazelnut oil by portable FT-NIR, FT-MIR and Raman spectrometers combined with multivariate data analysis* / Fındık yağının FT-NIR, FT-MIR ve Raman spektrometreleri ile birlikte çok bileşenli veri analizleri kullanılarak doğrulanması **1-14**

Yoldas, O., Caltinoglu-Toraman, C., Sensoy, I., Sibel Karakaya, S. *Enhanced bioaccessibility by extrusion process and quality parameters of red pepper pulp added extrudates* / Ekstrüzyon işlemiyle artırılmış biyoerişim ve kırmızı biber posası eklenmiş ekstrüde ürünlerin kalite parametreleri **15-24**

Yavuz, A., Azar, I., Özcan, A., Ülkü, N. *A multiclass method for the analysis of antibiotic residues in milk powder and whey powder by UPLC-MS/MS* / Süt tozu ve peyniraltı suyu tozunda antibiyotik kalıntılarının UPLC-MS/MS ile analizinde çoklu grup yöntemi **25-33**

Sisman, S., Yagci, B., Ermis, E. *Physical properties of protein extract powder from stale bread and evaluation of its use in wheat bread containing chickpea flour* / Bayat ekmekten elde edilen protein ekstrakt tozunun fiziksel özellikleri ve nohut unu içeren buğday ekmeğinde kullanımının değerlendirilmesi **34-41**

Güldane, M., Herken, E. N. *The impact of partial sweetener substitution on physicochemical, textural and sensory properties of biscuits* / Kısmi tatlandırıcı ikamesinin bisküvilerin fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşal özelliklerine etkisi **66-77**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Yaver, E. *Fermente tahıl benzeri ürünlerin bisküvinin fiziksel, besinsel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of fermented pseudocereals on physical, nutritional and sensory characteristics of cookie* **55-65**

Güngör, K. K., Coşgun, G., Özdemir, M., Torun, M. *Zerdeçalın su ile ekstraksiyonunda ultrases işleminin etkisi ve elde edilen ekstraktın püskürterek kurutma yöntemiyle enkapsülasyon koşullarının optimizasyonu* / *Influence of ultrasound treatment on turmeric aqueous extraction and optimization of the spray drying conditions for encapsulation of the obtained extract* **107-120**

Yüksel, M., Sert, S., Kavaz Yüksel, A., Çetin, B., Gürses, M. *Kolorimetrik loop-mediated izotermal amplifikasyon metodu ile Listeria monocytogenes'in tavuk etlerinde hızlı tespiti* / *Rapid detection of Listeria monocytogenes in chicken meats with colorimetric loop-mediated isothermal amplification (lamp) method* **121-135**

Esen, Y., Turgay, Ö. *Sürk peynirinden izole edilen küflerin PCR yöntemiyle tanımlanması* / *Identification of molds isolated from Sürk cheese by PCR method* **136-146**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Cavlak, N. Selvi, M. S. *Gıda fiyatlarındaki aşırı artışların olası nedenleri ve Covid-19'un etkisi* / *Possible causes of excessive increase in food prices and the impact of Covid-19* **42-54**

Özer, Ö., Karakaya, S., Nehir El, S. *Gıdaların besleyicilik özelliklerini değerlendiren indeksler* / *Indexes evaluate the nutritional properties of foods* **78-90**

Meral, H., Demirdöven, A. *Gıdanın özelleştirilmesi ve detaylandırılmasında üç boyutlu (3D) yazıcının kullanımı* / *Three-dimensional (3D) printing technology for customization and elaboration of food* **91-106**



**AUTHENTICATION OF HAZELNUT OIL BY PORTABLE FT-NIR, FT-MIR
AND RAMAN SPECTROMETERS COMBINED WITH MULTIVARIATE DATA
ANALYSIS**

Ahmed Menevseoglu^{1*}, Didem Peren Aykas²

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Gumushane University, Gumushane, Turkey

²Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey

Received / Geliş: 04.08.2021; Accepted / Kabul: 04.11.2021; Published online / Online baskı: 22.12.2021

Menevseoglu, A., Aykas, D.P. (2022). Authentication of hazelnut oil by portable FT-NIR, FT-MIR and Raman spectrometers combined with multivariate data analysis. GIDA (2022) 47 (1) 1-14 doi: 10.15237/gida.GD21113

Menevseoglu, A., Aykas, D.P. (2022). Fındık yağının FT-NIR, FT-MIR ve Raman spektrometreleri ile birlikte çok bileşenli veri analizleri kullanılarak doğrulanması. GIDA (2022) 47 (1) 1-14 doi: 10.15237/gida.GD21113

ABSTRACT

This research studied the authentication of hazelnut oil by portable FT-NIR, FT-MIR, and Raman spectrometers. Hazelnut oils were adulterated with vegetable oils at various concentrations (0-25%) (w/w). Collected spectra were analyzed using Principal Component Analysis (PCA) and Soft Independent Modelling of Class Analogy (SIMCA) to generate classification models to authenticate pure hazelnut oil and Partial Least Squares Regression (PLSR) to predict the fatty acids and adulterant levels. For confirmation, oil's fatty acid profile was determined by gas chromatography. In all three instruments, SIMCA provided distinct clusters for pure and adulterated samples with interclass distance (ICD)>3. All instruments showed excellent performance in predicting fatty acids and adulteration levels with $r_{val}>0.93$ and standard error prediction (SEP)<1.75%. Specifically, the FT-MIR unit provided the best performances. Still, all the units can be used as an alternative to traditional methods. These units showed great potential for in-situ surveillance to detect hazelnut oil adulterations.

Keywords: Portable devices, FT-NIR, FT-MIR, Raman, adulteration, hazelnut oil

**FINDIK YAĞININ FT-NIR, FT-MIR VE RAMAN SPEKTROMETRELERİ İLE
BİRLİKTE ÇOK BİLEŞENLİ VERİ ANALİZLERİ KULLANILARAK
DOĞRULANMASI**

ÖZ

Bu araştırma fındık yağının taşınabilir FT-NIR, FT-MIR ve Raman spektrometreleri ile taşıyıcılarının belirlenmesi üzerinedir. Fındık yağları değişik konsantrasyonlardaki (0-25%) (w/w) bitkisel yağlar ile karıştırılmıştır. Toplanan spektraların Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Sınıf Analjisinin Yumuşak Bağımsız Modellenmesi (SIMCA) ile saf fındık yağı sınıflandırma modelleri oluşturulmuştur. Yağ asitleri ve taşıyıcı seviyesi Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (PLSR) kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçların doğrulanması için gaz kromatografisi kullanılarak yağların yağ asidi profilleri belirlenmiştir.

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: amenevseoglu@gumushane.edu.tr

☎: (+90) 456 233 18 49

Ahmed Menevseoglu ORCID ID: 0000-0003-2454-7898

Didem Peren Aykas ORCID ID: 0000-0002-5500-0441

Her üç cihazda da SIMCA, saf ve tağşiş edilmiş örneklerin gruplarının sınıflar arası mesafesi (ICD) üçten büyük olarak bulunmuştur. Tüm cihazlar, yağ asidi ve tağşiş miktarlarının belirlenmesinde yüksek performans göstermiştir, $r_{val} > 0.93$ ve standart hata tahmini (SEP) $< 1.75\%$. Özellikle, FT-MIR cihazı en iyi performansı göstermiştir. Yine de, tüm cihazlar geleneksel yöntemlere alternatif olarak kullanılabilir. Bu cihazlar, fındık yağı tağşişinin yerinde belirlenmesi için yüksek bir potansiyel göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Taşınabilir cihazlar, FT-NIR, FT-MIR, Raman, tağşiş, fındık yağı

INTRODUCTION

Hazelnut is one of the most popular tree nuts in the world. The largest hazelnut producer, Turkey, had an annual production of 776,000 tons (69%) in 2019, followed by Italy with 98,530 t (9%), Azerbaijan with 53,793 t (5%), and the U.S. with 39,920 t (4%) (FAO, 2020). In recent years, the consumption of hazelnut has been increasing because it is a good source of vitamin E and oleic acid associated with lowering total and LDL cholesterol levels (Celenk et al., 2020). Hazelnut is widely used in the chocolate industry (70%), ice-cream, pastry, snack, fresh consumption (15%), and oil industry (5%) (Guiné and Correia, 2020; MAF – Republic of Turkey Ministry of Agriculture And Forestry, 2020; Platteau et al., 2011). The hazelnut oil industry is growing in Turkey because of the profit margin. Hazelnut oil consists of palmitic (3-7%), stearic (1.5-3%), oleic (70-85%) and linoleic acid (7-20%). However, either it does not consist of linolenic acid or has a very small amount ($\sim 0.1 - 0.3\%$) (Benitez-Sánchez et al., 2003; Karabulut et al., 2005; Turan, 2018). It is mostly used as frying, cooking, and salad oil (Şisik Ogras et al., 2018). Until a decade ago, hazelnut oil was used as an adulterant in olive oil due to fatty acid profile similarities and being a cheaper substance (Quintanilla-Casas et al., 2021). However, today, hazelnut oil is recognized as a high commodity valued product in Turkey and it is almost three times expensive than other fixed oils, and it has a similar price range with olive oil. Because hazelnut oil is now a premium oil, it is not feasible to adulterate olive oil with hazelnut oil. Moreover, the demand for hazelnut oil is rising because it consists of mono and polyunsaturated fatty acids; economically motivated adulteration of hazelnut oil is now becoming a concern. Sunflower oil can be used as an adulterant in hazelnut oil because it also has a very low amount of linolenic acid and a high amount of oleic and linoleic acid (Akkaya, 2018)

and using only gas chromatography may not detect the adulteration. Similarly, canola oil has a high amount of oleic and linoleic acids, and around 5-7% of linolenic acid (Zambiasi et al., 2007). Canola oil is also a lot cheaper than hazelnut oil. The use of it as an adulterant in hazelnut oil up to 10% may not be detected by traditional methods. Thus, a molecular approach is in need to determine the adulteration of hazelnut oil with sunflower and canola oils.

Adulteration of food occurs when high-cost ingredients are replaced with cheaper alternatives that sometimes pose a health threat to humans. For instance, in 2008, the melamine scandal raised in China resulted in 6 infants died and an estimated 52,000 infants were hospitalized (Pei et al., 2011). Oil adulteration in Spain in 1981 caused almost 300 people to die and 20,000 people were affected by toxic oil syndrome (Gelpí et al., 2002). The oil industry is still faced with a high percentage of adulteration incidents. High commodity valued oils such as olive oil and hazelnut oil are generally adulterated with less valued vegetable oils such as cottonseed, sunflower, and canola oil (Ozen and Mauer, 2002). Rapid, low-cost, and easy methods to detect hazelnut oil adulteration are in need since traditional methods such as gas chromatography, liquid chromatography, and nuclear magnetic resonance require high-cost instrumentation, well-trained personnel, and being time-consuming, which makes these techniques less appealing (Aykas and Menevseoglu, 2021). As an alternative to these techniques in detecting adulterated hazelnut oil, vibrational spectroscopy methods combined with chemometrics can provide fast, sensitive, and reliable information on the oil matrix. These methods could help governing agencies and the food industry as monitoring food safety and quality control (Shotts et al., 2018). Moreover, to maintain companies'

reputation and avoid any lawsuits, oil manufacturers and importers may need to take rapid actions in case of incidents. Miniaturized spectrometers are now available with the improvements in the micro-electromechanical systems (MEMS), new sensors, detectors, and optical components (Aykas et al., 2020a). Different portable, and handheld vibrational spectroscopy units have become available in the market with the help of these advancements in optical sensor technology (Ayvaz et al., 2016). These units can provide in-situ and real-time assessments to take faster actions for manufacturers and food control agencies with convenience and cost-efficiency (Rodriguez-Saona et al., 2020). Many portable and handheld units have been evaluated in the literature on different foods, including nuts, oils, honey, yogurt, spices, and fruit juices (Menevseoglu, 2021; Aykas et al., 2020b; Aykas and Menevseoglu, 2021; Aykas et al., 2020c; Ayvaz and Rodriguez-Saona, 2015; Basri et al., 2017; McGrath et al., 2020; Menevseoglu et al., 2020; Mossoba et al., 2014; Sun et al., 2020).

On the hazelnut oil adulteration, limited information can be found in the literature. Studies are generally focused on the detection of olive oil adulteration with hazelnut oil because of the similar fatty acid profile (Cercaci et al., 2003; Christy et al., 2004; Mariani et al., 2006; Zabarar and Gordon, 2004), but not hazelnut oil adulteration with fixed oils (Ozen and Mauer, 2002). It is most likely due to regional consumption of hazelnut oil, especially in the eastern Mediterranean, rather than worldwide. Also, as mentioned previously, hazelnut oil is now an expensive product and hazelnut oil adulteration in olive oil does not provide an economic profit.

The aim of this study was to evaluate portable FT-NIR, FT-MIR, and Raman spectrometers on the detection of hazelnut oil adulteration with vegetable oils. To the best of our knowledge, no one has evaluated all three types of portable vibrational spectroscopic instruments, namely FT-NIR, FT-MIR, and Raman, on the hazelnut oil adulteration previously.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Hazelnut oils (36 different commercial products), sunflower oils (6 different commercial products), canola oils (6 different commercial products) were purchased from various local markets in Istanbul, Turkey, and Columbus, OH, USA. Sunflower and canola oil were selected because of being cheaper substance to hazelnut oils. Samples were stored at 4 °C until further analysis to prevent any oxidative changes in the oil. One of the pure hazelnut oils was chosen randomly, and it was adulterated with 5, 10, 15, 20, and 25% (w/w) sunflower oil and canola oil, separately. These levels were selected to imitate realistic and practical applications that generally happened in the adulteration of oils. The levels lower than 10% are not actually feasible economically, and it limits the use in fraud practices, and too high levels could be easily detected by sensory (Miaw et al., 2018).

Methods

Near-Infrared spectrometer: The near-infrared spectra of the oil samples were collected by micro-NeoSpectra (Si-Ware Systems, Cairo, Egypt) (Fig 1), a compact Fourier Transform Near-Infrared (FT-NIR) sensor equipped with a single-chip Michelson interferometer with monolithic Opto-electro-mechanical structure with a single uncooled indium-gallium-arsenide (InGaAs) photodetector. A total of 75 μl of oil sample were deposited on the sensor of the unit and the spectra were collected at the range of 7400–3920 cm^{-1} in absorbance mode and with a 16 cm^{-1} resolution. Samples were scanned for 15 seconds to increase the signal-to-noise ratio. Spectral data collection was carried out in duplicate.

Mid-Infrared spectrometer: A total of 50 μl of the oil sample was placed on the IR crystal. The FT-IR 5500 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA) (Fig. 1) spectrometer equipped with a temperature controlled 5-bounce ZnSe crystal set to 65 °C. The spectra were collected at 4 cm^{-1} resolution over a range from 4000 to 650 cm^{-1} , and an interferogram of 64 scans co-added to

increase the signal-to-noise ratio. Spectral data collection was carried out in duplicate.

Raman spectrometer: Three milliliters of oil sample was placed in a 10-mm light path quartz cuvette (Hellma Analytics, Mulheim, Germany) and the Raman spectra were collected using a WP 1064 compact portable Raman spectrometer (Wasatch Photonics, Durham, NC, USA) (Fig. 1). The Raman unit was equipped with an Indium Gallium Arsenide (InGaAs) detector and a laser source operating at 1064 nm. The spectra were

collected from 1855 to 200 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and 3 scans were co-added to improve the signal-to-noise ratio of the spectrum with an integration time of 3000 ms. A background spectrum was acquired in between every sample to eliminate the environmental variations. Spectral data were displayed in terms of scattered light by the sample and viewed using Enlighten™ software (Wasatch Photonics, Durham, NC, USA). Spectral data collection was carried out in duplicate.

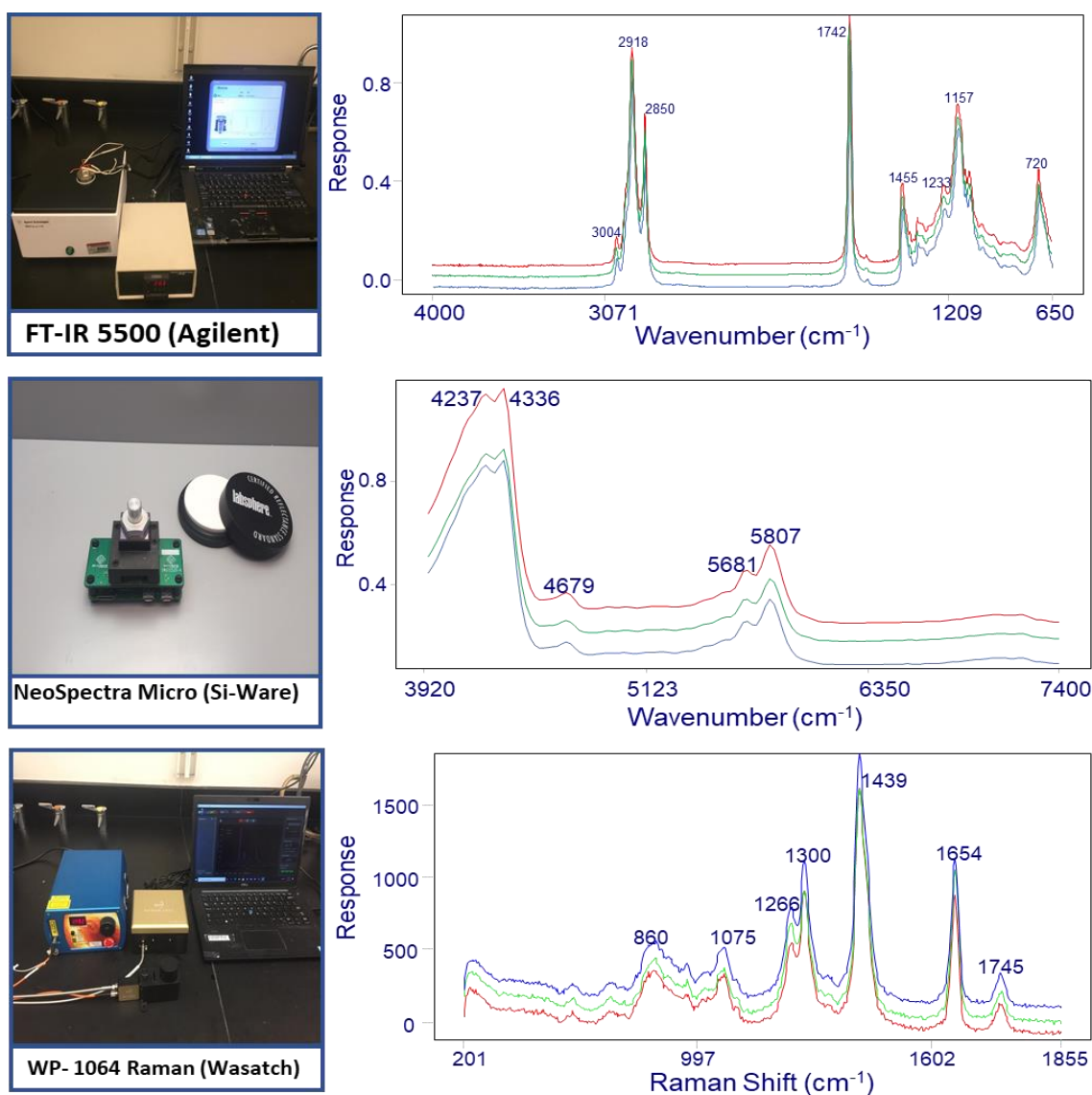


Figure 1. Commercial portable and handheld FT-MIR, FT-NIR and Raman spectrometers, and the spectra of oils obtained from them. Red line: hazelnut oil; green line: canola oil; blue line: sunflower oil

Reference method, Gas Chromatography:

The fatty acid profile was determined using a fatty acid methyl ester (FAME) procedure (Ichihara et al., 1996) with slight modifications. A total of 100 μL oil sample was dissolved in 1 mL of hexane in a microcentrifuge tube; after adding 20 μL 2N potassium hydroxide in methanol, the mixture was vortexed for a minute. The microcentrifuge tube was set aside for the phase separation and 750 μL of an aliquot from the upper part was removed into another microcentrifuge tube, which already has a pinch of sodium sulfate anhydrous. The tube was centrifuged at 13.2 rpm for 5 min and the upper part (~ 500 μL) was transferred into a borosilicate glass vial. Samples were analyzed using an Agilent 6890 (Santa Clara, CA, USA) GC, with a flame ionization detector (FID) and an HP G1513A autosampler and a tray. Fatty acids were eluted through an HP-88 100 m \times 0.25 mm \times 0.2 μm column (Agilent, Santa Clara, CA, USA), and helium was used as a carrier gas. A total of 1 μL of the sample was injected with a split ratio of 20:1. The oven temperature was set at 110 $^{\circ}\text{C}$ for 1 min, then increased to 220 $^{\circ}\text{C}$ (5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) and held for 15 min. The injector temperature was 220 $^{\circ}\text{C}$, and the detector temperature was 250 $^{\circ}\text{C}$. The identification of the fatty acids was achieved by comparing each peak's retention time against the reference standards (Supelco[®] 37 Component FAME Mix, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). GC analyses for each sample were carried out in duplicate.

Data analysis

A multivariate data analysis software (Pirouette version 4.5, Infometrix Inc., Bothell, WA, USA) was used to analyze the spectral data.

Principle Component Analysis (PCA): Firstly, all spectra were checked using Principal Component Analysis (PCA) if any abnormalities occurred during the spectral collection or from the samples themselves. PCA is used for reducing the number of variables. It also transforms the variables that were initially measured into uncorrelated variables related to classes' similarities. In this chemometric method, the relationship among the variables and the patterns can be studied (Rodriguez-Saona et al., 2016).

Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA):

It is one of the supervised pattern recognition techniques that rely on a confidence region for each class after PCA is applied. Observations are projected in each PC that decides if the observation belongs to that class or not. Because the spectra are complex, SIMCA is required for obtaining a meaningful information of the data matrix (De Maesschalck et al., 1999). More information can be found in the literature (Ballabio and Todeschini, 2009; Lavine, 2000; Wold, 1976). SIMCA was used to determine the pure samples and adulterated hazelnut oils. Known classes (hazelnut, sunflower, and canola oils) were used to create a classification algorithm to identify the correct classes (80% of the total samples). Then, the validation data set (20% of the samples that were not used in the classification model) was informed to evaluate the model. SIMCA was evaluated based on three-dimension class projection, misclassification (if the sample was predicted in the correct class) and interclass distance (ICD).

Partial Least Square Regression (PLSR):

Partial Least Square Regression (PLSR) was used to evaluate the fitness of the model using the standard error of cross-validation (SECV), standard error of prediction (SEP), coefficient of determination (r), and outlier diagnostics. PLSR is one of the most used multivariate data analyses that is used for correlated, noisy, and for multi-X variables. For example, data obtained from FT-NIR, FT-MIR, and Raman can have thousands of data points (X variable, i.e. FT-MIR – from 3500 cm^{-1} to 800 cm^{-1}). PLSR includes the PCA features where thousands of variables can be compressed into a few latent variables called as factors, predictors, or components. Detailed information for PLSR can be found in the literature (Brereton, 2000; Haaland and Thomas, 1988; Jong, 1993; Wold et al., 2001). Samples with large residuals indicating the samples with structure do not fit in the model, and high leverage indicates the sample or variable have very much impact on the calibration model were considered as outliers (not shown in the data).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 summarizes the fatty acid profile of hazelnut (HO), sunflower (SFO), and canola (CO) oils. Five of 36 commercial hazelnut samples were suspected of being adulterated with different oils because the fatty acid (FA) profile deviated from HO's FA profile. Suspected

samples generally consisted of a low amount of oleic, and a high amount of linoleic and linolenic acids. An example of pure hazelnut oil and suspected hazelnut oil GC chromatogram was shown in Fig 2.

Table 1. Summary of fatty acid profiles of hazelnut, sunflower, and canola oils

	n	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Hazelnut oil	31	5.77 ± 0.25	2.41 ± 0.18	76.72 ± 4.33	14.56 ± 4.17	0.27 ± 0.11
Suspected hazelnut oil	5	5.91 ± 0.22	2.61 ± 0.34	60.36 ± 5.10	30.07 ± 5.70	1.59 ± 0.73
Sunflower oil	6	4.79 ± 0.12	3.34 ± 0.02	62.15 ± 0.97	28.19 ± 0.96	0.42 ± 0.01
Canola oil	6	4.29 ± 0.07	1.93 ± 0.11	63.97 ± 0.23	20.26 ± 0.81	7.04 ± 0.47

16:0-palmitic acid; 18:0-stearic acid; 18:1-oleic acid; 18:2-linoleic acid; 18:3-linolenic acid; n-number of samples

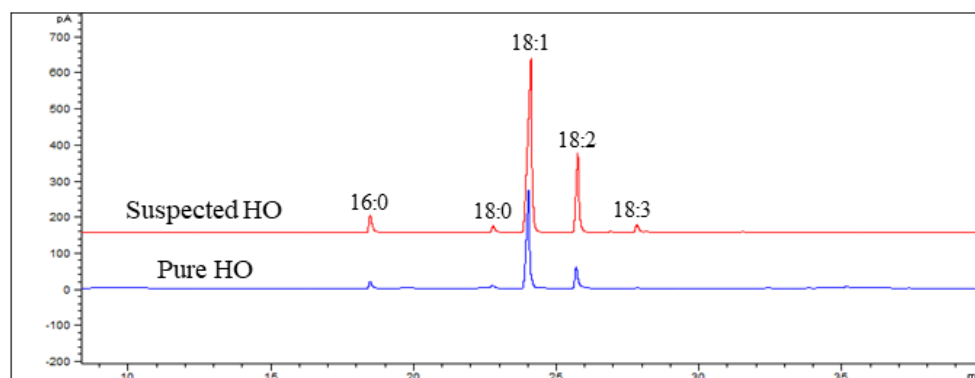


Figure 2. Chromatograms obtained from gas chromatography of suspected hazelnut oil and pure hazelnut oil

PCA & SIMCA results – FT-NIR Spectra

Because the NIR spectra were complex and overlapping peaks would be marked and large variations of baseline make the interpretation difficult, the spectra were 2nd derivative and smooth transformed (with second order polynomial filter with a 35-point window) to improve spectral characteristics. PCA projection was shown in Fig 3A. PCA was used to determine if any sample was an outlier, including suspected samples, and any sample had impurities. Pure

hazelnut oils, canola oils, sunflower oils, and suspected oils were clustered distinctly. Modeling power, which expresses how well the principal components discriminate different oils, for classification was shown in Fig 3B. The most important absorption peaks were found at 4434 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$ combination), 5464 ($-\text{CH}=\text{CH}-$ 1st overtone), 5980 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$ 1st overtone), and 6743 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$ 1st overtone). Peak identifications were made based on the literature (Hourant et al., 2000). SIMCA was used to create

an algorithm for the classification of the oils. SIMCA 3D class projection was shown in Fig 3C. Hazelnut oils, sunflower oils, and canola oils were clustered distinctly. The most important absorption peaks were found at 4189 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$ combination), 4545 cm^{-1} ($-\text{CH}=\text{CH}$ combination), 5612 cm^{-1} ($-\text{CH}$ 2nd overtone), 6238 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$ 1st overtone), 6964 cm^{-1} (O-H 1st overtone). Interclass distances (ICD) describe the similarities and/or dissimilarities between the classes, and it is generally accepted that classes show differentiation when the ICD is > 3 (Massart et al., 2003). ICD of the samples were over 26.3 which indicates FT-NIR discriminates

the oils perfectly. Besides the ICD values, the SIMCA classification model had no misclassification, and the prediction performance of the model revealed 100% specificity and sensitivity. Handheld FT-NIR spectrometer combined with multivariate analysis showed that it could be used as an alternative method to detect hazelnut oil adulteration with fixed oils. Basri and others evaluated the detection of lard adulteration in palm oil using a portable microNIR unit (Basri et al., 2017). The researchers have classified the pure samples from the adulterated samples with a 40% sensitivity and 100% specificity.

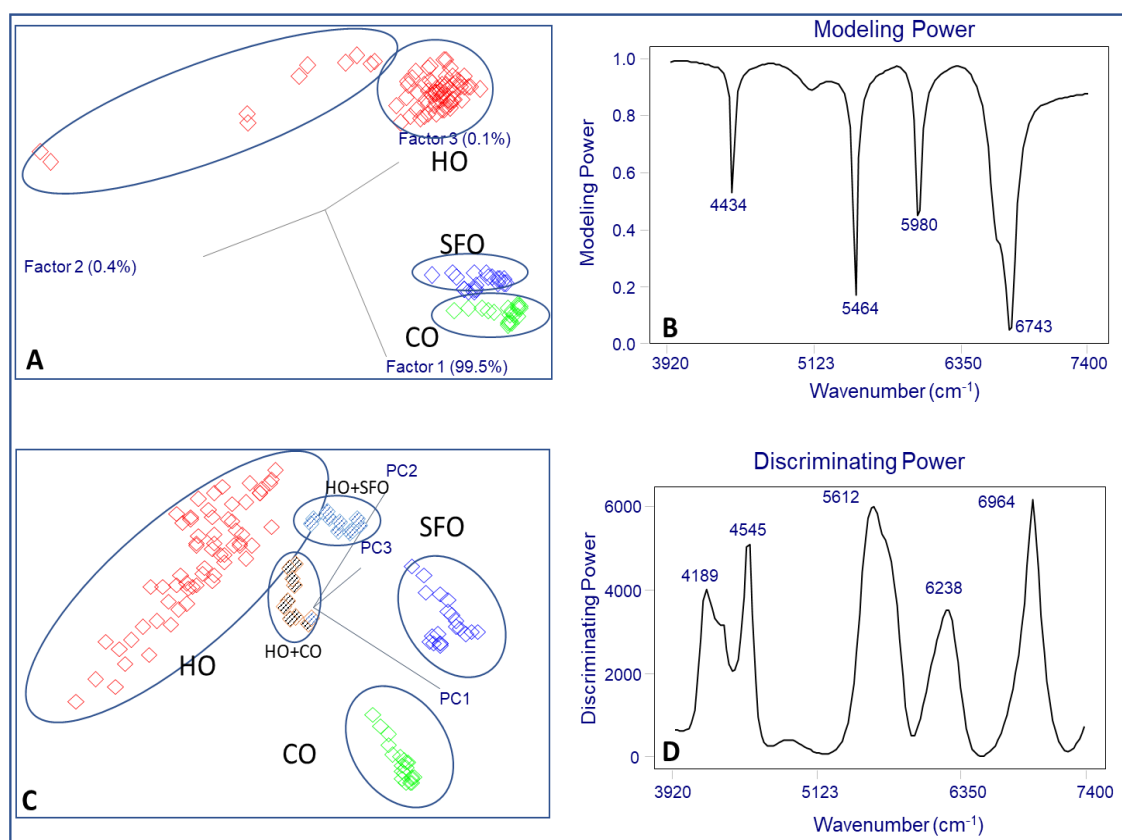


Figure 3. Principal Component Analysis of FT-NIR spectra (A), modeling power obtained from PCA (B), soft independent modelling of class analogy (C), and discriminating power obtained from SIMCA (D). HO: hazelnut oil; CO: canola oil; SFO: sunflower oil

PCA & SIMCA – FT-MIR Spectra

Before the PCA and SIMCA analysis, spectra were 2nd derivative and smooth transformed (second-order poly-nominal filter with a 35-point window). The oils were discriminated based on

PCA analysis (Fig 4A). Associated bands were found around $2950 - 2800\text{ cm}^{-1}$ (CH_2 symmetric or asymmetric stretching), $1800 - 1700\text{ cm}^{-1}$ (C-O stretching esters of fatty acids), $1450 - 1350\text{ cm}^{-1}$ (C-H bending), $1200 - 1000\text{ cm}^{-1}$ (C-O, C-C stretching)

(Fig 4B). The peaks assignment was made based on the literature (Rodriguez-Saona et al., 2016). After suspected samples were excluded from the data matrix, SIMCA analysis was performed (Fig 4C). Based on the discriminating power, the peaks at 2875 cm^{-1} associated with -C-H (CH_2) stretching, 1753 and 1707 cm^{-1} associated with -C=O ester stretching of fatty acids (Fig 4D). These peaks were associated with saturated and unsaturated fatty acid distribution of the oils. For example, sunflower oil has more stearic acid among the samples, while canola oil has more linolenic acid. These differences in the fatty acid distribution of the oils were detected by the spectra. The difference between PCA modeling

power and SIMCA discriminating power was due to the contribution of the suspected samples to the PCA model. The impurities of the suspected samples had some effects on the PCA model. In our SIMCA model, the ICD values were at least 17.5 between the samples, which indicates that portable FT-MIR spectrometer discriminated the samples very distinctly. Similar to the FT-NIR SIMCA model, the FT-MIR SIMCA model had no misclassification and %100 specificity and sensitivity were observed. Overall, the portable FT-MIR spectrometer showed that it could be used for routine analysis for the quality control of the hazelnut oil.

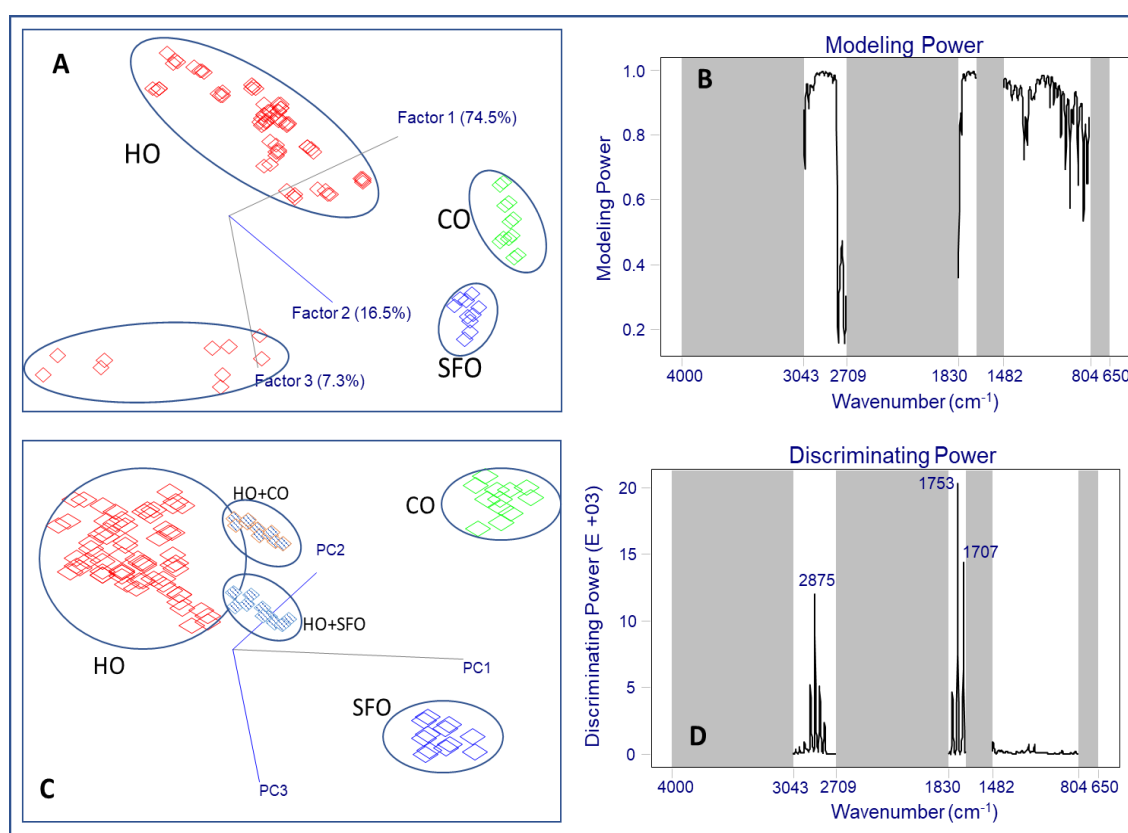


Figure 4. Principal Component Analysis of FT-MIR spectra (A), modeling power obtained from PCA (B), soft independent modelling of class analogy (C), and discriminating power obtained from SIMCA (D). HO: hazelnut oil; CO: canola oil; SFO: sunflower oil

PCA & SIMCA results – Raman Spectra

Before the PCA and SIMCA analysis, Raman spectra were 2nd derivative and smooth transformed (second-order poly-nominal filter

with a 35-point window) to reduce the effects of noise on the models. Based on the PCA model (Fig 5A), all the samples were discriminated. Associated bands to the model (Fig 5B) were

found around 1288 cm^{-1} (twisting $-\text{CH}_2$), 1447 cm^{-1} (bending $-\text{CH}_2$), and 1657 cm^{-1} (stretching *cis*-R-HC=CH-R). After suspected samples were excluded from the data matrix, SIMCA analysis was performed (Fig 5C). SIMCA provided very distinct clusters for the groups. Discriminating power of the SIMCA model (Fig 5D) indicated that the peak at 1439 cm^{-1} was associated with $-\text{C}-\text{H}$ bending ($-\text{CH}_2$), 1650 and 1667 cm^{-1} were related to $\text{C}=\text{C}$ stretching (*cis*-R-HC=CH-R) from polyunsaturated fatty acids. The peak assignments were made based on the literature (Aykas et al.,

2020c). The SIMCA model showed great potential of its use in detecting the adulteration of hazelnut oil with fixed oils since the ICD values were over 5.0, indicating that portable Raman spectrometer discriminated the samples distinctly. As mentioned before, those bands are related to monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, and a positive correlation can be observed as an increase in the band intensity increases the percentage of unsaturated fatty acids in the oils.

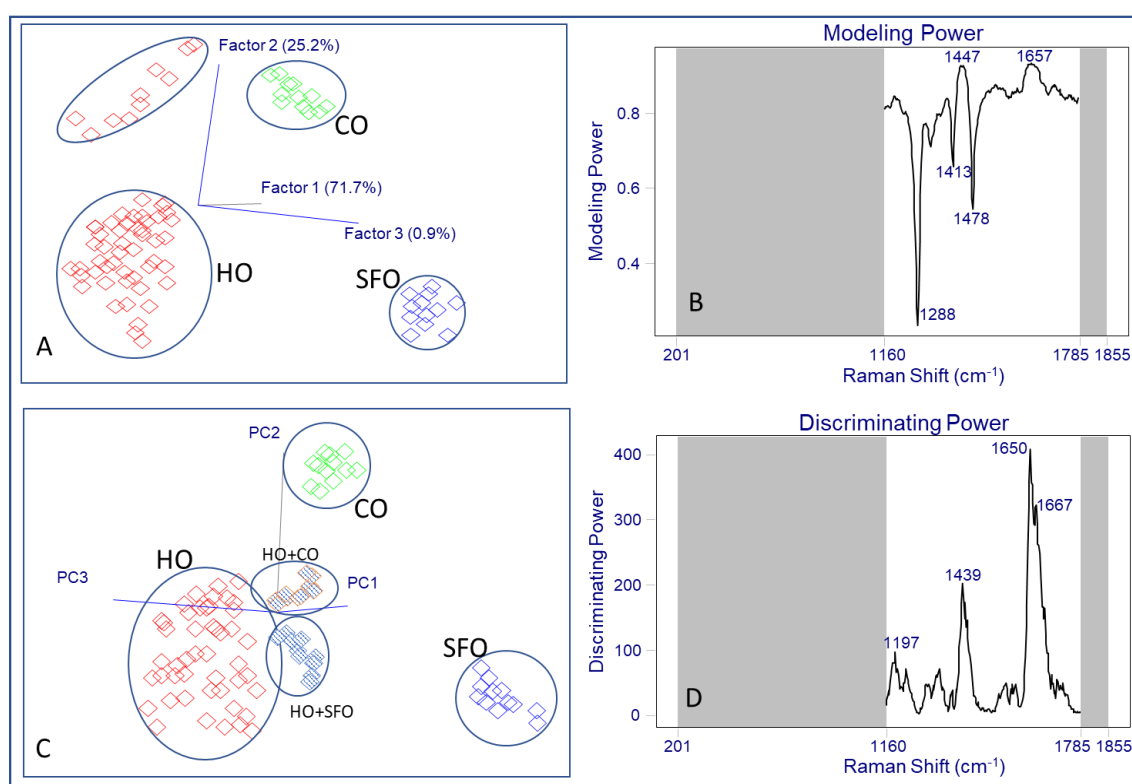


Figure 5. Principal Component Analysis of Raman spectra (A), modeling power obtained from PCA (B), soft independent modelling of class analogy (C), and discriminating power obtained from SIMCA (D). HO: hazelnut oil; CO: canola oil; SFO: sunflower oil

Comparing the three units, the Raman spectrometer was weaker than FT-NIR, and FT-MIR as ICD values of the classes were lower than the values obtained from FT-NIR and FT-MIR. Best results were obtained from the handheld FT-NIR spectrometer. Still, the Raman spectrometer has the potential for analysis for quality control purposes.

Partial Least Squares Regression

Table 2 shows the performance of predicting models developed using portable FT-NIR, FT-MIR, and Raman spectrometers for predicting fatty acids levels and adulterant levels. In most cases, using a high number of factors improves the prediction performances; however, it may include noise or irrelevant components that can cause overfitting the model. Similarly, using fewer

factors than the optimal number can cause underfitting that results from incorporating less variance than needed (Abdi, 2010). The optimum factors for our predictive models were between two to five. All generated predictive models had very good performances in terms of high r_{val} and low SECV values. To evaluate the portable units' performances, spectra were collected under the same conditions for the samples purchased from the markets. Validation models showed that a similar or slightly lower performance than calibration models. Overall, among the three units, the best performance was obtained from the portable FT-MIR spectrometer. Handheld FT-NIR spectrometer showed the least

performance for the predicting models. For all prediction models, FT-MIR and Raman spectrometer performances were excellent because the r_{val} , when it is over 0.90, indicated the prediction level was excellent (Shenk and Westerhaus, 1996; Urbano Cuadrado et al., 2005). FT-NIR also showed excellent performance for the prediction models except for stearic acid as it was 0.86; however, it still shows a very good performance. Similarly, Aykas and others reported that the portable FT-MIR unit has superior performances over the portable Raman unit on the prediction of fatty acid composition in olive oil samples (Aykas et al., 2020b).

Table 2. Statistical performance of the prediction models developed using FT-NIR, FT-MIR, and Raman spectrometers for predicting fatty acid and adulteration levels of hazelnut oil

Unit	Parameter	Calibration model					Validation model			
		Range ^a	N ^b	F ^c	SECV ^d	r_{cal} ^e	Range	N	SEP ^f	r_{val} ^g
FT-NIR	16:0	4.1-6.3	54	4	0.09	0.95	4.3-6.1	12	0.14	0.92
	18:0	1.8-3.3	51	5	0.11	0.90	1.9-3.2	12	0.13	0.86
	18:1	55-78	54	5	1.42	0.97	58-76	12	1.64	0.95
	18:2	13-35	54	5	1.31	0.97	16-32	12	1.49	0.96
	18:3	0.1-7.4	52	4	0.13	0.93	0.4-6.5	12	0.21	0.93
	SFO	0-25	12	2	1.61	0.94	5.0-20.0	4	1.73	0.93
	CAO	0-25	12	3	1.42	0.95	5.0-20.0	4	1.62	0.93
FT-MIR	16:0	4.1-6.3	54	4	0.05	0.98	4.3-6.1	12	0.07	0.97
	18:0	1.8-3.3	50	4	0.03	0.99	1.9-3.2	12	0.07	0.96
	18:1	55-78	53	3	0.28	1	58-76	12	0.72	0.99
	18:2	13-35	53	4	0.85	0.99	16-32	12	0.94	0.98
	18:3	0.1-7.4	52	5	0.11	0.98	0.4-6.5	12	0.19	0.96
	SFO	0-25	12	5	1.12	0.96	5.0-20.0	4	1.33	0.95
	CAO	0-25	12	5	1.24	0.96	5.0-20.0	4	1.32	0.95
Raman	16:0	4.1-6.3	54	4	0.18	0.98	4.3-6.1	12	0.25	0.96
	18:0	1.8-3.3	51	3	0.06	0.97	1.9-3.2	12	0.08	0.95
	18:1	55-78	53	2	1.23	0.97	58-76	12	1.25	0.97
	18:2	13-35	53	2	1.22	0.97	16-32	12	1.25	0.97
	18:3	0.1-7.4	52	5	0.11	0.96	0.4-6.5	12	0.18	0.95
	SFO	0-25	12	2	1.22	0.94	5.0-20.0	4	1.42	0.93
	CAO	0-25	12	3	1.31	0.96	5.0-20.0	4	1.63	0.94

^aThe unit of the range is %. ^bNumber of samples used in calibration models. ^cThe number of factors. ^dStandard error of cross-validation. ^eCorrelation coefficient of cross-validation. ^fStandard error of prediction. ^gCorrelation coefficient of prediction for external validation.

CONCLUSIONS

In this study, sunflower and canola oil adulteration in hazelnut oil were aimed to be determined by portable FT-NIR, FT-MIR, and Raman spectrometers. SIMCA and PLSR models were developed to authenticate pure hazelnut oils and predict fatty acid and adulterant levels. Portable vibrational spectroscopic units, combined with chemometrics, provided rapid (~10 s), non-invasive, and reliable determination of adulterated hazelnut oils with sunflower and canola oils. We observed that five out of 36 commercial hazelnut oils on the market were suspected as adulterated based on our portable units and GC results. FT-MIR spectrometer showed slightly better performance than FT-NIR and Raman spectrometers. Vibrational spectroscopy techniques may detect sunflower and canola oil adulterations on hazelnut oils as low as 5%. These units can be used as an alternative method to traditional methods and provide the oil industry and government agencies an easy, non-invasive method to detect adulterations in hazelnut oils.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors would like to thank Prof. Luis E. Rodriguez-Saona (The Ohio State University, Department of Food Science and Technology) for his technical support rendered during this study. This research received no external funding.

CONFLICTS OF INTEREST

Authors declare that they have no conflict of interest. This article does not contain any studies with human or animal subjects.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

A.M: Formal analysis, methodology, data curation, original draft; D.P.A: Formal analysis, methodology, data curation, review and editing.

REFERENCES

Abdi, H. (2010). Partial least squares regression and projection on latent structure regression (PLS Regression). *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(1), 97–106. <https://doi.org/10.1002/wics.51>

Akkaya, M. R. (2018). Prediction of fatty acid composition of sunflower seeds by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2318–2325. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3150-x>

Aykas, D. P., Ball, C., Sia, A., Zhu, K., Shotts, M. L., Schmenk, A., & Rodriguez-Saona, L. (2020a). In-situ screening of soybean quality with a novel handheld near-infrared sensor. *Sensors (Switzerland)*, 20(21), 1–19. <https://doi.org/10.3390/s20216283>

Aykas, D. P., Karaman, A. D., Keser, B., & Rodriguez-Saona, L. (2020b). Non-targeted authentication approach for extra virgin olive oil. *Foods*, 9(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9020221>

Aykas, D. P., & Menevseoglu, A. (2021). A rapid method to detect green pea and peanut adulteration in pistachio by using portable FT-MIR and FT-NIR spectroscopy combined with chemometrics. *Food Control*, 121. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107670>

Aykas, D. P., Shotts, M.-L., & Rodriguez-Saona, L. E. (2020c). Authentication of commercial honeys based on Raman fingerprinting and pattern recognition analysis. *Food Control*, 117(May), 107346. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107346>

Ayvaz, H., & Rodriguez-Saona, L. E. (2015). Application of handheld and portable spectrometers for screening acrylamide content in commercial potato chips. *Food Chemistry*, 174, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.001>

Ayvaz, H., Sierra-Cadavid, A., Aykas, D. P., Mulqueeney, B., Sullivan, S., & Rodriguez-Saona, L. E. (2016). Monitoring multicomponent quality traits in tomato juice using portable mid-infrared (MIR) spectroscopy and multivariate analysis. *Food Control*, 66, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.031>

Ballabio, D., & Todeschini, R. (2009). Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control Multivariate Classification for Qualitative Analysis. In D.-W. Sun (Ed.), *Infrared*

- Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (1st ed., pp. 83–104). Burlington, MA: Elsevier.
- Basri, K. N., Hussain, M. N., Bakar, J., Sharif, Z., Khir, M. F. A., & Zoofakar, A. S. (2017). Classification and quantification of palm oil adulteration via portable NIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.028>
- Benitez-Sánchez, P. L., León-Camacho, M., & Aparicio, R. (2003). A comprehensive study of hazelnut oil composition with comparisons to other vegetable oils, particularly olive oil. *European Food Research and Technology*, 218(1), 13–19. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0766-4>
- Brereton, R. G. (2000). Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. *Analyst*, 125(11), 2125–2154. <https://doi.org/10.1039/b003805i>
- Celenk, V. U., Argon, Z. U., & Gumus, Z. P. (2020). Cold pressed hazelnut (*Corylus avellana*) oil. In M. F. Ramadan (Ed.), *Cold Pressed Oils*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818188-1.00020-7>
- Cercaci, L., Rodriguez-Estrada, M. T., & Lercker, G. (2003). Solid-phase extraction-thin-layer chromatography-gas chromatography method for the detection of hazelnut oil in olive oils by determination of esterified sterols. *Journal of Chromatography A*, 985(1–2), 211–220. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01397-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01397-3)
- Christy, A. A., Kasemsumran, S., Du, Y., & Ozaki, Y. (2004). The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Analytical Sciences*, 20(6), 935–940. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.935>
- De Maesschalck, R., Candolfi, A., Massart, D. L., & Heuerding, S. (1999). Decision criteria for soft independent modelling of class analogy applied to near infrared data. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 47(1), 65–77. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(98\)00159-2](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(98)00159-2)
- FAO. (2020). FAOSTAT Crops. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Gelpí, E., Posada de la Paz, M., Terracini, B., Abaitua, I., Gómez de la Cámara, A., Kilbourne, E. M., ... Tarkowski, S. (2002). The spanish toxic oil syndrome 20 years after its onset: A multidisciplinary review of scientific knowledge. *Environmental Health Perspectives*, 110(5), 457–464. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110457>
- Guiné, R. P. F., & Correia, P. M. R. (2020). Hazelnut: A Valuable Resource. *ETP International Journal of Food Engineering*, (December), 67–72. <https://doi.org/10.18178/ijfe.6.2.67-72>
- Haaland, D. M., & Thomas, E. V. (1988). Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses. 1. Relation to Other Quantitative Calibration Methods and the Extraction of Qualitative Information. *Analytical Chemistry*, 60(11), 1193–1202. <https://doi.org/10.1021/ac00162a020>
- Hourant, P., Baeten, V., Morales, M. T., Meurens, M., & Aparicio, R. (2000). Oil and fat classification by selected bands of near-infrared spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 54(8), 1168–1174. <https://doi.org/10.1366/0003702001950733>
- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K., & Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31(5), 535–539. <https://doi.org/10.1007/BF02522648>
- Jong, S. (1993). PLS Fits Closer Than PCR. *Journal of Chemometrics*, 7, 551–557. <https://doi.org/10.1515/jpme.1998.26.4.325>
- Karabulut, I., Topcu, A., Yorulmaz, A., Tekin, A., & Ozay, D. S. (2005). Effects of the industrial refining process on some properties of hazelnut oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(7–8), 476–480. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200501147>
- Lavine, B. K. (2000). Clustering and Classification of Analytical Data. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 1–21. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a5204>
- MAF – Republic of Turkey Ministry of Agriculture And Forestry. (2020). Gıda Olarak

- Findigin Yeri. Retrieved from <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/findik/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=29>
- Mariani, C., Bellan, G., Lestini, E., & Aparicio, R. (2006). The detection of the presence of hazelnut oil in olive oil by free and esterified sterols. *European Food Research and Technology*, 223(5), 655–661. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0249-x>
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Deming, S. N., Michotte, Y., & Kaufman, L. (2003). *Chemometrics: a textbook* (fifth). Amsterdam, Netherlands: Elsevier B.V.
- Mcgrath, T. F., Haughey, S. A., Islam, M., & Elliott, C. T. (2020). The Potential of Handheld Near Infrared Spectroscopy to detect food adulteration: Results of a global, multi-instrument inter-laboratory study. *Food Chemistry*, 128718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128718>
- Menevseoglu, A. (2021) Non-destructive detection of sesame oil adulteration by portable FT-NIR, FT-MIR, and Raman spectrometers combined with chemometrics. *JOTCSA*, 8(3),775-786. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.940424>
- Menevseoglu, A., Aykas, D. P., & Adal, E. (2021). Non-targeted approach to detect green pea and peanut adulteration in pistachio by using portable FT-IR, and UV-Vis spectroscopy. *Journal of Food Measurement and Characterization*. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00710-y>
- Miaw, C. S. W., Sena, M. M., Souza, S. V. C. de, Ruisanchez, I., & Callao, M. P. (2018). Variable selection for multivariate classification aiming to detect individual adulterants and their blends in grape nectars. *Talanta*, 190(July), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.078>
- Mossoba, M. M., Strigley, C. T., Farris, S., Kramer, J. K. G., Chirtel, S., & Rader, J. (2014). Evaluation of the Performance of a Portable Mid-Infrared Analyzer for the Rapid Determination of Total Trans Fat in Fast Food. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(10), 1651–1663. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2521-3>
- Ozen, B. F., & Mauer, L. J. (2002). Detection of hazelnut oil adulteration using FT-IR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3898–3901. <https://doi.org/10.1021/jf0201834>
- Pei, X., Tandon, A., Alldrick, A., Giorgi, L., Huang, W., & Yang, R. (2011). The China melamine milk scandal and its implications for food safety regulation. *Food Policy*, 36(3), 412–420. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2011.03.008>
- Platteau, C., De Loose, M., De Meulenaer, B., & Taverniers, I. (2011). Quantitative detection of hazelnut (*Corylus avellana*) in cookies: ELISA versus real-time PCR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(21), 11395–11402. <https://doi.org/10.1021/jf202167b>
- Quintanilla-Casas, B., Strocchi, G., Bustamante, J., Torres-Cobos, B., Guardiola, F., Moreda, W., ... Vichi, S. (2021). Large-scale evaluation of shotgun triacylglycerol profiling for the fast detection of olive oil adulteration. *Food Control*, 123. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107851>
- Rodriguez-Saona, L., Aykas, D. P., Borba, K. R., & Urtubia, A. (2020). Miniaturization of optical sensors and their potential for high-throughput screening of foods. *Current Opinion in Food Science*, 31, 136–150. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.008>
- Rodriguez-Saona, L. E., Giusti, M. M., & Shotts, M. (2016a). Advances in infrared spectroscopy for food authenticity testing. In *Advances in Food Authenticity Testing*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100220-9.00004-7>
- Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1996). *Calibration the ISI way. Near infrared spectroscopy: The future waves*. Chichester, UK: NIR Publications.
- Shotts, M. L., Plans Pujolras, M., Rossell, C., & Rodriguez-Saona, L. (2018). Authentication of indigenous flours (Quinoa, Amaranth and kañiwa) from the Andean region using a portable ATR-Infrared device in combination with pattern recognition analysis. *Journal of Cereal Science*, 82, 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.04.005>

- Şisik Ogras, Ş., Kaban, G., & Kaya, M. (2018). Ham ve Rafine Fındık Yağlarının Uçucu Bileşikleri ve Yağ Asidi Kompozisyonu. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(2), 104–110. <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.392547>
- Sun, Y., Yuan, M., Liu, X., Su, M., Wang, L., Zeng, Y., ... Nie, L. (2020). Comparative analysis of rapid quality evaluation of *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) with Fourier transform near-infrared spectrometer and portable near-infrared spectrometer. *Microchemical Journal*, 159(August), 105492. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105492>
- Turan, A. (2018). Effect of drying methods on fatty acid profile and oil oxidation of hazelnut oil during storage. *European Food Research and Technology*, 244(12), 2181–2190. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3128-y>
- Urbano Cuadrado, M., Luque De Castro, M. D., Pérez Juan, P. M., & Gómez-Nieto, M. A. (2005). Comparison and joint use of near infrared spectroscopy and Fourier transform mid infrared spectroscopy for the determination of wine parameters. *Talanta*, 66(1), 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.11.011>
- Wold, S. (1976). Pattern recognition by means of disjoint principal components models. *Pattern Recognition*, 8(3), 127–139. [https://doi.org/10.1016/0031-3203\(76\)90014-5](https://doi.org/10.1016/0031-3203(76)90014-5)
- Wold, S., Sjöström, M., & Eriksson, L. (2001). PLS-regression: A basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58(2), 109–130. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1)
- Zabaras, D., & Gordon, M. H. (2004). Detection of pressed hazelnut oil in virgin olive oil by analysis of polar components: Improvement and validation of the method. *Food Chemistry*, 84(3), 475–483. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.029>
- Zambiazzi, R. U. I. C., Przybylski, R., Zambiazzi, M. W., & Mendonça, C. B. (2007). Fatty Acid Composition of Vegetable Oils and Fats. *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 25(1), 111–120.



ENHANCED BIOACCESSIBILITY BY EXTRUSION PROCESS AND QUALITY PARAMETERS OF RED PEPPER PULP ADDED EXTRUDATES

Ozge Yoldas¹, Cagla Caltinoglu-Toraman¹, Ilkay Sensoy^{1*}, Sibel Karakaya²

¹Department of Food Engineering, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

²Department of Food Engineering, Ege University, Izmir, Turkey

Received / Geliş: 11.10.2021; Accepted / Kabul: 22.12.2021; Published online / Online baskı: 30.12.2021

Yoldas, O., Caltinoglu-Toraman, C., Sensoy, I., Karakaya, S. (2022). Enhanced bioaccessibility by extrusion process and quality parameters of red pepper pulp added extrudates. *GIDA* (2022) 47 (1) 15-24 doi: 10.15237/gida.GD21131.

Yoldas, O., Caltinoglu-Toraman, C., Sensoy, I., Karakaya, S. (2022). Ekstrüzyon işlemiyle arttırılmış biyoerişim ve kırmızı biber posası eklenmiş ekstrüde ürünlerin kalite parametreleri. *GIDA* (2022) 47 (1) 15-24 doi: 10.15237/gida.GD21131.

ABSTRACT

Only bioaccessible nutrients can be absorbed and used by the body to contribute to health. The study aimed to investigate the effect of extrusion on the *in vitro* bioaccessibility of β -cryptoxanthin and zeaxanthin in extrudates supplemented with red pepper pulp. Corn grits mixed with red pepper pulp were extruded. β -cryptoxanthin, zeaxanthin, and total phenolic content with antioxidant activity analysis were conducted on the feed and extruded samples. Quality parameters of the corn grit extrudates, prepared with and without red pepper pulp, were also investigated. The extrusion process significantly increased the *in vitro* bioaccessibility of zeaxanthin, but no statistically significant difference was observed for β -cryptoxanthin. After the extrusion process, total phenolic, β -cryptoxanthin, and zeaxanthin contents with antioxidant activity were lower. Physical quality parameters such as hardness, expansion, and water absorption with water solubility index values were not affected by the addition of red pepper meal. The porosity decreased, and hence the bulk density increased. Sensory analysis showed that the preference scores of the panelists for the samples with the addition of red pepper meal were not different from the control. This study showed that the extrusion process could improve the *in vitro* bioaccessibility of functional components. Additionally, red pepper pulp can be added as a functional ingredient to extrudates to develop new products without changing consumer preferences.

Keywords: Extrusion, bioaccessibility, quality, functional, digestion, sensory analysis

EKSTRÜZYON İŞLEMİYLE ARTTIRILMIŞ BİYOERİŞİM VE KIRMIZI BİBER POSASI EKLENMİŞ EKSTRÜDE ÜRÜNLERİN KALİTE PARAMETRELERİ

ÖZ

Sadece biyolojik olarak erişilebilir besinler biyolojik olarak kullanılabilir ve vücut tarafından sağlığa katkıda bulunmak için kullanılabilirler. Çalışma, ekstrüzyon işleminin kırmızı biber küspesi eklenmiş ekstrüdatlarda β -kriptoksantin ve zeaksantin'in *in vitro* biyoerişilebilirliği üzerine etkisini araştırmayı

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: isensoy@metu.edu.tr

☎: (+90) 533 748 3033

☎: (+90) 224 246 19 41

Ozge Yoldas; ORCID no: 0000-0000-0000-0000

Cagla Caltinoglu-Toraman; ORCID no: 0000-0000-0000-0000

Ilkay Sensoy; ORCID no: 0000-0002-0413-2532

Sibel Karakaya; ORCID no: 0000-0001-5514-9521

amaçlamıştır. Ekstrüzyon işlemi, zeaksantin'in in vitro biyoerişilebilirliğini önemli ölçüde arttırmıştır, ancak β -kriptoksantin için istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Ekstrüzyon işleminden sonra antioksidan aktiviteye sahip toplam fenolik, β -kriptoksantin ve zeaksantin içerikleri daha düşük bulunmuştur. Sertlik, genleşme, su emme ve suda çözünürlük indeks değerleri gibi fiziksel kalite parametreleri kırmızı biber küspesi ilavesinden etkilenmemiştir. Gözeneklilik azalmış ve dolayısıyla yığın yoğunluğu biraz artmıştır. Duyusal analiz, kırmızı biber küspesi ilave edilen numuneler için panelistlerin tercih puanlarının kontrolden farklı olmadığını göstermiştir. Bu çalışma, ekstrüzyon işleminin fonksiyonel bileşenlerin in vitro biyoerişilebilirliğini iyileştirebileceğini göstermiştir. Ek olarak, kırmızı biber küspesi, tüketici tercihlerini değiştirmeden yeni ürünler geliştirmek için ekstrüdatlara fonksiyonel bir bileşen olarak eklenebilir.

Anahtar kelimeler: Ekstrüzyon, biyoerişilebilirlik, kalite, fonksiyonel, sindirim, duyusal.

INTRODUCTION

Extrusion is a thermomechanical process that can produce various food products from cereals with varying textures and shapes with a high consumer appeal. Therefore, many scientists have studied the incorporation of nutrient-rich by-products of vegetables and fruits to improve the functionality of extruded food products (Dehghan-Shoar et al. 2011). Sweet red peppers (*Capsicum annuum* L.) are good candidates for extruded products as a functional ingredient due to their excellent contents of antioxidants, fiber, vitamins, and minerals. They contain vitamin C, non-provitamin A carotenoid pigments including lycopene and zeaxanthin, and provitamin A carotenoids, β -carotene, and β -cryptoxanthin (Minguez-Mosquera et al. 1993). β -cryptoxanthin can quench singlet oxygen. Zeaxanthin has preventive effects against lipid peroxidation and protects cells from blue light damage (Krinsky et al. 2003). Moreover, zeaxanthin has protective effects against blindness among the elderly, age-related macular degeneration, and age-related cataracts (Abdel-Aal et al. 2013; Mozaffarieh et al. 2003). In the form of pulp, red pepper can be easily incorporated into extruded snack products. Health claims for functional components can only be made if the ingredient reaches the target site for the required physiological action. Bioaccessibility is described as the amount of an ingested nutrient that is available for absorption in the digestive system, whereas; bioavailability is the fraction that is available in the bloodstream for utilization in the physiological functions or storage in the body (Van Buggenhout et al. 2010). Therefore, the availability of nutrients or antioxidants depends on their bioaccessibility as well as their concentration in the food (Carrilo et

al. 2017). The processing method, the food matrix, and structure may affect the compound's release from food during digestion (Karakaya et al. 2016; Pineda-Vadillo et al. 2017) and their bioaccessibility. The compound's physicochemical properties, such as configuration, degree of linkage, and lipophilic character, also affect bioaccessibility. Bioaccessibility of nutrients could be determined by in vivo or in vitro methods. In vivo methods involve human or animal subjects; therefore, it provides direct data. In vitro models, on the other hand, is rapid, low-cost, and reproducible alternatives. Also, the procedure has no ethical constraint.

Carotenoids are synthesized and stored in plastids, which are a group of organelles found in plant cells. There are a limited number of studies on the effect of the extrusion process on functional components' bioaccessibility (Güven et al. 2018; Tonyali et al. 2020). Therefore, this study aimed to investigate the extrusion process' effect on the release of selected carotenoids from red pepper cells. *In vitro* bioaccessibilities of carotenoids, β -cryptoxanthin and zeaxanthin, found in red pepper pulp were investigated before and after processing. Added functional ingredients with high fiber content may reduce starch expansion during the extrusion process and reduce consumer appeal. Therefore, the effects of red pepper pulp addition on the quality of extrudates and the effects of the extrusion process on functional components of red pepper pulp added products were also investigated.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Corn grits (*Zea mays* L.) received from Teknik Tarım (Manisa, Turkey) and red peppers (*Capsicum annum* L.) were obtained from a local grocery store (Ankara, Turkey). The chemical reagents used in the analyses were of analytical grade except for the ones used in HPLC analysis, where the reagents were HPLC grade (Yeğin, 2014).

Extrusion process

Stems and seeds of the washed red peppers were removed before cutting and blending (Cuisinart CBT700E, Stamford) for about 5 minutes, as described in Yeğin (2014). Corn grits ($12.52 \pm 0.03\%$ moisture) and red pepper pulp ($92.29 \pm 0.05\%$ moisture) were mixed in a mixer (Kitchen Aid, Ariston, USA) for 20 minutes to obtain a feed with $25 \pm 0.5\%$ moisture content. Before the extrusion process, the feed, which had been kept in black plastic bags at 4°C overnight, was allowed to equilibrate at room temperature for 2 hours. A halogen moisture analyzer (MX-50, AND, Japan) at 160°C was used to determine moisture contents. A laboratory-scale co-rotating twin-screw extruder (Feza Machine Co. Ltd., Istanbul, Turkey) with a die diameter of 3 mm and a barrel length to diameter ratio of 25:1 was used for the extrusion process. Three different temperature profiles were used for barrel zones during the experiments: 1) 80°C , 90°C , 100°C and 130°C (die: 121°C); 2) 80°C , 105°C , 130°C and 160°C (die: 142°C) and 3) 80°C , 90°C , 115°C , and 145°C (die: 125°C). The first two temperature profiles (screw speed of 225 rpm) were used for the *in vitro* digestion, total phenol, antioxidant and carotenoid analyses to compare the samples, extruded at two different temperature profiles, with the feed. The third temperature profile (screw speed of 175 rpm), where the expansion was maximum among the three temperature profiles, was used for investigating the effect of red pepper pulp addition on the quality of the corn grit extrudates. The feed flow rate was 36 ± 1 g/min for all three temperature profile sets. Samples were taken only when actual measured barrel zone temperatures and die temperatures varied $\pm 2^\circ\text{C}$ from the set temperatures.

Sample Preparations

For *in vitro* digestion and functional component analysis, the extruded samples were ground with a blender (Waring 8011ES, USA) for 2 minutes and passed through a $425 \mu\text{m}$ mesh sieve (Laboratory Test Sieve, Endecotts Ltd. England). Ground samples were kept at -22°C in a freezer (Arçelik, Turkey) until the analysis. For quality parameter analysis, collected extruded samples were cut into 5 cm pieces and dried at $50 \pm 0.1^\circ\text{C}$ for 5 hours in an oven (ES500, Nüve, Turkey). The dried samples' final moisture contents were $6.57 \pm 1.76\%$ and $6.64 \pm 0.20\%$ for the samples with and without red pepper pulp, respectively.

In vitro digestion analysis

In vitro digestion analysis was conducted at the Food and Nutrition Science Laboratory in the Food Engineering Department of Ege University, Izmir, Turkey (Yeğin, 2014). The method of Martos et al. (2010) was used with slight modifications to simulate human gastrointestinal digestion. Simulated salivary (SSF) and gastric (SGF) fluids were prepared according to Kopf-Bolanç et al. (2012) with some modifications (Table 1). The main steps of digestion were given as follows: Oral digestion was simulated by grinding the samples in a porcelain mortar. Then, 0.5 g of the ground matrices were mixed with 1.0 mL of SSF containing α -amylase (150 U/mL) for 2 min at 37°C followed by gastric digestion with the addition of SGF containing pepsin solution (1000 U/mL; Sigma-Aldrich P7012, Germany) for 2 h at 37°C . After gastric digestion, the pH was increased to 5.5, and a dialysis bag (Spectra/Por Dialysis Membrane MWCO: 6-8000, Spectrum Laboratories, Inc.) including 6.25 mL 0.5 N NaHCO_3 (pH 7.0) was put into a tube, and the tube was allowed to stay for incubation. Then 2 mL of the solution containing bile extract (10 mM) and pancreatin (Sigma-Aldrich P1750, Germany) solution (100 U/mL, based on trypsin activity) was added and allowed for incubation under stirring for two hours at 37°C . After the incubation period, the dialysis membrane was removed from the tube, opened, and the content was transferred into a 15 mL plastic tube marked as dialysate. The solution (non-dialysable fraction) outside the dialysis membrane was transferred

into another tube. Then all the tubes were frozen at -20°C overnight. Frozen samples (dialysates and non-dialysable fractions) were transported to

the Food Engineering Department of the Middle East Technical University in Ankara for analysis of β -cryptoxanthin and zeaxanthin contents.

Table 1. Preparation of the digestion juices (saliva and gastric juice) (Kopf-Bolanz et al. 2012).

Saliva			Gastric Juice		
Volume (mL)	Compound	Stock (g/L)	Volume (mL)	Compound	Stock (g/L)
10	KCl	46.72	28	KCl	46.72
1	KSCN	40	0.9	KH_2PO_4	68
20	KH_2PO_4	68	6.5	NaHCO_3	168
4	NaHCO_3	84	10	NaCl	120
1	NaCl	120	2	$\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$	30
1	$\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$	30	1	NH_4Cl	27.28

Extraction of carotenoids

Carotenoids were extracted as described in Cemeroglu (2010) with some modifications. Ten grams of homogenized samples of finely ground extrudates and feed were put in a glass beaker, and 30 mL of distilled water was added. The beakers were wrapped in paraffin and aluminum foil. After that, they were kept in a refrigerator at 4°C overnight for hydration. The equilibrated samples were homogenized by a homogenizer (Witeg, HG-15A, Germany) at 13500 rpm for 2 minutes. Then, 4 grams of homogenized samples were weighed into a glass beaker, and 0.4 g calcium carbonate (CaCO_3) was added to neutralize any organic acids. The samples were mixed with 25 mL of hexane/acetone/ethanol (50:25:25 v/v/v) mixture. The mixture in beakers wrapped in paraffin and aluminum foil was stirred with a magnetic stirrer (JeioTech-Multichannel Stirrer, MS-52 M, Korea) at 250 rpm for 20 minutes. After stirring, the supernatant was separated and put into a glass beaker. Extraction with the mixture was performed twice to make the sample colorless and to extract carotenoids completely. Then, the supernatant is combined with the previous supernatant in a centrifuge tube. Then, 10 mL distilled water was added to supernatants, and tubes were centrifuged (Sigma, 2-16 PK, Germany) at $9500\times g$ at 4°C for 20 minutes to separate the hexane layer. The hexane layer on top was separated into glass tubes with a micro-syringe and evaporated under the stream of nitrogen at 37°C with a nitrogen evaporator.

HPLC Analysis

β -cryptoxanthin and zeaxanthin contents were determined as described in O'Connell et al. (2007) with some modifications. Carotenoids of feed and extrudate samples in the glass tubes were reconstituted in 100 μL of tetrahydrofuran (THF) to split from glass entirely and then dissolved in 900 μL of mobile phase including acetonitrile/methanol/dichloromethane (75:20:5 v/v/v) mixture containing 10 mmol/L of ammonium acetate, 4.5 mmol/L butylated hydroxytoluene, and 3.6 mmol/L triethylamine. The carotenoids of digested feed and extrudate samples were reconstituted in 50 μL of THF and then dissolved with 450 μL of the mobile phase. The mixtures in the tubes were mixed with a vortex and were filtered through the 0.45 μm syringe filter (Syringe Filter, PTFE 13 mm) into brown glass vials. The carotenoid contents were determined by a reverse-phase HPLC. The HPLC system (Thermo Scientific, Finnigan Surveyor) consisted of a UV visible detector (Finnigan Surveyor, UV-Vis Plus Detector). The column system consisted of a guard column connected to Inertsil ODS-2, 4.6 x 250 mm, 5 μm reverse-phase C18 column. The column temperature was 20°C , and the visible detector was set to 450 nm. The injection volume was 25 μL , and the isocratic flow rate was 1 mL/min. The mobile phase was filtered through a 0.45 μm filter (Filtration Membranes, Membrane Disc PVDF 47 mm, 0.45 μm). The standard curves of β -cryptoxanthin (Sigma-Aldrich C6368, $\geq 97\%$ (TLC), Germany) and zeaxanthin (Sigma-Aldrich 14681, $\geq 97\%$ (TLC), Germany) were prepared with a range of

concentrations from 0.0025 µg/mL to 0.1 µg/mL. Bioaccessibility (%) of β-cryptoxanthin and zeaxanthin in the samples were calculated as follows: Bioaccessibility (%) = [(amount in dialyzed portion) + (amount in not dialyzed portion)] x100 / (amount in the sample before *in vitro* digestion)

Total phenolic content and antioxidant activity

Extractions were performed by the method of Anton et al. (2009). 400 mg of samples were mixed with 10 mL of acetone/water (4:1 v/v) mixture in glass beakers wrapped by paraffin and aluminum foil. The mixtures were stirred (JeioTech-Multichannel Stirrer, MS-52 M, Korea) at 200 rpm for 2 hours. After that, the samples were centrifuged (Sigma, 2-16 PK, Germany) at 3000xg and 20°C for 12 minutes. The supernatants were taken by a syringe and filtered through a 0.45 µm sterile syringe filter (Syringe Filter, PTFE 25 mm). Total phenolic contents of the samples were determined according to the method given by Anton et al. (2009) with some modifications. 0.8 mL extract of the samples was taken into a 25 mL glass beaker and mixed with 6 mL of Folin-Ciocalteu reagent (Merck, Germany) freshly diluted 10-fold. After 5 minutes, 6 mL of sodium carbonate solution including Na₂CO₃ and distilled water in proportion to 60 g/L was added into the beaker. Glass beakers wrapped by paraffin and aluminum foil were allowed to incubate at room temperature in the dark for 90 minutes. Acetone-water (80:20 v/v) mixture was used as a blank. Absorbances were read at 725 nm by using a UV-Visible spectrophotometer (Shimadzu, UV-1700, Japan) at 21°C. The calibration curve was prepared with gallic acid (3,4,5-trihydroxy benzoic acid, Sigma-Aldrich, Germany) in a linear range of 20-200 mg/L (R² = 0.998). The samples' antioxidant activities were measured, according to Anton et al. (2009), with slight modifications. 0.8 mL of the extract of the samples was put into a 25 mL glass beaker wrapped by paraffin and aluminum foil. 15.2 mL of a stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH (Sigma-Aldrich, Germany) solution (6.34 x 10⁻⁵ M in methanol) was added and let stay for 30 minutes. Absorbances were

measured with a UV-Visible spectrophotometer (Shimadzu, UV-1700, Japan) at 517 nm and 21°C. The control sample was prepared with a 0.8 mL acetone/water (4:1 v/v) mixture and 15.2 mL of DPPH solution. Methanol was used as a blank. The calibration curve prepared with Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Sigma-Aldrich, Germany) was in the range 10 µM to 100 µM (R² = 0.99).

Expansion characteristics

Bulk densities of the extrudates were determined according to Caltinoglu et al. (2014). True density analysis was performed at Middle East Technical University Central Laboratory using a helium pycnometer (Quantachrome Ultrapycnometer 1000, Florida, USA). A digital caliper was used to determine extrudates' diameters. Sectional expansion index (SEI) and porosity values were calculated according to the following equations (Caltinoglu, 2014; Caltinoglu et al. 2014; Pai et al. 2009; Sahin and Sumnu 2006): SEI = (D_e/D_d)² where; D_e is the diameter of the extrudate (mm) and D_d is the diameter of the die (mm). Porosity = 1 - ρ_(extrudate) / ρ_(true), where; ρ_(extrudate) is the bulk density of the extrudate (g/cm³) and ρ_(true) is the true density of the extrudate (g/cm³).

Texture

A texture analyzer (TA.XTPlus, Stable Micro Analyzer, UK) in compression mode was used for the extrudates' hardness measurements as described in Caltinoglu (2014) and Caltinoglu et al. (2014).

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

WAI and WSI were determined according to Caltinoglu et al. (2014) with the following equations: WAI (g/g) = m_{sediment} / m_{dry}, WSI (%) = (m_{dissolved} / m_{dry})*100, where; m_{sediment} is the weight of the sediment after removal of the supernatant (g), m_{dry} is the dry weight of the original solid sample (g) and m_{dissolved} is the dry weight of the dissolved solids in the supernatant (g).

Sensory analysis

Extruded snacks were evaluated according to their preferences for appearance, color, hardness, crispiness, porosity, and overall preference by nine panelists (master students of Department Food Engineering, Middle East Technical University), on a 9 point hedonic scale (1: Dislike extremely to 9: Like extremely). Definitions of the attributes were presented, and the proposed score sheet was explained before the panel. Panelists rinsed their mouths with water between tasting the samples (Caltinoglu, 2014; Caltinoglu et al. 2014).

Statistical analysis

All the results were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) for a significant difference ($P \leq 0.05$). When there was a significant difference, Duncan's Multiple Range Test was applied to determine means which significantly differ from others ($P \leq 0.05$). The number of replicates for the analysis was given separately under each table.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of Extrusion on in vitro

Bioaccessibility

The amount of zeaxanthin and β -cryptoxanthin decreased after the extrusion process for higher and lower temperature treated samples compared with the feed (Table 2a and b). *In vitro* bioaccessibility (%) of zeaxanthin was higher for extruded samples than feed samples (Table 2a). However, *in vitro* bioaccessibility (%) values for the feed and extrudates were not different for β -cryptoxanthin (Table 2b). Thus, even though the extrusion process caused a reduction in the carotenoid contents, the process increased the *in vitro* bioaccessibility of zeaxanthin (Yeğin, 2104). The cell walls of the red pepper can be mechanically disrupted during extrusion, and the cell compounds can be released into the starchy matrix. Deterioration of the cell wall can improve the release of compounds in the digestive tract. However, at the same time, this can expose the labile compounds such as β -cryptoxanthin and zeaxanthin molecules to high temperature and shear during extrusion that result in their loss to some extent. *In vitro* bioaccessibility (%) of

zeaxanthin was higher than β -cryptoxanthin (Table 2a and b). O'Sullivan et al. (2010) found similar results that bioaccessibilities of red bell pepper carotenoids were 87.6%, 54.3%, 33.1%, and 6.2% for zeaxanthin, lutein, β -cryptoxanthin, and β -carotene, respectively.

Effect of Extrusion on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity

Total phenolic content was reduced after the extrusion process (Table 3), and raising the temperature from 130°C to 160°C caused a further reduction. Phenolics are heat-labile compounds; therefore, their structure can be destroyed or altered by heating over 80°C (Zielinski et al. 2001). Extrusion cooking could cause a reduction in the chemical reactivity of phenolic compounds or a decrease in their extractability due to a certain degree of polymerization. Antioxidant activity increased with adding red pepper pulp into corn grit (Table 3). The high temperature of extrusion caused a reduction in the antioxidant activity, although increasing the temperature further caused an increase in extrudates' antioxidant activity. The Maillard browning products produced during extrusion cooking could be the reason for the observed increase in antioxidant activity after increasing temperature. During extrusion, high barrel temperatures and low moisture promote the Maillard reaction. It is known that thermal processing produces antioxidants that contribute to antioxidant activity (Tonyali et al., 2016).

Effect of Red Pepper Pulp Addition on Quality Parameters of Extrudates

A porous, sponge-like structure was obtained within the extrudates due to the air cells generated during the process. No statistically significant difference was observed for sectional expansion index values between the extrudates with and without red pepper pulp (Table 4a). There is a slight statistically significant increase ($p \leq 0.05$) in bulk density and a decrease ($p \leq 0.05$) in porosity with the addition of red pepper pulp (Table 4a). Similar results were obtained by other researchers, and this was attributed to fiber particles (Moraru and Kokini, 2003). It is known that starch is the main component in expansion phenomena, and

other ingredients such as protein, sugars, fats, and fiber act as diluents. Fiber particles tended to rupture the cell walls before the gas bubbles had expanded to their full potential. No statistically significant difference was observed in hardness values with the addition of red pepper pulp (Table 4b) due to the fact that the fiber contribution of the pulps in the studied range was low. Red pepper pulp addition had no statistically significant effect on WAI or WSI (Table 4c), which may be attributed to the fact that the concentration of the fiber was not enough to make changes in the concentration of the starch or dilute starch. WAI can be used as an index of gelatinization, which measures the volume occupied by the granule or starch polymer after swelling, whereas WSI measures the amount of free polysaccharide or polysaccharide released

from the granule on the addition of excess water. Statistically significant changes in the color of the extrudates ($P \leq 0.05$) were observed with the addition of red pepper pulp (data not shown): An increase in redness due to capsanthin and capsorubin and an increase in yellowness due to β -carotene, violaxanthin, cryptoxanthin, zeaxanthin, antheraxanthin, and β -cryptoxanthin in the red pepper pulp (Minguez-Mosquera et al. 1993). On the other hand, when the preferences of the panelists were considered, no significant difference was observed (Table 5) for appearance, color, taste, hardness, crispiness, porosity, and general preferences for the extrudates with and without red pepper pulp. Thus, red pepper pulp can be successfully added as a functional ingredient to the extruded products without affecting the acceptability of the products.

Table 2a. Zeaxanthin content of feed and extrudates before and after *in vitro* digestion.

Sample	Zeaxanthin ($\mu\text{g/g}$ dry sample)			
	Before digestion	Non-dialysable fraction in the small intestine	Dialysate fraction in the small intestine	Bioaccessibility (%) after <i>in vitro</i> digestion
Feed	2.97 ± 0.05^a	1.95 ± 0.24^a	ND	65.69 ± 7.78
Extrudate 130°C	1.49 ± 0.14^b	1.21 ± 0.04^b	ND	81.73 ± 5.36
Extrudate 160°C	1.78 ± 0.21^c	1.48 ± 0.02^c	ND	84.07 ± 10.90

Results are means \pm SD. Two parallels and two replicates were conducted. Different letters indicate significant differences at the 0.05 level ($p < 0.05$). ND, non-detectable.

Table 2b. β -cryptoxanthin content of feed and extrudates before and after *in vitro* digestion

Sample	β -cryptoxanthin ($\mu\text{g/g}$ dry sample)			
	Before digestion	Non-dialysable fraction in the small intestine	Dialysate fraction in the small intestine	Bioaccessibility (%) after <i>in vitro</i> digestion
Feed	0.97 ± 0.04^a	0.44 ± 0.03^a	ND	45.75 ± 3.24
Extrudate 130°C	0.80 ± 0.01^b	0.35 ± 0.01^b	ND	43.52 ± 1.75
Extrudate 160°C	0.69 ± 0.08^c	0.38 ± 0.02^b	ND	56.17 ± 7.71

Results are means \pm SD. Two parallels and two replicates were conducted. Different letters indicate significant differences at the 0.05 level ($p < 0.05$). ND, non-detectable.

Table 3. Total phenolic content and antioxidant activity results of corn grit, feed and extrudate samples.

Sample	Total phenolic content (mg GAE/g dry sample)	Antioxidant activity ($\mu\text{mol TE/g}$ dry sample)
Corn Grits	1.59 ± 0.03^a	0.52 ± 0.003^a
Feed	1.51 ± 0.08^b	0.83 ± 0.002^b
Extrudate 130°C	0.88 ± 0.00^c	0.59 ± 0.002^d
Extrudate 160°C	0.79 ± 0.01^d	0.64 ± 0.009^c

Results are means \pm SD ($n = 3$); values of the same column followed by the different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

Table 4. Physical properties of the extrudates, with and without red pepper pulp (%25 feed moisture), extruded at 145°C last zone temperature and 175 rpm with a feeding rate of 36 g/min.

a. SEI, Bulk density and Porosity

	Corn Grit	Red Pepper Pulp Added
SEI	5.84 ± 0.74 ^a	5.80 ± 0.72 ^a
Bulk Density	0.230 ± 0.001 ^a	0.296 ± 0.007 ^b
Porosity	0.85 ± 0.01 ^a	0.80 ± 0.01 ^b

Bulk Density results are means ± SD (n= 5); SEI results are means ± SD (n= 30); Porosity results are means ± SD (n= 5); values of the same row, followed by the same letter (a) are not statistically different ($P \leq 0.05$).

b. Hardness values of the extrudates with and without red pepper pulp (%25 feed moisture), extruded at 145°C last zone temperature and 175 rpm with a feeding rate of 36 g/min.

	Hardness (N)
Corn Grit	9.83 ± 1.19 ^a
Red Pepper Pulp Added	10.77 ± 1.35 ^a

Results are means ± SD (n= 25); values of the same colon, followed by the same letter (a) are not statistically different ($P \leq 0.05$).

c. WAI and WSI values.

	Corn Grit	Red Pepper Pulp
WAI (g.g ⁻¹)	4.79 ± 0.13 ^a	4.76 ± 0.33 ^a
WSI (%)	9.58 ± 0.94 ^a	10.88 ± 2.39 ^a

WAI and WSI results are means ± SD (n= 6); values of the same row, followed by the same letter (a) are not statistically different ($P \leq 0.05$).

Table 5. Sensory evaluation scores of extrudates with and without red pepper pulp (%25 feed moisture), extruded at 145°C last zone temperature and 175 rpm with a feeding rate of 36 g/min.

	Corn Grit	Red Pepper Pulp Added
Appearance	7.22 ± 1.09 ^a	7.00 ± 1.32 ^a
Color	7.22 ± 1.10 ^a	7.67 ± 1.50 ^a
Taste	6.67 ± 1.80 ^a	6.67 ± 1.58 ^a
Hardness	6.78 ± 2.28 ^a	7.00 ± 1.58 ^a
Crispiness	7.33 ± 1.58 ^a	7.00 ± 0.87 ^a
Porosity	7.11 ± 1.05 ^a	7.00 ± 0.50 ^a
General Preferences	6.78 ± 1.72 ^a	7.00 ± 1.00 ^a

Results are means ± SD (n= 9); values of the same row, followed by the same letter (a) are not statistically different ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONS

In vitro bioaccessibility of zeaxanthin was increased by the extrusion process, while the process did not significantly affect *in vitro* bioaccessibility of β -cryptoxanthin. Total phenolic content, antioxidant activities, β -cryptoxanthin, and zeaxanthin content decreased by the extrusion process. Physical quality parameters such as hardness, expansion, water absorption, and water solubility index values were not affected by red pepper pulp addition. Porosity decreased, and hence the bulk density increased

slightly. Due to the red pepper's carotenoid content, the color of the extrudates changed after the pulp addition. Sensory analysis showed that panelists' preference scores were as high as the control for the red pepper pulp added samples. The information gained in this research put the significance of structural damage of the food matrix during processing on the *in vitro* bioaccessibility. In addition, it was shown that red pepper pulp could be added successfully as a functional ingredient to the corn grit extrudates to

develop new products without any change in consumer preferences.

ACKNOWLEDGMENTS

This research is a part of the project (TUBITAK-110O792) funded by The Scientific and Technological Council of Turkey. The authors would also like to thank Dr. Zinet Aytanga Okmen for her laboratory support during HPLC analyses.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTION

Ozge Yoldas: Methodology, Writing-original draft; Cagla Caltinoglu-Toraman: Methodology, Writing-original draft; Ilkay Sensoy: Conceptualization, Funding acquisition, Supervision, Writing-original draft, Writing-review & editing; Sibel Karakaya: Methodology- In vitro model

REFERENCES

- Abdel-Aal, E.-S., Akhtar, H., Zaheer, K. and Ali, R. (2013). Dietary sources of lutein and zeaxanthin carotenoids and their role in eye health. *Nutrients* 5, 1169-1185.
- Anton, A. A., Fulcher, R. G. and Arntfield, S. D. (2009). Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chem*, 113, 989-996.
- Çaltinoğlu, Ç. (2014). Effect of tomato, red pepper and carrot pulp addition on the quality of extrudates. Master of Science Thesis, Middle East Technical University, Ankara, TURKEY.
- Caltinoglu, C., Tonyalı, B. and Sensoy, I. (2014). Effects of tomato pulp addition on the extrudate quality parameters and effects of extrusion on the functional parameters of the extrudates. *Int J Food Sci Techn*, 49(2), 587-594.
- Carrilo C., Buve, C., Panozzo A., Grauwet, T. and Hendrickx, M. (2017). Role of structural barriers in the in vitro bioaccessibility of anthocyanins in comparison with carotenoids. *Food Chem*, 227, 271-279.
- Cemeroglu, B. (2010). *Gıda Analizleri*. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.
- Dehghan-Shoar, Z., Mandimika, T., Hardacre, A. K., Reynolds, G. W. and Brennan, C. S. (2011). Lycopene bioaccessibility and starch digestibility for extruded snacks enriched with tomato derivatives. *J Agr Food Chem*, 59, 12047-12053.
- Güven, O., Sensoy, I., Senyuva, H., Karakaya, S. (2018). Food processing and digestion: The effect of extrusion process on bioactive compounds in extrudates with artichoke leaf powder and resulting in vitro cynarin and cynaroside bioaccessibility. *LWT - Food Sci Techn*, 90, 232-237. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.042>
- Karakaya, S., Simsek, S., Eker, A.T., Pineda-Vadillo, C., Dupont, D., Perez, B., Viadel, B., Sanz-Buenhombre, M., Rodriguez, A.G., Kertesz, Z., Hegyi, A., Bordoni, A., El, S.N. (2016). Stability and bioaccessibility of anthocyanins in bakery products enriched with anthocyanins. *Food and Function*, 7(8), 3488-3496
- Kopf-Bolanz, K. A, Schwander, F., Gijs, M., Vergeres, G., Portmann, R. and Egger, L. (2012). Validation of an *in vitro* digestive system for studying macronutrient decomposition in humans. *J Nutr*, 142, 245-250.
- Krinsky, N. I., Landrum, J. T. and Bone, R. A. (2003). Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Ann Review Nutr*, 23, 171-201.
- Moraru, C. I., and Kokini, J. L., 2003. Nucleation and Expansion During Extrusion and Microwave Heating of Cereal Foods. *Compr Rev Food Sci Food Safety*, 2(4), 147-165.
- Martos, G., Conteras, P., Molina, E. and Lopez-Fandino R. (2010). Egg white ovalbumin digestion mimicking physiological conditions. *J Agr Food Chem*, 58, 5640-5648.
- Minguez-Mosquera, M. I. and Hornero-Mendez, D. (1993). Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *J Agr Food Chem*, 41, 1616-1620.

- Mozaffarieh, M., Sacu, S. and Wedrich, A. (2003). The role of carotenoids, lutein and zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: A review based on controversial evidence. *Nutr J*, 11, 20-28.
- O'Connell, O. F., Ryan, L. and O'Brien, N. M. (2007). Xanthophyll carotenoids are more bioaccessible from fruits than dark green vegetables. *Nutr J*, 27, 258-264.
- O'Sullivan, L., Jiwan, M. A., Daly, T., O'Brien, N. M. and Aherne, S. A. (2010). Bioaccessibility, uptake, and transport of carotenoids from peppers (*Capsicum* spp.) using the coupled *in vitro* digestion and human intestinal Caco-2 cell model. *J Agr Food Chem*, 58, 5374-5379.
- Pai, D. A., Blake, O. A., Hamaker, B. R. and Campanella, O. H. (2009). Importance of Extensional Rheological Properties on Fiber-Enriched Corn Extrudates. *J Cereal Sci*, 50(2), 227-234.
- Pineda-Vadillo, C. , Nau, F. , Guerin-Dubiard, C. , Jardin, J., Lechevalier, V., Sanz-Buenhombre, M., Guadarrama, A., Toth, T., Csavajda, E., Hingyi, H., Karakaya, S., Sibakov, J., Capozzi, F., Bordoni, A., Dupont, D. (2017). The food matrix affects the anthocyanin profile of fortified egg and dairy matrices during processing and *in vitro* digestion. *Food Chem*, 214, 486-496.
- Sahin, S. and Sumnu, S. G. (2006). *Physical Properties of Foods*, Springer: New York.
- Tonyali, B., Sensoy, I., Karakaya, S. (2020). Effects of processing on onion skin powder added extrudates. *J Food Sci Techn*, 57, 3426–3435.
- Tonyali, B., Sensoy, I., Karakaya, S. (2016). The effect of extrusion on the functional components and *in vitro* lycopene bioaccessibility of tomato pulp added corn extrudates. *Food Funct*, 7, 855-860.
- Van Buggenhout, S., Alminger, M., Lemmens, L., Colle, I., Knockaert, G. and Moelants, K. (2010). *In vitro* approaches to estimate the effect of food processing on carotenoid bioavailability need thorough understanding of process induced microstructural changes. *Trends Food Sci Tech* 21(12), 607-618.
- Yeğin, Ö. (2014). Effect of extrusion on functional components and *in vitro* bioaccessibility of β -cryptoxanthin and zeaxanthin. Master of Science Thesis, Middle East Technical University, Ankara, TURKEY.
- Zielinski, H., Kozłowska, H. and Lewczuk, B. (2001). Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovative Food Sci and Emerg Techn*, 2, 159-169.



A MULTICLASS METHOD FOR THE ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN MILK POWDER AND WHEY POWDER BY UPLC-MS/MS

Arzu Yavuz*, İsmail Azar, Ali Özcan, Niyazi Ülkü

Veterinary Drug Residue Department, Central Research Institute of Food and Feed Control, Bursa, Turkey

Received / Geliş: 14.09.2021; Accepted / Kabul: 21.12.2021; Published online / Online baskı: 20.01.2022

Yavuz, A., Azar, İ., Özcan, A., Ülkü, N. (2022). A multiclass method for the analysis of antibiotic residues in milk powder and whey powder by UPLC-MS/MS. *GIDA* (2022) 47 (1) 25-33 doi: 10.15237/gida.GD21124.

Yavuz, A., Azar, İ., Özcan, A., Ülkü, N. (2022). Süt tozu ve peyniraltı suyu tozunda antibiyotik kalıntılarının UPLC-MS/MS ile analizinde çoklu grup yöntemi. *GIDA* (2022) 47 (1) 25-33 doi: 10.15237/gida.GD21124.

ABSTRACT

An ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) multi-class method was developed and validated for the determination of 27 antibiotic residues from five classes (macrolides, sulfonamids, quinolones, lincosamids, diaminopyrimidines) in milk powder and whey powder which are commonly used as raw material of many products in the food industry. A simple, inexpensive and fast sample preparation based on the extraction of samples with methanol is the main advantage of the validated method. The validation of the method was performed following the requirements outlined in the European Commission Decision 2002/657/EC, which is required procedure for the methods used in analysis of official audits samples in Europe and Turkey. Matrix effect and uncertainties related with sample preparation and instrumental analysis were minimised by using matrix-matched calibration. The method is capable of detecting residues at very low concentrations.

Keywords: antibiotics, residues, UPLC-MS/MS, validation, milk powder, whey powder, 2002/657/EC

SÜT TOZU VE PEYNİRALTI SUYU TOZUNDA ANTİBİYOTİK KALINTILARININ UPLC-MS/MS İLE ANALİZİNDE ÇOKLU GRUP YÖNTEMİ

ÖZ

Gıda endüstrisinde birçok ürünün hammaddesi olarak yaygın bir şekilde kullanılan süt tozu ve peyniraltı suyu tozunda beş gruptan (makrolidler, sülfanamidler, kinolonlar, linkozamidler, diaminopirimidinler) 27 antibiyotik kalıntısının belirlenmesi için bir ultra-performans sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (UPLC-MS/MS) çok sınıflı bir yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Valide edilmiş bu yöntemin ana avantajı, metanol ile numunelerin ekstraksiyonuna dayanan basit, ucuz ve hızlı numune hazırlamadır. Yöntemin validasyonu, Avrupa ve Türkiye'deki resmi denetim numunelerinin analizinde kullanılan yöntemler için gerekli prosedür olan 2002/657/EC sayılı Avrupa Komisyonu Kararında belirtilen gereklilikler izlenerek gerçekleştirilmiştir. Matriks uyumlu kalibrasyon kullanılarak, numune hazırlama ve enstrümantal

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: arzu.yavuzyilmaz@tarimorman.gov.tr

☎: (+90) 224 246 4720

☎: (+90) 224 246 1941

Arzu Yavuz; ORCID no: 0000-0002-2526-4761

İsmail Azar; ORCID no: 0000-0003-4424-208X

Ali Özcan; ORCID no: 0000-0002-1338-7852

Niyazi Ülkü; ORCID no: 0000-0003-3139-8827

analiz ile ilgili matris etkisi ve belirsizlikler minimize edilmiştir. Yöntem, kalıntıları çok düşük konsantrasyonlarda tespit etme yeteneğine sahiptir.

Anahtar kelimeler: antibiyotikler, kalıntılar, UPLC-MS/MS, validasyon, süt tozu, peyniraltı suyu tozu, 2002/657/EC

INTRODUCTION

In animal husbandry, the use of antibiotics as to enhance efficiency and to promote animal growth was banned in EU countries and in Turkey since 2006, because of a risk to human health (European Commission, 2005; Ministry of Agriculture and Rural Affairs, 2006). This situation has created undesirable effects such as increased animal infections and decreased animal production, and the total amount of antibiotic use in animals increased due to the significant increase in therapeutic antibiotic and disinfectant use (Cheng et al., 2014). These antibiotics can cause residues in animal origin foods consumed by humans. Consumption of foods containing these residues poses many risks to public health, particularly development of antibiotic resistance, hypersensitivity reaction, carcinogenicity, mutagenicity, teratogenicity, and disruption of intestinal normal flora (Beyene, 2016). These risks emerge the importance of monitoring animal origin foods in terms of antibiotic residues. Although sensitive and reliable analytical methods for the determination of veterinary drugs in food of animal origin are strongly required to ensure food safety, multiclass methods for veterinary drugs are still limited (Dasenaki and Thomaidis, 2015).

In the European Union, the Maximum residue limits (MRL) of antibiotics in foods are determined by the Commission Regulation 37/2010 / EC (European Commission, 2010). The requirements for performance and validation of analytical methods employed in the official residues control are determined by European Decision 2002/657/EC (European Commission, 2002). Turkey legislation is also compatible with these regulations of the European Union.

In the national residue control plans, mostly the primary products are monitored in Europe and in Turkey. However, processed foods derived from products containing antibiotic residues are outside the control plans, thus posing a risk to

food safety. Methods that enable the monitoring of antibiotic residues in processed foods are important tools to ensure food safety by allowing these foods to be included in the National Control Plans.

Whey and milk powder, which have high nutritional value, are used in the production of many foods from floury foods to meat products, from dairy foods to chocolate and confectionery in order to improve the textural properties of foods (Coronado et al., 2002; Secchi et al., 2011; Liang and Hartel, 2004; Barbut, 2006; Serdaroğlu, 2006; González-Martinez et al., 2002). In addition, in recent years, the determination of their positive effects on health has led to the widespread use of whey powder and milk powder in the field of food supplements and functional food production (Hoppe et al., 2008; Ramos et al., 2015; Helkar et al., 2016). So, in order to protect public health, it is necessary that monitoring antibiotic residue in milk powder and whey powder.

Today LC-MS/MS, which has high selectivity and sensitivity, is the most common technique used in the detection and quantification of veterinary drug residues (Blasco et al., 2007; Moretti et al., 2017; Dasenaki and Thomaidis, 2015). The current trend in drug residue analysis is the development of multiple methods that can monitor a wide variety of compounds belonging to different classes. Although published methods for detecting antibiotic residue in milk are relatively abundant, there are a limited number of published studies to detect antibiotic residues in milk powder by LC-MS/MS. Yu and Hu (2012) developed a method of C18-stir bar sorptive extraction (SBSE)-high performance liquid chromatography (HPLC)-tandem mass spectrometry (MS/MS) for the determination of six sulfonamids in milk and milk powder samples. Rezende et al. (2012) developed a method involving ethyl acetate extraction and C-18 dispersive solid phase clean up for the determination of chloramphenicol and florfenicol

in liquid milk, milk powder and bovine muscle by LC–MS/MS and validated it according to the 2002/657/EC decision in liquid milk matrix. A comprehensive study was performed by Dasenaki and Thomaidis (2015) and a method was developed which can determine a wide range of veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using LC–MS/MS with a quite long extraction procedure that includes steps such as ultrasonic bath, defatting with hexane, placing for 12 hours at -23 °C. A method involving acetonitrile extraction and lipid-removing SPE column Oasis PRiME HLB for the determination of 61 veterinary drugs in milk and milk powder by UPLC–MS/MS was developed by Tian et al. (2016) and in validation, parameters such as linearity and precision were evaluated according to 2002/657/EC criteria.

In this study, a simple, fast and inexpensive multiresidue method was validated for the detection of antibiotic residues in whey powder and milk powder which are used as raw material in a wide range of food products. Within the scope of the validated method, 6 parameters from macrolide group, 11 parameters from sulfonamid group, 9 parameters from quinolone group, 1 parameter from lincosamid group, 1 parameter from diaminopyrimidine, totally 27 veterinary drugs were analyzed in whey powder and milk powder. The method is based on the extraction of samples with methanol and the determination and calculation of the residues in the extract by LC–MS/MS. Two product ions obtained from the fragmentation of the molecular ion determined for each analyte were used at the identification of analytes by LC–MS/MS. The highest intensities ions were used for quantification, and the other ions were used for confirmation. The ratios and retention times of the selected ions were also taken into account in the identification of the analytes. Matrix-matched calibration standards were used by the analysis of spiked blank matrix samples to compensate matrix effect. This is the most widely used approach to compensate for signal suppression experienced during MS/MS analysis (Shendy et al., 2016). Since milk powder and whey powder do not have the maximum

residue limits defined in the regulations, the focus was on determining the lowest levels of each analyte that could be detected. And within the scope of the method, the ability to detect analytes at very low values has been obtained. A validation limit (VL) has been defined considering the lowest detectable concentration value for the analytes. And recovery, repeatability and reproducibility studies were performed at three levels, 1, 1.5 and 2 times the VL. Statistical evaluation of all parameters studied was carried out in accordance with the requirements of the Commission Decision 2002/657/EC of the European Union and the results were found within the appropriate value ranges.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals and reagents

Erythromycin, Sarafloxacin Hydrochloride, Spiramycin, Tilmicosin, Tylosin, Sulfachloropyridazine, Sulfadiazine, Sulfadimethoxine, Sulfadoxine, Sulfamerazine, Sulfamethazine, Sulfamethoxazole, Sulfapyridine, Sulfathiazole, Sulfaquinoxaline, Trimethoprim, Ciprofloxacin Hydrochloride, Danofloxacin Mesylate, Difloxacin Hydrochloride, Enrofloxacin, Erythromycin, Flumequine, Marbofloxacin, Nalidixic Acid, Oxolinic Acid were obtained from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany). Neospiramycin, Tylvalosin were obtained from TRC (Toronto, Canada). LC–MS grade methanol, formic acid supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Ammonium formate (AF) (≥99%) was from Fluka (Buchs, Switzerland, Ultrapure water was produced by using Water Purification System; Elga, Purelab Option Q7.

Equipment

An UPLC–ESI–MS/MS instrument, consisted of a Waters Acquity Ultra-Performance LC with a Waters column manager and heater/cooler, binary system manager, sample manager coupled to a Waters XEVO TQD triple quadrupole mass spectrometer equipped with an electrospray ionization (ESI) source (Waters Corp., Milford, MA, USA) was used for mass spectrometric detection. Chromatographic

separation was effected with BEH C18 1.7 μ m 2.1x50 mm Column.

Sample preparation

5 \pm 0.1 g of sample was weighed in a 50 mL centrifuge tube. 15mL methanol was added and vortexed for 15 min. Then the tube centrifuged for 5 min at 10000 rpm. 7 mL of the supernatant was transferred to a clean glass centrifuge tube and dried at 50 °C in Nitrogen Turbo Evaporator (Biotage, TurboVap®LV). The residue was reconstituted with 1 mL of 50:50 Mobile phase A: Mobile phase B followed by vortex-mixing for 2 min and centrifuged for 5 min at 10000 rpm. The supernatant was filtered through a 0.22 μ m syringe filter into an HPLC vial. Five microliters of the sample was injected into the LC-MS/MS.

Instrument conditions

Water containing 0.1% formic acid and 0.1 mM ammonium formate (A) and methanol containing

0.1% formic acid and 0.1 mM Ammonium formate (B) was utilised as the mobile phase. The gradient conditions were employed as follows: 0–2 min, 1–1% B; 2.0–8.0 min, 1–95% B; 8.0–9.0 min, 95–95% B; 9.01–12.0 min, 1–1% B. The flow rate was set at 0.2 mL/min and column oven temperature was 60°C.

The analyses were performed in electrospray ionization (ESI) positive ion mode using a multiple reaction monitoring (MRM) for quantitative for data acquisition. The mass parameters were as follows: desolvation gas flow, 1000 L h⁻¹; desolvation temperature, 500°C; cone gas flow; cone voltage, 50 V; capillary voltage, 3.5 kV; source temperature, 150°C; extractor voltage, 3 V.

The optimized MRM parameters can be found in Table 1.

Table 1. Optimized parameters of the LC-MSMS system for the 27 selected antibiotics

Group	Name	Dwell time(s)	Molecular Ion	Cone (V)	Product ion 1	Collision (V)	Product ion 2	Collision (V)	Retention time (min)
Quinolones	Ciprofloxacin	0.005	332.1	42	288.1	18	314.1	22	4.55
	Danofoxacin	0.005	358.2	38	96.0	25	314.1	20	4.57
	Difloxacin	0.005	400.3	30	356.2	20	382.2	20	4.76
	Enrofloxacin	0.005	360.3	25	316.3	20	342.3	20	4.60
	Flumequine	0.005	262.1	35	202.0	15	244.0	25	6.24
	Marbofloxacin	0.005	363.1	35	72.0	20	320.0	15	4.30
	Nalidixic Acid	0.005	233.1	30	187.0	25	215.0	15	6.11
	Oxolinic Acid	0.005	262.0	32	216.0	30	244.0	19	5.52
Sulfonamides	Sarafloxacin	0.005	386.2	45	299.1	27	342.1	18	4.81
	Sulfachloropyridazine	0.005	285.1	32	92.0	28	156.0	15	4.75
	Sulfadiazine	0.005	251.0	30	92.0	27	156.0	15	3.78
	Sulfadimethoxine	0.005	311.1	36	92.0	32	156.0	20	5.47
	Sulfadoxine	0.005	311.0	35	92.0	32	156.0	15	5.04
	Sulfamerazine	0.005	265.1	35	92.0	25	156.0	15	4.29
	Sulfamethazine	0.005	279.1	35	124.1	25	186.0	15	4.67
	Sulfamethoxazole	0.005	254.1	30	92.0	25	156.0	15	4.77
	Sulfapyridine	0.005	250.0	33	108.0	25	156.0	16	4.05
	Sulfaquinoxaline	0.005	301.1	32	92.2	30	156.1	16	5.58
Diaminopyrimidines	Sulfathiazole	0.005	256.0	31	92.0	25	156.0	15	3.85
	Trimethoprim	0.005	291.3	40	123.0	30	230.2	30	4.41
Macrolides	Spiramycin	0.005	422.3	30	100.9	22	174.0	22	5.37
	Tilmicosin	0.005	869.6	94	132.0	52	174.0	50	5.86
	Tylosin	0.005	916.5	74	100.9	50	174.1	42	6.45
	Tylvalosin	0.005	1042.6	80	108.9	80	174.0	80	7.11
	Erytromycin	0.005	734.5	30	158.1	30	576.5	20	6.46
	Neospiramycin	0.005	699.5	58	142.1	26	174.1	28	5.18
Lincosamides	Lincomycin	0.005	407.2	40	126.1	25	359.3	20	4.45

Validation

Validation of the method for detection and quantitative analysis of analytes was carried out according to the requirements outlined in Commission Decision 2002/657/EC applicable to all analytes (veterinary medicines, pesticides, minerals, etc.) of animal products (EC 2002). In this validation study, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ), Linearity, Trueness/Recovery, Precision (Repeatability, Reproducibility), specificity/selectivity and ruggedness parameters were performed. The matrix-matched extraction procedure was used.

Linearity

The linearity of calibration curves was evaluated by using a five-level matrix matched calibration curve for all analytes. Blank samples were spiked with working standards to obtain the five concentration levels listed in Table 2 for each analyte. Peak areas were used as the analytical response versus concentrations for all target compounds. As the results given in Table 3, acceptable linear regression values ($r^2 > 0.99$) were obtained for all target analytes over the concentration range for the matrix matched calibration curves of milk powder and whey powder.

Table 2. Linear range and concentration levels of each analyte

Analyte	Linear range µg/kg	Level 1 µg/kg	Level 2 µg/kg	Level 3 µg/kg	Level 4 µg/kg	Level 5 µg/kg
Ciprofloxacin	5-30	5	8	12	16	30
Danofloxacin	5-30	5	8	12	16	30
Difloxacin	5-30	5	8	12	16	30
Enrofloxacin	5-30	5	8	12	16	30
Erythromycin	0.5-3	0.5	0.8	1.2	1.6	3
Flumequine	5-30	5	8	12	16	30
Lincomycin	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Marbofloxacin	5-30	5	8	12	16	30
Nalidixic Acid	5-30	5	8	12	16	30
Neospiramycin	1.5-9	1.5	2.4	3.6	4.8	9
Oxolinic Acid	5-30	5	8	12	16	30
Sarafloxacin	5-30	5	8	12	16	30
Sulfachloropyridazine	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfadiazine	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfadimethoxine	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfadoxine	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfamerazine	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfamethazine	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfamethoxazole	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfapyridine	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfaquinoxaline	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Sulfathiazole	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Spiramycin	0.5-3	0.5	0.8	1.2	1.6	3
Tilmicosin	0.5-3	0.5	0.8	1.2	1.6	3
Trimethoprim	2.5-15	2.5	4	6	8	15
Tylosin	0.5-3	0.5	0.8	1.2	1.6	3
Tylvalosin	0.5-3	0.5	0.8	1.2	1.6	3

Table 3. Linearity and recovery results of analytes for milk powder and whey powder

Analyte	Milk powder				Whey powder			
	Linearity	Recovery(%)			Linearity	Recovery(%)		
		Level 2	Level 3	Level 4		Level 2	Level 3	Level 4
Ciprofloxacin	0.995	92.4	99.9	91.9	0.998	98.1	102.9	100.9
Danofloxacin	0.994	95.9	94.0	98.3	0.991	100.0	101.0	97.8
Difloxacin	0.995	97.5	102.3	98.9	0.993	98.9	105.3	102.2
Enrofloxacin	0.999	98.1	101.9	101.6	0.998	97.1	104.3	99.5
Erytromycin	0.992	98.0	100.9	103.7	0.992	101.7	97.8	95.5
Flumequine	0.996	99.7	108.9	102.5	0.997	99.7	108.9	102.5
Lincomycin	0.995	93.7	99.5	98.0	0.997	93.4	104.7	100.4
Marbofloxacin	0.997	96.5	98.3	100.0	0.995	98.0	99.8	102.3
Nalidixic Acid	0.993	97.9	105.1	102.3	0.993	98.7	106.3	102.2
Neospiramycin	0.991	93.0	99.5	100.1	0.990	97.4	100.8	97.7
Oxolinic Acid	0.997	96.0	103.8	102.1	0.995	101.2	106.4	102.7
Sarafloxacin	0.993	98.0	101.7	99.4	0.990	98.3	104.0	101.7
Sulfachloropyridazine	0.992	99.8	103.6	98.5	0.991	100.2	102.6	99.0
Sulfadiazine	0.992	102.4	101.6	101.4	0.990	95.5	100.9	99.5
Sulfadimethoxine	0.993	102.8	100.8	99.6	0.992	100.6	100.7	101.8
Sulfadoxine	0.995	100.4	98.9	93.5	0.997	100.5	102.3	101.0
Sulfamerazine	0.995	103.8	98.3	104.5	0.992	100.3	100.7	100.8
Sulfamethazine	0.996	106.4	97.4	103.9	0.997	100.9	99.4	99.7
Sulfamethoxazole	0.999	103.0	102.0	102.8	0.995	98.0	101.3	100.9
Sulfapyridine	0.993	103.5	106.1	98.9	0.997	102.0	106.3	101.4
Sulfaquinoxaline	0.996	100.4	96.9	91.5	0.997	100.7	101.8	100.7
Sulfathiazole	0.997	102.0	101.0	97.8	0.997	90.9	103.1	98.5
Spiramycin	0.991	85.4	99.6	101.6	0.990	97.1	96.0	99.2
Tilmicosin	0.990	95.6	105.0	89.4	0.991	99.0	100.8	91.6
Trimethoprim	0.993	100.0	100.7	96.0	0.992	96.0	100.9	103.2
Tylosin	0.990	93.9	99.2	99.3	0.991	100.8	106.9	99.6
Tylvalosin	0.994	101.5	104.0	100.1	0.994	96.2	102.4	103.0

Trueness

The trueness of the method was evaluated using recovery analyses of each analyte in milk powder and whey powder at 1, 1.5, 2 times the VL, (the second-third and fourth concentration levels in Table 2) 6 replicates. Matrix matched calibration curves were used for the evaluation of the recoveries obtained from analyses. Recoveries were calculated as a ratio between the determined concentration and the real concentration. Appropriate recoveries were obtained with the range of 85.4-108.9 % for milk powder and 90.9-108.9 % for whey powder as it seen in Table 3.

Precision (repeatability and within-laboratory reproducibility)

The precision of this method was showed in term of repeatability (intra-day precision) and within-laboratory reproducibility (inter-day precision), which were expressed as the relative standard deviation (RSD) values of set of 6 replicate spiked samples analysis at three different levels in 3 days. Six blank milk powders were spiked with working standard mix for each level, at 1, 1.5, 2 times the VL and analysed. This process repeated three days. In addition, as suggested by Kaufmann, (2009) one set of data was analysed for the other

matrix (whey powder) covered by the analytical method. A sample set was prepared in 6 parallel with blank whey powders, spiked with analyte mix at the same three levels (1, 1.5, 2 times the VL) and analysed. The obtained RSD values of the within-laboratory reproducibility were found below 10 % for the three fortified levels and all measurements did not exceed the acceptable values calculated from the Horwitz equation. These results indicate the sufficient precision of the developed method.

LOD, LOQ

For calculation of LOD and LOQ, the standard deviation (SD) of 20 independent measurements of blank samples fortified at the lowest level of calibration were used. Three times of obtained SD was calculated as LOD and ten times of obtained SD was calculated as LOQ. Very low levels of LOD and LOQ values were calculated especially for analytes in the macrolide group. The obtained values can be found in Table 4.

Table 4. LOD, LOQ, $CC\alpha$ and $CC\beta$ values

Analyte	LOD $\mu\text{g}/\text{kg}$	LOQ $\mu\text{g}/\text{kg}$
Ciprofloxacin	1.24	4.13
Danofloxacin	1.91	6.37
Difloxacin	1.02	3.40
Enrofloxacin	0.76	2.54
Erytromycin	0.22	0.73
Flumequine	1.02	3.40
Lincomycin	0.53	1.75
Marbofloxacin	1.94	6.46
Nalidixic Acid	1.68	5.59
Neospiramycin	0.62	2.08
Oxolinic Acid	0.80	2.67
Sarafloxacin	1.75	5.84
Sulfachloropyridazine	0.48	1.60
Sulfadiazine	0.53	1.78
Sulfadimethoxine	0.49	1.63
Sulfadoxine	0.38	1.26
Sulfamerazine	0.63	2.10
Sulfamethazine	0.46	1.52
Sulfamethoxazole	0.52	1.74
Sulfapyridine	0.88	2.92
Sulfaquinoxaline	0.42	1.40
Sulfathiazole	0.84	2.8
Spiramycin	0.19	0.63
Tilmicosin	0.23	0.78
Trimethoprim	0.52	1.72
Tylosin	0.23	0.78
Tylvalosin	0.20	0.67

Specificity / selectivity

The selectivity of the method was evaluated by the analysis of 20 blank milk powder samples. The absence of any peaks at the retention times of the target analytes indicated that there was no matrix interference that could lead to false positive signals.

Ruggedness

The method was evaluated in terms of ruggedness against changes in Centrifuge Speed in Centrifuge Time, Solvent Brand, Evaporation Temperature, Extraction Vortex Time, Vortex Time After Evaporation, Filter Brand parameters. Approach of Youden was used in the evaluation as indicated in 2002/657/EC (EC 2002). It was determined that there was no significant change at the results.

CONCLUSION

Low-cost, low-solvent consumption and speed are prioritised factors in the multiresidue methods development and the developed method has met all of these priorities. The validation results are in accordance with the European Commission Decision 2002/657/EC. Acceptable validation parameters such as linearity, recovery, precision and LOQs were obtained. It is clear that the present method is capable of detecting low amounts of residues when considering calculated LODs in the range of 0.19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ -6.37 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The validation results showed that this method is suitable for the determination of antibiotic residues in milk powder and whey powder.

The present method is accredited under ISO 17025 by the Turkish Accreditation Agency (TURKAK) and will allow the control of antibiotic residues in milk powder and whey powder to be included in National Residue Control Plans.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTION

İ.A. A.Ö and A.Y. designed the research. N.Ü, A.Ö. and İ.A. performed the validation. A.Y., İ.A and N.Ü. analyzed the data. A.Y. prepared the

manuscript. İ.A. edited the manuscript. All authors approved the submitted version.

REFERENCES

- Beyene, T. (2016). Veterinary drug residues in food-animal products: its risk factors and potential effects on public health. *J Vet Sci Technol*, 7(1), 1-7.
- Barbut, S. (2006). Effects of caseinate, whey and milk powders on the texture and microstructure of emulsified chicken meat batters. *LWT-Food Sci Technol*, 39(6), 660-664.
- Blasco, C., Picó, Y., Torres, C. M. (2007). Progress in analysis of residual antibacterials in food. *TrAC Trends in Anal Chem*, 26(9), 895-913.
- Cheng, G., Hao, H., Xie, S., Wang, X., Dai, M., Huang, L., Yuan, Z. (2014). Antibiotic alternatives: The substitution of antibiotics in animal husbandry? *Frontiers in microbiol*, 5, 217.
- Coronado, S. A., Trout, G. R., Dunshea, F. R., Shah, N. P. (2002). Antioxidant effects of rosemary extract and whey powder on the oxidative stability of wiener sausages during 10 months frozen storage. *Meat Sci*, 62(2), 217-224.
- Dasenaki, M. E., Thomaidis, N. S. (2015). Multi-residue determination of 115 veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chimica Acta*, 880, 103-121
- European Commission. (2002). Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 2 implementing council directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Off J Eur Community*, L 221:8-36
- European Commission. (2005). Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP_05_1687 (Accessed: 25 May 2020)
- European Commission. (2010). 37/2010/EC, on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Official J European Community*. L15 (2010) 1–72.
- González-Martínez, C., Becerra, M., Cháfer, M., Albors, A., Carot, J. M., Chiralt, A. (2002). Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Sci Technol*, 13(9-10), 334-340
- Helkar, P. B., Sahoo, A. K., Patil, N. J. (2016). Review: Food industry by-products used as a functional food ingredients. *Int J Waste Resources*, 6(3), 1-6.
- Hoppe, C., Andersen, G. S., Jacobsen, S., Mølgaard, C., Friis, H., Sangild, P. T., Michaelsen, K. F. (2008). The use of whey or skimmed milk powder in fortified blended foods for vulnerable groups. *J nutr*, 138(1), 145S-161S.
- Kaufmann, A. (2009). Validation of multiresidue methods for veterinary drug residues; related problems and possible solutions. *Analytica chimica acta*, 637(1-2), 144-155.
- Liang, B., Hartel, R. W. (2004). Effects of milk powders in milk chocolate. *J Dairy Sci*, 87(1), 20-31.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs. (2006). Communiqué Amending the Communiqué on the Production, Import, Export, Sale and Use of Feed Additives and Premixes (Tebliğ No: 2006/1) (RG:21.01.2006 Sayı:2656)
- Moretti S., Saluti G. and Galarini, R. (2017). Residue determination in honey. In: Honey analysis, *De Toledo V. A. (eds.)*, *Intech Open* p. 325-365
- Ramos, Ó. L., Pereira, R. N. C., Rodrigues, R. M. M., Teixeira, J. A., Vicente, A. A., Malcata, F. X. (2015). Whey and whey powders: Production and uses. *Food Science Encyclopaedia of Food and Health* pp: 498-505.
- Rezende, D. R., Filho, N. F., Rocha, G. L. (2012). Simultaneous determination of chloramphenicol and florfenicol in liquid milk, milk powder and bovine muscle by LC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(4), 559-570
- Secchi, N., Stara, G., Anedda, R., Campus, M., Piga, A., Roggio, T., Catzeddu, P. (2011).

Effectiveness of sweet ovine whey powder in increasing the shelf life of Amaretti cookies. *LWT-Food Sci Technol*, 44(4), 1073-1078.

Shendy, A. H., Al-Ghobashy, M. A., Alla, S. A. G., Lotfy, H. M. (2016). Development and validation of a modified QuEChERS protocol coupled to LC-MS/MS for simultaneous determination of multi-class antibiotic residues in honey. *Food chem*, 190, 982-989.

Serdaroğlu, M. (2006). Improving low fat meatball characteristics by adding whey powder. *Meat Sci*, 72(1), 155-163.

Tian, H., Wang, J., Zhang, Y., Li, S., Jiang, J., Tao, D., Zheng, N. (2016). Quantitative multiresidue analysis of antibiotics in milk and milk powder by ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem quadrupole mass spectrometry. *J chromatography B*, 1033, 172-179.

Yu, C., Hu, B. (2012). C18-coated stir bar sorptive extraction combined with high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry for the analysis of sulfonamides in milk and milk powder. *Talanta*, 90, 77-84.



PHYSICAL PROPERTIES OF PROTEIN EXTRACT POWDER FROM STALE BREAD AND EVALUATION OF ITS USE IN WHEAT BREAD CONTAINING CHICKPEA FLOUR

Sebahat Sisman, Busra Yagci, Ertan Ermis*

Istanbul Sabahattin Zaim University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Food Engineering Department, Istanbul, Turkey

Received / Geliş: 13.02.2020; Accepted / Kabul: 12.01.2022; Published online / Online baskı: 26.01.2022

Sisman, S., Yagci, B., Ermis, E. (2022). Physical properties of protein extract powder from stale bread and evaluation of its use in wheat bread containing chickpea flour. *GIDA (2022) 47 (1) 34-41* doi: 10.15237/gida.GD21037.

Sisman, S., Yagci, B., Ermis, E. (2022). Bayat ekmekten elde edilen protein ekstrakt tozunun fiziksel özellikleri ve nohut unu içeren buğday ekmeğinde kullanımının değerlendirilmesi. *GIDA (2022) 47 (1) 34-41* doi: 10.15237/gida.GD21037.

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the physical properties of protein extract powder from stale bread and its potential use in chickpea flour added wheat bread formulations. Chickpea flour was added into wheat flour at a 2:3 ratio, and the protein extract at 6.5 % and 13 % of total flour mix (w/w). The moisture content and water activity of the powdered protein extract were 5.55% and 0.58, respectively. The bulk density and tapped density were 830 kg.m⁻³ and 910 kg.m⁻³, respectively. Hausner ratio was measured as 1.10, which indicates free-flowing property. Increasing the addition of protein extract from 6.5% to 13% resulted in increased loaf volume from around 283 mL to 307 mL per loaf.

Keywords: Loaf volume, chickpea flour, FTIR, protein powder

BAYAT EKMEKTEN ELDE EDİLEN PROTEİN EKSTRAKT TOZUNUN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ VE NOHUT UNU İÇEREN BUĞDAY EKMEĞİNDE KULLANIMININ DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZ

Bu çalışmada, bayat ekmekten elde edilen protein ekstraktı tozunun fiziksel özelliklerinin ve nohut unu katkılı buğday ekmeği formülasyonlarında potansiyel kullanımının araştırılması amaçlanmıştır. Nohut unu, buğday ununa 2:3 oranında ve protein ekstraktı tozu toplam un karışımının ağırlıkça % 6.5 ve 13'ü oranında ilave edilmiştir. Toz protein ekstraktının nem içeriği ve su aktivitesi sırasıyla % 5.55 ve 0.58 olarak bulunmuştur. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluğu sırasıyla 830 kg.m⁻³ ve 910 kg.m⁻³ olarak hesaplanmıştır. Hausner oranı 1.10 olarak ölçülmüştür ki bu da serbest akış özelliğine işaret etmektedir. Protein ekstraktı ilavesinin %6.5'ten 13'e artırılması, ekmek hacminin ekmek başına yaklaşık 283 mL'den 307 mL'ye artmasıyla sonuçlandığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ekmek hacmi, nohut unu, FTIR, protein tozu

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: ertan.ermis@gmail.com

☎: (+90) 212 692 9722

☎: (+90) 212 693 8229

Sebahat Sisman; ORCID no: 0000-0001-5917-5639

Busra Yagci; ORCID no: 0000-0001-6759-3857

Ertan Ermis; ORCID no: 0000-0002-1461-7357

INTRODUCTION

Bread consumption has increased steadily in many parts of the developing world due to changing dietary habits and ever-evolving populations (Mtelisi Dube et al. 2020). In order to meet the growing consumers' expectations, it is necessary to improve the quality of the bread products. In addition, it is imperative to reduce the waste generated by throwing stale bread into the bin (Doğan et al. 2012).

The estimated production volume of bread is around 100 million tons per year, and around 10% of total production is discarded worldwide due to poor quality, microbial spoilage and staling (Nionelli et al. 2020). Although bread is a staple food, it loses its desired properties due to staleness. Depending on the staleness of the bread, loss of aroma, loss of softness, and crumbling occur in the bread (Choi et al. 2008). While stale bread is still fit for consumption, the loss of texture and taste reduces consumer acceptance and poor sensory quality. Therefore, the stale bread is used as animal feed or thrown into the environment as waste (Doğan et al. 2012). However, the protein fraction of stale bread may serve as a suitable ingredient in the dough formulations to improve the protein content of composite flour mixtures.

In general, the protein content of bread is around 8-13% (Turkomp 2019). Gluten is responsible for the extensibility and elasticity of the dough, and its functionality is closely related to processing quality of wheat dough (Tronsmo et al. 2003). Gluten can be added to weak wheat flours or flour mixtures to improve technological properties (i.e., dough processability and loaf volume). Bread made from flour containing a sufficient amount of gluten has a higher volume and slower staling rate than bread made with gluten-poor flour. Therefore, the protein fraction of stale bread can serve as a suitable ingredient for dough formulations.

Various studies have been conducted to extract protein fractions from various sources and used in dough formulations (Begum et al. 2011; Dua et al. 2009; Jiamyangyuen et al. 2005; Wieser 1998).

However, no information was found in the literature about protein extraction from stale bread and the evaluation of its functionality.

Since refined wheat flour lacks some dietary substances such as dietary fiber, and some essential amino acids (i.e., threonine and lysine) (Boye et al. 2010), enrichment with natural sources of functional compounds would be an effective means to improve its nutritional quality. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour has high-quality protein containing well-balanced amino acid composition, dietary fibers, minerals, and other bioactive compounds and is a valuable ingredient for increasing the nutritional value of bread and bakery products (Gaur et al. 2015; Gobetti et al. 2020; Man et al. 2015). Even though chickpea flour is a good source of protein, there is no gluten in its structure which causes some adverse effects on bread quality. Guardado-Félix et al. (2020) and Mohammed et al. (2012) reported that the addition of more than 10% of chickpea flour decreased bread volume and increased crumb firmness.

Taking into account the explanations given above, it was aimed to extract the protein fraction from stale bread, characterize its powder properties, and evaluate its potential to improve the quality of chickpea flour added wheat bread.

MATERIAL and METHODS

Material

The bread samples used in the tests were purchased from a local grocery store and kept at room temperature for two days to become stale. The chemicals and reagents were obtained from Sigma Aldrich (Darmstadt, Germany).

Methods

Sample preparation

Stale bread was cut into small pieces and placed in an oven to dry at 80°C for about four h until the moisture content was reduced to approximately 10%. After drying, the bread pieces were grounded into powder using a coffee grinder (Sinbo SCM-2934).

Protein extraction

The method reported by Joshi et al. (2011) was used to extract protein from stale bread. The dried and grounded stale bread samples were mixed with distilled water at a ratio of 1:15. The pH of the resulting mixture was adjusted to 9.50 by adding 1.0 M NaOH solution. The mixture was stirred at 750 rpm with the aid of a magnetic stirrer for 60 min at room temperature. The mixture was then centrifuged at 12000 rpm for 30 min. The pH of the supernatant was adjusted to 4.5 with 1 M HCl. After the second centrifugation under the same conditions, the liquid phase was removed, and the pellet was collected. The pellet was placed in a glass petri dish and dried in an incubator at 35 °C for approximately 36 h.

Evaluation of protein yield

In order to evaluate the protein yield, the weight of the bread used in protein extraction was weighed, then the amount of protein obtained was given as % (wt/wt).

Determination of physicochemical properties of protein powder**Protein content determination**

Protein content was measured by Bradford Assay method (Bradford 1976). To prepare 1 L Bradford reagent, 0.1 g of Coomassie Brilliant Blue G-250 was dissolved in 95% ethanol, and 100 mL of 85% phosphoric acid was added, and the final volume was made up to 1 L with distilled water. The Bradford reagent prepared was filtered on filter paper. 1:1 ratio (protein powder: distilled water) of dispersion was prepared and passed through filter paper. Five-mL of Bradford reagent was added to 100 µL of filtrate and left for 5 min. Absorbance values at 595 nm were recorded, and the percent protein content was calculated using the standard calibration curve. The analysis was repeated three times. Bovine serum albumin (BSA) was used to prepare the standard calibration curve. BSA standard solution (1 g/mL) was diluted to 10, 20, 40, 60, and 100 µg/mL with distilled water and a standard calibration curve was created by measuring the absorbance values using a UV-spectrophotometer (Shimadzu UV-1280, Kyoto, Japan).

Water activity determination

The protein powder was placed in the Novasina LabSwift water activity meter (Novasina, Lachen, Switzerland), and the measurement was performed according to the manufacturer's instructions.

Moisture Determination

The infrared moisture analyzer (Radwag, Radom, Poland) was employed for moisture analysis. Approximately 1 g of sample was placed on the weighing plate. The method was conducted based on the manufacturer's instructions.

Determination of powder properties**Bulk and tapped densities**

To determine the bulk density of the protein powder, 2 g of sample was transferred into a 10 mL graduated cylinder, and its volume was recorded. Bulk density was calculated by dividing the mass by volume ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$). Then 150 taps (compression) were performed using a glass rod at a constant speed on the powder sample while in the graduated cylinder. The tapped density was calculated by dividing the mass by the volume of the sample after the taps (Ermis et al. 2018). The flow property of protein powder was evaluated by the Hausner ratio (HR) using Eq. 1 (Hausner 1967) and Table 1.

$$\text{HR} = \rho_t / \rho_b \quad (1)$$

Where ρ_t is tapped density and ρ_b is bulk density Table 1

Table 1. Classification of powder flow based on Hausner Ratio (Ermis et al. 2018)

Powder Flow Behavior	Hausner ratio
Easy	1.00-1.11
Good	1.12-1.18
Satisfactory	1.19-1.25
Poor	1.26-1.34
Very poor	1.35-1.45

Wettability

The powder sample (1 g) was left on the surface of a beaker filled with 400 mL of distilled water. The time required for the powder sample to submerge to the bottom of the beaker was recorded (Seth et al. 2016).

FTIR analysis

FTIR spectrum of extracted protein powder was obtained to compare its chemical structure with gluten powder. The crystalline region of the ATR apparatus was cleaned with acetone prior to obtaining the background spectrum. Then, the powder sample was placed on the crystalline chamber of the device, and the spectrum was obtained between 4000-400 cm^{-1} by using an ATR-FTIR (Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy) instrument (Shimadzu IRTracer-100, Kyoto, Japan).

Bread production

For the preparation of bread samples, the dough formulation reported by Begum *et al.* (2011) was used in this study with slight modifications.

Protein extracts were added into dough formulation at two different ratios (6.5 and 13%) based on the total amount of flour mixture consisting of 60% wheat flour and 40% chickpea flour (Table 2). As the first step, instant dry yeast was dissolved in water, and then salt was added before transferring into the dough mixer. Other ingredients were transferred into the mixer, and the remaining water was added. The dough was mixed for the first two min at low speed and the next 10 minutes at medium speed. The dough was rested at room temperature for 45 min. The dough is then divided into 100 g pieces, rounded, and proofed at 40 °C for 45 min. The proofed dough was baked in the preheated oven for 20 min at 200 °C. Bread volume was determined based on official methods of AACC 10-10.03 (AACC 2000).

Table 2. Ingredients used for preparing bread

Ingredients (g/100 g)	Control 1	Control 2	A	B
Wheat flour	65	39	36.6	34.2
Chickpea flour	0	26	24.4	22.8
Water	33	33	33	33
Active dry yeast powder	1	1	1	1
Salt	1	1	1	1
Protein extract	0	0	4	8

Statistical analysis

The experiments were conducted in triplicate, and the mean values with standard deviations were calculated. Minitab 17 (Minitab Inc., Pennsylvania USA) was used to perform the statistical evaluations using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's multiple comparison test ($P < 0.05$).

RESULTS and DISCUSSION**Evaluation of protein yield**

The yield of protein extract from stale bread was recorded as 1 g protein per 100 g of stale bread (Figure 1). Since the protein content of wheat bread is around 10 %, approximately 10% of total protein (w/w) could be extracted. The low yield might be due to the alteration of solubility behavior and the isoelectric point of protein fractions denatured during baking. Therefore, it

was not possible to precipitate all the protein fractions at an isoelectric point of 4.5.



Figure 1. View of extracted protein from stale bread

Powder properties

The water activity, moisture content, bulk density, tapped density, Hausner ratio, and the wettability properties were determined as 0.58, 5.55 %, 830 kg m⁻³, 910 kg m⁻³, 1.10, and 816 s, respectively. Moisture content and water activity are parameters that affect powder behavior, such as powder flow and storage stability. Water activity is more related to the food's physical, chemical, and biological properties than its moisture content. It is an important parameter that affects various food properties such as texture, color, and microbial growth. Generally, powders stored at low a_w values and low temperatures retain their free-flowing properties, while stickiness and caking may occur at high a_w and temperature values (García-Tejeda et al. 2019).

Moisture content and water activity values were found at safe levels to ensure storage and microbial stability. In order to ensure microbial stability in foods, the water activity value must be below 0.6. Also, moisture content should be below 10% to preserve the food for a more extended period while preserving its quality properties (Dirim and Talih 2018).

The wettability of the protein powder was measured as 816 s (13.6 min) in this study. The wettability is an important physical property to be used in bread making due to its effect on dough development (Blancher et al. 2005). The wettability time gives information about the hydrophilic property of the powder material (Dirim and Talih 2018). A study observed that the wettability time of milk protein isolate was more than one h (Ji et al. 2016). According to Ji et al. (2016), powders showing wettability greater than 120 seconds are considered non-wettable. Thus, it can be stated that the protein powder obtained from stale bread by the alkali extraction-isoelectric precipitation method is non-wettable.

Bulk density is a parameter that plays a role in transporting and packaging powder products. High bulk density is a desired feature as it will provide lower packaging and transportation costs (Dirim and Talih 2018). The ratio between tapped density and bulk density is determined as the

Hausner ratio. HR was calculated as 1.10, indicating easy flow behavior (Table 1).

FTIR properties

The chemical structure of the protein extract was examined by a FTIR spectrometer (Figure 2). Gluten standard was used as the reference material. The robust transmissions at 1653 cm^{-1} at 1748 cm^{-1} show C=N and C=O bonds, respectively. Peaks at 2800-2900 cm^{-1} region are assigned to a symmetrical and asymmetrical stretching of CH₂ and CH₃ groups. An Amide I band and an N-H intense stretching can be found at 2924 cm^{-1} . C-H bonds at 2855 cm^{-1} clearly show us the presence of protein fractions. Amir et al. (2013) observed two main absorption bands, amide I and amide II, at approximately 1660 cm^{-1} and 1550 cm^{-1} , respectively. The amide I peak centered around 1652 cm^{-1} in Figure 2 was similar to the findings of Lin et al. (2021) and Nawrocka et al. (2018). The FTIR data revealed differences in amide I and amide II peak intensities of extracted protein and gluten. Similarly, the peak intensities within the 750-1250 cm^{-1} region show differences in chemical properties. These differences might be attributed to the denaturation of proteins during baking and the existence of some impurities such as polysaccharides in extracted protein (Nawrocka et al. 2018).

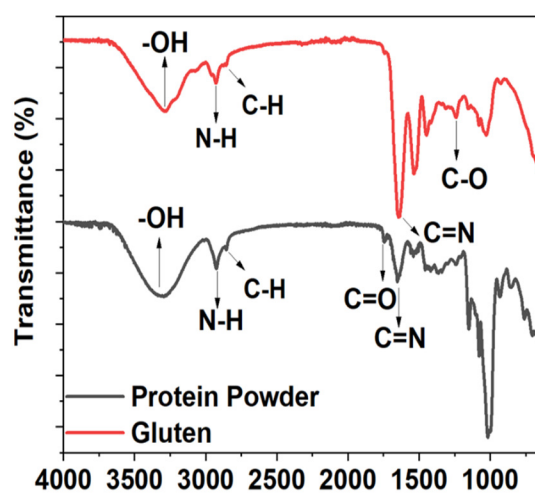


Figure 2. FTIR spectra of the extracted protein and gluten standard

Evaluation of loaf volume

The loaf volume is an essential physical attribute in assessing bread quality. It is affected by the chemical structure of flour (i.e., gluten quality and content, amount of damaged starch) (Araki et al. 2009) and conditions applied during processing steps such as milling, mixing, kneading, fermentation, and baking. Assessment of bread loaf volume is a helpful way to determine the differences in the functionality of extracted proteins (Jiamyangyuen et al. 2005). The obtained protein powder was added to the bread formulations at 6.5% and 13% concentrations

(based on total flour weight). The loaf volumes are reported in Table 3. The volume of Control 1 (prepared using 100% wheat flour) and Control 2 (prepared using 60% wheat flour+40% chickpea flour mixture) bread samples were measured as 307.33 ± 2.0 and 282.67 ± 5.33 mL, respectively. The loaf volume of Control 2 bread was smaller when compared to those of bread samples A and B. Increasing the protein added resulted in improved loaf volume by approximately 10 and 20 % for A and B, respectively (Figure 3). This increase could be attributed to the addition of protein powder extracted from stale bread.

Table 3. The volume of bread samples

Sample	Volume (mL)
Control 1	$307.33 \pm 2.00c$
Control 2	$282.67 \pm 5.33d$
A	$312.67 \pm 3.33b$
B	$342.00 \pm 4.67a$

Control 1: 100 % wheat flour

Control 2: 60 % wheat flour, 40 % chickpea flour

A: 60% wheat flour + 40% chickpea flour + 6.5% protein,

B: 60% wheat flour + 40% chickpea flour + 13% protein

Values shown with different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$)



Figure 3. View of bread samples. Control 1: 100% wheat flour, Control 2: 60% wheat flour+40% chickpea flour, A: 60% wheat flour+40% chickpea flour+6.5% extracted protein, B: 60% wheat flour+40% chickpea flour+ 13% extracted protein

CONCLUSION

In this study, protein extraction was made from stale bread by the isoelectric precipitation method, and it was aimed to increase the bread volume by adding into the mixtures of chickpea flour and wheat flour. Around 10 % of the total protein could be extracted from stale bread and dried to produce protein powder. The powder had around 10 % moisture and showed free-flowing behavior. FTIR analysis of protein extract

exhibited similar spectra of the gluten standard. Adding 8 g extracted protein caused around 10% and 20% volume increase in the wheat bread and chickpea flour added wheat bread, respectively. The data obtained in this study are promising and provide a scientific basis for further studies. Future studies should focus on improving protein extraction yield from stale bread by using different extraction methods and optimization of extraction conditions should be studied.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was financially supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (Project no: 1919B011902714).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHORS CONTRIBUTIONS

Sebahat Şişman performed investigation, formal analysis and writing—original draft. Büşra Yağcı helped in investigation, and formal analysis. Ertan Ermiş was supervisor and guided the project, performed final writing-review & editing.

REFERENCES

- AACC. (2000). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of the AACC, 10th ed. Methods 38-10, 38-20, 38-12A, 55-31, 66-50, 76-31, 80-60. St. Paul, MN.
- Amir, R. M., Anjum, F. M., Khan, M. I., Khan, M. R., Pasha, I., Nadeem, M. (2013). Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for the identification of wheat varieties. *J Food Sci Technol*, 50(5), 1018–1023. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0424-y>
- Araki, E., Ikeda, T. M., Ashida, K., Takata, K., Yanaka, M., Iida, S. (2009). Effects of rice flour properties on specific loaf volume of one-loaf bread made from rice flour with wheat vital gluten. *Food Sci Technol Res*, 15(4), 439–448. <https://doi.org/10.3136/fstr.15.439>
- Begum, R., Rakshit, S. K., Rahman, S. M. M. (2011). Protein fortification and use of cassava flour for bread formulation. *Int J Food Prop*, 14(1), 185–198. <https://doi.org/10.1080/10942910903160406>
- Blancher, G., Morel, M. H., Gastaldi, E., Cuq, B. (2005). Determination of surface tension properties of wheat endosperms, wheat flours, and wheat glutes. *Cereal Chem*, 82(2), 158–165. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0158>
- Boye, J., Zare, F., Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Res Int*, 43(2), 414–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72(1–2), 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Choi, Y. J., Ahn, S. C., Choi, H. S., Hwang, D. K., Kim, B. Y., Baik, M. Y. (2008). Role of water in bread staling: A review. *Food Sci Biotechnol*, 17(6), 1139–1145.
- Dirim, S. N., Talih, M. (2018). Kurutma yardımcı maddelerinin dondurarak kurutulmuş taflan tozlarının özellikleri üzerine etkisi. *GIDA*, 43, 461–475. <https://doi.org/10.15237/gida.GD17109>
- Doğan, I. S., Yıldız, Ö., Taşan, B. (2012). Determination of the bread-making quality of flours using an automatic bread machine. *Türk J Agric For*, 36(5), 608–618. <https://doi.org/10.3906/tar-1202-48>
- Dua, S., Lukow, O. M., Humphreys, G., Adams, K. (2009). Effect of extraction methods and wheat cultivars on gluten functionality. *The Open Food Science Journal*, 3, 84–92. <https://doi.org/10.2174/1874256400903010084>
- Ermis, E., Güner, K. Ö., Yılmaz, M. T. (2018). Characterization of hazelnut milk powders: a comparison of spray-drying and freeze-drying. *Int J Food Eng*, 14, 11-12 <https://doi.org/10.1515/ijfe-2018-0085>
- García-Tejeda, Y. V., García-Armenta, E., Martínez-Audelo, J. M., Barrera-Figueroa, V. (2019). Determination of the structural stability of a premix powder through the critical water activity. *J. Food Meas Charact*, 13(2), 1323–1332. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00047-1>
- Gaur, P. M., Samineni, S., Sajja, S., Chibbar, R. N. (2015). Achievements and challenges in improving nutritional quality of chickpea. *Legume Perspectives*, 09(9), 31–33.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Polo, A., Rizzello, C. G. (2020). The sourdough fermentation is the powerful process to exploit the potential of legumes, pseudo-cereals and milling by-products in baking industry. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 60(13), 2158–2173.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1631753>

Guardado-Félix, D., Lazo-Vélez, M. A., Pérez-Carrillo, E., Panata-Saquicili, D. E., Serna-Saldívar, S. O. (2020). Effect of partial replacement of wheat flour with sprouted chickpea flours with or without selenium on physicochemical, sensory, antioxidant and protein quality of yeast-leavened breads. *LWT*, 129, 109517. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109517>

Hausner, H. H. (1967). Friction Conditions in a Mass of Metal Powder. *Int J Powder Met*, 3, 7–13.

Ji, J., Fitzpatrick, J., Cronin, K., Maguire, P., Zhang, H., Miao, S. (2016). Rehydration behaviours of high protein dairy powders: The influence of agglomeration on wettability, dispersibility and solubility. *Food Hydrocoll*, 58, 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.030>

Jiamyangyuen, S., Srijesdaruk, V., Harper, W. (2005). Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. *Songklanakarin J Sci Technol*, 27(1), 55–64.

Lin, H., Bean, S. R., Tilley, M., Peiris, K. H. S., Brabec, D. (2021). Qualitative and quantitative analysis of sorghum grain composition including protein and tannins using atr-ftir spectroscopy. *Food Anal Method*, 14(2), 268–279. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01874-5>

Man, S., Păucean, A., Muste, S., Pop, A. (2015). Effect of the chickpea (*cicer arietinum* L.) Flour addition on physicochemical properties of wheat bread. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Sci Technol*, 72(1). <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11023>

Mohammed, I., Ahmed, A. R., Senge, B. (2012). Dough rheology and bread quality of wheat-chickpea flour blends. *Ind Crops Prod*, 36(1), 196–202. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.09.006>

Mtelisi Dube, N., Xu, F., Zhao, R. (2020). The efficacy of sorghum flour addition on dough rheological properties and bread quality: A short review. *Grain Oil Sci Technol*, 3(4), 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2020.08.001>

Nawrocka, A., Krekora, M., Niewiadomski, Z., Miś, A. (2018). FTIR studies of gluten matrix dehydration after fibre polysaccharide addition. *Food Chem*, 252, 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.110>

Nionelli, Luana, Wang, Y., Pontonio, E., Immonen, M., Rizzello, C G, Maina, H. N, Katine, K., Coda, R. (2020). Antifungal effect of bioprocessed surplus bread as ingredient for bread-making: Identification of active compounds and impact on shelf-life. *Food Cont*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107437>

Seth, D., Mishra, H. N., Deka, S. C. (2016). Functional and reconstitution properties of spray-dried sweetened yogurt powder as influenced by processing conditions. *Int J Food Prop*, 20(7), 1603–1611. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1214965>

Tronsmo, K. M., Magnus, E. M., Baardseth, P., Schofield, J. D., Aamodt, A., Færgestad, E. M. (2003). Comparison of small and large deformation rheological properties of wheat dough and gluten. *Cereal Chem*, 80(5), 587–595. <https://doi.org/10.1094/cchem.2003.80.5.587>

Turkomp. (2019). Turkish Food Composition Database. <http://www.turkomp.gov.tr/food-280>

Wieser, H. (1998). Investigations on the extractability of gluten proteins from wheat bread in comparison with flour. *Z Lebensm Unters Forsch*, 207(2), 128–132. <https://doi.org/10.1007/s002170050306>



GIDA FİYATLARINDAKİ AŞIRI ARTIŞLARIN OLASI NEDENLERİ VE COVID-19'UN ETKİSİ

Neslihan Cavlak¹, Murat Selim Selvi^{*2}

¹ Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Malkara Meslek Yüksekokulu, Tekirdağ, Türkiye

² Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, İşletme Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

Geliş / Received: 12.10.2021; Kabul / Accepted: 30.11.2021; Online baskı / Published online: 26.01.2022

Cavlak, N., Selvi, M.S. (2022). Gıda fiyatlarındaki aşırı artışların olası nedenleri ve Covid-19'un etkisi. *GIDA* (2022) 47 (1) 42-54 doi: 10.15237/gida.GD21135

Cavlak, N., Selvi, M.S. (2022). Possible causes of excessive increase in food prices and the impact of Covid-19. GIDA (2022) 47 (1) 42-54 doi: 10.15237/gida.GD21135

ÖZ

Bu çalışmada gıda fiyatlarındaki aşırı artışların olası nedenleri ve Covid-19'un gıda fiyatları üzerindeki etkisi incelenmiştir. İkincil kaynaklar üzerinde doküman incelemesi yapılmıştır. Nicel ve nitel veriler sadeleştirilmiş ve bazen özet tablolar halinde sunulmuştur. Çalışmada özellikle 2021 yaz aylarında gıda fiyatlarında düzenli bir artışın olduğu görülmüştür. Çalışmada gıda fiyatlarındaki aşırı artışın nedenleri arasında küresel iklim değişikliği, girdi maliyetlerinin artması, nakliye masrafları, aracı komisyon ve kar marjları, işçilik ve ambalajlama, vergi vb giderlerin olduğu ortaya çıkmıştır. Enflasyon ve döviz kurunun yükselmesi yanında Covid-19'u istismar eden satıcıların etik dışı davranışlarının da aşırı fiyat artışlarına neden olduğu değerlendirilmiştir. Bu çalışmada gıda fiyatlarında görülen fiyat artışlarının hangi aşamada arttığına doğru tespiti ve kalıcı çözümü için bölgesel temelli akademik çalışmaların periyodik aralıklarla yürütülmesi gerektiği belirtilmiştir. Gıdada aşırı fiyat artışları ile mücadelede enflasyon oranı ve döviz kurunun kontrol altına alınmasının, üreticilerin yeterince desteklenmesinin yanında denetimlerin sürekli ve zamanında yapılmasının önemine işaret edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Temel gıda, tarımsal girdiler, salgın dönemi, fahiş fiyat, döviz kuru.

POSSIBLE CAUSES OF EXCESSIVE INCREASE IN FOOD PRICES AND THE IMPACT OF COVID-19

ABSTRACT

In this study, the reasons behind the overpricing of nutrition and the impact of Covid 19 on food product prices are analyzed. Document analysis has been conducted on the secondary sources. A stable increase especially in the summer of 2021 at the prices of food products noticed in the analyses. The study indicates that the main reasons for overpricing of food products are global climate change, increase in input costs, transportation costs, the profit and commission margins of brokers, labor costs, packaging, and taxes. Moreover, along with the rise in inflation and exchange rates, the unethical behaviors of sellers who exploit the Covid 19 pandemic have also an impact on overpricing of food products. It is highlighted in this study that in order to detect the rise in prices of food products accurately and offer precise solutions for it there is a need for pursuing scientific researches periodically on a regional basis. It is also emphasized that besides controlling inflation and

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ msselvi@nku.edu.tr

☎ (+90) 530 311 2841

☎:(+90) (0282) 250 9927

Neslihan Cavlak, ORCID no: 0000-0002-6712-971X

Murat Selim Selvi; ORCID no: 0000-0002-9114-3183

the exchange rater and supporting the producers, continuons and prompt controls are necessary in order to struggle with the overpricing of food products.

Keywords: Staple food, agricultural inputs, epidemic period, excessive price, exchange rate.

GİRİŞ

Covid-19 tüm dünyaya kısa zamanda çok hızlı bir şekilde yayılan, insanların yaşamlarında köklü değişikliklere neden olan ve etkisinin daha uzun bir zaman süreceği tahmin edilen bir salgındır. Covid-19'un diğer salgın ya da doğal afetlerle karşılaştırıldığında hem kapsam hem de ölçek olarak çeşitli endüstri dalları üzerindeki etkisi eşi benzeri olmayan bir durumu ifade etmektedir. Dünyada ve Türkiye'de günlük ihtiyaç duyulan sağlıklı gıda maddelerine aşırı fiyat artışları nedeniyle erişimde güçlük çekildiğine ilişkin pek çok haberler kamuoyunda sıkça yer almaktadır.

Milyonlarca tüketicinin yaşam kalitesinin bozulmasına neden olan gıda maddelerindeki aşırı fiyat artışlarının oluşumunda salgın hastalıklarının ciddi etkisinin olduğu bilinmektedir (Medical Press, 2014; Basco vd., 2021). Cabral ve Xu (2020) pandeminin dünyada ekonomisi üzerinde negatif etkilere sahip olduğunu vurgulayarak örneğin gıda fiyatlarını ciddi derecede artırdığını belirtmektedir. Covid-19 pandemisinin başta gıda maddeleri olmak üzere pek çok mal ve hizmet fiyatının sürekli artmasının nedenleri arasında olduğunu belirten başka yazarlar da mevcuttur (Nicomedes ve Avila, 2020; Valentina Stoevska, 2020; Aydın ve Özer, 2020; Buccafusco vd., 2021). Bu çalışmada dünyada ve Türkiye'de gıda fiyatlarındaki aşırı artışın nedenleri ve özellikle Covid-19 salgınının gıda fiyatlarını nasıl etkilediği incelenmektedir. Bu amaçla aşağıdaki sorulara cevap aranmaktadır:

1. Dünyada gıda fiyatlarında aşırı artışlar var mıdır? Varsa temel sebepleri nelerdir?
2. Covid-19 salgınının gıda fiyatları üzerindeki etkisi nasıl açıklanabilir?
3. Türkiye'de 2021 yaz aylarında sürekli artan mevsimlik yaş meyve ve sebze fiyatlarındaki artışın temel nedenleri nelerdir?

Bu çalışmada yoğunlukla belge tarama yöntemi kullanılmıştır. Belge tarama çalışmalarında amaçlar daha çok soru cümleleri ile belirtilmektedir. Örneğin “nelerdir”, “ne ile

ilgilidir”, “nelerden oluşmaktadır, nasıl açıklanabilir vb. (Kararsar, 2014). Araştırmanın amacına ulaşmak için genelde akademik yazın taraması yanında dünya ve Türkiye'deki resmi otoritelerin internet siteleri üzerinde döküman incelemesi yapılmıştır. Elde edilen nitel ve nicel veriler okuyucular için özet tablolar haline getirilmiş; akabinde kısa açıklamalar yapılmıştır. Böylece belgeler taranarak gerekli sadeleştirmeler ve çıkarımlar yapılmış; böylece okuyucular için daha sade ve net veriler elde edilebilmiştir. Araştırma raporu en son bir iktisat bir de pazarlama uzmanı iki akademisyene okutularak eleştiri ve önerileri alınmıştır. Diğer yandan kullanılan ikincil verilerin doğru ve yansız oldukları varsayılmıştır. Yapılan bu hususlar araştırmanın geçerlilik ve güvenilirliğine ilişkin kanıtları oluşturabilir. Araştırmada gıda fiyatlarının aşırı artmasında, küresel iklim değişikliğinin olumsuz etkileri, girdi maliyetleri, nakliye masrafları, aracı komisyon ve kâr marjları ve diğer masrafların fiyatlara yansıtılmasının çok önemli payının olduğu ortaya çıkmıştır. Diğer taraftan Covid-19 salgınının tedarik zincirini bozduğu, artan taleple birlikte bir dizi malda kıtlığa neden olduğu dolayısıyla tüketicilerin sağlıklı temel gıda maddelerine erişiminde aşırı fiyatlar nedeniyle sıkıntılar yaşattığı ortaya çıkmıştır. Ayrıca Covid-19 pandemisini fırsat bilen satıcıların haksız kazanç sağlamak için fırsatçılık yapmalarının da aşırı fiyat artışının nedenleri arasında olduğu önemle belirtilmiştir. Bu çalışmada piyasalarda gıda fiyatlarında görülen aşırı fiyat artışları ile mücadelede enflasyon oranı, döviz kuru, üreticilerin yeterince desteklenmesi yanında denetimlerin sürekli ve zamanında yapılmasının önemine işaret edilmiştir.

GIDA FİYATLARINDAKİ AŞIRI ARTIŞIN OLASI NEDENLERİ

Gıda fiyatlarının aşırı derecede artmasının olası nedenleri şu şekilde belirtilebilir:

Birinci neden tarımsal girdi maliyetlerindeki artışlardır. Çizelge 2'de de görüleceği üzere petrol fiyatları artmaktadır. Petrol fiyatlarındaki hareketlenmeler tarımsal ürün fiyatlarını derinden

etkilemektedir (Nazlıoğlu ve Soytaş 2012; Tadesse vd. 2014; Algan vd. 2021). Çiftçi için mazotun litre fiyatının artması, doğal gaz arttığı için doğalgazdan üretilen elektriğin de artması ve çiftçinin sulamayı elektrikle yapması sonucu sulama maliyetlerinin artması söz konusudur. Gübre fiyatları yanında tohum, ilaç, işçilik, ekim-dikim malzeme maliyetlerinde de artışlar söz konusudur. TÜİK Temmuz 2021 verilerine göre Tarımsal Girdi Fiyat Endeksi (Tarım-GFE) yıllık %29.38, aylık %1.98 artmıştır. Yıllık en fazla artış %62.43 ile gübre ve toprak geliştiriciler alt grubunda olmuştur.

İkinci neden küresel iklim değışikliği ve doğal afetlerin etkisidir (Samuels ve Puro, 1991; Pelling vd., 2002; Neumayer ve Barthel, 2011; Singh-Peterson ve Lawrence, 2015; Zhou vd., 2018; Yu vd., 2018; Boshoff, 2020). Küresel ısınma zamansız iklim değışiklerine neden olmakta ve ekonomiler üzerinde negatif etkiler doğurmaktadır (Pelling vd., 2002; Singh-Peterson, ve Lawrence, 2015; Boshoff, 2021), zamansız don olayları ve aşırı soğuklar (Prentice vd., 2020), seller ve kuraklık (Harrison vd., 2010; Quiggin, 2007), fırtına-kasırga-tayfun (Harrison vd., 2010; Kalkuhl vd., 2016; Sakai vd., 2017), yangın, deprem ve tsunami (Cavallo, Cavallo ve Rigobon, 2014; Watanabe, 2020) tarımsal ürünlere ciddi zararlar vermekte, rekolteyi düşürmekte ve arzın azalmasına neden olmaktadır. Diğer taraftan iklim değışikliğinin sebep olduğu bir dizi küresel ve yerel etki, son yıllarda gıda üretiminin girdi maliyetlerini ve çıktı fiyatlarını etkileyerek gıda fiyatlarının artmasına yol açmaktadır (Edwards vd., 2011). Örneğin Avustralya, fırtına, yangın, sel ve kuraklık gibi birçok doğal felaketi bir arada yaşayabilen bir ülkedir. Avustralya'daki kuraklık, meyve ve sebzelerin maliyetinin tüketici fiyat endeksinden daha fazla arttığını göstermektedir (Harrison vd., 2010). 2021 yaz aylarında Antalya başta olmak üzere diğer şehirlerde başlayan orman yangınlarının tarım alanlarına ve seralara kadar ulaşması nedeniyle mevsimlik meyve ve sebze rekoltesini düşürebileceği, bunun da fiyatlardaki artışı kısmen tetikleyebileceği belirtilebilir. Ayrıca, 2005 ile 2007 arasında tüm gıda gruplarında fiyatların %12 artmasından tek başına kuraklık sorumluyken, tüketici fiyat endeksinde en belirgin

artışı da sebzeler göstermektedir (Quiggin, 2007). Kuraklık, tarımsal verimi ciddi şekilde etkilemekte ve perakende gıda fiyatlarındaki ani artışlara katkıda bulunabilmektedir. Gelişmekte olan ülkeler ve daha küçük ekonomiler, benzer görelî büyüklükteki bir felaketin ardından gelişmiş ülkelere veya daha büyük ekonomilere kıyasla çok daha büyük üretim düşüşleriyle karşı karşıyadır (Noy, 2009; Heinen, 2019).

Üçüncü neden tarımsal ürünlerin şehirlerarası nakliyesinde oluşan masraflardır (Örneğin aracın günlüğü, şoförün yevmiyesi, köprü ücreti, ambalajlama, ürünlerdeki ezilme, bozulma, vb). Dördüncü neden üreticiden-tüketicie ürünlerin akışında yer alan aracılık hizmeti verenlerin (kabzımal-tüccar, manav, pazarcı vb) komisyon ücreti ile kar marjlarıdır. Beşinci neden zaman zaman doğal afetlerin ve iklim şartlarını bahane ederek, mevcut durumu kötüye kullanıp istismar ederek stokçuluk yapılması, satıcıların aralarında gizli anlaşma yapmaları gibi etik dışı davranışların gösterilmesidir. Aydın ve Özer (2020) firmaların böylesi dönemlerde ilaç, gıda gibi zorunlu maddelerde aşırı fiyat uygulaması yaparak haksız kazanç sağlayabildiklerini belirtmektedir. Altıncı neden savaş, terör gibi olaylardır. Noy (2009) ve Boshoff (2020) savaş ve terör olaylarının malların tedarik edilmesi ve sevkiyatında sıkıntılara neden olduğunu belirtmektedirler.

Yedinci neden ise bazı makro ekonomik göstergelerin durumudur. Tarım ürünlerine yönelik küresel fiyatların ana itici güçlerinden en önemlileri; faiz oranı, enflasyon ve döviz kuru olarak karşımıza çıkmaktadır (Engle ve Rangel, 2008; Karali ve Power, 2013; Kornher ve Kalkuhl, 2013). Örneğin emtia fiyatlarının artması (IMF, Primary Commodity Prices, 2021), döviz kurundaki artışlar (Bayramoğlu ve Yurtkur 2015; Kutlu 2021) ve enflasyonun (Güloğlu ve Nazlıoğlu, 2013) gıda fiyatlarının artmasında önemli etkileri vardır. Örneğin tarımsal girdiler ülkeye ABD doları cinsinden girdiği için üreticie pahalıya mal olmaktadır. Sekizinci neden olarak yeterli teşvik ve desteklerin verilememesi, alım ve satımdaki KDV oranlarındaki farklılıkların gıda fiyatlarına yansımalarıdır.

Son olarak salgın hastalıklar ve pandemi dönemleri gıda fiyatlarında aşırı artışlara neden olmaktadır (Narayan vd., 2009; Medical Press, 2014; Jordà vd., 2020; Sayed ve Peng, 2021; Ma vd., 2020; Basco vd., 2021). Salgın zamanlarında panik satın alma nedeniyle tüketicilerin yoğun miktarda gıda satın alarak stok yapma eğilimine girdikleri (Yoon vd., 2018; Prentice vd., 2020); bu durumu fırsat bilen satıcıların gıda fiyatlarını aşırı miktarda arttırdıkları belirtilmektedir (Yoon vd., 2018). Dünya genelinde temel gıda maddelerinin fiyatlarının aşırı yükseldiği (Cabral ve Xu, 2020), bakkallarda satılan yiyeceklerin fiyatının arttığı ve düşük gelirli hanelerin gıdaya erişiminin daha da engellendiği belirtilmektedir (USDA, 2020). Gıda fiyatlarının Ocak 2020'den itibaren COVID-19 salgınlarının zamanlamasına bağlı olarak önce Asya kıtasının orta, güney ve güneydoğusunda, birkaç ay sonra dünyanın geri kalanında artmaya başladığı belirtilmektedir (Valentina, 2020). ABD'deki bazı et işleme tesislerinde meydana gelen salgınlar, yerli et kıtlığına yol açarak ithalat talebinde bir artışa neden olmuştur. Bununla beraber ithal et fiyatlarında en büyük artış Mayıs 2020'de olmuştur. Tüketiciler için sığır eti fiyatları ise Mart-Haziran 2020 arasında %20'den fazla artmıştır (Dave vd., 2020). Erkesim (2021) Covid-

19 pandemisinin başta sağlık ve gıda olmak üzere ihtiyaçların karşılanmasında güçlükler yaşattığına, tedarik zincirlerinin pandemiye hazır olmadıklarını ve artan ihtiyaçlara cevap veremediklerini belirtmektedir. Dave vd., (2020) tedarik zincirleriyle ilgili sorunlar ve talep şoklarının ABD'de Covid-19 salgınının başlamasından sonra ithalat, ihracat, üretici ve tüketici fiyatlarında artan oynaklığa sebep olduğunu; salgından en çok etkilenen ürünlerin et, balık, süt ürünleri ve yumurtanın olduğunu belirtmektedirler.

COVID-19 DÖNEMİNDE GIDA MADDELERİNDEKİ FİYATLANDIRMALAR

Küresel olarak, Ağustos 2020'de gıda ürünlerinin fiyatları Ağustos 2019'a göre ortalama % 5.5 daha yüksektir (Valentina, 2020). Çizelge 1'deki FAO verilerine göre Gıda Fiyat Endeksi (FFPI), Ağustos 2021'de Temmuz ayına göre % 32.9 artarak 127.4 puan ortalamaya ulaşmıştır. Hububat Fiyat Endeksi Ağustos ayında ortalama 129.8 puan, Temmuz ayına göre % 3.4 ve Ağustos 2020 seviyesinin 30.8 puan (% 31.1) üzerinde gerçekleşmiştir.

Çizelge 1: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) Gıda Fiyat Endeksleri

		Gıda Fiyat Endeksi	Et Fiyat Endeksi	Süt Fiyat Endeksi	Tahıl Fiyat Endeksi	Bitkisel Yağ Fiyat Endeksi	Şeker Fiyat Endeksi
2020	Ağustos	95.8	92.2	102.1	99.0	98.7	81.1
	Eylül	97.9	91.5	102.3	104.0	104.6	79.0
	Ekim	101.2	91.8	104.5	111.6	106.4	84.7
	Kasım	105.5	93.3	105.4	114.4	121.9	87.5
	Aralık	108.5	94.8	109.2	115.9	131.1	87.1
2021	Ocak	113.3	96.0	111.2	124.2	138.8	94.2
	Şubat	116.4	97.8	113.1	125.7	147.4	100.2
	Mart	119.1	100.8	117.5	123.6	159.2	96.2
	Nisan	121.9	104.3	119.1	125.6	162.0	100.0
	Mayıs	127.8	107.4	121.1	132.8	174.7	106.8
	Haziran	125.0	110.7	119.9	129.4	157.5	107.7
	Temmuz	123.5	111.7	116.7	125.5	155.4	109.6
	Ağustos	127.4	112.5	116.0	129.8	165.7	120.1

Kaynak: FAO Food Price Index (2021), <http://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en/erişim:01.10.2021>

Çizelge 1'e göre Bitkisel Yağ Fiyat Endeksi Ağustos ayında ortalama 165.7 puan olarak gerçekleşmiştir. Süt Ürünleri Fiyat Endeksi Ağustos ayında ortalama 116,0 puan, geçen yıl ilgili aydaki değerinin 13.9 puan (%13.6) üzerinde gerçekleşmiştir. Et Fiyat Endeksi Ağustos ayında 112.5 puan ortalamayla, geçen yılın ilgili ayındaki değerinin 20.3 puan (% 22.0) üzerine çıkmıştır. Şeker Fiyat Endeksi Temmuz ayına göre 10.5 puan (% 9.6) artarak Ağustos ayında 120.1 puana ulaştı ve art arda beş aylık artış kaydetmiştir. Örneğin Çizelge 2'ye göre buğday, arpa, mısır, şeker pancarı, tütün, ayçiçek yağı, zeytin yağı, şeker, süt gibi tarımsal hammaddelerin fiyatlarında 2021 yaz aylarına doğru ciddi artışlar

yaşanmaktadır. Örneğin Ağustos ayında buğdayın tonu 274.9 \$'ı bulmuştur. Bu fiyat artışlarının sebepleri arasında gübre, petrol ve doğal gaz birim fiyatlarındaki artışların önemli bir etkisi vardır. OECD 5 Mayıs 2021 verilerine göre Türkiye gıda fiyat artışları konusunda OECD ülkeleri arasında ilk sırada bulunmaktadır (OECD, 2021). Diğer taraftan, yine OECD ülkeleri arasında Türkiye zam konusunda da ilk sırayı almaktadır (Bayraktar, 2021). Covid-19 vakasından sonra Türkiye'de pek çok mal ve hizmet fiyatlarında olduğu gibi gıda fiyatlarında da aşırı bir fiyat artışının olduğu kabul edilmektedir. TÜİK'in 2021 Haziran, Temmuz ve Ağustos ayı TÜFE rakamları da bu durumu teyit etmektedir.

Çizelge 2. IMF Gıda Piyasa Fiyatları, 2020-2021

Mal	Birimler	2020Q3	2020Q4	2021Q1	2021Q2	7-2021	8-2021
Buğday	\$/MT=\$/1000 kg.	183.0	210.5	236.2	252.4	243.6	274.9
Mısır	\$/MT=\$/1000 kg.	156.2	192.2	241.0	288.5	278.4	257.0
Pirinç	\$/MT=\$/1000 kg.	480.3	472.7	518.9	467.4	414.9	386.8
Arpa	\$/MT=\$/1000 kg.	102.3	107.6	134.2	179.2	180.2	169.8
Yulaf	\$/MT=\$/1000 kg.	2.8	3.1	3.6	3.8	4.3	4.9
Sorgum Yem Bitkisi	\$/MT=\$/1000 kg.	8.8	12.8	15.5	16.9	16.0	16.0
Soya Fasulyesi	\$/MT=\$/1000 kg.	342.6	416.9	510.7	550.6	523.6	504.0
Soya Unu	\$/MT=\$/1000 kg.	331.3	425.9	470.4	440.9	397.6	391.0
Ayçiçek Yağı	\$/MT=\$/1000 kg.	1065.4	1326.3	1725.6	1814.2	1560.3	1678.7
Zeytin Yağı	\$/MT=\$/1000 kg.	2986.0	1996.3	3766.8	4337.2	4402.4	4383.3
Bifttek	Cts/lb	199.2	190.0	202.3	237.2	245.7	247.1
Domuz Eti	Cts/lb	54.7	68.7	75.2	109.3	109.5	106.3
Kuzu	Cts/lb	112.7	113.8	128.3	146.9	150.0	150.1
Kümes Hayvanları	Cts/lb	89.5	101.9	112.3	140.1	142.0	144.7
Balık	\$/kg	5.6	5.3	6.4	7.6	7.1	6.6
Karides	\$/kg	6.9	7.3	7.2	7.3	7.3	7.3
Şeker Serbest Pazar	Cts/lb	12.4	14.6	16.2	16.9	17.7	19.4
Şeker ABD	Cts/lb	27.0	28.4	29.6	32.3	36.1	35.2
Domates	Cts/lb	3.0	3.6	4.0	4.5	4.4	4.4
Elma	\$/kg	3.6	3.3	3.3	3.4	3.4	3.3
Portakal	\$/MT=\$/1000 kg.	1.2	1.2	1.1	1.2	1.3	1.4
Yerfıstığı+Ağaç Fıstığı	\$/MT=\$/1000 kg.	1935.2	1964.4	1978.6	2017.5	2084.9	2053.3
Muz	\$/MT=\$/1000 kg.	1252.5	1139.6	1231.5	1229.3	1238.7	1228.7
Süt	Cts/lb	20.3	20.1	16.0	16.2	18.1	17.8
Nohut	\$/kg	62.6	69.9	67.7	76.5	72.6	75.0
Kakao Çekirdeği	Cts/lb	2302.8	2352.4	2415.7	2380.7	2328.3	2477.5
Çay	\$/MT=\$/1000 kg.	249.5	252.5	256.8	237.3	225.4	257.9
Girdi maliyetleri							
Sıvılaştırılmış Doğal Gaz	\$/mmbtu	3.5	8.2	11.3	10.0	14.1	16.6
Petrol-Propane Gas	\$cents/gallon	0.5	0.6	0.9	0.9	1.1	1.1
Nitrojen gübresi	\$/ST	228.0	234.4	356.4	406.0	435.6	425.0
Fosfat gübresi	\$/MT=\$/1000 kg.	328.8	364.9	512.9	597.1	659.1	660.0
Potasyum gübresi	\$/MT=\$/1000 kg.	202.5	202.5	202.5	202.5	202.5	221.0

Kaynak: IMF (2021) <https://www.imf.org/en/Research/commodity-prices>

1 lbs = 0,45 kg; 1 lbs = 0,00045 ton.

Çizelge 3'te görüldüğü üzere 2021 yılı yaz sezonunda dört ay süreyle gıda ve alkolsüz içecekler grubu fiyatları sürekli artmıştır. Gıda ve içecek grubundaki bu artışın nedenleri arasında Covid-19 kaynaklı gıdaya olan aşırı talep, iklimsel değişiklikler ve kuraklık, rekor düşük arz

güvenliğinin sağlanamaması gibi çeşitli faktörler sayılabilir. Pandemi zamanında gıda fiyatlarındaki artışlar dar gelirli tüketicileri ciddi derecede olumsuz yönde etkilemektedir (Jomo ve Chowdhury, 2020: 230).

Çizelge 3: Gıda ve Alkolsüz içecek grubunun TÜFE ve değişim oranları (%) Haziran-Temmuz-Ağustos-Eylül 2021

Ana harcama grupları	Harcama grubu ağırlıkları	Bir önceki aya göre değişim(%)	Bir önceki yılın Aralık ayına göre değişim (%)	Bir önceki yılın aynı ayına göre değişim (%)	12 aylık ortalamalara göre değişim oranı (%)	Endeks
Eylül						
TÜFE	100.00	1,25	13.04	19.58	16.42	570.66
Gıda ve alkolsüz içecekler	25.94	0.50	17.05	28.79	20.77	711.76
Ağustos						
TÜFE	100.00	1.12	11.65	19.25	15.78	563.60
Gıda ve alkolsüz içecekler	25.94	3.18	16.48	29.00	19.64	708.25
Temmuz						
TÜFE	100.00	1.80	10.41	18.95	15.15	557.36
Gıda ve alkolsüz içecekler	25.94	2.77	12.89	24.92	18.35	686.41
Haziran						
TÜFE	100.00	1.94	8.45	17.53	14.55	547.48
Gıda ve alkolsüz içecekler	25.94	0.88	9.84	19.99	17.33	667.88

Kaynak: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=T%C3%BCketici-Fiyat-Endeksi-A%C4%9Fustos-2021-37386&dil=1>, erişim: 17.09.2021.

Çizelge 4'e göre Ağustos ayında fiyatı en çok artan ürün %56.30 ile salatalık olurken bunu sırasıyla kabak, limon ve taze fasulye izlemektedir.

Temmuz ayında aynı sebze-meyve fiyatlarındaki artışlar Ağustos ayında da devam etmektedir.

Çizelge 4: TÜFE'de aylık olarak en yüksek artış gösteren seçilmiş maddeler ve değişim oranları, Temmuz-Ağustos 2021

Ağustos		Temmuz	
En yüksek artış gösteren seçilmiş maddeler	Bir önceki aya göre değişim oranı %	En yüksek artış gösteren seçilmiş maddeler	Bir önceki aya göre değişim oranı %
Salatalık	56.30	Yurt içi Bir Hafta ve Daha Fazla Süreli Turlar	29.42
Kabak	43.85	Salatalık	19.63
Limon	36.14	Kuru Soğan	18.33
Taze Fasulye	32.79	Kayısı	16.12
Karpuz	21.74	Elektrik Ücreti	15.01
Kuru Soğan	19.11	Limon	14.72
Yumurta	17.90	Karpuz	13.66
Tren Ücreti (Şehirlerarası)	15.49	Sinema	13.08
Patlıcan	14.93	Tüp Gaz Ücreti	12.00
Kıvırcık	13.42	LPG Ücreti	9.95
Sarımsak	13.07	Doğalgaz Ücreti	9.84

Çizelge 4: devam

Ağustos		Temmuz	
En yüksek artış gösteren seçilmiş maddeler	Bir önceki aya göre değişim oranı %	En yüksek artış gösteren seçilmiş maddeler	Bir önceki aya göre değişim oranı %
Spor Müسابakalarına Giriş Ücreti	12.34	Hazır Sütü Tatlilar	9.04
Kavun	12.31	Elma	8.84
Cilt ve Vücut Ürünleri	12.00	Hazır Kahve	8.72
Kaşar Peyniri	9.40	Yoğurt	7.85
Makyaj Malzemeleri	8.57	Ayran	7.56
Yeşil Soğan	8.36	Mercimek	6.57
Ayran	7.30	Otel Ücreti	6.51
Deodorant	7.27	Şeftali	6.49
Elma	6.96	Süt	6.19

Kaynak: TÜİK (2021), <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=T%C3%BCketici-Fiyat-Endeksi-A%C4%9Fustos-2021-37386&dil=1>, erişim: 17.09.2021

Ağustos 2021 verilerine göre TÜFE'de yer alan 415 maddenin 59 adedinin ortalama fiyatı düşerken, 49 adedinde bir değişim olmamıştır. 307 maddenin ortalama fiyatında ise artış yaşanmıştır (TÜİK, Ağustos 2021). Dünyadaki artışa paralel olarak temel gıda maddesi olan buğday fiyatları da Türkiye'de 2021 yılı itibari ile ciddi oranda artmıştır. Temel hammadde olan buğdayın artması ise un ve un mamullerinden olan diğer ürünlerin maliyetlerinde artış demektir. Bu maliyet artışları ise doğrudan tüketici fiyatlarına yansacaktır. Yani tüketici bu ürünleri daha pahalıya satın alacaktır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada gıda fiyatlarında görülen aşırı artışların olası nedenleri ve Covid-19'un gıda fiyatlarına ne tür etkilerde bulunduğu incelenmiştir. Covid-19 döneminde hangi ürünlerin fiyatlarında aşırı bir artışın yaşandığı, bu fazlalık olan fahiş miktar ya da oranının neye göre nasıl belirlendiği, hangi ürünlerde fahiş fiyat oranının nereden ya da kimlerden kaynaklandığının (örneğin stokçuluktan) ispat edilmesi gerekir. Çalışmada tarımsal ürünlerde görülen aşırı fiyat artışlarının nedenleri şu şekilde ortaya çıkmıştır:

Birincisi üreticinin girdi maliyetlerindeki (petrol, doğal gaz, elektrikli sulama, mazot, gübre, tohum, ilaç, işçilik, ekim-dikim malzemeleri vb.) ciddi artışlardır. Özellikle mevsimlik yaş meyve-sebze

üretiminde kullanılan bu girdilerin çoğu IMF 2021 verilerinde de görüldüğü üzere ABD doları olarak satıldığı için yerli üreticiye pahalı gelmektedir. Örneğin doğalgaz, elektrik, petrol ürünleri, tarımsal hammaddeler, gübre, ilaç fiyatlarındaki artışların ne kadarının yurt dışı kaynaklı olduğu, ne kadarının doğal afetler, salgın, savaş, terör vb. olaylarla ilgili olduğu bilimsel metotlarla bölgesel olarak analiz edilmesi ve kamuoyunun buna ikna edilmesi gerekir. Tadesse vd (2014) doğal afet, petrol fiyatlarındaki artışlar, ekonomik büyüme, arz ve talep şoklarının gıda fiyatlarının aşırı artmasında önemli etkenler olduğunu belirtmektedirler. Örneğin Dedeoğlu ve Kaya (2014) petrol fiyatlarında görülen artışların üretici fiyat artışlarında çok daha etkili olduğunu belirtmektedir. Varlık (2021) ise gıda fiyatlarındaki balonları dikkate alarak merkez bankasının arz yönlü şoklara dayalı politikalara öncelik verebileceğine dikkat çekmektedir. Yazarın çalışmasına göre Kırılgan sekizli ülkeleri içinde pandemi döneminde en büyük gıda fiyat balonu Türkiye ve Şili'de oluşmuştur. Diğer taraftan 2021 yaz aylarındaki yangınların tarım alanlarına ve seralara verdiği zararlar nedeniyle ne kadarlık bir rekolte düşüşün olacağı ve bunun fiyat artışları üzerindeki etkisi araştırılabilir.

İkincisi tarımsal ürünlerin şehirlerarası nakliyesinde oluşan masraflardır (aracın günlüğü, şoförün günlüğü, köprü ücreti, malda oluşan fireler, hal giriş ücretleri vb.). Üçüncüsü zincir

marketlerle ilgili piyasada oluşan bazı endişelerdir. (Ör. sayısı, tekelleşme eğilimleri, yüklü miktarda malı daha ucuza alma). Dördüncüsü üreticiden-tüketicieye ürünlerin akışında fazla aracılık hizmetlerinin (kabzımal-tüccar, manav, pazarcı vb.) olması dolayısıyla ödenen komisyon ve kar marjlarının fiyatlara yansımalarıdır. Beşincisi belediyelere ödenen hal rüsum vergisi, mal alış ve satışında ödenen KDV oranlarının fiyatlara yansımalarıdır.

Altıncısı zaman zaman mevcut durumu kötüye kullanarak (ör. doğal afetler, iklim şartları, salgın vb. bahane edilmesi) istismarcılık-stokçuluk yapan kişi ve kuruluşların etik dışı tutum ve davranışlar sergilemesidir. Gıda maddelerinin depolanmasında haklı ve makul gerekçeler olabilir (kısa sürede satılamama gibi). Ancak onlarca ton malın ne zaman, nasıl ve hangi şartlarda ne maksatla depolandığı da soruşturulmalıdır. Son olarak özellikle Covid-19 nedeniyle tarım işçilerinin üretime katılamamaları ve ithal edilmek istenen ürünlerin gelmemesi nedeniyle artan talep karşısında arz daralmış; bu da fiyat artışını tetikleyerek gıda ürünlerinin daha pahalı hale gelmesine neden olmuştur. Kharaişvili (2017) gıda fiyatlarındaki aşırı artışların tüketicilerin dengeli beslenip, sağlıklı ürünlere erişimini de kısıtladığını belirtmektedir.

Türkiye’de gıda fiyat artışları ile alakalı şu tespitleri de yapıp okuyucunun takdirine bırakmak yerinde olacaktır:

İlk olarak, Türkiye’de Ramazan ayı yaklaşırken bunu fırsat bilip, gıda fiyatlarını lüzumsuz yere artıran satıcıların olduğu iddialarıdır. Örneğin Ramazan ayı öncesi market fiyatları ile tarla (üretici) arasında 4-5 kat fiyat farkı olduğu medyada farklı zamanlarda bazı Meslek Odaları tarafından da dile getirilmiştir. İkincisi, aracısız satış yapıp üretici ve tüketici arasında denge kurmaya çalışan; Belediyelerin desteklediği tanzimli satış noktaları ile Tarım Kredi Kooperatifleri Marketlerinin durumudur. Bu marketlerin sağlıklı ürünleri sürekli bulundurma, çeşitlilik, kalite ve fiyat açısından tüketiciye olan katkıları yanında diğer küçük esnaflarla olan rekabet durumunu da gözden geçirmek gerekir. Çünkü tüketiciler alışveriş mekanlarını avantaj ve

dezavantajlarını kıyaslayarak seçmektedir (Geuens vd. 2003; Hansen, 2003; Selvi, 2007). Üçüncüsü yapılan denetimlerin fiyat artışları üzerindeki etkisinin ne olacağı ve bu etkinin ne kadar süreceği, sorunun kökten çözülmesine ilişkin bilimsel temeli olan, Türkiye’nin gerçeklerine uygun ne tür kararların alınıp-uygulanacağı konusundaki beklentilerdir.

Son olarak aşırı fiyat artışları ile mücadelede ekonomik kurallara uygun hareket etmek çok önemlidir. Ülkedeki enflasyon oranının yükselmesi ve döviz kurundaki artışlar ithal edilen tarımsal girdi maliyetlerini artırmakta bu ise üretimi hem pahalılaştırmakta hem de azaltmaktadır. Ayrıca yurt içi pazara yeterli miktarda gıda maddelerinin sürülebilmesi de gıda ürünlerine erişimde oldukça önemli konulardan biridir. Duru vd. (2021) yaş meyve-sebze ihracatının yanı sıra gıda ve tarım ürünleri piyasalarındaki yapısal sorunların enflasyonist etki yaptığını ve arz talep dengesini bozduğunu belirtmektedirler. Tan (2019) tarımsal girdilerine sağlanacak yeterli sübvansiyonlarla girdi fiyatlarının düşerek üretim maliyetini azaltacağını; böylelikle enflasyonun azalmasına katkı sağlanabileceğine işaret etmektedir. Kullanılmayan tarım alanlarının işlenebilmesi, toprak kayıplarının önlenmesi ve verimliliği artırıcı önlemlerin alınması gibi konular da fiyatların aşağı çekilmesinde son derece önemlidir.

SONUÇ

Gıda maddelerinin fiyatlarında yaşanan aşırı artışların nedenleri ve Covid-19’un aşırı fiyat artışlarına etkisinin incelendiği bu çalışmada ortaya çıkan sonuçlar şu şekilde özetlenebilir: Dünyada ve Türkiye’de gıda maddelerinin fiyatı sürekli artmaya başlamıştır. Bunun nedenleri arasında dünyadaki gelişmelere paralel olarak üretici girdi fiyatlarındaki artışlar, nakliye masrafları, aracılık hizmet maliyetleri, ödenen KDV oranları, istismarcılık ve stokçuluk yapmak isteyen ve etik dışı tutum ve davranış sergileyen kişi ve kuruluşların olması gibi hususlar sayılmaktadır. Belirsizlik şiddetinin arttığı Covid-19 salgını ile beraber bu dönemde fırsatçı ve kötü niyetli kişilerin bu durumdan çıkar sağlamak için fahiş fiyat uygulama girişimlerinde

bulunabildikleri ilgili literatürden anlaşılmıştır. Dünyadaki gelişmelere paralel olarak Türkiye’de de tarımsal girdilerin (mazot, elektrikli sulama, gübre, tohum, ilaç, işçilik, ekim-dikim malzemeleri, ambalajlama vb.) maliyetlerinde ciddi fiyat artışlarının olduğu belirlenmiştir. Üretici bu girdilerin önemli bir kısmını kendi ülkesinden karşılayamıyorsa bu sorunlar devam edecektir. Araştırmada gıda ürünlerinin taşınmasında nakliye masraflarının artması, hal giriş ücretlerinin artması, fazla olan araçların komisyon ve kar marjlarının da eklenmesi ve diğer masraflarla birlikte gıda fiyatlarında açıklanabilir aşırı artışların yaşandığı bir gerçektir. Üreticinin tarladaki mahsulünün alındığı fiyat, çiftçinin ürününü korumak için gerekli-uygun saklama ve depolama koşullarına yeterince sahip olamaması, soğuk zincir imkanlarından mahrum olması, satış ve pazarlama konusunda endişesi taşıması, alım garantisinin olup-olmaması, ezilme, çürüme, bozulma gibi firelerin çok olması gıda fiyatlarındaki ciddi artışların nedenleri arasındadır. Tüketiciler için hayati önem taşıyan gıda maddelerindeki bu fiyat artışları, tüketicilerin mağduriyet yaşamalarına ve yaşam kalitelerinin düşmesine neden olmaktadır. Diğer taraftan, bir ülkede piyasada aşırı fiyat artışlarının temel nedenleri arasında şüphesiz milli paranın değeri, dövizdeki dalgalanmalar, vatandaşın yaşadığı hayat pahalılığına dayalı gerçek enflasyon oranı, teşvik ve destekleme miktarı, mevcut yasal düzenlemelerin yürürlük tarihinden itibaren ülke çapında ne sıklıklarla uygulandığı, kontrol ve denetimlerin ne tür etki ve sonuçlarının olduğu gibi hususlar da çok önemlidir.

ÖNERİLER

Bu araştırmada elde edilen nitel karakterli bulgular ve ortaya çıkan sonuçlara göre ilgili, görevli ve sorumlulara ilişkin şu önerilerde bulunmak yerinde olacaktır:

-Üreticiden tüketiciye tedarik zincirinde hangi mal ve hizmetlere ilişkin aşırı fiyatların hangi aşamada, nerede ve nasıl oluştuğuna ilişkin bölgesel olarak yapılacak bilimsel araştırma sonuçlarına ihtiyaç vardır. Çünkü bilimsel veriler doğru tespit ve doğru karar almaya yardımcı olacak ve sorunun çözümüne ciddi katkı sağlayacaktır.

-Ticaret Bakanlığı önderliğinde stokçuluk, fahiş fiyat eylemleri gibi rekabete aykırı hareket eden işletmelere yönelik kontrol ve denetimler eğer ülke çapında hukuk çerçevesinde piyasayı rahatsız etmeden, dikkatlice, denetim ilke ve kurallarına uygun olarak, sürekli ve istikrarlı yapılabilirse aşırı fiyatlama ile mücadelede kısmen yararlı olabilir.

- Belediye tanzimli satış noktaları ve Tarım Kredi Kooperatifleri Marketlerinin ürün kalitesi, ürün çeşitliliği, fiyatları, personelin tutum ve davranışları vb. konularda tüketicilerin neler düşündükleri ve nasıl bir algıya sahip oldukları, bu marketler ile diğer küçük esnaf arasında haksız bir rekabetin olup-olmadığına ilişkin kaygılar gözden uzak tutulmamalıdır. Bu konularda sık sık tüketicilere, üreticilere ve tedarik zincirindeki üyelerin nasıl bir algı ve tutuma sahip olduklarına ilişkin bilimsel esaslara dayalı piyasa araştırmaları yapılmalı ve sonuçlarına göre bu marketlere ilişkin politikalar gözden geçirilmelidir.

-Türkiye’de yerel üretici kooperatifleri Anadolu’da eğer yaygınlaştırılır, birlikte hareket ederek, etkin bir şekilde hukuka ve amacına uygun olarak liyakatli kişilerce yönetilirse daha sağlıklı, bol, fire vermeden, diğer maliyetleri de düşürerek üretim yapılması mümkün olabilir. Böylece hem üretici korunmuş hem de tüketici makul fiyatlardan gıda ürünlerine kavuşmuş olur.

-Büyük şehirlerin ihtiyacı olan mevsimlik yaş meyve ve sebzelerin daha yakın tarımsal alanlarda üretilmesinin teşvik edilmesi gerekir. Bu bakımda bölgesel planlamaya dayalı üretim modeli ve teşvik sisteminin hayata geçirilmesi gerekir. Türkiye’de hangi bölgede ne tür ürünlerin ne zaman üretileceği, ülkenin iç piyasada o ürüne ne kadarlık bir ihtiyacın olduğu, ne kadarlık sulama yapılacağı, ne kadar gübre ve tohuma ihtiyaç duyulacağı, mazot ve elektrik desteklerinin nasıl yapılacağına ilişkin ciddi planlamaların yapılması ve uygulanması gereklidir.

-Türkiye’de daha önceki senelerde yapılan Tarımsal Şuralarda alınan kararlar dikkate alınmalıdır. Bu kararların nasıl uygulandığı, uygulamanın etki ve sonuçlarına ilişkin somut kanıtlar kamuoyu ile paylaşılmalıdır. Özellikle

dünyadaki enerji krizi, iklim değişiklikleri konusunda ileriye dönük tedbirler ve politikalara hız verilmelidir.

-Tarımsal üretim yapanların artan girdi maliyetleri konusunda üreticiyi rahatlatıcı somut desteklemeler yapılmalı, ürün alım garantileri verilmelidir. Üretici eğer malının satış ve pazarlamasına ilişkin bir kaygı ve endişe hissetmez ise zaten bildiği işi dört elle yapmaya ve üretmeye devam edecektir.

-Yeni HAL kanunu ve perakendecilik yasası ile üreticiden tüketiciye tedarik zincirindeki aracı hizmet ve bedellerinin yeniden düzenlenmesi suretiyle, taraflar arasında ortak bir yol bularak, sorunların kaynağına ilişkin çözüm maddelerinin belirlenip, aracılık hizmet ve maliyetlerinin en aza indirilmesi sağlanmalıdır. Üreticiler sattıkları ürününün parasını en kısa sürede alabilmesi, gıda ürünlerinin alım-satımında ödenen KDV oranlarının ya sıfırlanması ya da en az seviyeye indirilmesi sağlanmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu derleme makalesiyle ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışmanın hazırlanması ve yayımlanmasında ismi geçen yazarlar dışında hiç kimsenin ya da hiç bir kuruluşun herhangi bir katkısı olmamıştır. Her iki yazar da makalenin yazılmasında ve yayımlanmasında eşit katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Algan, N., İşcan, E., Oktay, D.S (2021). Petrol fiyatının gıda fiyatları üzerine asimetrik etkisi: Türkiye örneği. *Çukurova Üniv Sos Bi. Ens Der*, 30(1), 11-21, <https://doi.org/10.35379/cusosbil.748530>

Aydın, A. B., Özer, N. (2020). Turkey: COVID-19'un rekabet hukukundaki etkileri: Rekabet otoriteleri salgına nasıl cevap veriyor?

<https://www.mondaq.com/turkey/antitrust-eu-competition-/948644/covid-1939un-rekabet-hukukundaki-etkileri-rekabet-otoriteleri->

salg305na-nas305l-cevap-veriyor (Erişim tarihi: 15.09.2021).

Basco, S., Domènech, J., Rosés, J. R. (2021). The redistributive effects of pandemics: Evidence on the Spanish flu. *World Dev*, 141, 105389, <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2021.105389>

Bayramoğlu, A. T., Yurtkur, A. K. (2015). Türkiye'de gıda ve tarımsal ürün fiyatlarının uluslararası belirleyicileri. *Anad. Üniv. Sos. Bil. Der.*, 15(2), 63-74, <https://doi.org/10.18037/ausbd.84248>

Boshoff, W. H. (2021). South African competition policy on excessive pricing and its relation to price gouging during the COVID-19 disaster period. *S Af J of Eco*, 89(1), 112-140, doi:10.1111/saje.12268

Buccafusco, C., Hemel, D. J., Talley, E. L. (2021). Price gouging in a pandemic. Working Paper No: 652, https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3758620 (Erişim tarihi: 15.10.2021).

Cabral, L., Xu, L. (2020). Seller reputation and price gouging: Evidence from the COVID-19 pandemic. *Covid Economics: Vetted and Real-Time Papers*, 12, 1-20, <https://doi.org/10.1111/ecin.12993>.

Cavallo, A., Cavallo, E., Rigobon, R. (2014). Prices and supply disruptions during natural disasters. *Rev of Inc and Wealth*, 60(52),5449-5471, <https://doi.org/10.1111/roiw.12141>.

Dave M., Karen R., Stephen B. R., Scott, S. (2020). The impact of the Covid-19 pandemic on food price indexes and data collection. *Monthly Lab Rev*, 143, 1, <https://doi.org/10.21916/mlr.2020.18>.

Dedeoğlu, D., Kaya, H. (2014). Pass-through of oil prices to domestic prices: Evidence from an oil-hungry but oil-poor emerging market. *Eco Mod*, 43, 67-74, doi: 10.1016/j.econmod.2014.07.038.

Duru S., Hayran S., Gül, A. (2021). Türkiye'de gıda enflasyonunun tarım ve gıda ürünleri ihracatına etkilerinin çoklu doğrusal regresyon

- analizi ile incelenmesi. *The J Int Sci Res*, 6(1), 10-18, <https://doi.org/10.23834/isrjournal.832092>.
- Edwards, F., Dixon, J., Friel, S., Hall, G., Larsen, K., Lockie, S., Hattersley, L. (2011). Climate change adaptation at the intersection of food and health. *Asia Pac J Public Health*, 23(2), 91-104, doi: 10.1177/1010539510392361.
- Engle, R. F., & Rangel, J. G. (2008). The spline-GARCH model for low-frequency volatility and its global macroeconomic causes. *The Rev of Fin Stud*, 21(3), 1187-1222, <https://doi.org/10.1093/rfs/hhn004>.
- Erkesim, D.U. (2021). Impact of covid-19 on supply chain management. *Int J Com and Fin*, 7 (1), 72-76.
- FAO Food Price Index (2021). <http://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en/> (Erişim tarihi: 01.10.2021).
- Geuens, M., Brengman M., Jegers, R.S. (2003). Food retailing, now and in the future A consumer perspective, *J Ret and Cons Serv*, 10 (4), 241-251, [https://doi.org/10.1016/S0969-6989\(02\)00017-6](https://doi.org/10.1016/S0969-6989(02)00017-6)
- Güloğlu, B., Nazhoğlu, Ş. (2013). Enflasyonun tarımsal fiyatlar üzerindeki etkileri: Panel Yumuşak Geçiş Regresyon Analizi. *Siyaset, Eko ve Yön Der*, 1(1), 1-20.
- Hansen, T. (2003). Intertype competition specialty food stores competing with supermarkets, *J Ret and Cons Serv*, 10 (1), 35-49, doi:10.1016/S0969-6989(01)00038-8.
- Harrison, M., Lee, A., Findlay, M., Nicholls, R., Leonard, D., Martin, C. (2010). The increasing cost of healthy food. *Aust and New Zealand J Publ Health*, 34(2), 179-186, doi: 10.1111/j.1753-6405.2010.00504.x.
- Heinen, A., Khadan, J., Strobl, E. (2019). The price impact of extreme weather in developing countries. *The Eco J*, 129(619), 1327-1342, <https://doi.org/10.1111/ecej.12581>.
- IMF Gıda Piyasa Fiyatları (2021). <https://www.imf.org/en/Research/commodity-prices> (Erişim tarihi: 15.09.2021).
- Jordà, Ò., Singh, S. R., & Taylor, A. M. (2020). Longer-run economic consequences of pandemics? *The Rev of Eco and Statistics*, 1-29, https://doi.org/10.1162/rest_a_01042
- Karasar, N. (2014), *Bilimsel araştırma yöntemi*, 27. Baskı, Ankara, Nobel Yayın Dağıtım.
- Kornher L, Kalkuhl, M. (2013). Food price volatility in developing countries and its determinants. *Quarterly, J Int Agric*, 52(4), 277-308, doi: 10.22004/ag.econ.156132.
- Kalkuhl, M., Von Braun, J., Torero, M. (2016). *Food price volatility and its implications for food security and policy*, Springer Nature, doi: 10.1007/978-3-319-28201-5.
- Karali, B., Power, G. J. (2013). Short-and long-run determinants of commodity price volatility. *Am J Agric Econ*, 95(3), 724-738, <https://doi.org/10.1093/ajae/aas122>.
- Kharraishvili, E. (2017). Challenges for sustainable food security in Georgia. Paper presented at XV EAAE Congress in Parma: Towards Sustainable Agro-Food Systems: Balancing between Markets and Society, Parma, Italy, 29 August – 1 September 2017.
- Kutlu, Ş.Ş. (2021). Türkiye’de Gıda Enflasyonunun Belirleyicileri: SVAR Modelinden Kanıtlar. *EKEV Akad Der*, 25 (87), 581-598.
- Medical Press (2014). Ebola-hit countries seek recovery plan to “keep standing.” <http://medicalxpress.com/news/2014-12-ebola-hit-countries-recovery.html> (Erişim tarihi: 10.09.2021).
- Narayan, P. K., Narayan, S., Smyth, R. (2009). Understanding the inflation–output nexus for China. *China Econ Rev*, 20(1), 82-90, <https://doi.org/10.1016/j.chieco.2008.10.012>.
- Nazhoğlu, S., Soytas, U. (2012). Oil price, agricultural commodity prices, and the dollar: A panel cointegration and causality analysis. *Energy Econ*, 34(4), 1098-1104, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eneco.2011.09.008>.
- Nicomedes, C. J. C., Avila, R. M. A. (2020). An analysis on the panic during COVID-19 pandemic through an online form. *J Affect*

- Disord*, 276, 14-22, <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.06.046>.
- Noy, I. (2009). The macroeconomic consequences of disasters. *J Dev Econ*, 88(2), 221-231, <https://doi.org/10.1016/j.jdeveco.2008.02.005>.
- OECD (2020). Exploitative pricing in the time of COVID-9. <https://www.oecd.org/competition/Exploitative-pricing-in-the-time-of-COVID-19.pdf> (Erişim Tarihi: 15.09.2021).
- Pelling, M., Özerdem, A., Barakat, S. (2002). The macro-economic impact of disasters. *Prog in Dev Stud*, 2(4), 283-305, <https://doi.org/10.1191/1464993402ps042ra>.
- Prentice, C., Chen, J., Stantic, B. (2020). Timed intervention in COVID-19 and panic buying. *J of Ret and Cons Ser*, 57, 102203.
- Quiggin, J. (2007). Drought, climate change and food prices in Australia. School of Economics and School of Political Science and International Studies, Univ of Queensland, St Lucia, QLD Australia.
- Sakai, Y., Estudillo, J. P., Fuwa, N., Higuchi, Y., Sawada, Y. (2017). Do natural disasters affect the poor disproportionately? Price change and welfare impact in the aftermath of Typhoon Milenyo in the rural Philippines. *World Dev*, 94, 16-26.)
- Samuels, W. J., Puro, E. (1991). The problem of price controls at the time of natural disasters. *Rev of Soc Econ*, 49(1), 62-75, <https://doi.org/10.1080/00346769100000004>.
- Sayed, A., Peng, B. (2021). Pandemics and income inequality: A historical review. *SN Bus and Econ*, 1(4), 1-17, <https://doi.org/10.1007/s43546-021-00059-4>.
- Selvi, M.S. (2006). “Toptan yaş meyve-sebze satın alma sürecinde büyük alışveriş merkezleri ile meyve-sebze hallerinin satın alma personeli açısından değerlendirilmesi”. *Paz Dün Derg*, İstanbul, Yıl: 20, Sayı: 2, ss.47–55.
- Singh-Peterson, L., Lawrence, G. (2015). Insights into community vulnerability and resilience following natural disasters: perspectives with food retailers in Northern NSW, Australia. *Local Emv*, 20(7), 782-795, <https://doi.org/10.1080/13549839.2013.873396>.
- Tadesse, G.; Algieri, B.; Kalkuhl M., Braun J. von, (2014). Drivers and triggers of international food price spikes and volatility. Food price volatility and its implications for food security and policy, Kalkuhl, Braun, and Torero (Eds.) (p.59-82), *Food Policy*, 47 117–128, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodpol.2013.08.014>.
- Tan, S.S. (2019). Kırsal yoksulluk ve sübvansiyonlar: tarımsal girdi sübvansiyonları açısından bir değerlendirme. XI. Ibaness Congress Series, 9-10 march, Tekirdağ, Türkiye, 714-718.
- Taylor, J. (2000). Low inflation, pass-through, and the pricing power of firms. *Eur Econ Rev*, 44, 1389-1408, [https://doi.org/10.1016/S0014-2921\(00\)00037-4](https://doi.org/10.1016/S0014-2921(00)00037-4).
- TUİK, (2021). <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Tarımsal-Girdi-Fiyat-Endeksi-Temmuz-2021-37277>. (Erişim Tarihi: 15.08.2021).
- TÜFE (2021), <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=T%C3%BCketici-Fiyat-Endeksi-A%C4%9Fustos-2021-37386&dil=1> (Erişim tarihi: 17.09.2021).
- USDA. (2020). Summary findings: food price outlook, 2020. <https://www.ers.usda.gov/data-products/food-price-outlook/summary-findings.aspx> (Erişim tarihi: 09.09.2021).
- Valentina, S. (2020). Covid 19 is driving up food prices all over the world, <https://ilostat.ilo.org/covid-19-is-driving-up-food-prices-all-over-the-world/> (Erişim tarihi: 28.02.2021).
- Varlık, N. (2021). Kırılgan sekizli’de gıda fiyat balonlarının saptanması: küresel kriz-covid 19 pandemi dönemleri için karşılaştırma. *Mehmet Akif Ersoy İİBF Fak Der – 8 (2)*, 1123-1140. <https://doi.org/10.30798/makuiibf.910364>.
- Yoon, J., Narasimhan, R., Kim, M. K. (2018). Retailer’s sourcing strategy under consumer stockpiling in anticipation of supply disruptions. *Int J Prod Res*, 56(10), 3615-3635, <https://doi.org/10.1080/00207543.2017.1401748>.

Yu, M., Yang, C., Li, Y. (2018). Big data in natural disaster management: A review. *Geosci*, 8(5), 165, <https://doi.org/10.3390/geosciences8050165>.

Zhou, L., Wu, X., Xu, Z., Fujita, H. (2018). Emergency decision making for natural disasters:

An overview. *Int J Disaster Risk Reduc*, 27, 567-576, <https://doi.org/10.1016/j.ijdrr.2017.09.037>.

FERMENTE TAHIL BENZERİ ÜRÜNLERİN BİSKÜVİNİN FİZİKSEL, BESİNSEL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Elif Yaver*

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Köyceğiz Yerleşkesi, Konya, Türkiye

Geliş / Received: 24.11.2021; Kabul / Accepted: 27.01.2022; Online baskı / Published online: 31.01.2022

Yaver, E. (2022). Fermente tahıl benzeri ürünlerin bisküvinin fiziksel, besinsel ve duyusal özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2022) 47 (1) 55-65 doi: 10.15237/gida.GD21143

Yaver, E. (2022). *Effect of fermented pseudocereals on physical, nutritional and sensory characteristics of cookie*. *GIDA* (2022) 47 (1) 55-65 doi: 10.15237/gida.GD21143

ÖZ

Bu çalışmada; bisküvinin besinsel değerinin artırılması ve kalite özelliklerinin belirlenmesi amacıyla; bisküvi üretiminde kullanılan buğday unu, %20 oranında ham ve fermente edilmiş tahıl benzeri ürün (TBÜ; karabuğday, kinoa ve amarant) unları ile ikame edilmiştir. TBÜ unlarının bisküvi örneklerinin fiziksel, tekstürel ve duyusal özellikleri ile fitik asit, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Fermente un içeren bisküvilerin fitik asit içeriği ham un içeren örneklerle göre daha düşük bulunmuş, ham karabuğday (%35.36) ve kinoa (%31.36) unları bisküvilerde en yüksek antioksidan aktivite değerlerini sağlamıştır. TBÜ unlarının ilavesi bisküvi örneklerinin çap ve kalınlık değerleri üzerinde önemli ($P > 0.05$) bir etkide bulunmamış, fermente TBÜ unu kullanımı ham unlara göre bisküvi sertliğini artırmıştır. %100 buğday unu içeren bisküvi örneğine en yakın genel beğeni puanları ham ve fermente karabuğday unu içeren bisküvilerde belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, %20 oranında TBÜ unu kullanımının teknolojik kaliteyi önemli derecede etkilemeden fonksiyonel bisküvi üretimine imkân verdiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Karabuğday, kinoa, amarant, fermantasyon, bisküvi

EFFECT OF FERMENTED PSEUDOCEREALS ON PHYSICAL, NUTRITIONAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF COOKIE

ABSTRACT

In this study, wheat flour used in cookie production was substituted with raw and fermented pseudocereal (buckwheat, quinoa and amaranth) flours at 20% level to enhance nutritional value and to determine quality characteristics. Effect of pseudocereal flours on physical, textural and sensory properties, and phytic acid, total phenolic content and antioxidant activity of cookies was studied. Phytic acid content of cookies containing fermented flours was lower than samples containing raw flours, raw buckwheat (35.36%) and quinoa (31.36%) flours provided the highest antioxidant activity in cookies. Addition of pseudocereal flours had no significant ($P > 0.05$) effect on diameter and thickness of cookies, use of fermented pseudocereal flours increased hardness of cookies compared to raw flours. Cookies containing raw and fermented buckwheat flours revealed the closest overall acceptability scores to 100% wheat flour cookie. The results demonstrated that use of 20% pseudocereal flour allows functional cookie production without considerably affecting technological quality.

Keywords: Buckwheat, quinoa, amaranth, fermentation, cookie

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ elifyaver@hotmail.com

☎ (+90) 332 323 7926

☎ (+90) 332 236 2141

Elif Yaver; ORCID no: 0000-0002-2651-9922

GİRİŞ

Karabuğday (*Fagopyrum* spp.), kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) ve amarant (*Amaranthus caudatus*), tahıl benzeri ürün (TBÜ, pseudocereal) olarak tanımlanan antik bitkilerdir. TBÜ'ler; tahıl taneleri (tek çenekli) gibi nişasta açısından zengin bir bileşime sahip olmakla birlikte, botanik olarak çift çenekli bitkiler sınıfında yer almaktadır. Diyet lifi ve dengeli aminoasit kompozisyonuna sahip proteinler açısından zengin olmaları, aynı zamanda mineraller, vitaminler ve fitokimyasallar açısından iyi bir kaynak oluşturmaları TBÜ'leri fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi için uygun bir bileşen yapmaktadır (Martinez-Villaluenga vd., 2020).

Karabuğday; diyet lifi, proteinler, vitaminler, mineraller ve antioksidanlar (özellikle rutin, kuersetin, hiperin ve kateşinler) açısından zengin bir üründür. Karabuğday nişastasında %33-38 oranında dirençli nişasta bulunmakta ve bu da eklendiği gıdalarda glisemik indeksi düşürücü etki göstermesine imkan verebilmektedir (Christa ve Soral-Smietana, 2008). Karabuğdayın kimyasal bileşiminin; anti-oksidatif, anti-kanser, anti-hipertansiyon, anti-diyabetik ve kolesterol düşürücü özellikleri ile ilişkili olduğu, aynı zamanda bağırsak florasını düzenlemeye yardımcı olduğu belirtilmektedir (Zhu, 2016; Zhou vd., 2018).

Kinoa, And Dağları bölgesinde yaklaşık 7000 yıldır yetiştirilen en eski tohumlardan birisidir. Dengeli bir aminoasit kompozisyonuna sahip olan kinoanın bileşiminde %11.7-16.4 protein, %4.69-12.4 yağ ve %1.92-7.14 oranında diyet lifi bulunmaktadır. Birçok tahıl çeşidinde depo protein olan prolaminiği ihtiva etmeyen kinoa, aynı zamanda doymamış yağ asitleri, vitaminler, mineraller ve antioksidanlar açısından zengindir (Hager vd., 2012; Arneja vd., 2015; Jan vd., 2018). Kinoanın eşsiz bileşiminin; metabolik, kardiyovasküler ve gastrointestinal sağlık üzerinde fayda sağlamasında etkili olduğu bildirilmektedir (Vilcacundo ve Hernandez-Ledesma, 2017).

Peru ve Bolivya'da yaygın olarak hasat edilen amarant, bazı Asya ve Avrupa ülkelerinde de yetiştirilebilmektedir. Kinoadan daha küçük

boyutta olan amarant tohumlarının bileşiminde yüksek oranda protein (%13-16), yağ (%7.6-8.5) ve nişasta (%55-67) ile demir, çinko ve kalsiyum gibi mineraller bulunmaktadır (Reguera ve Haros, 2017). Genellikle tahıl tanelerinde düşük miktarda bulunan lisin aminoasidi açısından zengin olan amarantın diyet lifi içeriği de yüksektir (Alvarez-Jubete vd., 2010a). Amarant esaslı diyetin obezite, diyabet, kolesterol, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser riskini azaltmaya yardımcı olabileceği raporlanmaktadır (Mir vd., 2018).

Yukarıda bahsedilen özellikler, TBÜ'lerin gıda endüstrisinde kullanımına yönelik olarak araştırmacıların ilgisini çekmesini sağlamış ve fırıncılık ürünleri, makarna, ekstrüde ürünler, tarhana gibi birçok gıda ürününün formülasyonunda TBÜ'lere yer verilmiştir (Diaz vd., 2013; Kaur vd., 2018; Karademir ve Yalçın, 2019; Demir ve Bilgiçli, 2020). Sanz-Penella vd. (2013), ekmek üretiminde %20 amarant unu ilavesinin ürün kalitesini etkilemeden besinsel değeri artıracağını bildirmişlerdir. Karademir ve Yalçın (2019); tarhana üretiminde karabuğday unu kullanımı ile toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitede önemli bir artış sağlandığını, karabuğday unu içeren tarhananın en yüksek genel beğeni puanına sahip olduğunu raporlamışlardır. Makarna üretiminde %0, 10, 20 ve 30 oranlarında kinoa unu kullanan Demir ve Bilgiçli (2020), makarnaya ilave edilen kinoa oranındaki artışla birlikte örneklerin kül, protein, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve mineral madde içeriğinin de arttığını belirtmişlerdir.

TBÜ'ler önemli besinsel ve fonksiyonel özelliklere sahip olmalarına rağmen, tüketimlerini sınırlandıran fitatlar, tripsin inhibitörleri ve fenolikler gibi antibesinsel bileşikler de içermektedir (Mir vd., 2018; Martinez-Villaluenga vd., 2020). Fermantasyon, besinsel kaliteyi artırmak ve antibesinsel bileşikler gibi istenmeyen bazı maddeleri uzaklaştırmak amacıyla gıdalara uygulanabilen bir procestir. Fermantasyon esnasında oluşan aroma bileşikleri son ürünün duyu kalitesi üzerinde olumlu etkiler sağlayabilmektedir (Kockova vd., 2013). Besleyici değeri yüksek TBÜ'lerin çeşitli mikroorganizmalar aracılığıyla fermantasyona tabi tutulması,

bileşimlerdeki antibesinsel bileşik miktarının azaltılmasına yardımcı olabilmektedir (Castro-Alba vd., 2019).

Son zamanlarda tüketicilerin sağlığa yararlı ve besin değeri yüksek gıda ürünlerine yönelik talebinin artması, bisküvi sektöründe de yeni ürün geliştirme zorunluluğunu ortaya koymuştur (Vogelmann vd., 2009). Bisküvinin besinsel değerinin zenginleştirilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda; tam tahıl unları (Rao vd., 2018), baklagil unları (Obeidat vd., 2013), protein konsantratlari (Wani vd., 2015) ve meyve-sebze işleme yan ürünleri (Varastegani vd., 2015) gibi fonksiyonel bileşenlerin bisküvi formülasyonunda kullanıldığı belirlenmiştir. Ancak, yapılan literatür taramasında, maya ile fermente edilmiş TBÜ unları kullanımının bisküvi kalitesi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada buğday unu %20 oranında ham ve fermente edilmiş karabuğday, kinoa ve amarant unları ile ikame edilerek bisküvi üretiminde kullanılmıştır. Ham ve fermente TBÜ unlarının bisküvinin fiziksel, tekstürel ve duyuşsal özellikleri ile fitik asit, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bisküvilik buğday (*Triticum compactum*) unu (Ova, Konya, Türkiye), karabuğday (Reis, İstanbul, Türkiye), kinoa (Kappadokia, Kırşehir, Türkiye), amarant (Yayla, Mersin, Türkiye), pudra şekeri, şortening, kabartma tozu, tuz, yağsız süttozu, vanilya ve yaş maya (*Saccharomyces cerevisiae*) Konya (Türkiye) piyasasından tedarik edilmiştir.

Yöntem

Fermentasyon

TBÜ'lerin fermente edilmesi amacıyla karabuğday, kinoa ve amarant tohumları laboratuvar tipi bir öğütücüde (Arçelik K3104, İstanbul, Türkiye) öğütülerek un haline getirilmiştir. TBÜ unları 1:15 (w/v) oranında saf su ile karıştırılmış ve %6 oranında yaş maya ilave edilmiştir. Elde edilen karışım 30 °C'deki su banyosunda (Daihan Wisebath WSB-30, Gangwon, Güney Kore) 6 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda, karışım

filtre kağıdı yardımıyla süzölmüş, kalıntı 50 °C'deki kurutma fırınında (Nüve KD-200, Ankara, Türkiye) nem içeriği %10'un altına düşene kadar kurutulmuştur (Baumgartner vd., 2018).

Bisküvi üretimi

Kontrol bisküvi örneğinin üretimi AACC 10-54 metodunun modifiye edilmesi ile gerçekleştirilmiştir (AACC, 2010). Kontrol bisküvi örneğinin üretimi için; 100 g buğday unu, 45 g pudra şekeri, 40 g şortening, 2 g kabartma tozu, 1.25 g tuz, 1 g yağsız süt tozu, 0.5 g vanilya ve su, bir yoğurucu (Hobart N50, Offenburg, Almanya) içerisinde 8 dk süre ile yoğurulmuştur. Elde edilen hamur 5 mm kalınlığında açılmış ve 50 mm çaplı daire şekli verilerek 175 °C'deki fırında (Vestel SF8401, Manisa, Türkiye) 11 dk pişirilmiştir. TBÜ içeren bisküvi örneklerinin üretimi için, buğday unu %20 oranında ham ve fermente karabuğday, kinoa ve amarant unları ile ikame edilmiş, kontrol bisküvi örneğinin üretiminde kullanılan prosedürün aynısı uygulanmıştır. Bisküvi denemeleri iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Bisküviler oda sıcaklığına (25±2 °C) gelene kadar soğutulmuş, daha sonra analiz edilene kadar oda sıcaklığında polietilen torbalar içerisinde muhafaza edilmiştir.

Fitik asit

Hammaddeler ile bisküvi örneklerindeki fitik asit miktarı Haug ve Lantzsich (1983)'e göre belirlenmiştir. Örneklerdeki fitik asit, 0.2 N hidroklorik asit çözeltisinde ekstrakte edilmiştir. 0.5 ml ekstrakta 1 ml amonyum demir (III) sülfat çözeltisi ilave edilerek önce kaynar su banyosunda 30 dk, sonra da buz banyosunda 15 dk inkübasyona bırakılmıştır. Oda sıcaklığına gelen örneklere 2 ml 2,2'-bipiridin çözeltisi eklenmiş ve absorbans değerleri 519 nm'de okunmuştur. Örneklerdeki fitik asit miktarı, kuru madde esasına göre mg/100 g olarak verilmiştir.

Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite

Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir (Gamez-Meza vd., 1999). Öğütölmüş örnekler (1 g), 10 ml çözücü (metanol:saf su:HCl, 80:10:1, v/v/v) içerisinde 2 saat süre ile 50 °C'deki

çalkalamalı su banyosunda (Daihan Wisebath WSB-30, Gangwon, Güney Kore) inkübe edilmiştir (Beta vd., 2005). Analiz için; 0.1 ml ekstrakt üzerine 1.5 ml sodyum karbonat (%20, w/v), 0.5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (%10, v/v) ve 7.9 ml saf su eklenmiş, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 2.5 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerin absorbans değeri 760 nm'de okunmuş, toplam fenolik madde miktarı kuru madde esasına göre mg gallik asit eşdeğeri/100 g (mg GAE/100 g) olarak verilmiştir.

Örneklerin antioksidan aktiviteleri 2-2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) metoduna göre belirlenmiştir (Gyamfi vd., 1999; Beta vd., 2005). 0.1 ml ekstrakt üzerine 0.9 ml Tris-HCl tampon çözeltisi ve 2 ml metanolik DPPH çözeltisi ilave edilerek 30 dk boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri 517 nm'de köre karşı okunarak aşağıdaki formül yardımıyla antioksidan aktivite belirlenmiştir:

$$\text{Antioksidan aktivite (\% inhibisyon)} = \frac{(Abs_{Kör} - Abs_{Örnek})}{Abs_{Kör}} * 100$$

Renk

Bisküvi örneklerinin renk L^* , a^* ve b^* değerleri Minolta CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japonya) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Kontrol bisküvi örneği ile TBÜ içeren örnekler arasındaki toplam renk farkı (ΔE) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Francis ve Clydesdale, 1975):

$$\Delta E = \sqrt{(L_{Örnek}^* - L_{Kontrol}^*)^2 + (a_{Örnek}^* - a_{Kontrol}^*)^2 + (b_{Örnek}^* - b_{Kontrol}^*)^2}$$

Çap, kalınlık ve yayılma oranı

Bisküvi örneklerinin çap ve kalınlık değerleri kumpas (Mitutoyo, Tokyo, Japonya) ile AACC 10-54 metoduna göre ölçülmüş (AACC, 2010), çap değerinin kalınlık değerine bölünmesi ile yayılma oranı hesaplanmıştır.

Sertlik ve kırılmalık

Bisküvilerin sertlik ve kırılmalık değerleri tekstür analiz cihazı (Stable Microsystems TA-XT.Plus, Surrey, Birleşik Krallık) kullanılarak, üç nokta kırılma testi tekniğiyle Singh vd. (2015) tarafından bildirilen metoda göre belirlenmiştir. HDP/3PB

probu ve HDP/90 platformu kullanılarak yapılan ölçümler esnasında; ön-test hızı 1.0 mm/sn, test hızı 3.0 mm/sn, son-test hızı 10.0 mm/sn, uzaklık 5 mm ve trigger kuvveti 50 g olarak uygulanmıştır.

Duyusal analizler

Duyusal analizler 6 panelist tarafından, bisküvi örneklerinin renk, tat, koku, görünüş ve genel beğeni özelliklerinin değerlendirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Değerlendirme, 1-9 arasındaki skala (1: aşırı kötü, 5: orta, 9: aşırı iyi) kullanılarak yapılmıştır.

İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler, JMP (SAS Institute, NC, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma, iki tekerrür ve üç paralel olarak yürütülmüştür. Ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları arasındaki farklar Tukey HSD testi ile karşılaştırılmış ($P < 0.05$), sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Hammaddelere ait besinsel analiz sonuçları ve renk değerleri

Bisküvi örneklerinin üretiminde kullanılan buğday unu ile ham ve fermente edilmiş karabuğday, kinoa ve amarant unlarına ait fitik asit, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Hammaddelerde bulunan fitik asit miktarı 142-2027 mg/100 g arasında değişiklik göstermiştir. Fermantasyon işlemi TBÜ unlarının fitik asit içeriğinin azaltılmasında oldukça etkili olmuş; ham karabuğday, kinoa ve amarant unlarının fitik asit miktarı fermantasyon sonunda sırasıyla %74.3, %84.8 ve %73.0 oranında azalmıştır. En düşük fitik asit içeriği fermente kinoa ununda (142 mg/100 g) elde edilmiş, bunu sırasıyla buğday unu (219 mg/100 g), fermente karabuğday unu (466 mg/100 g) ve fermente amarant unu (548 mg/100 g) takip etmiştir. Fitik asit içeriğindeki bu azalma, fermantasyon işlemi ile endojen fitaz enziminin aktivasyonu ve maya tarafından üretilen ekzojen fitaz aktivitesi ile ilişkili olabilir (Özkaya vd., 2017). Castro-Alba vd. (2019); kinoa ve amarant unlarına uygulanan laktik asit fermantasyonu sonucunda, unların fitik asit içeriğinde sırasıyla %74.0 ve %47.2 oranında azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 1. Bisküvi üretiminde kullanılan hammaddelere ait fitik asit, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve renk değerleri

Table 1. Phytic acid, total phenolic content, antioxidant activity and color values of raw materials used in cookie production

Hammadde/ Raw material	Fitik asit (mg/100 g)/ Phytic acid (mg/100 g)	TFM (mg GAE/100 g)	AA (%)	L*	a*	b*
Buğday unu/ Wheat flour	219±11.57 ^f	75.78±3.73 ^e	21.80±0.51 ^e	93.57±0.63 ^a	-0.62±0.38 ^d	10.74±0.31 ^d
HKBU	1812±15.43 ^b	335.99±9.95 ^a	87.36±0.79 ^a	74.21±0.52 ^e	3.60±0.41 ^a	17.15±0.47 ^b
HKU	937±12.74 ^c	215.72±6.78 ^b	53.69±0.81 ^c	77.14±0.66 ^d	1.72±0.45 ^{bc}	19.88±0.53 ^a
HAU	2027±17.60 ^a	95.33±3.60 ^{de}	17.42±0.74 ^f	79.76±0.50 ^c	2.48±0.37 ^{ab}	19.53±0.35 ^a
FKBU	466±10.23 ^e	136.89±5.95 ^c	68.03±0.84 ^b	72.48±0.57 ^e	3.52±0.42 ^a	16.50±0.42 ^{bc}
FKU	142±9.15 ^g	118.56±6.36 ^{cd}	38.18±0.86 ^d	79.76±0.68 ^c	0.67±0.39 ^{cd}	15.20±0.46 ^c
FAU	548±11.25 ^d	78.83±5.19 ^e	18.24±0.85 ^f	82.48±0.49 ^b	1.74±0.41 ^{bc}	16.41±0.51 ^{bc}

Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$)./ Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).

TFM: Toplam fenolik madde/ Total phenolic content; AA: Antioksidan aktivite/ Antioxidant activity; HKBU: Ham karabuğday unu/ Raw buckwheat flour; HKU: Ham kinoa unu/ Raw quinoa flour; HAU: Ham amarant unu/ Raw amaranth flour; FKBU: Fermente karabuğday unu/ Fermented buckwheat flour; FKU: Fermente kinoa unu/ Fermented quinoa flour; FAU: Fermente amarant unu/ Fermented amaranth flour.

Hammaddeler arasında en yüksek toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite ham karabuğday ununda bulunurken, fermantasyon işlemi sonunda ham karabuğday ve kinoa unlarının hem toplam fenolik madde miktarı hem de antioksidan aktivitesinde düşüş gözlenmiştir (Çizelge 1). Bu azalmanın, fermantasyon işleminde kullanılan maya miktarı ve fermantasyon süresi ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Bununla birlikte; fermantasyon işleminde örneklerin suda bekletilmesi, bazı çözümler fenolik bileşiklerin örnekten suya geçmesine ve süzme işlemi ile birlikte örnekten uzaklaşmasına neden olabilmektedir (Özkaya vd., 2017). Fenolik bileşik içeriğindeki azalma, aynı zamanda fermente karabuğday ve kinoa unlarının antioksidan aktivitesinde de düşüşe neden olmuş olabilir (Nkhata vd., 2018). Diğer taraftan; ham ve fermente amarant unları, TBÜ unları arasında en düşük toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite sonuçlarını vermiştir (Çizelge 1). Benzer sonuçlar karabuğday, kinoa ve amarantın toplam fenolik içeriğini ve antioksidan aktivitesini karşılaştıran Alvarez-Jubete vd. (2010b) tarafından da elde edilmiştir.

Fermantasyon işlemi sonunda, ham ve fermente karabuğday unlarının L^* , a^* ve b^* değerleri

birbirine yakın bulunmuştur (Çizelge 1). Bununla birlikte, kinoa ve amarant unlarına ait L^* değeri fermantasyon işlemi ile artmış, a^* ve b^* değerleri ise azalma göstermiştir. Karademir ve Yalçın (2019), bu durumun fermantasyon esnasında fenolik bileşiklerin oksidasyonundan kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir.

Bisküvi örneklerine ait besinsel analiz sonuçları

Bisküvi örneklerine ait fitik asit, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite sonuçları Çizelge 2'de gösterilmiştir. Bisküvi üretiminde fermente TBÜ unu kullanımı, ham TBÜ unlarına göre daha düşük fitik asit miktarı ile sonuçlanmıştır. Fermente TBÜ unlarının ham unlara göre daha düşük fitik asit içeriğine sahip olması bu sonuçlar üzerinde etkili olmuş olabilir (Çizelge 1). Baumgartner vd. (2018); bisküvi formülasyonunda %21 oranında ham yulaf kepeği yerine fermente yulaf kepeği kullanımı ile, bisküvi örneklerinin fitik asit içeriğinin 282.3 mg/100 g'dan 94.0 mg/100 g'a düştüğünü bildirmişlerdir. %20 oranında fermente kinoa unu ile üretilen bisküvinin fitik asit miktarı, kontrol bisküvi örneğine benzer bulunmuş, %20 ham amarant unu içeren örnek ise en yüksek fitik asit miktarını vermiştir (Çizelge 2). Bu sonuç, ham amarant

E. Yaver

ununun diğer hammaddelerden daha yüksek oranda fitik asit içermesi ile ilişkilendirilebilir (Çizelge 1).

Çizelge 2. Bisküvi örneklerine ait fitik asit, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri
Table 2. Phytic acid, total phenolic content and antioxidant activity values of cookie samples

	Fitik asit (mg/100 g)/ Phytic acid (mg/100 g)	TFM (mg GAE/100 g)	AA (%)
Kontrol/ Control	104±4.08 ^f	80.06±1.04 ^e	27.71±0.87 ^{bc}
%20 HKBU	307±5.45 ^b	152.17±1.40 ^a	35.36±0.98 ^a
%20 HKU	175±5.17 ^c	97.78±0.92 ^c	31.36±1.17 ^{ab}
%20 HAU	469±7.66 ^a	82.50±1.23 ^e	26.45±1.11 ^c
%20 FKBU	131±3.52 ^e	130.17±1.04 ^b	29.02±1.20 ^{bc}
%20 FKU	109±3.41 ^f	87.39±0.71 ^d	29.15±0.84 ^{bc}
%20 FAU	153±2.22 ^d	83.11±1.01 ^{de}	25.93±1.31 ^c

Sonuçlar iki tekrardaki üç paralelin ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). / Values are the average of triplicate measurements on the duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).

TFM: Toplam fenolik madde/ Total phenolic content; AA: Antioksidan aktivite/ Antioxidant activity; HKBU: Ham karabuğday unu/ Raw buckwheat flour; HKU: Ham kinoa unu/ Raw quinoa flour; HAU: Ham amarant unu/ Raw amaranth flour; FKBU: Fermente karabuğday unu/ Fermented buckwheat flour; FKU: Fermente kinoa unu/ Fermented quinoa flour; FAU: Fermente amarant unu/ Fermented amaranth flour.

Bisküvi örneklerinin toplam fenolik madde miktarı 80.06 ve 152.17 mg GAE/100 g arasında değişmiştir (Çizelge 2). Ham ve fermente karabuğday ve kinoa unlarını içeren bisküvi örneklerinin toplam fenolik madde miktarı, kontrol örneğinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, karabuğday ve kinoa unlarının toplam fenolik madde miktarının buğday ununa göre daha yüksek olması ile ilişkilendirilebilir (Çizelge 1). Benzer sonuçlar, bisküvi üretiminde %0, 10, 20 ve 30 oranlarında karabuğday unu kullanan Sakac vd. (2015) tarafından da elde edilmiştir. Fermente karabuğday ve kinoa unu kullanımı, ham unlara göre bisküvi örneklerinin toplam fenolik madde miktarının düşmesine neden olmuş, ancak ham ve fermente amarant unu içeren bisküvi örneklerinin toplam fenolik madde miktarı birbirine yakın bulunmuştur (Çizelge 2). Fermantasyon işlemi ile birlikte karabuğday ve kinoa unlarının toplam fenolik madde içeriğinde meydana gelen azalma (Çizelge 1), fermente karabuğday ve kinoa unları ilave edilerek üretilen bisküvi örneklerinin toplam fenolik madde miktarına yansımış olabilir (Çizelge 2).

Bisküvi üretiminde %20 oranında ham karabuğday ve kinoa unu kullanımı en yüksek antioksidan aktivite değerlerini sağlamıştır

(Çizelge 2). Benzer şekilde, Watanabe vd. (2014) %15 oranında kinoa unu ilave edilen bisküvinin kontrolden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu raporlamışlardır. %20 oranında fermente TBÜ içeren bisküvi örneklerinin antioksidan aktivite değerleri ise kontrol bisküvi örneğine yakın bulunmuştur (Çizelge 2). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar; bisküvi üretiminde %20 oranında TBÜ kullanımının, kontrol bisküvi örneğine benzer ya da daha üstün antioksidan aktivite sağladığını ortaya koymuştur. Lorusso vd. (2017) de, makarna üretiminde %20 oranında ham ve fermente kinoa unu kullanımının kontrolden daha yüksek antioksidan aktivite sağladığını bildirmişlerdir.

Bisküvi örneklerine ait renk değerleri

Bisküvi örneklerine ait L^* , a^* , b^* ve ΔE değerleri Çizelge 3'te verilmiştir. Genel olarak, ham ve fermente TBÜ ilave edilerek üretilen bisküvi örneklerinin L^* değerleri birbirine yakın bulunmuştur. Kontrol bisküvi örneği en düşük a^* değerini vermiş, bisküvilerin b^* değeri arasında istatistiki açıdan önemli ($P > 0.05$) bir fark oluşmamıştır. %20 oranında ham amarant unu ilave edilerek üretilen örneğin ΔE değeri 3'ten küçük bulunurken, diğer TBÜ unu içeren örnekler 3'ten daha yüksek ΔE değerleri vermiştir. Francis

Fonksiyonel bisküvi üretiminde tahıl benzeri ürün kullanımı

ve Clydesdale (1975); ΔE değerinin 1-3 arasında olması durumunda örnekler arasında insan gözü tarafından algılanabilecek küçük bir renk farkının

olduğunu, ΔE 'nin 3'ten büyük olması durumunda ise renk farkının belirgin bir şekilde insan gözü tarafından algılanabileceğini belirtmişlerdir.

Çizelge 3. Bisküvi örneklerine ait renk değerleri

Table 3. Color values of cookie samples

	L^*	a^*	b^*	ΔE
Kontrol/ <i>Control</i>	74.66±0.93 ^a	0.18±0.25 ^d	23.34±0.75 ^a	-
%20 HKBU	69.08±1.08 ^{bcd}	2.62±0.33 ^{ab}	22.08±1.08 ^a	6.22±0.79 ^{ab}
%20 HKU	68.60±1.17 ^{cd}	2.18±0.31 ^{abc}	24.07±0.97 ^a	6.42±0.69 ^{ab}
%20 HAU	72.61±0.84 ^{ab}	1.30±0.23 ^c	22.77±0.72 ^a	2.40±0.76 ^c
%20 FKBU	70.12±0.74 ^{bcd}	1.67±0.22 ^{bc}	21.32±0.88 ^a	5.19±0.98 ^{abc}
%20 FKU	67.45±0.66 ^d	2.94±0.18 ^a	24.56±1.03 ^a	7.81±0.88 ^a
%20 FAU	71.43±0.97 ^{abc}	2.22±0.22 ^{abc}	23.92±0.92 ^a	3.86±0.92 ^{bc}

Sonuçlar iki tekrürdeki üç paralelin ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). / *Values are the average of triplicate measurements on the duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).*

HKBU: Ham karabuğday unu/ *Raw buckwheat flour*; HKU: Ham kinoa unu/ *Raw quinoa flour*; HAU: Ham amarant unu/ *Raw amaranth flour*; FKBU: Fermente karabuğday unu/ *Fermented buckwheat flour*; FKU: Fermente kinoa unu/ *Fermented quinoa flour*; FAU: Fermente amarant unu/ *Fermented amaranth flour*.

Bisküvi örneklerine ait fiziksel ve tekstürel analiz sonuçları

Bisküvi örneklerinin çap ve kalınlık değerleri sırasıyla 59.37-62.64 mm ve 5.81-6.49 mm arasında değişmiş, örnekler arasında istatistiki açıdan önemli ($P > 0.05$) bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4). Kontrol bisküvi (9.33) ile fermente kinoa (9.32) ve amarant (9.57) unlarını ihtiva eden örneklerin yayılma oranı değerleri birbirine benzer bulunmuş, ham karabuğday unu içeren bisküvi örneğinin yayılma oranının (10.78) ise bu örneklerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Yayılma oranındaki artışın, karabuğday unu ilavesi sonucu hamur viskozitesinin azalması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Baumgartner vd., 2018). Benzer bir sonuç, bisküvi üretiminde karabuğday unu kullanan Hadnadev vd. (2013) tarafından da elde edilmiş, karabuğday unu ile zenginleştirilmiş bisküvilerin yayılma oranının kontrolden daha fazla olduğu belirtilmiştir. Jan vd. (2018) yayılma oranının bisküvi kalitesi için önemli bir kalite parametresi olduğunu ve daha yüksek yayılma oranının daha yüksek ürün verimi anlamına geldiğini ifade etmişlerdir.

Çizelge 4. Bisküvi örneklerinin fiziksel ve tekstürel özellikleri

Table 4. Physical and textural properties of cookie samples

	Çap (mm)/ <i>Diameter (mm)</i>	Kalınlık (mm)/ <i>Thickness (mm)</i>	Yayılma oranı/ <i>Spread ratio</i>	Sertlik (g)/ <i>Hardness (g)</i>	Kırılganlık (mm)/ <i>Fracturability (mm)</i>
Kontrol/ <i>Control</i>	59.37±1.23 ^a	6.36±0.28 ^a	9.33±0.21 ^b	4015±18.38 ^b	39.16±1.01 ^a
%20 HKBU	62.64±0.86 ^a	5.81±0.42 ^a	10.78±0.37 ^a	2748±16.03 ^d	38.39±1.05 ^a
%20 HKU	60.70±1.05 ^a	6.06±0.27 ^a	10.01±0.33 ^{ab}	4057±14.61 ^b	39.17±0.91 ^a
%20 HAU	62.43±1.15 ^a	6.45±0.23 ^a	9.68±0.24 ^{ab}	4000±17.91 ^b	38.96±1.07 ^a
%20 FKBU	62.15±0.99 ^a	5.97±0.18 ^a	10.41±0.34 ^{ab}	3820±12.73 ^c	38.92±0.87 ^a
%20 FKU	60.50±0.82 ^a	6.49±0.25 ^a	9.32±0.27 ^b	5053±21.21 ^a	39.63±0.96 ^a
%20 FAU	61.73±1.03 ^a	6.45±0.21 ^a	9.57±0.24 ^b	5011±17.44 ^a	38.90±0.80 ^a

Sonuçlar iki tekrürdeki üç paralelin ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). / *Values are the average of triplicate measurements on the duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other ($P < 0.05$).*

HKBU: Ham karabuğday unu/ *Raw buckwheat flour*; HKU: Ham kinoa unu/ *Raw quinoa flour*; HAU: Ham amarant unu/ *Raw amaranth flour*; FKBU: Fermente karabuğday unu/ *Fermented buckwheat flour*; FKU: Fermente kinoa unu/ *Fermented quinoa flour*; FAU: Fermente amarant unu/ *Fermented amaranth flour*.

Fermente TBÜ unu kullanımı bisküvi örneklerinin sertliğini artırmış; ham TBÜ unu içeren örneklerin sertlik değerleri, fermente TBÜ içeren örnekler göre daha düşük bulunmuştur. %20 oranında ham kinoa ve amarant unu ihtiva eden bisküvilerin sertlik değerleri kontrol bisküvisine benzer bulunurken, en yüksek sertlik değerleri %20 oranında fermente kinoa ve amarant unu içeren bisküvi örneklerinde elde edilmiştir (Çizelge 4). Baumgartner vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, fermantasyon işlemi sonucunda örneklerin toplam diyet lifi içeriğinin oransal olarak arttığı ve yüksek orandaki diyet lifinin bisküvi örneklerinde sertliğin artmasına neden olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların da fermantasyon işlemi sonucu TBÜ unularının toplam diyet lifi içeriğinin artması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Benzer sonuçlar, su bisküvisi üretiminde laktik asit bakterileri ile fermente edilmiş karabuğday unu kullanılan bir çalışmada da elde edilmiş, fermente karabuğday unu bisküvisinin sertlik değeri ham karabuğday unu bisküvisine göre daha yüksek bulunmuştur (Wronkowska vd., 2018). Bisküvi örneklerine ait kırılmalık değerleri 38.39-39.63 mm arasında değişiklik göstermiştir. Bisküvi üretiminde ham ya da fermente TBÜ unu kullanımı, istatistiki açıdan kontrol bisküvi örneğine benzer kırılmalık değerleri ile sonuçlanmıştır ($P > 0.05$).

Bisküvi örneklerine ait duyuşsal analiz sonuçları

Çizelge 5'te görüldüğü gibi; en yüksek renk değerleri kontrol ile %20 ham kinoa ve karabuğday unları içeren bisküvi örneklerinde elde edilmiştir. %20 oranında ham karabuğday unu kullanılarak üretilen bisküvinin tat ve koku değerleri kontrol örneğine yakın bulunmuştur. Görünüş parametresi açısından yapılan değerlendirmede; ham ve fermente karabuğday unu ilave edilen örneklerin kontrole yakın puan aldıkları, en düşük puanların ise ham ve fermente amarant unu içeren örnekler verildiği görülmüştür. Ham ve fermente karabuğday unu ilave edilerek üretilen bisküvilerin genel beğeni puanları kontrole yakın bulunurken, ham ve fermente amarant unu ilave edilerek üretilen örneklerin kontrolden daha düşük genel beğeni puanlarına sahip olduğu belirlenmiştir. Bisküvi üretiminde %0, 10, 20 ve 30 oranlarında karabuğday unu kullanan Hadnadev vd. (2013), kontrol bisküvi ile %20 karabuğday unu içeren bisküvi örneklerinin genel beğeni puanlarının sırasıyla 3.50 ve 4.20 olduğunu raporlamışlardır. Farklı oranlarda (%0, 5, 10, 15 ve 20) amarant unu kullanımının bisküvinin duyuşsal özellikleri üzerine etkilerini inceleyen Shukla vd. (2020) ise, %20 amarant unu içeren bisküviye ait genel beğeni puanının kontrolden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 5. Bisküvi örneklerinin duyuşsal özellikleri

Table 5. Sensory properties of cookie samples

	Renk/ <i>Color</i>	Tat/ <i>Taste</i>	Koku/ <i>Odor</i>	Görünüş/ <i>Appearance</i>	Genel beğeni/ <i>Overall acceptability</i>
Kontrol/ <i>Control</i>	8.10±0.21 ^a	8.55±0.23 ^a	8.80±0.25 ^a	8.50±0.24 ^a	8.35±0.21 ^a
%20 HKBU	7.55±0.23 ^{abc}	7.80±0.24 ^{ab}	8.15±0.28 ^{ab}	8.15±0.28 ^{ab}	8.00±0.28 ^{ab}
%20 HKU	7.85±0.24 ^{ab}	7.50±0.25 ^b	7.60±0.23 ^b	7.60±0.25 ^{abc}	7.65±0.24 ^{abc}
%20 HAU	7.10±0.24 ^{bc}	6.25±0.27 ^{cd}	6.50±0.24 ^{cd}	6.90±0.23 ^{cd}	7.10±0.27 ^{bc}
%20 FKBU	7.15±0.21 ^{bc}	7.55±0.20 ^b	7.80±0.23 ^b	7.95±0.27 ^{ab}	7.85±0.20 ^{ab}
%20 FKU	6.95±0.24 ^{bc}	7.15±0.28 ^{bc}	7.45±0.27 ^{bc}	7.50±0.25 ^{bc}	7.30±0.23 ^{bc}
%20 FAU	6.70±0.27 ^c	5.80±0.23 ^d	6.35±0.24 ^d	6.55±0.21 ^d	6.80±0.24 ^c

Sonuçlar iki tekrürdeki üç paralelin ortalamasıdır. Farklı harfle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). / *Values are the average of triplicate measurements on the duplicate samples. Means followed by the different letter within a column are statistically different from each other (P < 0.05).*

HKBU: Ham karabuğday unu/ *Raw buckwheat flour*; HKU: Ham kinoa unu/ *Raw quinoa flour*; HAU: Ham amarant unu/ *Raw amaranth flour*; FKBU: Fermente karabuğday unu/ *Fermented buckwheat flour*; FKU: Fermente kinoa unu/ *Fermented quinoa flour*; FAU: Fermente amarant unu/ *Fermented amaranth flour*.

SONUÇ

Bu çalışmada; %20 oranında ham ve fermente karabuğday, kinoa ve amarant unu ilavesinin bisküvilerin teknolojik ve duyuşal özellikleri ile fitik asit, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Ham TBÜ unları ile karşılaştırıldığında, fermente TBÜ unu ilave edilerek üretilen bisküvilerin daha düşük fitik asit içeriğine sahip olduğu görülmüştür. TBÜ unu içeren bisküvilerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesinin kontrol bisküvi örneğine yakın ya da daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kontrol örneğine göre, TBÜ ilavesi bisküvi örneklerinin çap, kalınlık ve kırılabilirlik değerleri üzerinde önemli bir etki oluşturmamıştır ($P > 0.05$). %20 oranında ham ve fermente TBÜ içeren bisküvi örneklerine verilen genel beğeni puanlarının 6'nın üzerinde olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, %20 oranında ham ve fermente TBÜ unu kullanımının teknolojik ve duyuşal özellikleri önemli düzeyde etkilemeden, besinsel değeri artırılmış bisküvi üretimine imkan verdiğini göstermiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

AACC (2010). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*, (11th ed.). St. Paul, MN, USA: AACC.

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

Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E.K., Gallagher, E. (2010b). Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa, buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chem*, 119, 770-778, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.07.032.

Arneja, I., Tanwar, B., Chauhan, A. (2015). Nutritional composition and health benefits of golden grain of 21st century, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): A review. *Pakistan J Nutr*, 14(12), 1034-1040.

Baumgartner, B., Özkaya, B., Saka, I., Özkaya, H. (2018). Functional and physical properties of cookies enriched with dephytinized oat bran. *J Cereal Sci*, 80, 24-30, doi: 10.1016/j.jcs.2018.01.011.

Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., Sapirstein, H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chem*, 82, 390-393, doi: 10.1094/CC-82-0390.

Castro-Alba, V., Lazarte, C.E., Perez-Rea, D., Carlsson, N.G., Almgren, A., Bergenstahl, B., Granfeldt, Y. (2019). Fermentation of pseudocereals quinoa, canihua, and amaranth to improve mineral accessibility through degradation of phytate. *J Sci Food Agric*, 99(11), 5239-5248, doi: 10.1002/jsfa.9793.

Christa, K., Soral-Smietana, M. (2008). Buckwheat grains and buckwheat products-nutritional and prophylactic value of their components-a review. *Czech J Food Sci*, 26(3), 153-162, doi: 10.17221/1602-CJFS.

Demir, B., Bilgiçli, N. (2020). Changes in chemical and anti-nutritional properties of pasta enriched with raw and germinated quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) flours. *J Food Sci Technol*, 57, 3884-3892, doi: 10.1007/s13197-020-04420-7.

Diaz, J.M.R., Kirjoranta, S., Tenitz, S., Penttila, P.A., Serimaa, R., Lampi, A.M., Jouppila, K. (2013). Use of amaranth, quinoa and kaniwa in extruded corn-based snacks. *J Cereal Sci*, 58(1), 59-67, doi: 10.1016/j.jcs.2013.04.003.

Francis, F.J., Clydesdale, F.M. (1975). *Food Colorimetry: Theory and Applications*: AVI Publishing Company Inc, Westport, USA.

Gamez-Meza, N., Noriega-Rodrigues, J.A., Medina-Juarez, L.A., Ortega Garcia, J., Cazarez-Casanova, R., Angulo-Guerrero, O. (1999). Antioxidant activity in soybean oil of extracts from thompson grape bagasse. *J Am Oil Chem Soc*, 76, 1445-1447, doi: 10.1007/s11746-999-0182-4.

Gyamfi, M.A., Yonamine, M., Aniya, Y. (1999). Free radical scavenging action of medical herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *General*

- Pharma*, 32, 661-667, doi: 10.1016/S0306-3623(98)00238-9.
- Hadnadev, T.R.D., Torbica, A.M., Hadnadev, M.S. (2013). Influence of buckwheat flour and carboxymethyl cellulose on rheological behaviour and baking performance of gluten-free cookie dough. *Food Bioproc Tech*, 6(7), 1770-1781, doi: 10.1007/s11947-012-0841-6.
- Hager, A.-S., Wolter, A., Jacob, F., Zannini, E., Arendt, E.K. (2012). Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *J Cereal Sci*, 56, 239-247, doi: 10.1016/j.jcs.2012.06.005.
- Haug, W., Lantsch, H.J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J Sci Food Agric*, 34(12), 1423-1426, doi: 10.1002/jsfa.2740341217.
- Jan, K.N., Panesar, P.S., Singh, S. (2018). Optimization of antioxidant activity, textural and sensory characteristics of gluten-free cookies made from whole Indian quinoa flour. *LWT- Food Sci Technol*, 93, 573-582, doi:10.1016/j.lwt.2018.04.013.
- Karademir, E., Yalçın, E. (2019). Effect of fermentation on some quality properties of cornelian cherry tarhana produced from different cereal/pseudocereal flours. *Qual Assur Saf Crop Foods*, 11, 127-135, doi: 10.3920/QAS2018.1389.
- Kaur, S., Kaur, N., Grover, K. (2018). Development and nutritional evaluation of gluten free bakery products using pseudocereal quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Int J Pure App Biosci*, 6(2), 810-820, doi: 10.18782/2320-7051.2831.
- Kockova, M., Mendel, J., Medvedova, A., Sturdik, E., Valik, L. (2013). Cereals and pseudocereals as substrates for growth and metabolism of a probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *J Food Nutr Res*, 52, 25-36.
- Lorusso, A., Verni, M., Montemurro, M., Coda, R., Gobbetti, M., Rizzello, C.G. (2017). Use of fermented quinoa flour for pasta making and evaluation of the technological and nutritional features. *LWT - Food Sci Technol*, 78, 215-221, doi: 10.1016/j.lwt.2016.12.046.
- Martinez-Villaluenga, C., Penas, E., Hernandez-Ledesma, B. (2020). Pseudocereal grains: Nutritional value, health benefits and current applications for the development of gluten-free foods. *Food Chem Toxicol*, 137, 111178, doi: 10.1016/j.fct.2020.111178.
- Mir, N.A., Riar, C.S., Singh, S. (2018). Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. *Trends Food Sci Technol*, 75, 170-180, doi:10.1016/j.tifs.2018.03.016.
- Nkhata, S.G., Ayua, E., Kamau, E.H., Shingiro, J.B. (2018). Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. *Food Sci Nutr*, 6(8), 2446-2458, doi: 10.1002/fsn.3.846.
- Obeidat, B.A., Abdul-Hussain, S.S., Al Omari, D.Z. (2013). Effect of addition of germinated lupin flour on the physiochemical and organoleptic properties of cookies. *J Food Process Preserv*, 37(5), 637-643, doi: 10.1111/j.1745-4549.2012.00688.x.
- Özkaya, H., Özkaya, B., Duman, B., Turksoy, S. (2017). Effect of dephytinization by fermentation and hydrothermal autoclaving treatments on the antioxidant activity, dietary fiber and phenolic content of oat bran. *J Agric Food Chem*, 65, 5713-5719, doi: 10.1021/acs.jafc.7b01698.
- Rao, B.D., Kulkarni, D.B., Kavitha, C. (2018). Study on evaluation of starch, dietary fiber and mineral composition of cookies developed from 12 sorghum cultivars. *Food Chem*, 238, 82-86, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.12.069.
- Reguera, M., Haros, C.M. (2017). Structure and composition of kernels. In: C.M. Haros, R. Schoenlechner (Eds.), *Pseudocereals: Chemistry and Technology* (pp. 28-48), West Sussex: Wiley Blackwell.
- Sakac, M., Pestoric, M., Misan, A., Nedeljkovic, N., Jambrec, D., Jovanov, P., Banjac, V., Torbica, A., Hadnadev, M., Mandic, A. (2015). Antioxidant capacity, mineral content and sensory properties of gluten-free rice and buckwheat cookies. *Food Technol Biotechnol*, 53(1), 38-47, doi: 10.17113/ftb.53.01.15.3633.

- Sanz-Penella, J.M., Wronkowska, M., Soral-Smietana, M., Haros, M. (2013). Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *LWT - Food Sci Technol*, 50(2), 679-685, doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.031.
- Shukla, U., Sehar, M., Tongbram, T., Yaseen, M., Bora, J. (2020). Physical and sensory characteristics of cookies from rice and amaranth flour blends. *Eur Food Sci Eng*, 1(1), 24-29.
- Singh, P., Singh, R., Jha, A., Rasane, P., Gautam, A.K. (2015). Optimization of a process for high fibre and high protein biscuit. *J Food Sci Technol*, 52(3), 1394-1403, doi: 10.1007/s13197-013-1139-z.
- Varastegani, B., Zzaman, W., Yang, T.A. (2015). Investigation on physicochemical and sensory evaluation of cookies substituted with papaya pulp flour. *J Food Qual*, 38(3), 175-183, doi: 10.1111/jfq.12129.
- Vilcacundo, R., Hernandez-Ledesma, B. (2017). Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Curr Opin Food Sci*, 14, 1-6, doi: 10.1016/j.cofs.2016.11.007.
- Vogelmann, S.A., Seitter, M., Singer, U., Brandt, M.J., Hertel, C. (2009). Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters. *Int J Food Microbiol*, 130(3), 205-212, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.020.
- Wani, S.H., Gull, A., Allaie, F., Safapuri, T.A. (2015). Effects of incorporation of whey protein concentrate on physicochemical, texture, and microbial evaluation of developed cookies. *Cogent Food Agric*, 1(1), 1092406, doi: 10.1080/23311932.2015.1092406.
- Watanabe, K., Kawanishi-Asaoka, M., Myojin, C., Awata, S., Ofusa, K., Kodama, K. (2014). Amino acid composition, oxidative stability, and consumer acceptance of cookies made with quinoa flour. *Food Sci Technol Res*, 20(3), 687-691, doi: 10.3136/fstr.20.687.
- Wronkowska, M., Jelinski, T., Majkowska, A., Zielinski, H. (2018). Physical properties of buckwheat water biscuits formulated from fermented flours by selected lactic acid bacteria. *Pol J Food Nutr Sci*, 68, 25-31, doi: 10.1515/pjfn-2017-0027.
- Zhou, X.-L., Yan, B.B., Xiao, Y., Zhou, Y.M., Liu, T.Y. (2018). Tartary buckwheat protein prevented dyslipidemia in high-fat diet-fed mice associated with gut microbiota changes. *Food Chem Toxicol*, 119, 296-301, doi: 10.1016/j.fct.2018.02.052.
- Zhu, F. (2016). Chemical composition and health effects of Tartary buckwheat. *Food Chem*, 203, 231-245, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.050.



**THE IMPACT OF PARTIAL SWEETENER SUBSTITUTION ON
PHYSICOCHEMICAL, TEXTURAL AND SENSORY PROPERTIES OF BISCUITS**

Mehmet Güldane^{1*}, Emine Nur Herken²

¹ Program of Laboratory Technology, Vocational School of Pamukova, Sakarya University of Applied Sciences, Sakarya, Turkey

² Department of Food Engineering, Pamukkale University, Denizli, Turkey

Received / Geliş: 02.11.2021; Accepted / Kabul: 21.01.2022; Published online / Online baskı: 01.02.2022

Güldane, M., Herken, E.N. (2022). *The impact of partial sweetener substitution on physicochemical, textural and sensory properties of biscuits*. GIDA (2022) 47 (1) 66-77 doi: 10.15237/gida.GD21138.

Güldane, M., Herken, E.N. (2022). Kısmi tatlandırıcı ikamesinin bisküvilerin fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşal özelliklerine etkisi. GIDA (2022) 47 (1) 66-77 doi: 10.15237/gida.GD21138.

ABSTRACT

The aim of the present work was to study the physicochemical, textural and sensory properties of biscuits prepared by replacing sucrose with rare sugar (D-psicose) and/or polyols (sorbitol, xylitol) at 25% or 50%. The results showed that increasing D-psicose replacement resulted in lower moisture content, darker and less yellow, and thicker biscuits. However, opposite effects were observed in polyol substitute biscuits. The texture of the biscuits was also significantly affected by the sweeteners. After two months of storage, the hardness values had significantly decreased in the samples with 50% alternative sweeteners ($P<0.05$). The sensory evaluation of the biscuits containing natural sweeteners was close to that of sucrose (100%). In conclusion, D-psicose and polyols generally had opposite effects on biscuit characteristics. Therefore, it was found that the samples with similar/better properties to/than the control could be prepared by replacing sucrose with D-psicose (25%) and polyol(s) (25%).

Keywords: D-psicose, hardness, polyol, sucrose, xylitol

**KISMİ TATLANDIRICI İKAMESİNİN BİSKÜVİLERİN FİZİKOKİMYASAL,
TEKSTÜREL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, sakkarozun nadir şeker (D-psikoz) ve/veya poliollerle (sorbitol, ksilitol) %25 veya %50 oranında değiştirilmesiyle hazırlanan bisküvilerin fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşal özelliklerini belirlemektir. Sonuçlar incelendiğinde, D-psikoz ikamesinin artmasıyla bisküvilerde nem içeriğinin azaldığı, daha koyu renkte olan daha kalın bisküvilerin elde edildiği görüldü. Bununla birlikte, bisküvilerde poliollerle ikamesinin artmasıyla nem içeriği artarak parlaklık (L) ve kırmızılık (a) değerleri azalmıştır. Pişmiş bisküvilerin tekstürü de tatlandırıcı ikamesinden önemli ölçüde etkilenmiştir. İki aylık depolama sonunda %50 alternatif tatlandırıcı örneklerde sertlik değerleri önemli ölçüde azalmıştır ($P<0.05$). Alternatif tatlandırıcılar içeren bisküvilerin duyuşal değerlendirilmesi kontrole yakındır. Sonuç olarak, D-psikoz ve poliollerin araştırılan bisküvi özelliklerine etkileri genel olarak birbirinin tersi olmuştur. Bu nedenle, sakkarozun D-psikoz (%25) ve polioller (%25) ile değiştirilmesiyle kontrole benzer veya kontrolden daha iyi özelliklere sahip numunelerin hazırlanabileceği belirlendi.

Anahtar kelimeler: D-psikoz, sertlik, polioller, sakkaroz, ksilitol

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: mehmetguldane@subu.edu.tr

☎: (+90) 264 616 0800

☎: (+90) 264 616 0014

Mehmet Güldane; ORCID no: 0000-0001-7321-0496

Emine Nur Herken; ORCID no: 0000-0003-1553-8025

INTRODUCTION

Biscuits, consumed all over the world, are made with a mixture of sugar, fat and wheat flour as the main ingredients. The various interactions between these basic ingredients significantly affect the quality characteristics of ready-to-eat biscuits (Chevallier et al., 2000). Sucrose, as a traditional sweetener, is used in biscuit formulation to improve physicochemical, textural and sensory properties (Gallagher et al., 2003; Lin et al., 2010). Globally, about 140 million tonnes of sucrose are produced from sugar beet and sugar cane annually, and most of it is used in foods such as bakery products, breakfast cereals, desserts and beverages (Fasahat et al., 2021).

Obesity, which is closely associated with excessive sugar and fat consumption, is considered one of the major health problems in the world (Taylor et al., 2008; Karp et al., 2016). In particular, the prevalence of childhood obesity has been increased significantly over the past decade (Schroeder et al., 2021), and 13% of the adult population worldwide has been classified as obese (Edwards et al., 2016). Prevalent chronic diseases such as cardiovascular disease, cholesterol, diabetes and dental problems are associated with extreme sugar consumption (Granström et al., 2004; Pareyt et al., 2009; Laguna et al., 2013). Due to the proven effects of obesity on human health, reduction of sugar content in foods has been recommended by WHO (2014) (Struck et al., 2014; Kweon et al., 2016). Concerns about the adverse health effects of excessive sucrose consumption have led to the emergence of alternative sweeteners, which are absorbed more slowly from the intestine and contain less energy (Ghosh and Sudha, 2012; Mooradian et al., 2017). These sweeteners can be partially substituted for sucrose to produce lower calorie and healthier baked goods (Drewnowski et al., 1998).

The alternative sweeteners, which are basically classified as artificial and natural sugars, are proposed to reduce the energy content of baked goods and address specific nutritional problems. Studies show that the use of artificial sweeteners in the production of biscuits leads to quality problems (Davis, 1995). Not only the sensory

properties such as appearance, texture, taste and mouthfeel, but also the textural and rheological properties are negatively affected by the replacement of sucrose with these sweeteners (Mariotti and Alamprese, 2012). On the other hand, the natural sweeteners, called “bulk sweeteners” or “sugar replacers”, are widely used to meet specific texture, volume and sweetness requirements of the baked product. To this end, polyols such as xylitol, lactitol, sorbitol, mannitol, isomalt, erythritol, hydrogenated starch hydrolysate, and hydrogenated glucose syrup, as well as rare sugars (i.e., D-psicose and D-tagatose) may be substituted for sugars in the product formulation (Kroger et al., 2006). Moreover, the synergistic interaction of sucrose with natural sweeteners may reduce the production costs and improve the quality of the final product (Mooradian et al., 2017).

In this study, the effect of partial substitution of sucrose with alternative sweeteners on biscuit quality characteristics was investigated. Accordingly, this research aimed to demonstrate the evaluability of sorbitol, xylitol and/or d-psicose as alternative sweeteners to meet the textural properties of biscuit dough and the physicochemical, textural and organoleptic properties of ready-to-eat biscuits.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Commercial wheat flour, sodium bicarbonate, fine granulated sugar, iodized table salt, and shortening were purchased from a local grocery (Denizli, Turkey) and the emulsifier (glyceryl monostearate, GMS 90) was purchased from Huzur Chemistry Ltd. (Istanbul, Turkey), D-psicose (CAS No.: 551-68-8) was purchased from JinZhongYan New Material Technology Co. Ltd. (China). Sorbitol (pure powder) was purchased from Bereket Chemistry Ltd. (Istanbul, Turkey) and xylitol (Smart Sweet Xylitol Powder) was procured from Homestead Market (Monticello, USA). All chemicals used were of analytical grade.

Biscuits Preparation

A Total of 10 model biscuit samples, including the control (Sample 1) were prepared according to a

recipe as described in AACC Method 10-54 (AACC, 1990). D-psicose, sorbitol and xylitol were replaced with sucrose at 25% or 50% (weight basis). The recipes for the model biscuits are shown in Table 1. To obtain a biscuit dough, the sweetener(s) (40 g), wheat flour (100 g), shortening (40 g), baking powder (1.5 g), salt (1 g) and emulsifier (0.5 g) were homogeneously mixed in a mixing vessel and then 20 ml of tap water was

added. After 15 min of kneading, the dough was allowed to rest at 25 °C for 20 min. The rested dough was rolled into a dough with a diameter of 30 mm and a thickness of 5 mm and then baked in a preheated conventional oven (ASL Machine, Turkey) at 180 °C for 10 minutes. The baked biscuits were allowed to cool at room temperature for 20 min and then placed in polypropylene bags and stored at room temperature until analysis.

Table 1. Model biscuit formulations.

Ingredients	Biscuit formulations (g)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Powdered sugar	40	20	20	20	20	20	20	30	30	30
D-psicose	-	20	-	-	10	10	-	10	-	-
Sorbitol	-	-	20	-	10	-	10	-	10	-
Xylitol	-	-	-	20	-	10	10	-	-	10
All-purpose flour	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Shortening	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Water (ml)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Sodium bicarbonate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	15
Salt	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Emulsifier	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

Proximate composition

The dry matter, ash, crude fat and crude protein contents of the biscuits were determined according to the official methods of the American Association of Cereal Chemistry (AACC, 1990). The moisture content and total inorganic matter content were analyzed at 105 °C and 550 °C, respectively. The crude fat was determined by the Soxhlet method. The total nitrogen content was determined by the micro-Kjeldahl method, and protein content was calculated using a conversion factor (N=5.70).

In vitro protein digestibility (IVPD) analysis was performed according to the method proposed by Hsu et al. (1977). Five milliliters of the multienzyme solution containing trypsin, chymotrypsin, and peptidase at the ratio of 1.6:3.1:1.3 were kept under chilly conditions and the pH of the solution was adjusted to 8.0 with 0.1 N HCl/NaOH. The pH of the 50 ml aqueous solution of the sample kept in a water bath at 37 °C was set to 8.0, and then 5 ml of the multienzyme solution was mixed into this solution. Immediately thereafter, the change in

pH of the suspension was recorded for 10 min was ($\text{pH}_{10\text{min}}$). The percentage IVPD values of the biscuits were determined according to Equation 1.

$$\text{IVPD (\%)} = 210.4 - 18.1\text{pH}_{10\text{min}} \quad (1)$$

Physical properties

The following procedures were used to determine the diameter, thickness, spread ratio, and weight of the baked biscuits. The diameter and thickness of the samples were measured using a vernier caliper. A diameter of three different biscuits was determined, then all samples were rotated 90° and a new diameter value was recorded. The average of the two measurements was evaluated as the diameter of the final biscuits. Height measurements were made according to the method of Zoulias et al. (2000). To measure height, three biscuits from different batches were stacked on top of each other. An average value from four different measurements was taken as the sample thickness. The spread ratio was calculated by dividing the biscuit diameter by the height. The weight of the samples was determined by measuring the average weight of three biscuits.

The L, a, and b values of the model biscuits were determined using a Hunter Lab colorimeter (Reston, VA, USA). The instrument was calibrated using standard calibration tiles prior to color measurement. The values of lightness (L), yellowness (b), and redness (a) of the samples were recorded.

Texture analysis

Texture profile analysis (TPA) of the dough and baked biscuits were performed according to a modified method proposed by Herken et al. (2017), and experiments were performed using a Brookfield CT30 texture analyzer. The dough was formed into samples of 3 cm diameter and 5 mm thickness. In the compression test, a cylindrical probe with a diameter of 4 cm and the pre-/post-test speed of 0.5 mm/s was applied to the dough with a force of 6 mN to characterise the force-deformation curves. Then, the parameters such as hardness (N) and adhesiveness (N) were determined.

The textural characterization of the samples stored in polypropylene ziplock bags at room temperature was measured on the 1st, 3rd, 7th, 15th, 30th and 60th day after biscuit production. In the compression test, a cutting probe with a sharp-blade (three-point bend) was pressed on the biscuit sample at a pre-/post-test speed of 0.5 mm/s with a force of 6 mN to measure the textural properties of the biscuits. The hardness of the model biscuits was determined by the maximum force (N) required to break a biscuit sample.

Sensory analysis

Sensory evaluation of the biscuits was performed by 30 trained panelists composed of students and academic staff from the Department of Food Engineering, Pamukkale University, Turkey. Organoleptic properties were evaluated using a 5-point hedonic scale (1= extremely dislike; 2= dislike; 3= moderately like; 4= like; 5= extremely like). Sensory analysis were performed within 12 hours of baking the biscuits. Samples were coded with 3-digit random numbers, presented to panelists in random order along with a cup containing 200 ml of water, and sensory analysis

of color, flavor, sweetness, texture, and overall acceptability was rated (Gül et al., 2013).

Statistical analysis

Experimental results are reported as mean \pm SD (standard deviation) of at least three parallel experiments and measurements. Results were analyzed using the statistics program SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Analysis of variance (ANOVA) was performed and Tukey's test was conducted to determine the significant differences between the mean values ($P < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Proximate composition

The proximate composition of the biscuits with different formulations is shown in Table 2. The replacement of sucrose with polyols (sorbitol and xylitol) at 50% significantly increased the moisture content of the biscuits compared to the control biscuit with 100% sucrose ($P < 0.05$). Among the sweeteners, sorbitol (50%) significantly increased the moisture content of the biscuits. This was attributed to the fact that sorbitol retains moisture and does not dry out the biscuits (Ghosh and Sudha, 2012). The results obtained in this study are in agreement with Ho and Pulsawat (2020) who stated that sorbitol is more hygroscopic than sucrose. Majeed et al., (2018) reported that polyols like sorbitol and xylitol help to retain moisture in biscuits depending on their hydrophilic properties. On the other hand, it was observed that the moisture content of biscuits tended to decrease with the substitution of D-psicose with sucrose. This might be related to the lower water binding capacity of D-psicose compared to sucrose (Pocan et al., 2019).

The total ash content in biscuits provides information on the amount of inorganic matter (Ho and Pulsawat, 2020). The ash content of the biscuit samples varied from 1.25% to 1.32% (Table 2). Among the biscuits, the control sample contained the lowest ash content, while a general increase in ash content was observed with the replacement of other sweeteners. However, this increase was not statistically significant ($P > 0.05$). Similar results were found by Lin et al. (2010) in Danish cookies substituted with erythritol (50%)

and Vatankhah et al. (2015) in biscuits containing stevioside (50%). In contrast, Ho and Pulsawat (2020) reported that cookies substituted with sorbitol (50%) had lower mineral content than the control samples. This situation may be related to differences in sugar production technologies. In addition, partial substitution of sucrose with D-psicose, sorbitol and xylitol had no effect on the protein and fat content of the biscuits.

The IVPD values of the biscuits varied from 70.68% to 73.97% (Table 2). Protein digestibility increased with increasing polyol addition. Biscuits with sorbitol or xylitol (50%) contained significantly higher amount of digestible protein

compared to the control sample. The use of polyols had no effect on total protein content, but resulted in a significant improvement in digestible protein content. Substitution with D-psicose had no positive effect on protein digestibility. The lowest protein digestibility was found in biscuits with D-psicose (50%). This situation may be related to the negative effects of sweeteners involved in Maillard and caramelization reactions on protein digestibility properties. When evaluating the results, it was possible to prepare biscuits with a proximate composition close to the control by replacing sucrose in certain proportions with D-psicose and sorbitol in the formulation (Sample 5).

Table 2. Proximate composition of biscuits prepared with different sweeteners.

Sample*	Moisture (%)	Ash (%)	Protein (%)	Fat (%)	IVPD (%)
1	2.91±0.23 ^(bc)	1.25±0.03 ^(a)	5.58±0.16 ^(a)	23.73±0.09 ^(a)	70.97±0.17 ^(bc)
2	2.38±0.02 ^(d)	1.29±0.19 ^(a)	5.57±0.07 ^(a)	23.74±0.02 ^(a)	70.68±0.63 ^(c)
3	3.10±0.43 ^(ab)	1.26±0.05 ^(a)	5.63±0.02 ^(a)	23.53±0.01 ^(a)	72.89±1.20 ^(ab)
4	3.33±0.28 ^(a)	1.28±0.02 ^(a)	5.63±0.02 ^(a)	23.94±0.20 ^(a)	73.97±0.40 ^(a)
5	2.98±0.36 ^(abc)	1.30±0.04 ^(a)	5.65±0.03 ^(a)	23.85±0.37 ^(a)	70.79±0.62 ^(bc)
6	2.68±0.02 ^(cd)	1.28±0.08 ^(a)	5.64±0.01 ^(a)	24.18±0.65 ^(a)	70.83±0.22 ^(c)
7	3.05±0.04 ^(abc)	1.27±0.02 ^(a)	5.63±0.03 ^(a)	24.70±1.29 ^(a)	72.59±1.59 ^(abc)
8	2.68±0.09 ^(cd)	1.31±0.01 ^(a)	5.59±0.01 ^(a)	23.95±0.15 ^(a)	70.72±1.20 ^(c)
9	3.03±0.07 ^(abc)	1.29±0.01 ^(a)	5.63±0.02 ^(a)	23.83±0.08 ^(a)	71.09±0.52 ^(bc)
10	2.95±0.05 ^(bc)	1.32±0.01 ^(a)	5.62±0.04 ^(a)	23.85±0.19 ^(a)	71.06±0.64 ^(bc)

Different small superscripts indicate significant differences ($P<0.05$) between biscuit samples

Physical properties of biscuits

The diameter, height, spread ratio, weight, and color values (Hunter L, a, b) of the biscuit samples are shown in Table 3. The use of D-psicose (50%) in biscuit production affected the diameter values ($P<0.05$). The diameters of the control sample and the other samples were not statistically different, and these samples had the largest diameter ($P<0.05$). Taylor et al. (2008) found that the dissolution behaviour of sugar in biscuit dough affects spreadability during baking. The biscuit becomes spreadable when the sugar dissolves slowly, and it does not spreadable when the sugar dissolves to a limited extent. When the results were examined, it was found that the use of polyols (sorbitol or xylitol) or D-psicose (25%) instead of sucrose did not affect the spreadability of the biscuits during baking. Similar results were found by Zoulias et al. (2000) for the replacement

of maltitol (35%). In contrast, Taylor et al. (2008) (using tagatose substitution (25%) in cookies) and Karp et al. (2016) (using stevia substitution (20%) in muffins) reported that sweetener substitution for sucrose caused a reduction in the diameter of baked goods.

The height values ($8.97±0.17$ and $8.42±0.07$, respectively) of biscuits with high D-psicose or sorbitol substitution (50%) differed from the control sample ($8.57±0.25$), and these differences were statistically significant ($P<0.05$). The height of biscuits varied according to the gluten development. The ability of sugars to bind water to gluten proteins affects the height of biscuits (Taylor et al., 2008). Sorbitol is more hygroscopic than D-psicose and xylitol. Therefore, the gluten development was limited and the height of biscuits increased less. On the other hand, due to

the less hygroscopicity of D-psicose, the height increased more because there was enough water for gluten development.

The biscuits containing D-psicose (25%) and sorbitol (25%) had the same spread ratio as the control sample. Further spreading was observed in samples containing sorbitol (50%) and xylitol (25%) /sorbitol (25%). The lowest diffusion ratio was obtained for the samples containing D-psicose (50%). Spreadability of biscuits is mainly determined by dough viscosity (Miller & Hosoney, 1997). Sorbitol had a viscosity lowering effect by retaining more water in the dough structure. Diffusion ratio values increased with increasing sorbitol content. In addition, the dissolution of sugar during baking contributes to the spreading of the samples. Since D-psicose was completely dissolved before baking, it contributed to the spread ratio only to a limited extent. Taylor et al. (2008) reported that lower spread ratio values were obtained for fructose-substituted biscuits compared to the control.

There was no statistical difference between the weight (baking loss) values of the biscuit samples. The replacement of sucrose with 50% or 25% polyol and/or rare sugar had no effect on biscuit weight ($p > 0.05$). Among the samples, the biscuits with 50% polyol replacement had the highest weight. Higher polyol replacement resulted in lower water evaporation in the biscuits as the more hygroscopic sugars in the formulation may result in better water retention, making water less likely to evaporate. In contrast, the D-psicose substituted biscuits had the lowest weight (the lowest water retention during baking) because D-psicose is less hygroscopic.

The Hunter L, a, b values of the biscuits are summarised in Table 3. The L (+) values indicate the lightness of the samples. The a (+) values represent redness, and the b (+) values represent yellowness. Replacement of sucrose with D-psicose at certain ratios (25% or 50%) resulted in a significant decrease in the lightness of the biscuits. Moreover, it was observed that with increasing D-psicose replacement ratio in the samples, redness increased while yellowness decreased. Similar results were obtained by Poca

et al. (2019) who studied gelatin-based soft candies with D-psicose substitutes. As the polyol replacement ratio in the biscuits increased, the lightness (L) and yellowness (b) increased and the redness (a) decreased. Lin et al. (2010) found that increasing the erythritol replacement ratio (25%, 50%, 75%, and 100%) resulted in a gradual increase in the L values of the cookies. Similar results were reported by Ho and Pulsawat (2020), Majeed et al. (2018) and Zoulias et al. (2000). The colour values obtained as a function of the changes in the biscuit formulation were related to caramelization and Maillard reactions (Karp et al., 2016). The colour development was better in samples containing the reducing sugar (D-psicose) than those containing non-reducing polyols. In addition, it was found that the colour properties of the samples in which D-psicose and polyols were equally substituted were similar to the control sample. For example, the values of L (61.29 ± 0.38), a (11.71 ± 0.19) and b (23.02 ± 0.86) of the sample containing D-psicose (25%) and sorbitol (25%) were close to the sample prepared with 100% sucrose (62.85 ± 0.83 , 10.98 ± 0.31 and 23.23 ± 0.01 , respectively). In general, the biscuits with improved physical properties, similar to the control sample, were obtained by using equal amounts of rare sugar (D-psicose) and polyols (sorbitol and xylitol) instead of half sucrose in the biscuit formulation.

Textural properties of biscuit dough

TPA was performed to objectively evaluate the effect of sweetener substitution on biscuit dough. The results of texture analysis were interpreted in terms of hardness (N) and adhesiveness (N) (Figure 1). The results showed that the dough hardness was partially increased by the substitution of D-psicose, while it was significantly decreased by substitution of polyol. These changes in dough hardness are particularly evident at high levels of sweetener substitution (50%). The sugar in the biscuit formulation directly affects the formation of the gluten network by competing with the proteins for water, depending on the sugar and solubility (Gallagher et al., 2003). In this study, in the dough substituted with sorbitol and xylitol, the gluten development was inhibited because of the free

water was absorbed by the more hygroscopic polyols, resulting in a softer dough. Accordingly, a harder biscuit dough was obtained with the less hygroscopic D-psicose substitution. Zoulias et al. (2000) reported that hardness decreased when

sorbitol or xylitol were substituted in low-fat biscuit dough, while substitution with fructose and maltitol showed the opposite effect and increased dough hardness.

Table 3. Physical properties of the sweetener substituted biscuits.

Samples	Diameter (mm)	Thickness (mm)	Spread ratio (-)	Weight (g)	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
1	41.52±0.17 ^(a)	8.57±0.25 ^(ab)	4.84±0.15 ^(b)	6.41±0.01 ^(a)	62.85±0.83 ^(d)	10.98±0.31 ^(bcd)	23.23±0.01 ^(b)
2	37.85±0.29 ^(b)	8.97±0.17 ^(a)	4.22±0.20 ^(d)	6.30±0.19 ^(a)	50.67±0.27 ^(g)	13.52±0.41 ^(a)	21.67±1.26 ^(c)
3	41.72±0.03 ^(a)	8.42±0.07 ^(b)	4.95±0.04 ^(a)	6.50±0.23 ^(a)	71.84±0.04 ^(ab)	9.98±0.52 ^(d)	24.78±0.17 ^(a)
4	41.27±0.29 ^(a)	8.63±0.16 ^(ab)	4.78±0.17 ^(bc)	6.47±0.20 ^(a)	72.79±1.48 ^(a)	10.68±0.02 ^(cd)	24.87±0.27 ^(a)
5	41.32±0.30 ^(a)	8.56±0.05 ^(ab)	4.83±0.23 ^(b)	6.40±0.18 ^(a)	61.29±0.38 ^(ed)	11.71±0.19 ^(bc)	23.02±0.86 ^(b)
6	40.77±0.88 ^(a)	8.75±0.04 ^(ab)	4.66±0.53 ^(c)	6.39±0.43 ^(a)	60.44±1.28 ^(cd)	12.08±0.52 ^(b)	22.26±0.82 ^(c)
7	41.92±0.22 ^(a)	8.51±0.09 ^(ab)	4.93±0.15 ^(a)	6.44±0.30 ^(a)	69.67±1.15 ^(bc)	9.65±0.12 ^(d)	24.97±0.52 ^(a)
8	40.67±0.32 ^(a)	8.80±0.08 ^(ab)	4.62±0.21 ^(c)	6.32±0.43 ^(a)	55.87±1.53 ^(f)	11.84±0.40 ^(bc)	21.93±0.45 ^(c)
9	40.79±0.05 ^(a)	8.55±0.06 ^(ab)	4.77±0.02 ^(bc)	6.43±0.21 ^(a)	68.85±0.97 ^(c)	7.85±0.68 ^(e)	24.66±0.19 ^(a)
10	40.83±0.05 ^(a)	8.59±0.03 ^(ab)	4.75±0.03 ^(bc)	6.44±0.49 ^(a)	67.25±1.00 ^(c)	7.67±0.81 ^(e)	24.68±0.20 ^(a)

Different small superscripts indicate significant differences ($P<0.05$) between biscuit samples

Adhesiveness is a parameter expressing the structural integrity of the biscuit dough. Biscuit doughs with high polyol content (50%) showed better adhesive properties than the sample with sucrose (100%). High adhesiveness in biscuit dough leads to technological processing problems. Therefore, the aim is to obtain a dough with lower adhesive (Mariotti and Alamprese, 2012). By substituting polyol (25%) or D-psicose

(25% or 50%), a dough with an adhesiveness close to the control sample was obtained (Figure 1). Yang et al. (2021) analysed doughs containing up to 5% xylitol and found an increase in adhesiveness, with a concomitant decrease in the water binding capacity of the dough and inhibition of gluten development. Similar results were reported by Mariotti and Alamprese (2012) and Zoulias et al. (2000).

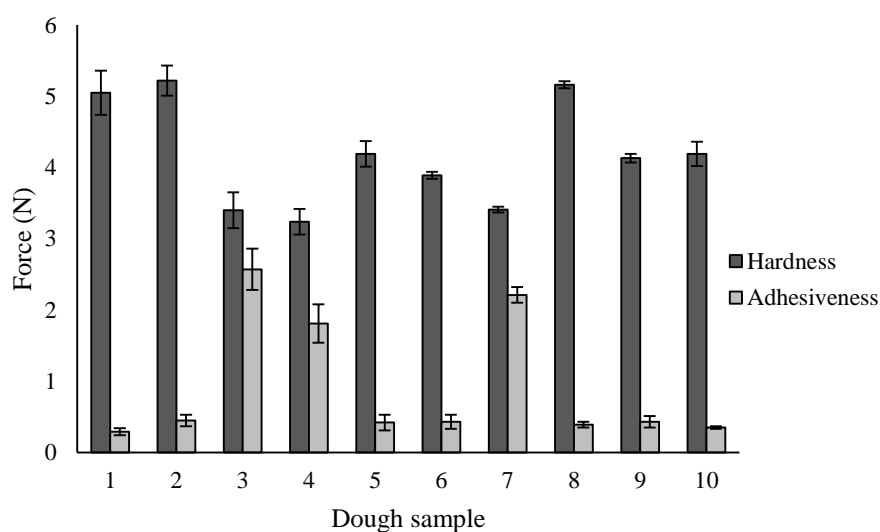


Figure 1. The hardness and adhesiveness of the sweetener substituted biscuit dough.

Textural properties of baked biscuits

Table 4 shows the changes in hardness of biscuits during storage. It has been reported that moisture content is the most influential factor on the hardness of bakery products (Pourfarzad et al., 2011; Ding and Yang, 2021; Park et al., 2021). Replacement of sorbitol or xylitol with sucrose results in a significant decrease in the hardness of bakery products (Zoulias et al., 2000; Martínez-Cervera et al., 2014; Kutyla-Kupidura et al., 2016). In a study investigating the effects of replacing D-psicose (10-40%) in gelatin-based soft candies, it was found that samples with higher moisture content had lower hardness values (Pocan et al., 2019). In our study, there was no statistically significant change in the hardness of the control sample with increasing storage time ($p > 0.05$), but the hardness of the biscuits with 50% D-psicose or polyol(s) decreased significantly ($P < 0.05$). Other results of the stored biscuits showed that the change in hardness value was

insignificant for biscuits with 25% alternative sweetener. The hardness of biscuits is controlled by sugar crystallisation and availability of free water for gluten development (Zoulias et al., 2000; Taylor et al., 2008) and water from the Maillard reaction between proteins and reducing sugars during storage (Pocan et al., 2019). Therefore, in our study, the hardness of the biscuits containing sucrose and D-psicose was the highest and the hardness of the samples containing 50% polyol was the lowest during the storage period. In addition, moisture migration between biscuits caused the variation in the hardness value of the samples. At the end of storage, there was no significant difference between the hardness of the control and that of the biscuit with 25% D-psicose ($p > 0.05$), while the hardness values of the samples containing polyol (25%) and rare sugar (25%) were close to the control.

Table 4. Hardness values of the sweetener substituted biscuits.

Sample	Hardness (N) (1 st day)	Hardness (N) (7 th day)	Hardness (N) (15 th day)	Hardness (N) (30 th day)	Hardness (N) (60 th day)
1	13.51±0.78 ^(bc, A)	13.83±0.82 ^(ab, A)	14.91±1.20 ^(a, A)	14.56±0.52 ^(a, A)	15.56±0.99 ^(a, A)
2	18.24±0.50 ^(a, A)	14.31±1.84 ^(ab, AB)	15.12±1.66 ^(a, AB)	12.59±0.50 ^(a, B)	13.65±1.59 ^(ab, B)
3	10.28±0.24 ^(cd, A)	7.64±0.82 ^(c, AB)	6.88±0.59 ^(c, AB)	5.6±0.53 ^(b, B)	8.29±1.24 ^(d, AB)
4	9.42±1.32 ^(d, A)	7.51±0.29 ^(c, B)	7.66±1.03 ^(c, AB)	7.62±0.84 ^(b, AB)	7.16±1.29 ^(d, B)
5	13.24±1.07 ^(bc, A)	12.38±0.51 ^(abc, A)	11.16±0.27 ^(b, A)	12.68±1.59 ^(a, A)	10.25±2.12 ^(cd, A)
6	12.08±0.94 ^(c, A)	12.68±0.93 ^(abc, A)	11.91±0.99 ^(b, A)	11.45±1.22 ^(a, A)	11.82±0.55 ^(bc, A)
7	10.56±1.58 ^(cd, A)	10.41±1.68 ^(bc, A)	11.01±0.64 ^(b, A)	9.85±0.69 ^(ab, AB)	8.04±1.01 ^(d, B)
8	17.03±1.58 ^(ab, A)	16.01±1.97 ^(a, A)	14.97±0.79 ^(a, A)	14.00±0.88 ^(a, A)	15.25±2.88 ^(a, A)
9	13.47±1.86 ^(cd, A)	13.24±0.24 ^(abc, A)	13.67±1.55 ^(ab, A)	11.65±0.22 ^(a, A)	11.60±0.30 ^(ab, A)
10	13.75±1.56 ^(cd, A)	12.75±1.99 ^(abc, A)	12.05±1.03 ^(b, A)	12.17±1.16 ^(a, A)	12.02±1.39 ^(bc, A)

Different small superscripts indicate significant differences ($P < 0.05$) between biscuit samples, and different capital superscripts indicate significant differences ($P < 0.05$) between measurement days

Sensory properties

Sensory evaluation is an important approach to assess food quality and can meet the needs of food manufacturers, as its parameters are used by consumers to decide “which is the best product to buy?”. The effects of partial replacement of sucrose with alternative sweeteners (D-psicose, sorbitol, xylitol) on the sensory characteristics of the biscuits are shown in Table 5. Statistically, the samples with alternative sweeteners had similar taste and sweetness ratings as the control sample.

However, a significant difference was found in color, texture, and overall acceptability between the control and the other samples. Winkelhausen et al. (2007) reported that there was no significant difference in sweetness ratings between cookies with sucrose and xylitol. Similar results were reported by Martínez-Cervera et al. (2014) for muffins substituted with sorbitol. In addition, Lin et al. (2010) stated that there were no temperature-related sweetness problems in biscuits with erythritol (50%) because polyols

were not involved in Maillard reactions. In our study, it was found that the flavor and sweetness of the biscuits made with sorbitol and xylitol were lower compared to biscuits made with 100% sucrose, which could be due to the lower formation of off-flavors due to temperature-induced caramelization and browning reactions. As for color, the biscuits made by partially replacing sucrose with alternative sweeteners were rated similarly to sucrose (100%) by the panelists, except for the sample made with 50% D-psicose. Rare sugar resulted in a darker surface color formation in the biscuit. This is because the rare sugar that participated in Maillard reactions provided a darker surface, which can be attributed to its reducing property (Sun et al., 2004). These findings are in agreement with the studies of Taylor et al. (2008) and Lin et al. (2010). For all sweeteners, all biscuits were rated as “dislike” in

terms of texture except for the 50% D-psicose samples, which were perceived by the panelists to be significantly harder and had a similar texture rating to the control biscuit. However, the sensory texture analysis was in close agreement with the instrumental measurements. As can be seen in Table 3, the replacement of D-psicose results in a harder texture, while the replacement of sucrose with polyols softens the texture significantly. In terms of overall acceptability, no statistical difference was found between the control and the other biscuits, except for the sample replaced by D-psicose (50%), which had the highest value (3.27 ± 1.05). In addition, it was found that the sweetness perception of the panelist was the most reliable factor to evaluate the overall acceptability of the biscuits ($R^2=0.79$, data not shown). Similar findings were reported by Martínez-Cervera et al. (2014) for the sorbitol substituted muffins.

Table 5. Sensory properties of the sweetener substituted biscuits.

Sample	Color	Flavor	Sweetness	Texture	Overall acceptability
1	$3.23 \pm 0.86^{(a)}$	$2.97 \pm 0.90^{(a)}$	$3.07 \pm 1.05^{(a)}$	$3.07 \pm 1.17^{(a)}$	$3.10 \pm 0.84^{(ab)}$
2	$2.56 \pm 0.81^{(b)}$	$3.13 \pm 1.14^{(a)}$	$3.23 \pm 1.19^{(a)}$	$3.03 \pm 1.00^{(a)}$	$3.27 \pm 1.05^{(a)}$
3	$2.86 \pm 0.78^{(ab)}$	$2.93 \pm 0.78^{(a)}$	$2.93 \pm 1.11^{(a)}$	$2.77 \pm 0.97^{(ab)}$	$2.90 \pm 0.80^{(ab)}$
4	$2.86 \pm 0.90^{(ab)}$	$2.67 \pm 0.71^{(a)}$	$2.70 \pm 0.95^{(a)}$	$2.70 \pm 1.02^{(ab)}$	$2.83 \pm 0.75^{(ab)}$
5	$2.80 \pm 0.97^{(ab)}$	$3.17 \pm 1.18^{(a)}$	$2.80 \pm 0.97^{(a)}$	$2.17 \pm 1.02^{(b)}$	$2.70 \pm 1.06^{(ab)}$
6	$2.83 \pm 1.05^{(ab)}$	$3.20 \pm 0.87^{(a)}$	$3.13 \pm 1.01^{(a)}$	$2.77 \pm 0.90^{(ab)}$	$2.90 \pm 0.84^{(ab)}$
7	$3.06 \pm 0.94^{(ab)}$	$2.77 \pm 0.90^{(a)}$	$2.57 \pm 0.94^{(a)}$	$2.57 \pm 1.07^{(ab)}$	$2.67 \pm 0.80^{(ab)}$
8	$2.76 \pm 1.01^{(ab)}$	$2.93 \pm 0.91^{(a)}$	$2.47 \pm 1.01^{(a)}$	$2.23 \pm 0.90^{(ab)}$	$2.57 \pm 0.86^{(ab)}$
9	$3.03 \pm 1.04^{(ab)}$	$2.87 \pm 0.78^{(a)}$	$2.57 \pm 0.86^{(a)}$	$2.37 \pm 0.85^{(ab)}$	$2.73 \pm 0.78^{(ab)}$
10	$2.80 \pm 0.71^{(ab)}$	$2.93 \pm 0.64^{(a)}$	$2.57 \pm 1.01^{(a)}$	$2.67 \pm 0.96^{(ab)}$	$2.67 \pm 0.71^{(ab)}$

Different small superscripts indicate significant differences ($P < 0.05$) between biscuit samples

CONCLUSION

The present study has shown that D-psicose, sorbitol and xylitol individually or with their mixtures can produce biscuits that are acceptable in terms of physicochemical, textural and sensory aspects. Partial substitution of sucrose with D-psicose in the biscuits resulted in a significant increase in thickness and hardness compared to the control. Moreover, increasing D-psicose substitution resulted in lower spread ratio and Hunter L values. On the other hand, increasing substitution of polyol(s) in the biscuits had the opposite effect. Thus, there was a decrease in highness and hardness values and an increase in spreadability and Hunter L values. However, in

general, D-psicose improved the dough properties of biscuits, while sorbitol and xylitol negatively affected the dough quality. It was concluded that significant improvement in biscuit properties can be achieved by the substitution of sucrose with D-psicose and polyol(s) within certain limits.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Research Project Unit of Pamukkale University (Project No:2013FBE023)

CONFLICT OF INTEREST

The author(s) declares no conflict of interest

AUTHORS CONTRIBUTIONS

Mehmet GÜLDANE performed investigation, methodology, formal analysis, writing, editing and original draft. Emine Nur HERKEN was supervisor and administrated the project.

REFERENCES

- AACC. (1990). Approved Methods of American Association of Cereal Chemists. 8th Edition, St. Paul, the USA.
- Chevallier, S., Colonna, P., Della Valle, G., Lourdin, D. (2000). Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems. *J Cereal Sci*, 31(3): 241–252, doi:10.1006/jcrs.2000.0308.
- Davis, E.A. (1995). Functionality of sugars: Physicochemical interactions in foods. *Am J Clinical Nutr*, 62(1): 170–177, doi:10.1093/ajcn/62.1.170S.
- Ding, S., Yang, J. (2021). The effects of sugar alcohols on rheological properties, functionalities, and texture in baked products – A review. *Trends in Food Sci & Techno*, 111: 670–679, doi:10.1016/j.tifs.2021.03.009.
- Drewnowski, A., Nordensten, K., Dwyer, J. (1998). Replacing sugar and fat in cookies: Impact on product quality and preference. *Food Quality and Preference*, 9(1–2): 13–20, doi:10.1016/s0950-3293(97)00017-7.
- Edwards, C.H., Rossi, M., Corpe, C.P., Butterworth, P.J., Ellis, P.R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: Alternatives for the future. *Trends in Food Sci & Techno*, 56: 158–166, doi:10.1016/j.tifs.2016.07.008.
- Fasahat, P., Aghaezadeh, M., Hosseinpour, M., Sadeghzadeh H.S. (2021). Correlation between root weight and sugar content; do we have to continue traditional hypothesis? *Plant Physiology Reports*, 26(1): 188–191, doi:10.1007/s40502-020-00560-2.
- Gallagher, E., O'Brien, C.M., Scannell, A.G.M., Arendt, E.K. (2003). Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production. *J Food Eng* 56(2–3): 261–263, doi:10.1016/S0260-8774(02)00267-4.
- Ghosh, S., Sudha, M.L. (2012). A review on polyols: New frontiers for health-based bakery products. *Int J Food Sci and Nutr*, 63(3): 372–379, doi:10.3109/09637486.2011.627846.
- Granström, T.B., Takata, G., Tokuda, M., Izumori, K. (2004). Izumoring: A novel and complete strategy for bioproduction of rare sugars. *J Bioscience and Bioengineering*, 97(2): 89–94, doi:10.1263/jbb.97.89.
- Gül, H., Yanik, A., Acun, S. (2013). Effects of white cabbage powder on cookie quality. *J Food, Agr Environ*, 11(1): 68–72.
- Herken, E.N., Simsek, S., Ohm, J.B., Yurdunuseven, A. (2017). Effect of Mahaleb on Cookie Quality. *J Food Processing and Preservation*, 41(4): 1-13, doi:10.1111/jfpp.13032.
- Ho, L.H., Pulsawat, M.M. (2020). Effects of partial sugar replacement on the physicochemical and sensory properties of low sugar cookies. *Int Food Research J*, 27(3): 557–567.
- Hsu, H.W., Vavak, D.L., Satterlee, L.D., Miller, G.A. (1977). A Multienzyme Technique for Estimating Protein Digestibility. *J Food Sci*, 42(5): 1269–1273, doi:10.1111/j.1365-2621.1977.tb14476.x.
- Karp, S., Wyrwicz, J., Kurek, M., Wierzbicka, A. (2016). Physical properties of muffins sweetened with steviol glycosides as the sucrose replacement. *Food Sci and Biotechnology*, 25(6): 1591–1596, doi:10.1007/s10068-016-0245-x.
- Kroger, M., Meister, K., Kava, R. (2006). Low-calorie sweeteners and other sugar substitutes: A review of the safety issues. *Comprehensive Reviews in Food Sci and Food Safety*, 5(2): 35–47, doi:10.1111/j.1541-4337.2006.tb00081.x.
- Kutyla-Kupidura, E.M., Sikora, M., Krystyjan, M., Dobosz, A., Kowalski, S., Pysz, M., Tomasik, P. (2016). Properties of Sugar-Free Cookies with Xylitol, Sucralose, Acesulfame K and Their Blends. *J Food Process Eng*, 39(4): 321–329, doi:10.1111/jfpe.12222.
- Kweon, M., Slade, L., Levine, H. (2016). Potential sugar reduction in cookies formulated with sucrose alternatives. *Cereal Chem*, 93(6): 576–583, doi:10.1094/CCHEM-01-16-0016-R.

- Laguna, L., Vallons, K.J.R., Jurgens, A., Sanz, T. (2013). Understanding the Effect of Sugar and Sugar Replacement in Short Dough Biscuits. *Food and Bioprocess Technol*, 6(11): 3143–3154, doi:10.1007/s11947-012-0968-5.
- Lin, S.D., Lee, C.C., Mau, J.L., Lin, L.Y., Chiou, S.Y. (2010). Effect of erythritol on quality characteristics of reduced-calorie danish cookies. *J Food Quality*, 33(1): 14–26, doi:10.1111/j.1745-4557.2010.00307.x.
- Majeed, M., Mahmood, M.A., Khan, M.U., Fazel, M., Shariati, M.A., Pigorev, I. (2018). Effect of sorbitol on dough rheology and quality of sugar replaced cookies. *Potravinarstvo Slovak J of Food Sci*, 12(1): 50–56, doi:10.5219/709.
- Mariotti, M., Alamprese, C. (2012). About the use of different sweeteners in baked goods. Influence on the mechanical and rheological properties of the doughs. *LWT - Food Science and Technology*, 48(1): 9–15, doi:10.1016/j.lwt.2012.03.001.
- Martínez-Cervera, S., Salvador, A., Sanz, T. (2014). Comparison of different polyols as total sucrose replacers in muffins: Thermal, rheological, texture and acceptability properties. *Food Hydrocolloids*, 35: 1–8, doi:10.1016/j.foodhyd.2013.07.016.
- Miller, R.A., Hosney, R.C. (1997). Factors in hard wheat flour responsible for reduced cookie spread. *Cereal Chem*, 74(3): 330–336, doi:10.1094/CCHEM.1997.74.3.330.
- Mooradian, A.D., Smith, M., Tokuda, M. (2017). The role of artificial and natural sweeteners in reducing the consumption of table sugar: A narrative review. *Clinical Nutr ESPEN*, 18: 1–8, doi:10.1016/j.clnesp.2017.01.004.
- Pareyt, B., Talhaoui, F., Kerckhofs, G., Brijs, K., Goesaert, H., Wevers, M., Delcour, J.A. (2009). The role of sugar and fat in sugar-snap cookies: Structural and textural properties. *J Food Eng* 90(3): 400–408, doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.07.010.
- Park, H.R., Kim, G.H., Na, Y., Oh, J.E., Cho, M.S. (2021). Physicochemical and sensory properties of protein-fortified cookies according to the ratio of isolated soy protein to whey protein. *Food Sci Biotechnology*, 30(5): 653–661, doi:10.1007/s10068-021-00909-9.
- Pocan, P., Ilhan, E., Oztop, M.H. (2019). Effect of d-psicose substitution on gelatin based soft candies: A TD-NMR study. *Magnetic Resonance in Chem*, 57(9): 661–673, doi:10.1002/mrc.4847.
- Pourfarzad, A., Khodaparast, M.H.H., Karimi, M., Mortazavi, S.A., Davoodi, M.G., Sourki, A. H., Razavizadegan Jahromi, S.H. (2011). Effect of polyols on shelf-life and quality of flat bread fortified with soy flour. *J Food Process Eng*, 34(5): 1435–1448, doi:10.1111/j.1745-4530.2009.00541.x.
- Schroeder, K., Schuler, B.R., Kobulsky, J.M., Sarwer, D.B. (2021). The association between adverse childhood experiences and childhood obesity: A systematic review. *Obesity Reviews*, 22(7): 1–18, doi:10.1111/obr.13204.
- Struck, S., Jaros, D., Brennan, C.S., Rohm, H. (2014). Sugar replacement in sweetened bakery goods. *Int J Food Sci and Technology*, 49(9): 1963–1976, doi:10.1111/ijfs.12617.
- Sun, Y., Hayakawa, S., Izumori, K. (2004). Modification of Ovalbumin with a Rare Ketohexose through the Maillard Reaction: Effect on Protein Structure and Gel Properties. *Journal of Agricultural and Food Chem*, 52(5): 1293–1299, doi:10.1021/jf030428s.
- Taylor, T.P., Fasina, O., Bell, L.N. (2008). Physical properties and consumer liking of cookies prepared by replacing sucrose with tagatose. *J Food Sci*, 73(3): 145–151, doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00653.x.
- Vatankhah, M., Garavand, F., Elhamirad, A., Yaghbani, M. (2015). Influence of sugar replacement by stevioside on physicochemical and sensory properties of biscuit. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 7(3): 393–400, doi:10.3920/QAS2014.0396.
- Winkelhausen, E., Jovanovic-Malinovska, R., Velickova, E., Kuzmanova, S. (2007). Sensory and Microbiological Quality of a Baked Product Containing Xylitol as an Alternative Sweetener. *Int J Food Properties*, 10(3): 639–649, doi:10.1080/10942910601098031.

Yang, H., Fu, Y., Zhang, Y., Zhou, J., Wang, D., Gao, Z., Ke, Y., Lv, Q., Ding, B., Wang, X. (2021). Evaluation of mannitol and xylitol on the quality of wheat flour and extruded flour products. *Int J Food Sci Techn*, 56: 4119-4128, doi:10.1111/ijfs.15040.

Zoulias, E.I., Piknis, S., Oreopoulou, V. (2000). Effect of sugar replacement by polyols and

acesulfame-K on properties of low-fat cookies. *J Sci Food Agr*, 80(14): 2049–2056, doi:10.1002/1097-0010(200011)80:14<2049: AID-JSFA735>3.0.CO;2-Q.



GIDALARIN BESLEYİCİLİK ÖZELLİKLERİNİ DEĞERLENDİREN İNDEKSLER

Özge Özer*, Sibel Karakaya, Sedef Nehir El

Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beslenme Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 24.08.2021; Kabul / Accepted: 23.12.2021; Online baskı / Published online: 02.02.2022

Özer, Ö., Karakaya, S., El, S.N. (2021). Gıdaların besleyicilik özelliklerini değerlendiren indeksler. *GIDA* (2022) 47 (1) 78-90 doi: 10.15237/ gida.GD21109.

Özer, Ö., Karakaya, S., El, S.N. (2021). *Indexes evaluate the nutritional properties of foods. GIDA* (2022) 47 (1) 78-90 doi: 10.15237/ gida.GD21109.

ÖZ

Gıdaların içerdiği besin öğelerinin beslenme açısından önemi ve sağlık üzerine olumlu/olumsuz etkileri çeşitli yöntemlerle değerlendirilmektedir. Literatürde gıdaların ve diyetin genel olarak besleyici özelliğinin değerlendirildiği indeksler oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıdaların besin öğesi içeriklerine göre sıralanması ve/veya sınıflandırılması ile besin öğesi profilinin oluşturulması ve gıdaların besleyicilik özelliklerinin ölçülmesinde kullanılması gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Gıdaların besleyicilik özelliğinin içerdikleri yağ asitleri, protein veya karbonhidrat vb. besin öğelerinden herhangi biri açısından değerlendirilmesi bütünsel bir yaklaşım sağlamamaktadır. Bu derlemede, bu bütünsel yaklaşımı sağlayacak nitelikte, gıdaların makro ve mikro besin öğeleri ile besleyicilik özelliklerinin değerlendirildiği, literatürde indeks veya puan olarak tanımlanmış ve kullanılmakta olan geçerli yöntemler incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Besleyicilik kalite indeksi, besin öğesi profili, besleyici gıda

INDEXES EVALUATE THE NUTRITIONAL PROPERTIES OF FOODS

ABSTRACT

The nutritional importance of the nutrients contained in foods and their positive/negative effects on health are evaluated by various methods. In the literature, indexes that evaluate the nutritional properties of foods and diet in general are widely used. Sorting and/or classifying foods according to their nutrient content, forming a nutrient profile and measuring the nutritional properties of foods are gaining importance day by day. Evaluating the nutritional properties of foods in terms of either fatty acids, protein or carbohydrates does not provide a holistic approach. In this review, in order to provide this holistic approach, methods that evaluate the nutritional properties of foods by macro and micro nutrients, defined as index or score in the literature, are examined.

Keywords: Nutritional quality index, nutrient profile, nutritious food

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: ozge.ege@gmail.com

☎: (+90) 232 311 3001

☎: (+90) 232 311 4831

Özge Özer; ORCID no:0000-0001-7751-1800

Sibel Karakaya; ORCID no: 0000-0001-5514-9521

Sedef Nehir El; ORCID no: 0000-0002-2996-0537

GİRİŞ

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü, FAO, dünya nüfusunun 2050 yılında 10 milyara ulaşmasını öngörmektedir. Özellikle insan sağlığının temel unsuru olması nedeniyle gıdanın birçok boyutu ile daha büyük önem kazanacağı ve artan nüfusun gıda gereksinimini karşılama konusunda ciddi zorlukların yaşanacağı bilinmektedir. Bugün küresel nüfusun yaklaşık %10'u yetersiz beslenme ve açlık boyutunda, çok az enerji ve yetersiz gıda almaktadır. Bunun yanı sıra, gelişmiş ülkelerde, besleyici değeri düşük, enerji değeri yüksek gıdaların aşırı tüketiminden kaynaklanan yetersiz beslenme sorunları ve obezitenin yanı sıra kronik hastalıklardaki artış ile tipik "Batı" tipi beslenme modeli gelişmiştir (FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO, 2018). EAT-Lancet Komisyonu tarafından 2019 yılında küresel politikalar ve düzenlemeler ile ele alınması gerektiği bildirilen "Gezeganimizde Sağlıklı Beslenme ve Siz" başlıklı kapsamlı bir rapor yayınlanmıştır. Komisyonunda, bugüne kadar yapılan çalışmaların kanıtlarına dayanarak sağlıklı beslenme ve sürdürülebilir gıda üretimi için global düzeyde bilimsel hedef geliştirmek üzere insan sağlığı, tarım, siyasal bilimler, çevre ve sürdürülebilirlik konularında 16 ülkenin katılımcıları bir araya gelmiştir. Raporunda, kırmızı et ve nişastalı sebze tüketiminde %60'lık bir azalma ile birlikte sebze, meyve, tam tane tahıl, kuru baklagil ve kuruyemiş tüketiminde önemli bir artış sağlanması durumunda dünyada her yıl diyabet, kardiyovasküler ve diğer beslenme kaynaklı hastalıklar nedeniyle gerçekleşen yaklaşık 11 milyon ölümün önlenebileceği vurgulanmaktadır (Willett vd., 2019). Tüm bu nedenlerle gıdaların içerdiği besin öğelerinin beslenme ve sağlık üzerine etkilerinin değerlendirilmesinin artık daha geniş yaklaşımlar ile ele alınması gerektiği açıktır. Diyetin genel olarak besleyici özelliğinin değerlendirildiği indeksler ile ilgili çalışmalar mevcutken (Sonesson vd., 2019; Bianchi vd. 2020; Bullock vd. 2021; Santos vd. 2021), gıdaları besin ögesi içeriklerine göre sıralama ve/veya sınıflandırarak, besin profili oluşturma konusu Avrupa Birliği'nde ve ülkemizde Gıda Kodeksi çalışmalarında ele alınan ve yayınlanan tebliğlerdeki beslenme ve sağlık iddiaları ile önem kazanmıştır. Bu tebliğler çerçevesinde sağlık üzerine olumlu etkileri

kanıtlanmış besin öğelerinin ve biyoaktif bileşiklerin gıdalardaki varlığı ve miktarı ile ilgili sağlık iddialarının yapılabilmesinin ön koşulu yine aynı gıdanın besin ögesi temelinde sahip olması gereken kriterler mevcuttur. Sağlık iddialarının yapıldığı gıdaların toplam yağ, doymuş yağ, ilave şeker, kolesterol ve sodyum gibi diyetle sınırlandırılması gereken besin öğelerine ait belirli kriterlere uyması gerekirken, örneğin A vitamini, C vitamini, kalsiyum, demir, protein ve diyet lifi gibi diyetle arttırılması gereken besin öğelerinin sağlanması da öngörülmektedir (TGK, 2017; FDA, 2016). Özellikle, gıda endüstrisi üretim süreçlerinin, yeme alışkanlıklarımızın ve gıda seçimlerimizin önemli çevresel etkileri olduğu göz önüne alındığında, sürdürülebilir bir beslenme modeli için karbon ayak izi ve beslenme kalitesindeki ilişkiyi ortaya koyan çalışmalar da önem kazanacaktır (Nemecek vd., 2016; Hallström vd., 2018; González-García vd., 2019)

Bir gıdanın besleyiciliğini bütün özellikleriyle değerlendirmek kolay değildir. Örneğin protein açısından zengin bir gıdayı içerdiği amino asitler yönüyle değerlendirirken, bu gıda yağ asitleri açısından da zengin bir gıda ise zorunlu yağ asitleri için de iyi bir kaynak olabilir ancak ateroskleroz özelliklere de sahip olabilir. Bir gıdanın veya diyetin birden fazla besin ögesinin veya biyoaktif bileşiğinin ulusal ve uluslararası beslenme rehberlerinde verilen önerileri karşılayacak düzeyde değerlendirilmesinde birden fazla algoritmanın geliştirilmesi konusunda çalışmalara gereksinim vardır (Bianchi vd., 2020). Bu derlemede, gıdaların makro ve mikro besin öğeleri ile besleyicilik özelliklerinin değerlendirildiği, literatürde indeks veya puan olarak tanımlanmış ve kullanılmakta olan geçerli yöntemler incelenmiştir. Bu besleyicilik kalite indeksleri ve ilişkilendirilen besin öğeleri Şekil 1'de verilmiştir.

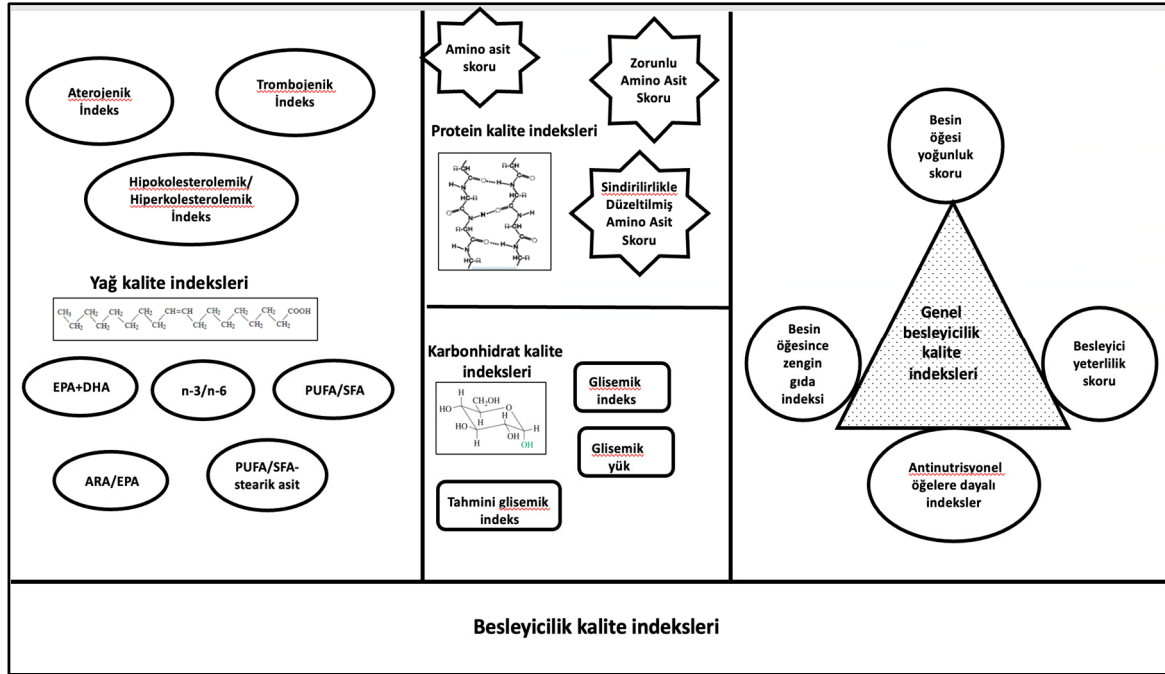
BESLEYİCİLİK KALİTE İNDEKSLERİ

Yağ Kalite İndeksleri

Gıdalarda bulunan yağların beslenme açısından önemi, vücudumuzda sentezlenemeyen ve gıdalar ile almak zorunda olduğumuz zorunlu yağ asitleri ve karbon zincirindeki çift bağların sayısına bağlı olarak doymuş yağ asitleri (DYA), tekli doymamış yağ asitleri (TDYA) ve çoklu doymamış yağ

asitleri (ÇDYA) olarak sınıflandırılmasına dayanmaktadır (Woloszyn vd., 2020). Bu önemden yola çıkılarak, yağ asitleri ile ilgili geliştirilen indekslerde de bu özellikler temel alınmıştır. Çoklu doymamış yağ asitlerinden, linoleik asit C18: 2 (n-6) ve linolenik asit C18: 3 (n-3) zorunlu yağ asitleri olmalarının yanı sıra aynı zamanda linoleik asitten araşidonik asidin (ARA), linolenik asitten eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asidin (DHA) sentezlenmesi bu yağ asitlerini önemli kılmaktadır. Ancak bu sentezlerin çok yavaş olması, normal gelişme ve büyüme için zorunlu olan ve kalp hastalıkları, hipertansiyon ve kanserden korunmada etkili EPA ve DHA'nın balık ve balık ürünleri gibi

kaynaklardan alınmasını önemli kılmaktadır (Petenuci vd., 2016, Zhang vd., 2020; Sroy, 2021). Gıdaların içerdiği yağ asitlerinin beslenme açısından değerlendirilmesinde, TDYA'nın sistemik dolaşımdaki yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) veya düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri üzerine etkileri ile kalp-damar hastalıkları riski arasındaki ilişki dikkate alınan özelliklerdir. Yağ asitlerinin sağlık üzerine kanıtlanmış olumlu ve olumsuz etkileri nedeniyle, besleyicilik özelliklerinin değerlendirilmesi için geliştirilen indekslerin yağ asidi profili ve biyolojik fonksiyonlarına dayandırılması esastır. Bu indeksler ayrı başlıklar altında incelenmiştir.



Şekil 1. Besleyicilik kalite indeksleri

Aterojenik İndeks (AI) ve Trombojenik İndeks (TI)

Ulbricht ve Southgate 1991 yılında, DYA'nın LDL'nin yükselmesi üzerine olan etkilerini göz önünde bulundurarak yağ asitlerinin besleyicilik kalitelerini değerlendirmek üzere, laurik asit (C12:0), miristik asit (C14:0) ve palmitik asidi (C:16:0) aterojenik; miristik asit (C14:0), palmitik asit (C:16:0) ve stearik asidi (C18:0) trombojenik kabul ederek AI ve TI'yı geliştirmişler ve bu indeksler pek çok araştırmacı tarafından kullanılmıştır

(Hosseini vd., 2014; Petenuci vd., 2016; Saini ve Keum, 2018; Zhang vd., 2020; Sroy vd., 2021; Pretorius ve Schönfeldt, 2021).

Aterojenik İndeksin hesaplanmasında kullanılan formülde (1) miristik asit, laurik asit ve palmitik aside göre 4 kat daha fazla aterojenik olarak kabul edildiği için 4 katsayısı ile çarpılmaktadır. Trombojenik İndeksin hesaplanmasında kullanılan formülde (2) ise tekli doymamış yağ asitleri ve n-6 yağ asitleri, n-3 yağ asitlerine göre

daha zayıf anti-aterojenik oldukları için tekli doymamış yağ asitleri ve n-6 yağ asitleri 0.5 katsayısı ile çarpılırken n-3 yağ asitleri 3 katsayısı ile çarpılmaktadır (Hosseini vd., 2014; Saini and Keum, 2018; Araujo vd., 2021).

$$\text{Aterojenik İndeks (AI)} = \frac{C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0}{\Sigma n-3 + \Sigma n-6 + \Sigma MUFA} \quad (1)$$

Trombojenik İndeks (TI) =

$$\frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5 \times C18:1 + 0.5 \times \text{otherMUFA} + 0.5 \times \Sigma n-6 + 3 \times \Sigma n-3 + \Sigma n-3 / \Sigma n-6} \quad (2)$$

Her iki indeksin düşük değerleri gıdanın veya yağın besleyicilik kalitesinin iyi olduğunu göstermektedir. Örneğin farklı deniz ürünleri için yapılan hesaplamalarda AI 0.33-2.37 aralığında, TI ise 0.01-1.18 arasında saptanmıştır (Hosseini vd., 2014).

Hipokolesterolemik/ Hiperkolesterolemik oranı (HH)

Yağ asitlerinin kolesterol metabolizması üzerindeki etkileri dikkate alınarak oluşturulan Hipokolesterolemik/Hiperkolesterolemik yağ asidi oranı aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır. (3)

$$HH = \frac{(C18:1cis - 9 + C18:2n - 6 + C20:4n - 6 + C18:3n - 3 + C20:5n - 3 + C22:5n - 3 + C22:6n - 3)}{(C14:0 + C16:0)} \quad (3)$$

Yüksek HH değerlerine sahip gıdaların insan sağlığı üzerine olumlu etkileri nedeniyle daha besleyici olduğu kabul edilmiştir (Hosseini vd., 2014; Zhang vd. 2020, Sroy vd. 2021, Araujo vd., 2021).

Çoklu doymamış yağlar/doymuş yağlar oranı (ÇDYA/DYA)

Doymamış yağ asitlerinin sağlık üzerine olumlu etkisi ve DY A'nın bazı hastalıkların riskini artırıcı etkisi nedeniyle bu yağ asitlerinin oranlanması ile geliştirilen bu indeksin gıdalarda minimum 0.45 olması ve olabildiğince yüksek olması gerektiği belirlenmiştir (Zhang vd., 2020; Sroy vd., 2021, Araujo vd., 2021).

Çoklu doymamış yağlar/stearik asit dışındaki doymuş yağ asitleri oranı (ÇDYA/DYA-stearik asit)

Stearik asit kolesterol seviyesi üzerinde doymuş yağ asidi gibi davranmadığı için bazı çalışmalarda kalite indeksi hesaplanırken, doymuş yağ asitleri içeriğine dahil edilmemektedir (Hosseini vd., 2014). Bu yaklaşım ile sağlık üzerine olumlu etkileri olan yağ asitleri için çoklu doymamış yağ asitleri (DYA) ve stearik asit miktarı toplamına (4) dayalı "İstenilen Yağ Asitleri (Desirable Fatty Acids-DFA)" kavramı ortaya çıkmıştır (Werenska vd., 2021).

$$DFA = UFA + C18:0 \quad (4)$$

Omega-3 yağ asitleri/ Omega-6 yağ asitleri oranı (n-3/n-6)

Günlük alınması gereken n-3/n-6 oranı ile ilgili belirlenmiş tam bir değer olmamakla beraber WHO tarafından bu oranının 1:5 veya daha yüksek olması önerilmekte, bu oranın düştükçe kalp-damar hastalıkları riskinin arttığı bildirilmektedir (Zhang vd., 2020). Chen ve Liu (2020), Araujo vd. (2021), Sroy vd. (2021)'nin çalışmalarında yağ asitlerinin besleyicilik özelliklerini belirlerken kullandıkları n-3/n-6 oranı aşağıdaki formülle (5) hesaplanmaktadır.

$$n - 3 / n - 6 = \frac{C18:3n-3+C20:3n-3,+C20:5n-3,+C22:6n-3}{C18:2n-6,+C18:3n-6+ C20:2n-6+C20:4n-6+ C22:2n-6} \quad (5)$$

Hosseini vd. (2014) balık çeşitlerinde n-3/n-6 oranının 0.24 ile 4.1 arasında değiştiğini belirtmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde WHO'nun önerilerinin tek bir gıdada sağlanması mümkün olmamakla birlikte bir gıdada n-3/n-6 oranı arttıkça o gıdanın daha besleyici olarak nitelendirilebileceği görülmektedir.

Araşidonik asit / Eikosapentaenoik asit (ARA/EPA)

Bazı araştırmacılar ARA/EPA oranının yağ asitleri ile bunların sağlık etkileri arasındaki ilişkiyi daha iyi tanımlayabileceğini öne sürmüşler ve n-3/n-6 oranının yanı sıra ARA/EPA oranının da iyi bir besleyicilik kalite indeksi olduğunu belirtmişlerdir (Hosseini vd., 2014; Norambuena vd. 2016; Magalhaes vd., 2020). Hosseini

vd.(2014) yapmış oldukları çalışmada ARA/EPA değerini çiğ balıkta ve farklı pişirme yöntemleri sonucunda değerlendirmiş, çiğ balıkta 0.59 olan bu değer fırında pişirme sonucu 0.91'e mikrodalga ile pişirme sonucu ise 1.03'e yükseldiğini belirlemişlerdir. ARA/EPA oranının artması ile balık yağının besleyicilik değerinin azaldığı belirtilmiştir (Hosseini vd., 2014).

Eikosapentaenoik asit + Dokosaheksaenoik asit (EPA + DHA)

EPA ve DHA, vücuttaki biyolojik süreçlerde önemli rol oynayan eikosanoidler olarak bilinen hormonların öncüleri olan uzun zincirli n-3 yağ asitleridir. Amerikan Kalp Derneği'ne göre, haftada yaklaşık 1.0 g EPA + DHA veya iki porsiyon yağlı balık, koroner kalp hastalığından ölüm riskini azaltmaktadır. Beslenme Rehberlerinde, EPA ve DHA içeriği toplamı 80 mg/100 g veya 80 mg/100 kcal üzerinde olan gıdalar, n-3 yağ asitleri bakımından zengin kabul edilmektedir (Bucchini vd., 2019; Sroy vd. 2021). Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği'ne (TGK, 2017) göre ise 100 g'da veya 100 kcal bir gıdada EPA ve DHA miktarları toplamının en az 40 mg olması durumunda o gıda "omega-3 kaynağı", en az 80 mg olması durumunda da "yüksek omega-3 içerikli" olarak beyan edilebilmektedir.

Protein Kalite İndeksleri

Proteinlerin beslenmemizdeki önemi gıdadaki proteinin insan vücudundaki fonksiyonu için doğrudan vücut proteinine dönüşebilmesi ile ilişkilendirilmektedir. Vücudun kendi doku proteini sentezini yapabilmesi için diyetle yer alan gıdaların gerekli tüm amino asitleri yeterli miktarlarda içermesi gerekir. Bir gıdanın içerisinde bulundurduğu protein miktarından ziyade içerdiği proteinlerin kalitesi önemlidir. Herhangi bir gıda proteininin besleyicilik kalitesi; proteinin miktarı, zorunlu amino asitlerin sayısı, bileşimi, miktarı ve emilme oranlarıyla birlikte değerlendirilmektedir (Azi vd., 2019). Proteinlerin kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan indeksler, gıdadaki proteinin yapısında bulunan amino asitlerin vücutun amino asit gereksinimini karşılama oranına dayanmaktadır. Amino Asit Skoru (Amino Acid Scores, AAS), Sindirilirlikle

Düzeltilmiş Amino Asit Skoru (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score-PDCAAS) ve Zorunlu Amino Asit İndeksi (Essential Amino Acid Index, EAAI) en yaygın kullanılan indekslerdir (Azi vd., 2019; Yang vd. 2018; Benhammouche vd., 2021; Felix-Medina vd. 2021).

Amino Asit Skoru (AAS)

Amino Asit Skoru, proteindeki sınırlayıcı amino asit içeriğinin, aynı amino asidin WHO/FAO/UNU (2007) tarafından önerilen referans proteindeki içeriği ile karşılaştırılmasına dayalı bir skordur ve aşağıdaki formülle (6) hesaplanır.

$$\text{Amino Asit Skoru (AAS)} = \frac{1 \text{ g test proteindeki amino asit miktarı (mg)}}{1 \text{ g referans proteindeki amino asit miktarı (mg)}} \quad (6)$$

Gıda ile alınan protein yapısındaki amino asitlerin vücut protein sentezinde kullanılması zorunlu amino asitlerin sayısına ve miktarına bağlıdır. Sentez sırasında en az miktardaki amino asit sınırlayıcı amino asit olarak tanımlanmaktadır. Lisin, metiyonin, treonin ve triptofan genellikle gıdalarda bulunan sınırlayıcı amino asitlerdir (WHO/FAO/UNU, 2007).

Sindirilirlikle Düzeltilmiş Amino Asit Skoru (PDCAAS)

Sindirilirlikle düzeltilmiş amino asit skoru, amino asit skorunun (WHO/FAO/UNU, 2007) *in vitro* koşullarda saptanmış protein sindirilirliği yüzdesi (AOAC, 2000; Felix-Medina vd. 2021) ile çarpılmasıyla hesaplanmaktadır (7).

$$\text{PDCAAS} = \text{Protein sindirilirliği} \times \text{AAS} \quad (7)$$

Zorunlu Amino Asit Skoru (EAA Score)

Zorunlu Amino Asit Skoru, gıdadaki zorunlu amino asit miktarının Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından belirlenen zorunlu amino asit günlük referans alım miktarına bölünmesi ile hesaplanmaktadır (8) (FAO/WHO/UNU, 1985; Azi vd., 2019, Yang vd. 2018). FAO/WHO/UNU (1985) tarafından okul öncesi çağındaki çocuklar için önerilen amino asit puanlama modeli, bebekler hariç tüm

yaş grupları için diyet protein kalitesini değerlendirmek için kullanılmaktadır.

$$\text{Zorunlu Amino Asit Skoru (EAA)} = \frac{\text{Gıdadaki zorunlu amino asit miktarı, \%}}{\text{FAO'nun önerdiği zorunlu amino asit miktarı, \%}} \quad (8)$$

Zorunlu amino asit skoru, ≤ 0.70 (0.7) ise proteinin besleyicilik kalitesinin tam olmadığını, ≥ 0.90 (0.9) ise proteinin besleyicilik kalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir (Azi vd., 2019).

Karbonhidrat Kalite İndeksleri

Karbonhidratlar (basit şekerler, nişasta ve diyet lifi) beslenmemizde temel enerji kaynağı olan makro besin öğeleridir. Günlük enerji gereksiniminin %55-65'inin karbonhidratlardan sağlanması beklenir. Karbonhidratlar, beslenme açısından sağlık üzerine gösterdikleri potansiyel etkiye dayalı olarak besleyicilik özelliklerine göre de sınıflandırılabilir (Ludwig vd., 2018; Reynolds vd., 2019; Lal vd., 2021). Enerji metabolizması için glukoz sağlayan monosakkaritler, disakkaritler ve nişasta, glisemik etki ile değerlendirilirken, nişastanın dirençli formu, nişasta olmayan polisakkaritler ve oligosakkaritler sindirilmeyen karbonhidratlar olarak sağlık üzerine farklı etkileri ile değerlendirilirler (Reynolds vd., 2019; Nanclares vd., 2020). Gıdaların içerdiği karbonhidratların miktarından ziyade sindirime bağlı olarak beslenmedeki etkileri obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar gibi çok sayıda kronik hastalık ve bazı kanserlerin oluşum riski ile ilişkilendirilmektedir (Ludwig vd., 2018; Reynolds vd., 2019). Gıdaları kan şekeri üzerindeki etkilerine göre sınıflandırmak için geliştirilen iki deneysel ölçüt olan Glisemik İndeks (GI) ve Glisemik Yük (GL) aynı zamanda başlıca karbonhidrat kalite indeksleridir.

Glisemik İndeks kavramı, ilk kez Jenkins vd. (1981) tarafından karbonhidratların sınıflandırılması amacıyla karbonhidratlara karşı vücudun glisemik yanıtını ölçmek için önerilmiştir. Bir gıdanın GI'sı, o gıda tüketildikten sonra kandaki glukoz seviyesinin ne kadar hızla yükseldiği ve insülin hormonu salgılanması ile hangi hızla normal seviyelere indiğine ilişkin bir değerlendirmedir (Ludwig vd., 2018). Glisemik İndeks hesaplamasında, belirli miktarda (25 g veya

50 g) sindirilebilir karbonhidrat içeren test gıda tüketildikten sonra bireylerin kan glükoz değerlerini saptamak için 0, 15, 30, 45, 60, 90, ve 120. dakikalarda kapiller kan ölçümü yapılır. Sonrasında kan glükoz değerlerine göre çizilen grafikteki kan glükoz alanı, aynı miktarda sindirilebilir karbonhidrat içeren referans gıda tüketildikten sonraki kan glükoz alanına oranlanarak yüzde olarak ifade edilir. Gıdanın GI değeri hesaplanırken referans gıda olarak glükoz veya beyaz ekmekek (GI=100) kullanılır. Test ve referans gıdaların GI değerleri, Dünya Sağlık Örgütü'nün standart yöntemi ile hesaplanmaktadır (Çiftçi ve Özel, 2017; Lal vd. 2021). Glisemik İndeksi 55 ve altı olanlar düşük GI'lı gıdalar, 56-69 arasındakiler orta GI'lı gıdalar, 70 ve üstü olanlar ise yüksek GI'lı gıdalar olarak sınıflandırılır.

Glisemik Yük (GL) ise GI'nın porsiyon bazında değerlendirilmesidir ve aşağıdaki formülle (9) hesaplanır. Gıdanın glisemik etkisinin daha gerçekçi bir şekilde karşılaştırılmasına olanak tanımaktadır (Penlioglou vd., 2021).

$$\text{Glisemik Yük (GL)} = \frac{\text{GI} \times \text{Karbonhidrat miktarı (g)}}{100} \quad (9)$$

Glisemik İndeksin *in vivo* olarak değerlendirilemediği koşullarda *in vitro* olarak saptanan Tahmini Glisemik İndeks (Estimated Glycemic Index, eGI) kullanılmaktadır. Tahmini Glisemik İndeksin saptanması, gıdanın nişasta hidroliz hızının ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Goni vd., 1997). Buna göre öncelikle beyaz ekmekek ve test edilecek gıdanın Englyst ve diğerleri (1992) tarafından önerilen yöntemle göre enzimatik hidrolizi gerçekleştirilir ve 20, 60, 90, 120 ve 180. dakikalarda alınan örneklerdeki glükoz miktarı kullanılarak yapılan hesaplamaya göre nişasta hidroliz eğrileri (0-180 dakika) oluşturulur. Elde edilen hidroliz eğrileri ile t anındaki glükoz konsantrasyonu Goni vd. (1997) tarafından non-lineer olarak modellenen ve aşağıda verilen formülle hesaplanmaktadır (10).

$$C = C_{\infty} (1 - e^{-kt}) \quad (10)$$

C: t anındaki konsantrasyon; C_{∞} : denge anındaki konsantrasyon; k: kinetik sabit; t: seçilen süre

Hidroliz derecesini gösteren hidroliz eğrisi altındaki alan ise aşağıda verilen formülle (11) hesaplanmaktadır.

$$\text{Hidroliz Derecesi (HD)} = C_{\infty} (t_f - t_0) - \frac{C_{\infty}}{k} (1 - e^{-k(t_f - t_0)}) \quad (11)$$

C_{∞} : denge anındaki konsantrasyon (t_{180}); t_f : analiz bitiş süresi (180), t_0 : analiz başlangıç zamanı (0); k : kinetik sabit.

Hidroliz İndeksi (HI) ise, test örneğine ait Hidroliz Derecesinin standart referans gıda olarak kabul edilen beyaz ekmeğin Hidroliz Derecesine oranı olarak tanımlanmaktadır. *In vivo* olarak belirlenen GI'nın *in vitro* yöntemle tahminlenmesine dayalı olan "Tahmini Glisemik İndeks" (tGI) değeri ise aşağıdaki formülle (12) göre hesaplanmaktadır (Goni vd., 1997).

$$\text{tGI} = 39,71 + 0,549 (\text{HI}) \quad (12)$$

Glisemik İndeksin karbonhidratların kalitesinin değerlendirilmesinde bazı sınırlamaları olduğu öne sürülmektedir. Karbonhidratların kalitesinin belirlenmesinde GI ve GL başlıca indeksler olmakla birlikte, epidemiyolojik çalışmalar ile obezite ve metabolik hastalıklarla yakından ilişkilendirilen tam tahıl ve diyet lifi alımının da dahil olduğu modellerin geliştirilmesi önem kazanmaktadır (Zazpe vd. 2016; Kim vd., 2018; Nanclares, 2021). Örneğin kepekli tahıllar ve nişastalı sebzeler gibi birçok yüksek GI'li gıdanın sağlık üzerine olumlu etkileri bulunurken, şekerli içecekler ve fruktoz gibi düşük GI'li gıdaların sağlık üzerine olumsuz etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Nanclares, 2021). Özellikle, gıdaların tam tahıl içeriğinin, beslenme ve sağlık iddialarının temelini oluşturan besin ögesi profili (NP) modelleriyle daha iyi değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Drewnowski vd., 2021). Diyet lifinin ise glisemik kontrolü düzenleyerek sağlık üzerine çeşitli yararlar sağladığı bilinmektedir (Kim vd., 2018; Nanclares, 2021). Ancak tam tane tahıl ürünleri ve düşük GI'li gıdalar, farklı hastalık risk faktörleri üzerine faydalı etkilere sahip olmaları nedeniyle gerçekte sinerjistik etki gösterirler. Yüksek lif içeren gıdaların sağlık üzerine olumlu etkisi lifin glisemik tepkileri azaltan etkisinden kaynaklanmaktadır. Bu açıdan gıdaların

karbonhidrat açısından besleyicilik özellikleri değerlendirilirken, gıdanın tam tane tahıl formunda içerdiği diyet lifi, GI ve GL değerleri ile birlikte değerlendirilmelidir.

Gıdanın Genel Besleyicilik Kalite İndeksleri

Gıdaların içerdiği bir veya birkaç besin ögesine göre değerlendirilmesi kısa bir sürede Avrupa Birliği'nde beslenme ve sağlık iddialarına ait yasal düzenlemeler ile daha geniş uygulama alanı bulmuştur (Drewnowski ve Fulgoni, 2008; Santos vd., 2021). Avrupa Birliği'nin 1924/2006 sayılı EC tebliğine göre, besin ögesi profilleri, sağlıklı beslenmeye katkılarına göre gıdaların sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Tüketicilerin, sağlıklı seçimler yapmak üzere karar almalarında ambalaj üzerinde yazılmasına izin verilen beslenme ve sağlık iddiaları giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu iddialara sahip olan gıdaların, besleyicilik kalitesinin değerlendirilmesinde Avrupa Birliği (The European Parliament and the Council of the European Union-EC, 2006) bazı düzenleyici kararlar almıştır. Gıdaların besleyicilik kalitesini nicel olarak değerlendirmek için kullanılan yöntemlerin genel ismi Besin Ögesi Profili (Nutrient Profiling, NP) olarak tanımlanmıştır (Drewnowski vd., 2019). Gıdaların besin ögesi içeriklerinin referans miktarlarına oranlanarak sıralanması ve/veya sınıflandırılması bilimi olarak tanımlanan NP çeşitli uygulamalarla gıdaları kategorilere ayıran veya gıdalara puanlar veren birçok yöntemi kapsamaktadır (WHO, 2010, Drewnowski vd., 2019; Santos vd., 2021). Besin ögesi profili (NP) oluşturma modelleri, gıdaların besin ögesi yoğunluğu hakkında bilgi verirken daha sağlıklı gıda seçeneklerine ulaşılmasını sağlamaktadır (Drewnowski vd., 2021). Gıda endüstrisi tarafından ürün geliştirme ve yeniden formülasyon için bilimsel bir temel sağlayan, halihazırda kullanılan birçok NP modeli, temel besin öğeleri (protein, lif, vitaminler ve mineraller) açısından zengin gıdalar ile yüksek miktarda doymuş yağ, ilave şeker ve sodyum içeren gıdaları ayırt etmeyi amaçlamaktadır (Bullock vd. 2021; Sroy vd., 2021). Besin ögesi profilinde; bazı modeller gıda gruplarını dikkate alırken, çoğu besin ögesi temelinde dayanmaktadır (WHO, 2010; Drewnowski vd., 2019). Literatürde çok sayıda

NP modeli bulunmakla birlikte bazıları daha aktif olarak kullanılmakta, bazıları geliştirilerek güncellenmektedir (Drewnowski vd., 2021). Günümüzde çalışmalarda sıklıkla kullanılan NP modelleri aşağıda daha detaylı incelenmiştir.

Besin Ögesi Yoğunluk Skoru (Nutrient Density Score-NDS)

Besin ögesi profilini belirlemek amacıyla kullanılan sağlık üzerinde yararlı etkileri olduğu bilinen (pozitif besin ögesi) 23 besin ögesine dayalı Besin Ögesi Yoğunluk Skoru (NDS), enerji gereksinimine (8 MJ veya 1913 kcal) dayalı olarak tüketilen gıda grubundaki her besin ögesinin referans alım miktarlarına oranlanarak elde edilen yüzdelere ortalaması olarak hesaplanmaktadır (13) (Darmon vd., 2005; Maillot vd., 2007).

$$NDS = \left[\left(\sum_{p=1}^{P=23} \left(\frac{\text{Besin Ögesi}_{ikp}}{RA_p} \right) / 23 \right) \times 100 \right] \times 8 / EI_{ik} \quad (13)$$

Besin Ögesi, ikp = kişiye (i) gıdadan (veya gıda gruplarından) (k) sağlanan besin ögesinin (p) günlük miktarı (g, mg veya µg)

RA, p = Besin ögesinin (p) referans alım miktarı
EI, ik = Gıda grubunun (k) kişiye (i) sağladığı enerji miktarı (MJ)

NDS değerinin 100 olması, herhangi bir gıda grubu veya alt gruplarından 8 MJ (1913 kcal) enerji sağlayacak miktarlar tüketildiğinde 23 besin ögesi için Referans Alım değerinin %100'ünün karşılandığı anlamına gelmektedir. Günlük referans alım miktarları erkek ve kadınlara göre farklılık göstermektedir.

Gıdaların Besleyici Yeterlilik Skorları (Score of Nutritional Adequacy of Individual Foods, SAIN- Disqualifying Nutrients to Limit-Nutrient to be Limited, LIM)

Besin Ögesi Yoğunluk Skoru ile 23'e kadar farklı besin ögesi değerlendirilebilirken daha sonra geliştirilen ve SAIN olarak adlandırılan Besleyici Yeterlilik Skoru (SAIN), daha sınırlı sayıda besin ögesini dikkate almaktadır (Thabet vd., 2021; Sroy vd., 2021). Beslenme açısından yararlı besin öğelerine (pozitif besin öğeleri) dayalı SAIN ve sınırlandırılması gereken besin öğelerine (negatif besin öğeleri) dayalı LIM skorunun (Darmon, 2005; Maillot, 2007; Fulgoni vd., 2009; Tharrey

vd., 2017) birlikte kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Fransız Gıda Standart Ajansı (French Food Standard Agency, AFFSA) tarafından önerilen bu değerlendirmede gıdalar besin öğeleri profiline göre 4 grupta sınıflandırılmıştır (Çizelge 1) (Sroy vd., 2021).

SAIN skorunda; proteinler, lif, C vitamini, kalsiyum ve demir olmak üzere 5 besin ögesi dikkate alınmakta ve referans alım (RA) miktarını karşılama yüzdelere aritmetik ortalamasının enerji değerine oranlanması ile hesaplanmaktadır (14).

$$SAIN = \frac{\frac{C \text{ vit.}}{RA C \text{ vit.}} + \frac{Demir}{RA Demir} + \frac{Kalsiyum}{RA Kalsiyum} + \frac{Protein}{RA Protein} + \frac{Lif}{RA Lif}}{5} \times 100 \quad (14)$$

RA = Referans alım değeri

Enerji = 100 g gıdanın enerji değeri (kcal)

Nispeten az sayıda besin ögesi içermesine rağmen, SAIN skorunun gıdalardaki önemli sayıda besin ögesi ile yüksek korelasyon gösteren bir indeks olduğu saptanmıştır. Beş besin ögesine ek olarak, gıdaların yağ içeriklerine göre farklılık gösterecek şekilde besin öğeleri de isteğe bağlı kullanılabilir. Örneğin enerjinin %97' si lipitlerden sağlanan gıdalarda D vitamini, E vitamini, α-linolenik asit ve tekli doymamış yağ asitleri olmak üzere 4 besin ögesi daha skor hesaplamalarına eklenebilmektedir. (Kone vd., 2016; Sroy vd., 2021).

LIM skoru ise, alımlarının sınırlandırılması gereken 3 besin ögesinin (sodyum, ilave şeker ve doymuş yağ asitleri) tavsiye edilen maksimum günlük alım değerlerine göre hesaplanmaktadır (15).

$$LIM = \frac{\frac{Sodyum}{MRA Sodyum} + \frac{SFA}{MRA SFA} + \frac{ilave \text{ Şeker}}{MRA ilave \text{ Şeker}}}{3} \times 100 \quad (15)$$

MRA = Maksimum referans alım değeri

LIM skorunun hesaplanmasında yer alan besin öğelerinin sayısı, gıda çeşidine ve sınırlandırılması gereken diğer besin öğelerine göre uyarlanabilmektedir. Örneğin alkolsüz içecekler için LIM, 2,5 ile çarpılmaktadır (Sroy vd., 2021).

Çizelge 1. Besleyicilik yeterliliği grup sınıflandırması

Gruplar	Skor	Sınıflandırma	Gıdalar
Grup 1	SAIN > 5- LIM < 7.5	Tüketilmesi önerilen gıdalar	Meyve ve sebzeler, yumurta, süt (sade süt, az yağlı, az şekerli süt ürünleri), balık, kabuklu deniz hayvanlarının %70'i, rafine edilmemiş karbonhidrat ve tahıllar (patates, baklagil ve tam tahıl ekmeği vb.).
Grup 2	SAIN < 5- LIM < 7.5	Nötr gıdalar	Bazı rafine edilmiş tahıl ürünleri ve beyaz ekmekek, makul miktarlarda SFA içeren tahıl bazlı ürünler, şeker ve tuz içeren gıdalar, bazı işlenmiş meyvelerle birlikte kuru meyveler ve kuruyemişler, meyve suyu, şuruplu konserve meyveler, kuru üzüm ve badem.
Grup 3	SAIN > 5- LIM > 7.5	Az miktarlarda tüketilecek gıdalar	Çoğu peynir, bazı şarküteri et ürünleri (jambon), tuzlanmış/ tütülenmiş yağlı balıklar ve orta yağlı etler ve çoğu bitkisel yağlar.
Grup 4	SAIN < 5 – LIM > 7.5	Kaçınılması veya sınırlandırılması gereken gıdalar	Tatlılar ve tuzlu atıştırmalıklar, hayvansal yağlar, alkolsüz içecekler, bazı peynirler, şarküteri et ürünleri, yağlı etlerin ve yüksek miktarda yağ veya ilave şeker içeren süt ürünlerinin büyük çoğunluğu, zeytin, yer fıstığı yağı ve çoğu kuruyemiş.

Besin Ögesince Zengin Gıda İndeksi (Nutrient Rich Food Index-NRF)

Besin Ögesince Zengin Gıda İndeksi, beslenme açısından yararlı besin öğelerinin artırılmasını (pozitif besin öğeleri) ve 3 besin ögesinin (doymuş yağlar, şekerler ve sodyum) sınırlandırılmasını teşvik etmek için oluşturulmuş bir NP modelidir. Değerlendirilen pozitif besin ögesi sayısına göre 6 (NRF 6.3) ile 15 (NRF 15.3) arasında değişen çeşitli puanlama sistemleri oluşturulmuştur (Çizelge 2) (Visser vd., 2021).

NRF modelleri için hesaplamalar, referans alım değerlerine oranlanan pozitif besin öğeleri toplanarak ve maksimum referans alım değerine oranlanan negatif besin öğeleri çıkarılarak yapılmaktadır (Fulgoni vd., 2009). Örneğin; NRF

9.3 modeli, 100 kcal başına Çizelge 2'de verilen 9 pozitif besin ögesi ve 3 negatif besin ögesinin referans alım değerlerine dayalıdır ve aşağıdaki gibi hesaplanmaktadır (16).

$$\text{NRF 9.3} = (\text{protein g} / 50 \text{ g} + \text{diyet lifi g} / 25 \text{ g} + \text{vitamin A IU} / 5000 \text{ IU} + \text{vitamin C mg} / 60 \text{ mg} + \text{E vitamini IU} / 30 \text{ IU} + \text{kalsiyum mg} / 1000 \text{ mg} + \text{demir mg} / 18 \text{ mg} + \text{magnezyum mg} / 400 \text{ mg} + \text{potasyum mg} / 3500 \text{ mg} - \text{doymuş yağ g} / 20 \text{ g} - \text{ilave şeker g} / 50 \text{ g} - \text{sodyum mg} / 2400 \text{ mg}) \times 100 \quad (16)$$

NRF indeksi, tek tek gıdalara veya diyetin tamamına uygulanabilir. Bu yöntemin beslenme bilimi ile birlikte güncellenmeye uygun olduğu bildirilmiştir (Drewnowski vd., 2019).

Çizelge 2. Çeşitli NRF değerlendirme modelleri

NRF Modeli	Makro Besin Öğeleri	Vitaminler	Mineraller	Sınırlanması gereken besin öğeleri
NRF 6.3	Protein, diyet lifi	A, C	Ca, Fe	Doymuş yağ, ilave şeker, sodyum
NRF 9.3	Protein, diyet lifi	A, C, E	Ca, Fe, Mg, K	Doymuş yağ, ilave şeker, sodyum
NRF 11.3	Protein, diyet lifi	A, C, E, B ₁₂	Ca, Fe, Mg, Zn, K	Doymuş yağ, ilave şeker, sodyum
NRF 15.3	Protein, diyet lifi, tekli doymamış yağ asitleri	A, C, D, E, B ₁ , B ₂ , B ₁₂ , folat	Ca, Fe, Zn, K	Doymuş yağ, ilave şeker, sodyum

SONUÇ

Gıdaların besleyicilik özelliğinin değerlendirilmesinde, gıdalarda bulunan yağ asitleri, protein, karbonhidrat gibi makro besin öğelerinin içeriğini veya beslenme rehberlerinde artırılması öngörülen lif, vitamin, mineral vb. veya sınırlandırılması gereken doymuş yağ, şeker ve sodyum gibi besin öğelerinin içeriğini ya da bunların kombinasyonlarını dikkate alan sınıflandırmalar kullanılmaktadır. Ancak, gelecekte, tüm bu değerlendirme yöntemlerinde besin öğelerinin miktarına dayalı yaklaşımın, aynı zamanda bu besin öğelerinin sindirim sistemindeki biyoerişebilirliği/biyoyararlılığı gibi özellikleri ile birlikte değerlendirilmesi ve bu sınıflandırmaları dikkate alan modelleme sistemlerinin araştırıldığı çalışmalara önem verilmesi gerekmektedir. Ayrıca genel besleyicilik kalitesi yüksek olan bir gıdanın antinutrisyonel faktörleri ya da toksik bileşikleri de beraberinde içerebileceği durumda bu faktörlerin de göz önüne alınması ile her gıdanın kendi bileşimine uygun bir değerlendirme yapılması da önemlidir. Böylece bir gıdanın beslenme ve sağlık üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra olumsuz etkilerinin de kanıtlara dayalı ve ölçülebilir olarak ifade edilmesi daha bütünsel bir yaklaşımla mümkün olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı

sağlamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

Araujo, P., Truzzi, C., Belghit, I., Antonucci, M. (2021). The impact of seawater warming on fatty acid composition and nutritional quality indices of *Trematomus bernacchii* from the Antarctic region. *Food Chem*, 365: 130500.

Azi, F., Njokua, H. A., David, E.I., Odo, M.O., Nwobasi, V.N., Tu, C., Dong, M. (2019). Effect of processing aid on the chemical composition and metagenomics of T fermented African oil bean seed (*Pentaclethra macrophylla*, Benth). *LWT - Food Sci Techno*, 111: 429–435.

Benhammouche T., Melo, A., Martins, Z., Miguel A. Faria, M.A., Pinho, S.C.M., Ferreira, I. M.L.P.V.O., Zaidi, F. (2021). Nutritional quality of protein concentrates from *Moringa Oleifera* leaves and in vitro digestibility. *Food Chem*, 348: 128858.

Bianchi M., Strid, A., Winkvist, A., Lindroos, A.K., Sonesson, U., Hallström, E. (2020). Systematic Evaluation of Nutrition Indicators for Use within Food LCA Studies. *Sustainability*, 12: 8992.

Bucchini, L. (2019). Nutrition and health claims in Europe: oils & fats related claims, regulatory and labeling challenges. *OCL*, 26: 48.

Bullock, S.L., Miller, H.M., Ammerman, A.S., Viera, A.J. (2021). Comparisons of Four Diet Quality Indexes to Define Single Meal Healthfulness. *J Acad Nutr Diet*, 1-10.

- Çiftçi, S., Özel Gökmen, H. (2017). Besinlerin Glisemik İndeks Değerinin Hesaplanmasında Kullanılan Beş Farklı Yöntemin Değerlendirilmesi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 45(3): 225-233.
- Chen J.; Liu H. (2020). Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review. *Int J Mol Sci*, 21:16, 5695.
- Darmon, N., Darmon, M., Maillot, M., Drewnowski, A. (2005). A nutrient density standard for vegetables and fruits: nutrients per calorie and nutrients per unit cost. *J Am Diet Assoc*, 105: 1881-7.
- Drewnowski, A., Dwyer, J., King, J.C., Weaver, C.M. (2019). A proposed nutrient density score that includes food groups and nutrients to better align with dietary guidance. *Nutr Rev*, 77(6): 404-416.
- Drewnowski, A., Fulgoni, V. (2008). Nutrient profiling of foods: creating a nutrient-rich food index. *Nutr Rev*, 66: 23-9.
- Drewnowski, A., McKeown, N., Kissock, K., Beck, E., Mejbörn, H., Vieux, F., Smith, J., Masset, G., Seal, C.J. (2021). Perspective: Why Whole Grains Should Be Incorporated into Nutrient-Profile Models to Better Capture Nutrient Density. *Adv Nutr*, 00: 1-9.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M., Cummings, J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr*, 46(29): 33-50.
- FAO/WHO/UNU (1985). Energy and protein requirement. WHO Technical Report Series 724 Geneva: WHO.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO (2018). The State of Food Security and Nutrition in the World 2018. Building climate resilience for food security and nutrition. Rome, FAO.
- Félix-Medina, J.V., Gutiérrez-Dorado, R., López-Valenzuela, J.A., López-Ángulo, G., Quintero-Soto, M.F., Perales-Sánchez, J.X.K., Montes-Ávila, J. (2021) Nutritional, antioxidant and phytochemical characterization of healthy ready-to-eat expanded snack produced from maize/common bean mixture by extrusion. *LWT- Food Sci Techno*, 142: 111053.
- Fulgoni V. L. III, Drewnowski, A., Keast, D. R. (2009). Development and Validation of the Nutrient-Rich Foods Index: A Tool to Measure Nutritional Quality of Foods. *J Nutr*, 139 (8): 1549-1554.
- FDA (2016). Guidance for Industry: Use of the Term "Healthy" in the Labeling of Human Food Products. Office of Nutrition and Food Labeling Nutrition Program Staff, HFS-830 Center for Food Safety and Applied Nutrition Food and Drug Administration.
- Goni, I., Garcia-Alonso, A., Saura-Calixto, F. A. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutr Res*, 17: 427-437.
- González-García, S., Esteve-Llorens, X., Moreira, M.T., Feijbo, G. (2018). Carbon footprint and nutritional quality of different human dietary choices. *Sci. Total Environ*, 644: 77-94.
- Hallström, E., Davis, J., Woodhouse, A., Sonesson, U. (2018). Using dietary quality scores to assess sustainability of food products and human diets: A systematic review. *Ecol Indic*, 93: 219-230.
- Hosseini, H., Mahmoudzadeh, M., Rezaei, M., Mahmoudzadeh, L., Khaksar, R., Khosroshahi; N.D., Babakhani, A. (2014). Effect of different cooking methods minerals, vitamins and nutritional quality indices of kutum roach (*Rutilus frisii kutum*). *Food Chem*, 148: 86-91.
- Jenkins, D.J., Wolever, T. M., Taylor, R. H. (1981). Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr*, 34: 362- 366.
- Kim, D.-Y., Kim, S.H., Lim, H. (2018). Association between dietary carbohydrate quality and the prevalence of obesity and hypertension. *J Hum Nutr Diet*, 31: 587-596.
- Kone, M.B., Traore, S., Brou, K. (2016). Use of SAIN and LIM System for Determination of Nutritional Profile of Foods Consumed by Under-five Children in the District of Abidjan, Ivory Coast. *J.B.A.H.S.*, 5(1): 1-6.

- Lal, M.K., Singh, B., Sharma, S., Singh, M.P., Kumar, A. (2021). Glycemic index of starchy crops and factors affecting its digestibility: A review. *Trends Food Sci Tech*, 111: 741-755.
- Ludwig, D.S., Hu, F.B., Tappy, L., Brand-Miller, J. (2018). Dietary carbohydrates: role of quality and quantity in chronic disease. Science and politics of nutrition. *BMJ*, 361: 2340.
- Magalhães, R., Guerreiro, I., Coutinho, F., Moutinho, S., Sousa, S., Delerue-Matos, C., Domingues, V.F., Olsen, R.E., Peres, H., Oliveira-Teles, A. (2020). Effect of dietary ARA/EPA/DHA ratios on growth performance and intermediary metabolism of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, 516: 734644.
- Maillot, M., Darmon, N., Darmon, M., Lafay, L., Drewnowski, A. (2007). Nutrient-dense food groups have high energy costs: an econometric approach to nutrient profiling. *J Nutr*, 137: 1815–1820.
- Nanclares, A.R., Gea, A., Martínez-Gonzalez, M.A., Zazpe, I., Gardeazabal, I., Fernandez-Lazaro, C.I., Toledo, E. (2021). Carbohydrate quality index and breast cancer risk in a Mediterranean cohort: The SUN Project. *Clin Nutr*, 40: 137-145.
- Nemecek, T.T., Jungbluth, N.N., I Canals, L.M.M., Schenck, R. (2016). Environmental impacts of food consumption and nutrition: Where are we and what is next? *Int J Life Cycle Assess*, 21: 607–620.
- Norambuena, F., Rombenso, A., Turchini, G.M. (2016). Towards the optimization of performance of Atlantic salmon reared at different water temperatures via the manipulation of dietary ARA/EPA ratio. *Aquaculture*, 450: 48–57.
- Official Methods of Analysis (2000) AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Penlioglou, T., Lambadiari, V., Papanas, N. (2021). The contribution of dietary glycemic index and glycemic load to the development of microvascular complications of diabetes. *Nutrition*, 89: 111234.
- Petenuci, M.E., Rocha, Ido N.A., de Sousa, S.C., Schneider, V.V.A., da Costa, L.A.M.A., Visentainer, J.V. (2016). Seasonal variations in lipid content, fatty acid composition and nutritional profiles of five freshwater fish from the Amazon Basin. *J Am Oil Chem Soc*, 93: 1373–1381.
- Pretorius, B., Schönfeldt, H.C. (2021). Cholesterol, fatty acids profile and the indices of atherogenicity and thrombogenicity of raw lamb and mutton offal. *Food Chem*, 345, 128868.
- Reynolds, A., Mann, J., Cummings, J., Winter, N., Mete, E., Morenga, L. T. (2019). Carbohydrate quality and human health: a series of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet*, 393: 434–45.
- Saini, R.K., Keum, Y.S. (2018). Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review. *Life Sci*, 203: 255-267.
- Santos, M., Rito, A.I., Matias, F. N., Assunção, R., Castanheira, I., Loureiro, I. (2021). Nutrient profile models a useful tool to facilitate healthier food choices: A comprehensive review. *Trends Food Sci Tech*, 110: 120-131.
- Sonesson, U., Davis, J., Hallström, E., Woodhouse, A. (2019). Dietary-dependent nutrient quality indexes as complementary functional unit in LCA: A feasible option? *J Clean Prod*, 211: 620–627.
- Sroy, S., Arnauda, E., Serventa, A., Inb, S., Avallone, S. (2021). Nutritional benefits and heavy metal contents of freshwater fish species from Tonle Sap Lake with SAIN and LIM nutritional score. *J Food Compos Anal*, 96.
- The European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EC) no 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Off J Eur Union*, L404:9–25.
- Thabet, M., Fouchali, T., El Ati, J. (2021). Assessing the SAIN, LIM nutrient profile of foods sold by fast food restaurants in Tunisia: Exploring ways for improvement. *Nutr Clin Metab*, 35, 2: 116-122,

- Tharrey, M., Houeto, A., Dubois, C., Vieux, F., Maillot, M., Darmon, N. (2017). Comparaison de la classification de recettes par trois systèmes de profilage nutritionnel: SAIN, LIM, SENS et 5-C. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52, 5: 269-277.
- Türk Gıda Kodeksi (TGK), Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği (2017). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 26 Ocak 2017 tarih ve 29960 sayılı *Resmî Gazete*, Ankara.
- Ulbright, T.L.V., Southgate, D.A.T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338: 985–992.
- Visser, M., Van Zyl, T., Hanekom, S.M., Baumgartner, J., Van der Hoeven, M., Taljaard-Krugell, C., Smuts, C.M., Faber, M. (2021). Nutrient density, but not cost of diet, is associated with anemia and iron deficiency in school-age children in South Africa. *Nutrition*, 84: 111096.
- WHO (2010). Nutrient profiling: report of a technical meeting. London, United Kingdom, 4-6 October 2010, ISBN: 978 92 4 150220 7
- WHO/FAO/UNU (2007). Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition: Report of a joint World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations/United Nations University expert consultation. WHO Technical Report Series, vol. 935. World Health Organization, Geneva.
- Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S., Garnett, T., Tilman, D., De Clerck, F., Wood, A., Jonell, M., Clark, M., Gordon, L.J., Fanzo, J., Hawkes, C., Zurayk, R., Rivera, J.A., De Vries, W., Majele Sibanda, L., Afshin, A., Chaudhary, A., Herrero, M., Agustina, R., Branca, F., Lartey, A., Fan, S., Crona, B., Fox, E., Bignet, V., Troell, M., Lindahl, T., Singh, S., Cornell, S.E., Srinath Reddy, K., Narain, S., Nishtar, S., Murray, C. J. L. (2019). Food in the Anthropocene: the EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet*, 393(10170): 447-492.
- Wereńska, M., Haraf, G., Wołoszyn, J., Goluch, Z., Okruszek A., Teleszko, M. (2021). Fatty acid profile and health lipid indices of goose meat in relation to various types of heat treatment. *Poult Sci J*, 100: 8, 2-12.
- Wołoszyn, J., Haraf, G., Okruszek, A., Wereńska, M., Goluch, Z., Teleszko, M. (2020). Fatty acid profiles and health lipid indices in the breast muscles of local Polish goose varieties. *Poult Sci J*, 99, 2: 1216-1224.
- Yang, F., Xingjian, H., Zhang, C., Zhang, M., Mei, Huang, C., Yang, H. (2018). Amino acid composition and nutritional value evaluation of Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume) and its protein subunit. *RSC Adv*, 8(5): 2653–2659.
- Zazpe, I., Santiago, S., Gea, A., Ruiz-Canela, M., Carlos, S., Bes-Rastrollo, M. (2016). Association between a dietary carbohydrate index and cardiovascular disease in the SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) Project. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 26: 1048-1056.
- Zhang, X., Ning, X., He, X., Sun, X., Yu, X., Cheng, Y., Yu, R.-Q., Wu, Y. (2020). Fatty acid composition analyses of commercially important fish species from the Pearl River Estuary China. *PLoS One*, 15: 1–16.



GIDANIN ÖZELLEŞTİRİLMESİ VE DETAYLANDIRILMASINDA ÜÇ BOYUTLU (3D) YAZICININ KULLANIMI

Hilal Meral*, Aslıhan Demirdöven

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat, Türkiye

Geliş / Received: 04.08.2021; Kabul / Accepted: 27.01.2022; Online baskı / Published online: 04.02.2022

Meral, H., Demirdöven, A. (2022). Gıdanın özelleştirilmesi ve detaylandırılmasında üç boyutlu (3D) yazıcının kullanımı. *GIDA* (2022) 47 (1) 91-106 doi: 10.15237/gida. GD21112.

Meral, H., Demirdöven, A. (2022). *Three-dimensional (3D) printing technology in customizing and elaborating of food.* *GIDA* (2022) 47 (1) 91-106 doi: 10.15237/gida. GD21112.

ÖZ

Üç boyutlu (3D) yazıcı teknolojisi, oldukça karmaşık geometrik yapılara sahip üç boyutlu nesnelerin üretiminde büyük esneklik sunarak, daha önce erişilemeyen özelliklere ve ilgi çekici işlevlere olanak tanımaktadır. Katmanlı üretim veya hızlı prototipleme olarak da ifade edilen üç boyutlu yazıcı teknolojisi; tıp, gastronomi, mühendislik, imalat, sanat ve eğitim gibi sürekli büyüyen farklı uygulama alanlarıyla araştırmacıların, endüstrinin ve tüketicilerin büyük ilgisini çeken, gelişmekte olan dijitalleştirilmiş bir teknolojidir. Farklı sektörlerde uygulama alanı bulunmasına karşın kompleks uygulamaları gastronomi alanında ortaya çıkmaktadır. Başka bir ifade ile son çalışmalarda 3D yazıcı teknolojisinde araştırmacıları harekete geçiren trend alanı "gıda sektörü" olarak karşımıza çıkmaktadır. Gıda sektöründe katmanlı üretim teknolojisi tüketiciye özel lezzet, maliyet, beslenme kriterlerine uygun olan tüketime hazır bir ürün sunmaktadır. Bu derleme; gıda endüstrisinde 3D yazıcı teknolojisinin önemini ortaya koymakta, 3D model oluşturma ve dilimlemeden oluşan gıda yazıcı sisteminin ilk adımını özetlemektedir.

Anahtar kelimeler: 3D yazıcı, katmanlı üretim, teknoloji, gıda.

THREE-DIMENSIONAL (3D) PRINTING TECHNOLOGY FOR CUSTOMIZATION AND ELABORATION OF FOOD

ABSTRACT

Three-dimensional (3D) printing technology offers great flexibility in the fabrication of objects with highly complex geometries, allowing intriguing functionalities previously inaccessible. Also referred to as additive manufacturing-(AM) or rapid prototyping, 3D printing is a developing digitized technology that has attracted great interest from researchers, industry, and consumers with its various ever-growing application areas, which include medicine, gastronomy, engineering, manufacturing, arts, and education. Although it has found use in different sectors, the area that has recently activated researchers in 3D printing technology is the "food sector". AM technology offers a ready-to-consume product that is tailored to the consumer, and complies with their taste, cost, and nutritional criteria. This review outlines the importance of 3D printing systems in the food industry, and it summarizes the first step of food printing, which comprises of 3D model building and slicing.

Key words: 3D printer, additive manufacturing, technology, food.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉:hilal.meral@gop.edu.tr

☎: (+90) 356 252 16 16-2889

☎: (+90) 356 252 17 29

Hilal Meral; ORCID no: 0000-0001-6238-7958

Aslıhan Demirdöven; ORCID no: 0000-0003-1246-9132

GİRİŞ

Günümüzde bilim ve teknolojiye meydana gelen gelişmeler ile birlikte farklı teknolojilerin gıda sektöründe kullanımına dair çalışmalar hız kazanmıştır. Tüketicinin istek ve ihtiyaçları doğrultusunda, kişiye özel yeni gıda ürünleri üretimini amaç edinen “gıda tasarımı” olgusu son yıllarda yenilikçi teknolojilere olan gereksinimi artırmıştır. Bu kapsamda ortaya çıkan gıdalarda 3D yazıcı teknolojisi, çeşitli ürünlerin daha hassas, özgün, inovatif yapı ve tekstürlere sahip ürünlerin oluşumunda uygun bir proses imkanı sunmaktadır. Çeşitli gıda bileşenlerinin ve lezzetlerinin tamamen farklı bir yolla integrasyonuna zemin hazırlayan 3D yazıcı teknolojisi hem ev kullanıcıları hem de tasarımcılar için yenilikçi şekil, tekstür ve lezzet oluşumu sağlayan bir tasarım özgürlüğüdür (Lipton vd., 2015; Aday ve Aday, 2020). Katmanlı üretime veya bilinen diğer adıyla 3D yazıcı teknolojisine ilk kez 1983 yılında geçilmiş ve hızlı bir şekilde geliştirilerek ürünlerin fiziksel prototiplerinin üretiminde, ürün tasarımlarının işlevsel olarak değerlendirilmesinde, sağlık ürünlerinde yaygın olarak uygulama alanı bulmuştur (Dong vd., 2021).

3D yazıcı teknolojisi, son yıllarda ileri üretim endüstrisinde esnek ve güçlü bir teknik olarak ortaya çıkmakta ve birçok ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda sektöründe de büyük bir potansiyele sahip olup karmaşık geometrik yapılara sahip ürünleri, önceden modelleme tekniği ile özelleştirilmiş objeleri ve özel beslenme içerikleri olan yapıları üretme imkanı sağlamaktadır. 3D yazıcılar keşfedildikten sonra teknik olarak geliştirilerek hem gıdaların üretiminde hem de ambalajlama sektöründe kullanım alanı bulmuştur. İlk kez 1984 yılında Charles Hull tarafından kullanılmış olan 3D baskı teknolojisi, “Nanotek Instruments” şirketi tarafından geliştirilerek 2001 yılında özel tasarım pasta üretiminde yararlanılmıştır. 2009 yılında Electrolux Design Lab. yarışmasında “Klüber” firması birden fazla materyal kullanımına olanak sağlayan “Moléculaire” adı verilen bir cihaz tasarımı ile ödül almış ve 2013 yılında ise Amerika Birleşik Devletleri'nin uzay programı çalışmalarından sorumlu kurum olan Ulusal

Havacılık ve Uzay Dairesi (NASA) tarafından uzun süreli keşif görevlendirmelerinde kullanılmak üzere özel 3D gıda yazıcılarının tasarımına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Ürünlerin bileşimi bazında irdelendiğinde, bu teknolojinin kullanımına dair ilk örneklerde, şeker, nişasta, maya, mısır şurubu ve şeker hamuru karışımından oluşan hamurun ekstrüzyonu yapılmıştır (Lille vd., 2018). Konu ile ilgili yapılan araştırmalar ilerledikçe, seçici lazer sinterleme teknolojisi ile şeker taneciklerinin ergimesi için lazer ışınları geliştirilerek çikolata ve peynir gibi çeşitli ürünlerin üretiminde de 3D yazıcı teknolojisinden yararlanılmaya başlanmıştır (Zoran vd., 2011; Mantihal vd., 2017; Mantihal vd., 2019). Son yıllarda ise 3D gıda baskısının gelecek nesiller için bir “yazdır-ye” (print-and-eat) teknolojisi olarak sektörde önemli bir yer alacağı öngörülmektedir (Aldanmaz vd., 2017; Prakash vd., 2019).

Bu derlemenin amacı; 3D yazıcı teknolojisinin pazardaki yerini ve potansiyel uygulamalarını inceleyerek gıda sektöründe müşteri ihtiyaçlarını hangi düzeyde karşıladığını, gıda ve gastronomi alanına ne gibi katkılar sağladığını anlamak için 3D yazıcı sisteminin önemine, proses aşamalarına ve kullanım alanlarına ilişkin bilgileri ortaya koymaktır.

Gıda Sektöründe 3D Yazıcı Teknolojisi Neden Önemli?

Gıda sektörü için hızlı prototipleme teknolojisinin, tüketiciye özel, lezzet, maliyet, beslenme kriterlerine uygun ve tüketime hazır bir ürün sunarak gıda işlemede yeni sınırlar belirleyeceği düşünülmektedir (Deloitte, 2015). Bu duruma ek olarak teknoloji, mucitlerin kendi düşüncelerini oluşturma noktasında engel oluşturan kaynak ve yetenek yetersizliklerinin giderilmesini sağlayarak tasarımcılara yeni bir kapı aralamakta ve “İnovasyonun Demokratikleşmesini” sağlamaktadır. Bu nedenle, gıdalar fizyokimyasal özellikleri ile geniş varyasyonlara sahip karmaşık sistemler olmasına rağmen, araştırmacılar 3D baskının çeşitli gıda ürünlerine uygulanmasını yaygınlaştırmak için çok çeşitli çalışmalar gerçekleştirmektedir (Lipton vd., 2010; Tess, 2016).

Gıda sektöründe 3D yazıcı teknolojisi gıdanın bileşimini, yapısını veya yoğunluğunu farklı yaş, cinsiyet ve meslekteki tüketicilerin tercih ve ihtiyaçlarına göre ayarlayarak beslenme düzenlerine tam olarak uyumlu geniş bir yelpaze sunmaktadır. Böylece her tüketici için kişiselleştirilmiş birbirinden farklı gıda ürünleri meydana getirilmekte ve ayırt edilebilir gıda olarak pazarda yerini almaktadır. Bu gıda ürünlerinin çoğunun üretimi ve dizaynında özel zanaatkarlara ve fabrikasyonunda çok yüksek maliyetlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu noktada 3D yazıcı teknolojisi, mutfak sanatları ile profesyonel olmayan gıda zanaatkarları arasında bir köprü görevi görmektedir (Simon, 2015).

3D yazıcı sistemi, birden fazla adımı hatta tüm gıda üretim sürecini değiştirerek kitlesel özelleştirme maliyetini azaltmakta ve bu süreçte meydana gelebilecek personel hatalarını minimize ederek üretim verimliliğini artırmaktadır (Simon, 2015; D'Angelo vd., 2016). 3D gıda yazıcıları ayrıca çeşitli gıda bileşenlerinin ve lezzetlerinin tamamen farklı bir yolla bütünleşmesine zemin hazırlamaktadır. Bucosini gibi bazı şirketler 3D gıda yazıcı teknolojisi için reçetelerini ve bileşenlerini paylaşarak kendi pazar yerlerini oluşturmuşlardır (Molitch-Hou, 2015). Bu şirkete ek olarak Hollanda Uygulamalı Bilimsel Araştırma Örgütü, geleneksel gıda maddelerinin yerine farklı bileşenlerin kullanımı ile yeni gıda ürünlerinin oluşumu için araştırma yapmaktadır. Alternatif bileşen olarak alg, böcek, mantar veya acı bakla tohumlarından yararlanarak elde edilen protein ile lezzetli ve besleyici yeni gıda ürünleri meydana getirilmiştir. Bu anlamda 3D gıda yazıcıları, görünüm olarak tüketici için tüketilmesi daha zor olan ham maddelere kullanım imkanı sağlamaktadır (Peppel, 2015; Sun vd., 2015b; Izdebska ve Zolek, 2016).

Katmanlı üretim, daha az hammadde ve daha az enerji kullanımı ile ekolojik ayak izinin azaltılmasını sağlamaktadır. Gıdalarda 3D yazıcı teknolojisi, işleme sırasında birden çok adımı tek adımda birleştirebilen etkili bir sistem olduğu için oluşan atık miktarının azalmasını sağlamakta ve komut verilmedikçe gıda üretimi gerçekleşmediği için sistemde daha az su ve enerji tüketimi söz

konusu olmaktadır. Bu anlamda 3D yazıcı teknolojisi, enerji tasarrufu sağlayan teknolojiler içerisinde yer almakta ve bu durum sektörde kullanımının yaygınlaşmasında önemli bir rol oynamaktadır (Shahbazi ve Jäger, 2020).

3D gıda yazıcı teknolojisi, gıda tedarik zincirinde atık miktarının azaltılması ve artıkların değerlendirilmesini sağlayan bir sistemdir. Bu anlamda teknoloji kullanımı ile su, enerji ve gıda maddelerinin israfı önlenmektedir. Hollanda'da Upprinting Food şirketi bayat ekmekek, ezilmiş meyve ve sebzeleri, restoranlarda artan gıdaları 3D yazıcı teknolojisinde materyal olarak değerlendirerek atıştırmalık ürün elde etmiştir (Boissonneault, 2019). Bu durumlar göz önüne alındığında aslında çevre dostu ve sürdürülebilir bir teknoloji olduğu görülmektedir. Yiyeceklerle bilgi aktarımı bir zenginlik ortamı yaratmakta ve üzerlerinde tanıtım için iş logoları basılı kek, çikolata, kurabiye gibi ürünler sosyal bağı güçlendirmektedir (Dankar vd., 2018a).

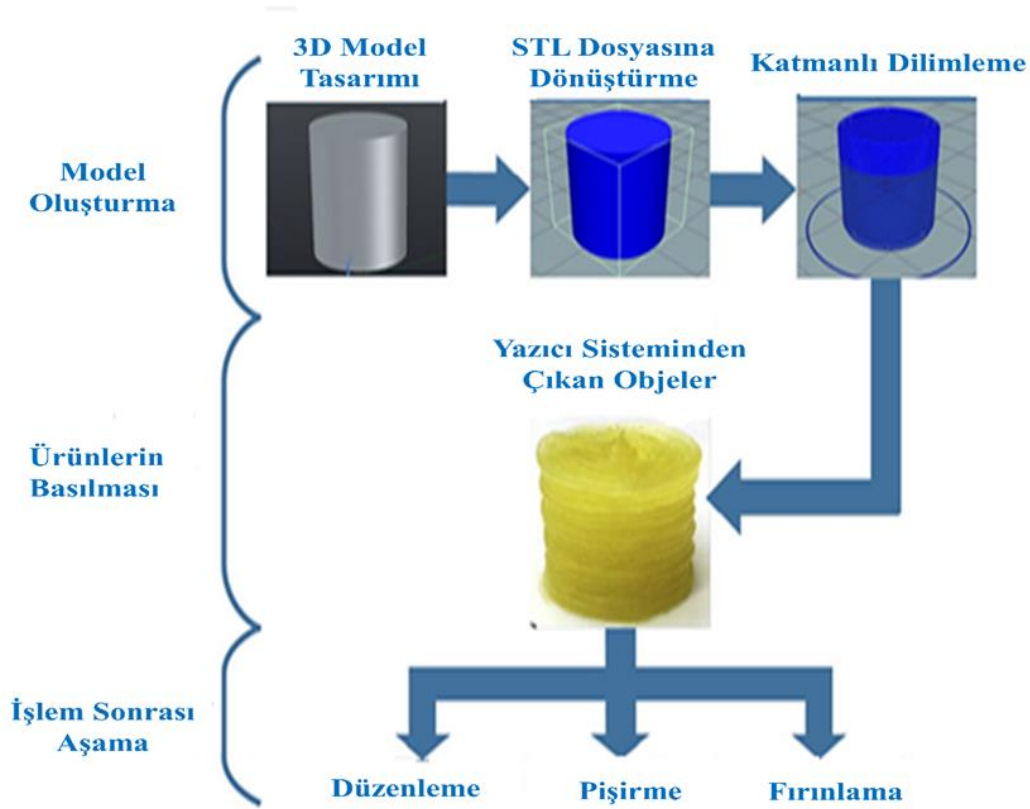
50 yaşın üzerindeki insanların yaklaşık %25'i çiğneme ve yutma problemi yaşamaktadır. Bu problemi yaşayan kişiler daha yumuşak tekstüre sahip veya püre haline getirilmiş görünüş, lezzet ve tekstür özellikleri dikkate alındığında çok da iştah açıcı olmayan gıdaları tercih etmek zorunda kalmaktadır. Yaşlı insanlar için yumuşak, yenilikçi tekstüre sahip besleyici gıda üretimini sağlama noktasında Uygulamalı Bilimsel Araştırmalar Kurumu (TNO, Hollanda), püre haline getirilmiş yiyecekleri esnek bir tasarım derecesiyle basmayı amaçlayan "Performans" adlı bir proje başlatmıştır. Uygulamalı Bilimsel Araştırmalar Kurumu, antrenman sonrası tüketilmek üzere sporcular ve atletler için protein, yağ, vitamin, diyet lifleri, fitokimyasallar gibi besin öğelerinin dengeli şekilde vücuda alınması için uygun formülasyonların elde edilmesi amacıyla yazıcı teknolojisinin kullanımını önermektedir (de Roos, 2013; Lille vd., 2017). Ayrıca, özellikle yutma gücünü çeken hastaların günlük diyetlerindeki protein gereksinimlerini karşılanmasında et ve et ürünleri önemli bir yere sahiptir. Et ve et ürünleri yapısal olarak sert özelliktedir. Bu nedenle, 3D yazıcılarda kullanılması pratikte çok uygun değildir. Ancak, etin yapısında uygulanan

değişimlerle, çeşitli formülasyonlarda kullanılmakta (3D yazıcılarda) ve böylece hem yutma gücünü çeken bireylerin tüketebileceği hale getirilebilmekte hem de ürünlerin hayvansal besinsel açıdan zenginleştirilmesi mümkün olmaktadır. Et sert bir yapıya sahip olmasına rağmen 3D yazıcı sisteminde formülasyonu bileşiminde yapısı modifiye edilerek yutma gücünü çeken bireylerin tüketebileceği hale getirilebilmektedir (Arsava vd., 2018; Dick vd., 2019). Gıda maddelerinin özelleştirilmesinde yararlanılabilecek bir diğer tüketici grubunu çocuklar oluşturmaktadır. Eğitim araçları olarak da kullanılabilir 3D gıda yazıcıları ile elde edilen sağlıklı besleyici atıştırmalıklar, yenilikçi şekillerle çocukların tüketmeye daha istekli olmalarını sağlayabilecektir. Meyve-sebze tüketimini teşvik etmek amacıyla çocuklar için özelleştirilmiş bir

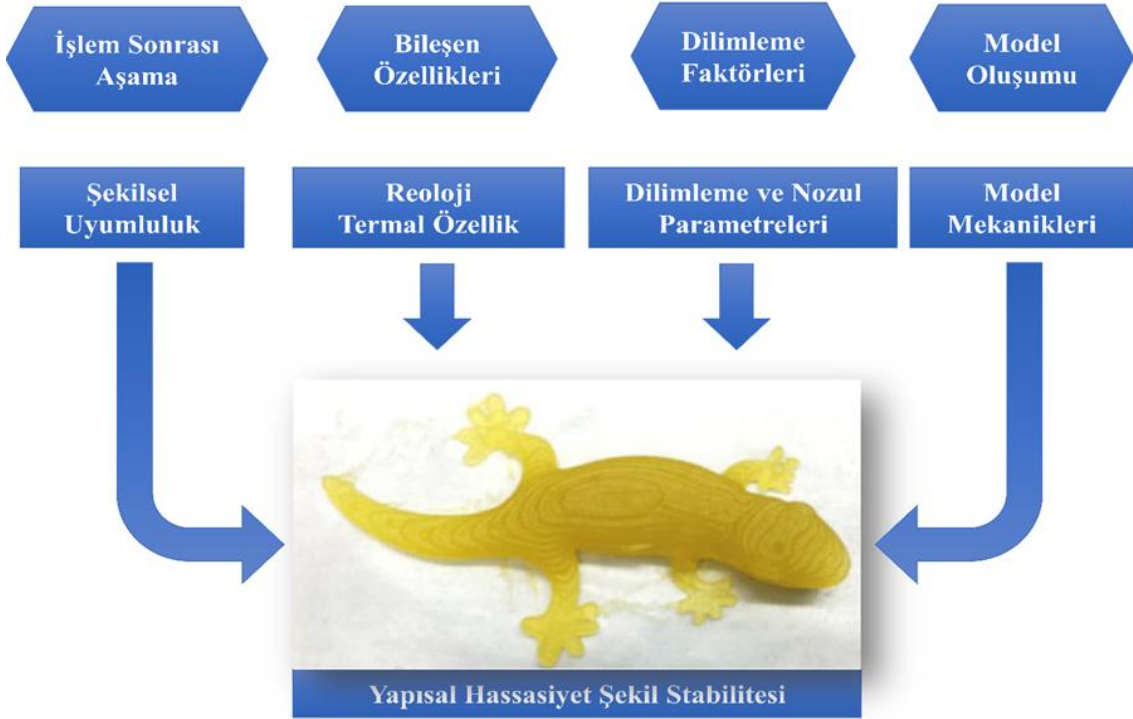
gıda formülasyonu olarak meyve bazlı atıştırmalık geliştirilmiştir (Hamilton vd., 2018; Derossi vd., 2018).

Gıda İşlemede 3D Yazıcı Teknolojisi Proses Aşamaları

3D yazıcı teknolojisi, bir ürünün 3D bilgisayar tasarım programından veya bazı çevrimiçi hizmetlerden (Thingiverse, Shapeways, Ponoko veya Sculpteo vb.) yararlanılarak gıdanın katmanlar halinde oluşturulduğu kontrollü bir süreçtir. Bu süreçte 3 boyutlu model oluşturulduktan sonra tasarım bilgileri yazıcıya gönderilmekte ve modeli katmanlara bölmektedir. Ardından bu katmanlar, belirlenen 3 boyutlu kesit modelinde birleştirilmektedir (Michaeli vd., 2017).



Şekil 1. (A) 3D gıda baskı sürecinin şematik diyagramı (Guo vd., 2019)



Şekil 1. (B) 3D baskı teknolojisinin iş akışının şematik diyagramı (Guo vd., 2019)

Şekil 1-A'da da görüldüğü gibi gıdalarda 3D yazıcı sisteminde proses aşaması 3 adımdan oluşmaktadır:

- 3D model oluşturma
- Ürünlerin basılması
- İşlem sonrası aşama

3D model oluşturma, modelin bilgisayar destekli çizim programı (CAD) ile tasarlanmasını, tasarlanan modelin STL (stereolitografi) dosyasına dönüştürülmesini içeren bir prosestir. Tasarlanan modelin 3D yazıcı için anlaşılabilir hale getirilmesi için STL formatındaki dosyanın bir tür nümerik kontrol (NC) programlama dili olan G-kodu dosya formatına dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu dönüşüm için dilimleme yazılım programlarından yararlanılmaktadır (Godoi vd., 2016; Michaeli vd., 2017). Dilimleme yazılımı, 3D model ile 3D yazıcı arasındaki proses güzergâh planlaması ve bu proses bölümlerinin

hareket adımlarının hesaplanmasında bir ara sürücü konumundadır. Dilimleme yazılımı sonucunda oluşturulan bilgilerin yazıcıya aktarılmasıyla her bölümün ana hatlarını elde etmek için model katmanlar halinde dilimlenmektedir. Dilimlenen katmanların tasarlanan 3D model kapsamında biriktirilmesiyle üç boyutlu nesnelere oluşturulmaktadır. Son olarak yazıcıdan geçirilmiş objeler tasarlanmak istenen ürünün özelliğine bağlı olarak kırpma, pişirme veya fırınlama işlemlere tabi tutulabilmektedir (Ötleş, 2016; Candoğan ve Bulut, 2021).

3D yazıcı teknolojisi kullanımını daha zor hale getiren en önemli parametreler; kullanılan 3D model şekli, dilimleme parametreleri, bileşenlerin akış hızı ve işlem sonrasındaki koşullar gibi faktörlerden etkilenen yapısal hassasiyet ve şekil stabilitesi olarak karşımıza çıkmaktadır (Şekil 1-B). Yazıcı sisteminden geçirilmiş ürünlerin yapısal

doğruluğunda gıda bileşenlerinin reolojik, termal ve kimyasal özellikleri kritik öneme sahiptir. Yazıcıların tasarım parametreleri ve kullanılan malzemelerin özelliklerinin yanı sıra, dilimleme yazılımındaki parametre ayarları da elde edilecek ürünlerin baskı hassasiyeti ve yapısal özelliklerini etkilemektedir. Bunun yanında basım yüksekliği, nozül yarıçapı, yazıcı hızı, nozül hareket hızı, katman kalınlığı ve sıcaklık gibi proses faktörleri yazıcı sisteminden çıkan son ürünün kalitesi için oldukça önemlidir (Dankar vd., 2018a). İşlem sonrasında kurutma ve fırınlama gibi deformasyona neden olan uygulamalar, elde edilen ürünün şekil stabilitesinin düşmesine neden olabilmektedir. Tüm bu faktörler, 3D model tasarımının yazıcı işleme tabi tutulmuş son ürünlerin kararlılığını ve hassasiyetini belirleyebilen veya etkileyebilen ilk ve kritik bir adım olduğunu kanıtlar niteliktedir. İyi bir tasarım model, kullanılan üç boyutlu yazıcı, gıda mürekkepleri ve basım sonrası işlem parametrelerine uygun olmalı ve tüketici beklentilerini karşılamalıdır (Yang vd., 2017).

Gıdalarda 3D yazıcı teknolojisinde hangi işlemin kullanılacağını belirlemenin anahtarı, basılan malzemelerin yapısı ve çeşididir. Her biri kendine özgü yapı, işlenebilirlik ve yapışma kombinasyonuna sahip monomer ve polimerlerden oluşan çok sayıda farklı gıda materyali mevcuttur. Hidrojel, yumuşak peynir, humus ve çikolata gibi yazılabilme özelliğine sahip maddeler bir enjektör yardımı ile pürüzsüzce ekstrüde edilebilmekte ve prosesin ardından ekstra herhangi bir son işleme gerek duyulmaksızın şekillerini stabil olarak koruyabilmektedir. Buna karşılık pirinç, et, meyve ve sebze gibi yiyecekler doğası gereği 3D yazıcıda basılamamaktadır. Bu gibi katı ve yarı katı formdaki bazı gıdalar çeşitli ön işlemlerle (enzim ilavesi, hidrokoloidlerin kullanımı vb.) modifiye edilerek yazdırılabilir hale dönüştürülebilmektedir (Değerli ve El, 2017; Kim vd., 2017; Chuanxing vd., 2018; Dankar vd., 2018b).

3D Gıda Yazıcı Sisteminde Kullanılan Teknolojiler

3D gıda yazıcılarında kullanılan baskı teknolojisinin tercih edilmesinde, gıdanın bileşimi

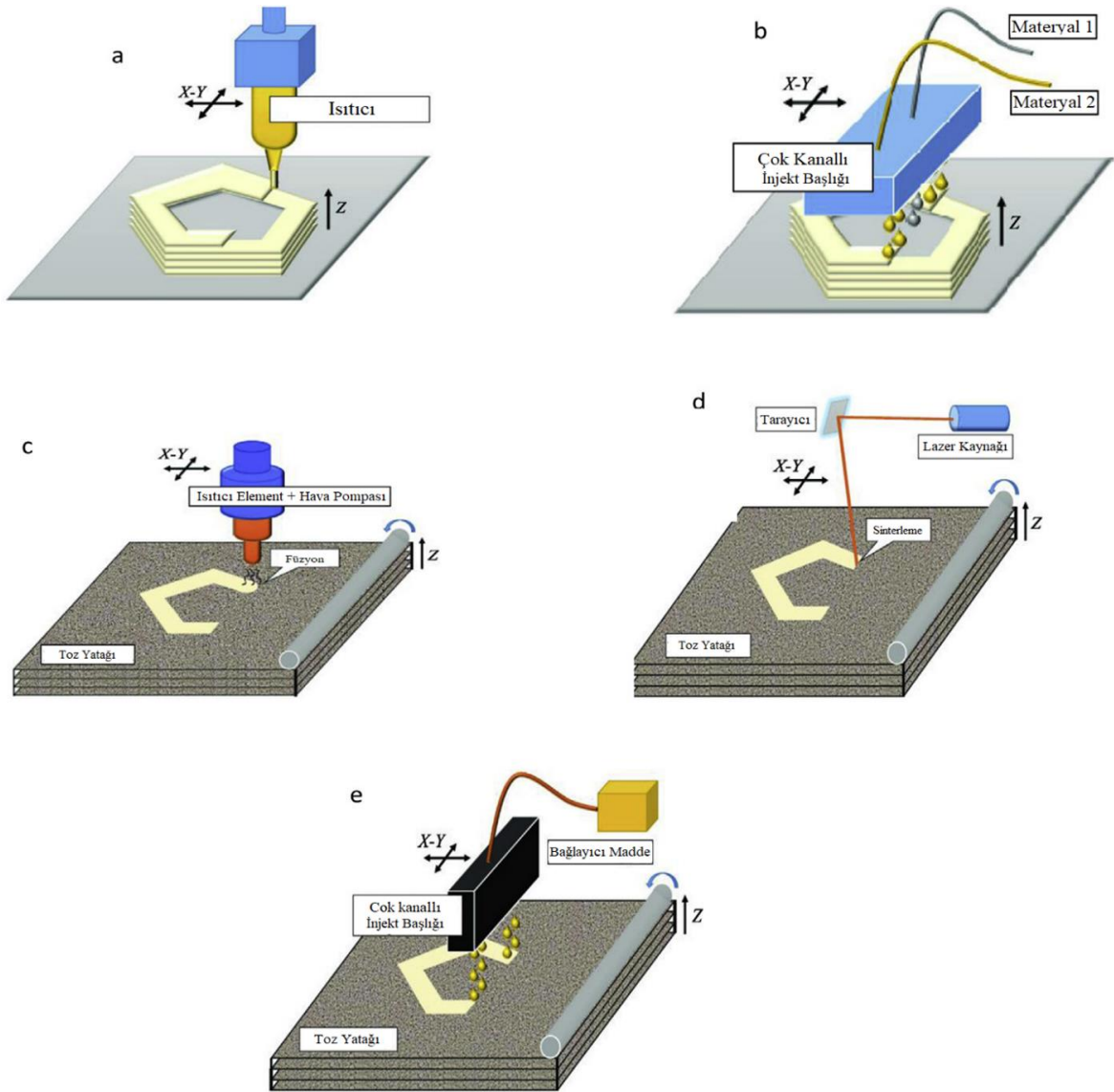
ve tekstürel yapısı, kullanım kolaylığı, düşük maliyet gibi faktörler kullanılacak yazıcının tercihinde etkin rol oynamaktadır. Ekstrüzyon yoluyla doğrudan baskı, mürekkep püskürtmeli, sıcak hava yoluyla seçici sinterleme teknolojisi, bağlayıcı püskürtme 3D gıda baskısında yaygın olarak kullanılan teknolojilerdir (Liu vd., 2017). Ekstrüzyon yoluyla doğrudan baskı teknolojisi, çikolata, jelatin, şeker gibi sıcaklık uygulandığında akışkan forma geçebilen gıdaların, püre, jel ve hamur halindeki materyallerin basımında kullanılabilir. Çok çeşitli yiyeceklerin basılmasında kullanılmakta olup doğrudan yazdırılmayan gıdalara ksantan gam, jelatin, gam arabik, karragenan vb. hidrokoloidlerin ilavesi ile ürün yapısı desteklenerek yazdırılabilir hale getirebilmektedir (Yang vd., 2015). Ekstrüzyon yoluyla baskı teknolojisinde üretim süresinin uzun olması ve tabakalar arasında katman çizgisinin oluşması sistemin dezavantajıdır. Mürekkep püskürtmeli yazıcı teknolojisi ise genellikle düşük viskoziteli materyalleri basımında kullanılmaktadır. Dekorasyonda yenilikçi şekillerin oluşumunda kolay uygulanabilir bir yöntem olmakla beraber karmaşık gıdaların baskısında kullanılamaması bir dezavantaj oluşturmaktadır (Liu vd., 2017).

Sıcak hava yoluyla seçici sinterleme teknolojisinde ürün bileşiminde yer alan toz formdaki partiküllerin bir alanda toplanmakta ve toplanan bu partiküllerin ısı kaynağı kullanımı ile erimesi ve kaynaşması sağlanmaktadır. Isı kaynağı olarak sıcak hava veya lazer ışınları kullanılabilir. Kullanılan ısı kaynağına bağlı olarak seçici sıcak hava yoluyla seçici sinterleme teknolojisi veya seçici lazer sinterleme teknolojisi olarak isimlendirilmektedir. Sinterleme teknolojisinde işlem süresi kısa olmakla beraber bazı işletmelerde toz partiküllerin geri dönüşümü de sağlanabilmektedir. Düşük erime noktasına sahip sınırlı sayıda gıda materyallerine uygulanabilmesi nedeniyle kullanımı kısıtlıdır (Godoi vd., 2016). Bağlayıcı püskürtme teknolojisi, sinterleme teknolojisi ile benzer olmakla beraber bu sistemde farklı olarak ürün bileşiminde yer alan toz partiküllerin kaynaşmasında ısı kaynağı kullanımı yerine bağlayıcı bir ajan kullanılmaktadır. Bağlayıcı püskürtme teknolojisi, hızlı imalat ve düşük

maliyet gibi avantajlar sağlamakla birlikte, üretilen ürünün yüzeyinin pürüzlü olması ve yüksek makine maliyeti gibi dezavantajlara da sahiptir. Bu teknoloji ile kompleks yapılara sahip gıdalar üretilebilmekte, ancak elde edilen ürünlerin besin değeri daha düşük, şeker içeriği ise yüksek olduğu için diyabet, obezite ve kalp hastalığı ile ilişkilendirildiğinde sağlık için tehdit oluşturmaktadır. Ayrıca elde edilen son ürünler

kırılgan yapıda olduğu için şekillerini uzun süre koruyamamaktadır (Dankar vd., 2018; Candoğan ve Bulut, 2021).

Gıda materyallerine uygulanan farklı 3D yazıcı teknolojileri Şekil 2'de, bu teknolojilerin çalışma prensipleri, olumlu ve olumsuz yönleri Çizelge 1'de verilmiştir.



Şekil 2. Gıdalarda 3D yazıcı sisteminde uygulanan farklı teknolojilerin şematik gösterimi (a) Ekstrüzyon Yoluyla Doğrudan Baskı (b) Mürekkep Püskürtmeli (c) Sıcak Hava Yoluyla Seçici Sinterleme (d) Seçici Lazer Sinterleme (e) Bağlayıcı Püskürtme (e) (Sun ve ark., 2015a; Tan vd., 2018)

Çizelge 1. 3D yazıcı sistemi teknolojilerinin karşılaştırılması (Dankar vd., 2018a)

Yazıcı Teknolojisi	Prensip	Ürünler	Avantajları	Dezavantajları	Referans
Ekstrüzyon Yoluyla Doğrudan Baskı	Bir nozul başlığından ekstrüzyon işleminin gerçekleşmesi ve katmanlar halinde biriktirilmesi	Çikolata, peynir, püre pizza, humus, kurabiye hamuru, fıstık ezmesi	Çok çeşitli yiyecekleri destekleme Gıdalarda sonsuz kombinasyonlara ve serbestlik derecesine izin vermesi Birden fazla nozul ile birleştirilebilmesi	Katmanlar arasında dikiş çizgisinin görünümü Uzun proses süresi	Yang vd., 2015; Severini vd., 2016; Lanaro vd., 2017; Severini vd., 2018
Mürekkep Püskürtmeli Yazıcı	Şırınga nozulünden üretilmek istenen ürüne püskürtme yapılması	Şekerleme kurabiye, cupcake, bisküvi üzerine dekoratifler, pizza	Kolay uygulanabilir Dekorasyonda yenilikçi şekillerin oluşumu	2D görüntü oluşumu, Dekorasyonda yüzey dolgusunda kısıtlı uygulama	Holland vd., 2018
Sinterleme Teknolojisi (Sıcak hava/Lazer)	Toz partiküllerin erimesini ve kaynaşmasını sağlayan ısı kaynağı kullanımı (sıcak hava veya lazer ışınları)	Şekerli gıdalar Nesquik tozu	Kısa işlem süresi Tozların geri dönüşümü, Kompleks gıda maddelerinin üretiminde işlem kolaylığı	Düşük erime noktasına sahip sınırlı sayıda gıda materyallerine uygulanması	Godoi vd., 2016
Bağlayıcı (Yapıştırıcı) Püskürtme	Toz partiküllerin erimesi ve kaynaşmasını sağlayan bağlayıcı bir ajan kullanımı	Toz şeker, un, nişasta içerikli materyal kullanımı ile hamur eldesi	Kompleks yapıların oluşumu, Hataların minimum seviyede tutulduğu bir teknoloji	Nihai ürünler kırılğan yapıda olması nedeni ile uzun muhafaza koşullarına uygun olmaması	iReviews, 2014; Warner vd., 2019

3D Gıda Yazıcı Teknolojisi Uygulama Alanları

Beslenme yönünden kişiye özgü ürünlerin tasarlanması için kullanılan 3D yazıcı teknolojisinde, spesifik şekil ve iç yapıya sahip özel tasarlanmış modellere ihtiyaç duyulmaktadır (Rayna ve Striukova, 2016; Vancauwenberghe vd., 2017). Bu kapsamda farklı tüketici grupları ve alanlara yönelik yararlanılan spesifik alanlar Çizelge 2’de özetlenmiştir.

Askeri Alanlarda Yapılan Çalışmalar

3D yazıcı teknolojisi ile elde edilen gıda ürünleri, son derece özelleştirilebilir ve uzun raf ömrüne sahip olması nedeniyle Amerikan ordusu tarafından ilgi odağı haline gelmiştir. Askeri

personelin sırtlarında taşıdıkları yükü azaltmak için, tasarlanan gıda modellerinin yüksek dolgu yüzdesine sahip ve daha sıkı yapı özelliklerine sahip olması önemlidir. Ultrasonik aglomerasyon kombinasyonuna sahip 3D yazıcı teknolojisi ile elde edilen ürünlerin partikülleri ultrasonik dalgaların kullanımı ile birbirine kaynaştırılmakta ve partiküllerin birleşmesi sağlanabilmektedir (Liu vd., 2017).

Uzay Alanında Yapılan Çalışmalar

Günümüzde var olan gıda sistemleri, raf ömrü ve besin kayıpları düşünüldüğünde uzun süreli görevlendirmelerde ihtiyaçları karşılayamamaktadır. Uzay aracında katmanlı üretimi temel alan yazıcı teknolojisi ile astronotlar

için çok farklı gıda bileşenleri kullanımı söz konusu olmakta ve çok farklı geometrik şekillere sahip gıdalar üretilebilmektedir. Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi (NASA), uzun vadeli keşif görevleri sürecinde güvenlik, kabul edilebilirlik, çeşitlilik ve beslenme kararlılığı yönünden ihtiyaçlarını karşılayan ve minimum uzay aracı kaynaklarının kullanımıyla en kısa sürede üretimi

gerçekleştirilebilecek bir gıda geliştirme noktasında 3D gıda yazıcılarından yararlanmaktadır. Uzay aracında katmanlı üretimi temel alan yazıcı teknolojisi ile astronotlar için çok farklı gıda bileşenleri kullanımı söz konusu olmakta ve farklı tekstürlere sahip gıdalar üretilebilmektedir (Nasa, 2013).

Çizelge 2. Farklı alanlarda gıda yazıcı teknolojisine yönelik çalışmalar (Guo ve ark., 2019)

Spesifik Gıda Alanları	Alanlardaki Problemler	3D Yazıcı Fonksiyonu	3D Model Talepleri
Ordu	Bireysel özelleştirilmiş yiyeceklere olan ihtiyaç	Özelleştirilebilir ve daha az yer kaplayan gıda üretimi	Askerlerin sırtlarındaki yükü azaltma noktasında dolgu yüzdesinin artırılması
Uzay	Keşif görevlendirmelerinde uzun raf ömrüne ve besleyici değere sahip yiyeceklere olan ihtiyaç	Mikro besin elementleriyle gıdaların yeniden oluşturulması	Raf ömrü uzun ve minimum uzay aracı kaynaklarıyla üretimi gerçekleştirilebilecek modellerin tasarlanması
Yapay Doku Mühendisliği	Hayvansal ürünlere alternatif gıda ürünlerine olan ihtiyaç	Alternatif gıda bileşenlerinin integrasyonuna zemin hazırlaması	Vegan veya vejetaryen tüketici gruplarına yönelik alternatif ürün tasarlanması
Küçük Yaşta Çocukların Eğitimi	Çocukların merakını ve beslenme ihtiyaçlarını karşılamak	Kişiyeye özel şekil ve beslenme uyumunun oluşturulması	Sürdürülebilir bir sistemin oluşturulabilmesi için yenilikçi 3D yazıcı sistemi baskı modeli tasarlanması
Gastronomi	Hassas görünüm	Kompleks şekillerin oluşturulması	Sanatsal dijital model tasarlanması
Şekerleme Endüstrisi	Aroma maddeleri kayıpları	Aroma kayıplarının minimum düzeyde tutulduğu ürünlerin oluşturulması	Çekirdek malzemenin salınımını kontrol eden karakteristik mikro yapıların tasarlanması

Yapay Doku Mühendisliği Alanında Yapılan Çalışmalar

Yapay doku mühendisliğini 3D yazıcı teknolojisi ile birleştiren yüksek teknolojlili bir sistem kullanımı ile de yüksek protein içeriğine ve lifli bir görünüme sahip vejetaryen gıda ürünlerin üretimine olanak sağlamaktadır. Vegan ve vejetaryen tüketici grupları, 3D gıda yazıcısı ile elde edilen ürünlerin hayvansal gıdalara alternatif

olarak kullanmayı talep edebilmektedir (Vialva, 2018).

Eğitim Alanında Yapılan Çalışmalar

Avustralya'nın Sidney şehrinde yer alan Macquarie Üniversitesinde araştırmacılar tarafından ilköğretim eğitiminde 3D yazıcı ve tasarım sisteminin yararlarını konu alan bir çalışma gerçekleştirilmiş ve elde edilen ön çalışmalar sistemin umut verici olduğunu kanıtlamıştır.

Konu ile ilgili gerçekleştirilen bir ankette öğretmenlerin geri bildirimlerinin nicel analizi, öğrencilerin 3D baskı ve modelleme kurslarına katılımının %100'e ulaşabileceğini göstermektedir. 2018 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada, bir bakım merkezine yapılan ziyarette eğitim faaliyetleri bazında çocuklara 3D yazıcı teknolojisini öğretmek ve belirli objelerin çocuklar tarafından daha anlaşılır hale gelmesini sağlamak için ekmeğin üzerine objelerin resimleri basılmıştır. Bu şekilde 3D yazıcı teknolojisini kullanımı ile çocuklara yönelik tercihleriyle uyumlu, yeni ve farklı 3D modellerle konuların daha anlaşılır hale gelmesi sağlanmaktadır. Yaş, teknik ve coğrafi kısıtlamalara tabi olmayan TinkerCAD ve 3D Slash gibi 3D model oluşturma yazılımları, çocuklar için keyifli bir öğrenme ortamı sunmaktadır (3dslash, 2018; Hamilton vd., 2018).

Moleküler Gastronomi Alanında Yapılan Çalışmalar

3D yazıcı teknolojisini, alternatif gıda tekstürlerini oluşturma ve yenilebilir sanat eserleri üretme potansiyeline sahip moleküler gastronomi için

umut verici bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Türker ve İşleroğlu, 2020). Yenilebilir bir sanat eseri, kompleks geometriye, tekstüre ve lezzete sahip olup benzersiz nesnelere üretmek için sanatsal dijital modelin yardımına ihtiyaç duymaktadır. Moleküler gastronomide ekstrüzyon tabanlı 3D yazıcı sistemi, ters sferifikasyon tekniği ile birleştirildiğinde mutfak sanatı ile katmanlı üretim teknolojisi arasında bir köprü oluşturmaktadır. Teorik olarak, 3D gıda yazılım teknolojisi daha uzun süredir ortaya çıkmış olmasına rağmen dünyanın ilk 3D gıda baskı restoranı 2016 yılında Londra'da Food Ink. şirketi tarafından kurulmuştur (Watkin, 2016; Wiggers, 2017). 2018 yılında ise Byflow şirketinin en iyi şefi ve elçisi ünvanına sahip Jan Smink, Hollanda Walwiga'da yeni 3D yazıcı teknolojisi ile hazırlanan ürünleri servis eden restoranı açmıştır (Şekil 3). 3D yazıcı teknolojisinden yararlanan mutfaklar, tamamı önceden tasarlanmış modellerle sanatsal bir görünüme sahip ürünler ile misafirlerin özel bir deneyim kazanmasına olanak sağlamaktadır (Byflow, 2018).



Şekil 3. 3D Yazıcı teknolojisini ile elde edilen ürün görselleri (Byflow, 2018)

Farmakoloji Alanında Yapılan Çalışmalar

Farmakoloji mühendisliği alanında tablet formunda ilaç üretiminde yararlanılan mikro yapı metotlarının, çekirdek malzemenin salınımını kontrol etme noktasında avantaj sağlaması nedeniyle 3D yazıcı teknolojilerinden yararlanılmaktadır. İlaç üretiminde oluşturulan karakteristik mikro yapıların, uzun süreli, kalıcı ve sabit bir aroma elde etme noktasında şekerleme üretim proseslerinde kullanımı oldukça dikkat çekicidir (Horst, 2018).

Gıda Sektöründe Yapılan Çalışmalar

Limon suyu jelini üç boyutlu yazıcı teknolojilerinde gıda materyali olarak kullanarak şınga bazlı ekstrüzyon yönteminin optimizasyonunu konu alan bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada (φ 20mm x 15 mm) boyutlarında bir silindir seçilerek önceden tasarımı oluşturulan dijital 3D modeller online olarak sistemden yüklenmiştir. Gerçekleştirilen çalışmada optimizasyon çalışmaları ile beraber örneklerin yapısal hassasiyetlerinin yükseldiği ve şekil stabilitelelerini daha iyi korunduğu tespit edilmiştir (Yang vd., 2018; Pérez vd., 2019). 2018 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada baskı materyali olarak işlenmiş peynir kullanılmıştır. 75°C'de 12 dakika eritildikten sonra, işlenmiş peynir, düşük ve yüksek ekstrüzyon hızlarına göre modifiye edilmiş 3D yazıcı kullanılarak basılmıştır. Çalışmada herhangi bir işlem görmemiş, eritilmiş ve 3D yazıcı ile elde edilen peynirlerin tekstür profil analizi, reolojik analizler, renk analizi ve lazer taramalı konfokal mikroskopu (CLSM) ile elde edilen veriler karşılaştırılmıştır. Eritilmiş ve basılmış peynir numunelerinin her ikisinin de işlem uygulanmayan peynire kıyasla daha yumuşak bir tekstüre sahip olduğu tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen çalışma 3D yazıcı teknolojilerinin işlenmiş peynirin özelliklerini önemli ölçüde değiştirdiğini ve ürünlerin yapılarını istenilen formülasyona uyarlamak için yeni potansiyel uygulamalar sunduğunu göstermektedir (Le Tohic vd., 2018).

Wang vd. (2018), tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 3D yazıcı teknolojisi ile balık surimi jel sistemine dayalı yeni gıda yapılarının geliştirilmesini konu almaktadır. Araştırmada

sodyum klorür (NaCl) ilavesinin, 3D baskı malzemesi olarak kullanılan surimi jelin reolojik özelliği, jel dayanımı, su tutma kapasitesi, su dağılımı ve mikro yapısı üzerine etkisi araştırılmıştır. Reolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar, 1.5 g NaCl /100 g surimi karışımı ile elde edilen jellerin, 3D yazıcı sistemi için uygun olduğunu göstermiştir. Elde edilen genel sonuçlar değerlendirildiğinde, surimi jel sistemine dayalı 3D yazıcı teknolojisinin kompleks şekilli gıda matrisleri üretme noktasında umut verici bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Patates nişastası kullanılarak üretimi gerçekleştirilen patates püresinin gıda materyali olarak kullanıldığı bir başka çalışmada ise, reolojik özellikleri ve 3D baskı davranışlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. 3D baskı ile üretim esnasında, formülasyon ve işlenebilirlik arasındaki ilişki kurulmuştur. Patates nişastası içermeyen püre örneklerinin düşük akma gerilimine (195.90 Pa) sahip olduğu ve basılı nesnelere deformasyon meydana geldiği tespit edilmiştir. Püre örneklerine %2 oranında patates nişastası ilavesi ile ideal ekstrüzyon ve yazıcı sistemi koşullarının oluştuğu belirlenmiştir. %4 oranında patates nişastası ilave edilen püre örnekleri şekillerini daha iyi koruduğu, ancak zayıf ekstrüde edilebilirlik ve yüksek viskozite nedeniyle yazıcı sisteminin çalışmasını zorlaştırdığı bildirilmiştir (Liu vd., 2018a; Pitayachaval vd., 2018).

SONUÇ

Bu derleme, gıdalarda 3D yazıcı sisteminin kullanım alanlarını ve nedenlerini örneklerle açıklamakta ve 3D model oluşturma ve dilimleme aşamalarından oluşan gıda yazıcı sisteminin ilk adımını özetleyerek ifade edilen aşamaların optimizasyonunu ortaya koymaktadır. Gıdalarda 3D yazıcı sistemi artık umut vaat eden yeni bir gıda işleme teknolojisi olarak kabul edilmekle birlikte, yine de belirli alanlarda farklı tüketici grupları için 3D baskı modellerinin tasarlanmasına yönelik daha fazla araştırmaya ve spesifik dilimleme yazılımı gelişimine ihtiyaç duyulmaktadır. 3D gıda yazıcısı, temel olarak çikolata, kurabiye gibi atıştırılmalıklarda özelleştirilmiş uygulamalar olarak karşımıza çıkmakta olup özellikle son yıllarda gıda

endüstrisinde yer alan araştırmacılar ve uygulayıcıların ilgi odağı haline gelmiştir. Ayrıca gıdalarda 3D yazıcı teknolojisinin endüstriyel kullanımları için de büyük çaba sarf edilmiştir. 3D yazıcı teknolojisinin potansiyellerini ortaya çıkarmak için konu ile ilgili spesifik olarak teknik yönden karşılaşılabilecek zorlukları dikkate almak gerekmektedir. Gıdalarda 3D yazıcı sisteminde model oluşturma ve dilimleme yazılımı gibi teknik özellikler araştırmaların ihtiyaçlarını karşılama noktasında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, 3D yazıcı modellerini geliştirmeye yönelik araştırmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra et, meyve, sebze, pirinç gibi çeşitli geleneksel gıda maddeleri doğal yapıları nedeniyle 3D yazıcı sisteminde kullanılamamaktadır. Bu bahsi geçen gıda maddelerinin çeşitli hidrokolloidler ve enzimler ile yapısal olarak yazıcı sisteminde kullanılabilir hale getirilmesi gerekmektedir. Bu ön hazırlık çalışmaları 3D yazıcı teknolojisi zaman ve maliyet bazında kayıplara yol açarken kullanılan maddelere bağlı olarak lezzet ve besin değerlerinde kayıplara yol açabilmektedir. Ayrıca ürün bazında spesifik dilimleme yazılımlarının oluşturulması, disiplinli bir çalışma ve zaman gerektirmektedir. Tüm bu durumlar dikkate alındığında, gıdalarda 3D yazıcı teknolojisinin kullanımında kolaylıkların yanında çeşitli zorlukların da bulunduğu ve teknoloji kullanımında ön çalışmaların dikkatle yapılması gerektiği görülmektedir.

Yazıcı teknolojisinde kullanılan materyalleri, kullanım sürecindeki davranışlarını, gıda pazarına ve tüketici tarafından geçerliliğini konu alan daha fazla araştırma yapılmalıdır. Daha da önemlisi, 3D yazıcı teknolojisinde uygulama alanının atıştırılmalıklardan daha çok besleyici gıdaların üretimine yönelmesi ve yazıcı sisteminin kullanımı ile gıdaların besleyici kalitesinin arttığına dair bilginin tüketicilere daha net şekilde aktarılması gerekmektedir. Bu duruma ek olarak 3D yazıcı sisteminin hangi sektörde yer alan kitleyi (çocuklar, hamileler, yaşlılar, sporcular, modern gastronomi tutkunları, askerler, astronotlar) hedeflediğini tanımlamak da önemlidir. Gerçekleştirilecek olan çalışmada hedefi belirlemek, 3D yazıcı teknolojisinde atılacak her adım için yolunuzu aydınlatacaktır; hangi gıda

materyalleri, hangi teknoloji kullanılmalı, hangi modellerden yararlanılmalı sorularına cevap vererek ve tüm bu faktörleri birlikte değerlendirerek tüketici tercihine cevap veren en iyi teknolojiyi ortaya koymak için optimizasyon çalışmaları yapılmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Aslıhan Demirdöven ve Hilal Meral makaleyi birlikte planlamış, yazım, inceleme ve düzenleme aşamalarında katkıda bulunarak, nihai halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

3dslash (2018). A 3D piece of cake. <https://www.3dslash.net/slash.php> (Erişim tarihi:10.06.2021).

Aday, S., Aday, M. S. Üç Boyutlu Yazıcıların Gıda Endüstrisinde Kullanımı. Türkiye 13. Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020, Çanakkale, Türkiye, 442 s.

Aldanmaz, E. A., Sever, R. (2017). Gıdaların Dizaynında 3 Boyutlu Yazıcı Teknolojisi Uygulamaları. <https://ab.org.tr/ab17/bildiri/242.pdf> (Erişim tarihi: 28.05.2021)

Arsava, E.M., Aydoğdu, İ., Güngör, L., Togay Işıkay, C., Yaka, E. (2018). İnme hastalarında nütrisyonel yaklaşım ve tedavi, Türkiye için uzman görüşü. Türk Nöroloji Dergisi, 24: 226-242, doi: 10.4274/tnd.92603.

Boissonneault, T. (2019). Upprinting food transforms food waste into edible 3D printed snacks. <https://www.3dprintingmedia.network/upprinting-food-food-waste-edible-3d-printedsnacks/> (Accessed: 10 June 2021).

Byflow. (2018). The first high-end restaurant in the netherlands with 3D-printed food on the menu. <https://www.3dbyflow.com/post/the-first-high-end-restaurant-in-the-netherlands-with-3d-printed-food-on-the-menu>. (Accessed: 24 May 2021)

- Candoğan, K., Bulut, E. G. (2021). 3D Gıda baskısı: Güncel Durum ve Gelecek Eğilimleri. *Gıda*, 46(1), 152-167. doi: 10.15237/gıda.GD20130.
- Chuanxing, F., Qi, W., Hui, L., Quancheng, Z., Wang, M. (2018). Effects of pea protein on the properties of potato starch-based 3D printing materials. *Int. J. Food Eng*, 14(3). doi: <https://doi.org/10.1515/ijfe-2017-0297>.
- D'Angelo, G., Hansen, H. N., Hart, A. J. (2016). Molecular gastronomy meets 3D Printing: Layered construction via reverse spherification. *3D Printing and Additive Manufacturing*, 3(3), 152–159. doi: <https://doi.org/10.1089/3dp.2016.0024>.
- Dankar, I., Haddarah, A., Omar, F. E., Sepulcre, F., Pujolà, M. (2018a). 3D printing technology: The new era for food customization and elaboration. *Trends Food Sci. Technol.*, 75, 231-242. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.018>.
- Dankar, I., Haddarah, A., El Omar, F., Sepulcre, F., Pujolà, M. (2018b). Assessing the microstructural and rheological changes induced by food additives on potato puree. *Food Chem.* 240, 304-313. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.121>.
- Değerli, C., El, S. N. (2017). Üç Boyutlu (3D) Yazıcı Teknolojisi ile Gıda Üretimine Genel Bakış. *Türk. tarım gıda bilim teknol. derg.*, 5(6), 593-599. doi: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i6.593-599.1062>.
- Deloitte (2015). The 2015 American pantry study: The call to re-connect with consumers. <https://www2.deloitte.com/content/dam/Deloitte/us/Documents/consumer-business/us-cb-2015-american-pantry-study.pdf>. (Accessed: 05 May 2021).
- de Roos, B. (2013). Personalised nutrition: Ready for practice? Proceedings of the Nutrition Society, 72(1), 48–52. <https://www.cambridge.org/journals/>. doi: <https://doi.org/10.1017/S0029665112002844>
- Derossi, A., Caporizzi, R., Azzollini, D., Severini, C. (2018). Application of 3D printing for customized food. A case on the development of a fruit-based snack for children. *J. Food Eng.*, 220, 65–75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.015>.
- Dick, A., Bhandari, B., Prakash, S. (2019). 3D printing of meat. *Meat Sci.*, 153, 35-44. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.03.005>
- Dong, Z., Cui, H., Zhang, H., Wang, F., Zhan, X., Mayer, F., Levkin, P. A. (2021). 3D printing of inherently nanoporous polymers via polymerization-induced phase separation. *Nature communications*, 12(1), 1-12. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20498-1>.
- Godoi, F. C., Prakash, S., Bhandari, B. R. (2016). 3D Printing technologies applied for food design: Status and prospects. *J. Food Eng.*, 179, 44–54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.01.025>
- Guo, C., Zhang, M., Bhandari, B. (2019). Model building and slicing in food 3D printing processes: a review. *Compr Rev Food Sci F.*, 18(4), 1052-1069. doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12443>.
- Hamilton, C. A., Alici, G., in het Panhuis, M. (2018). 3D printing vegemite and Marmite: Redefining “breadboards”. *J. Food Eng.*, 220, 83–88. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.01.008>.
- Holland, S., Tuck, C., Foster, T. (2018). Selective recrystallization of cellulose composite powders and microstructure creation through 3D binder jetting. *Carbohydr Polym.*, 200: 229-238. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.064>.
- Horst, D. J. (2018). 3D printing of pharmaceutical drug delivery systems. *Archives of Organic and Inorganic Chemical Sciences*, 1(2), 1-5. doi: 10.2174/1381612825666181206123828.
- iReviews (2014). 3D Systems Chef Jet Pro. <http://3dfood-printers.www1.ireviews.com/3d-systems-chefjet-pro-review>. (Accessed: 04 May 2021).
- Izdebska, J., Zolek-Tryznowska, Z. (2016). 3D food printing – facts and future. *Agro Food Industry Hi-Tech.*, 27(2), 33–39.

- Kim, H. W., Bae, H., Park, H. J. (2017). Classification of the printability of selected food for 3D printing: Development of an assessment method using hydrocolloids as reference material. *J. Food Eng*, 215, 23-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.07.017>.
- Lanaro, M., Forrestal, D. P., Scheurer, S., Slinger, D. J., Liao, S., Powell, S. K., Woodruff, M. A. (2017). 3D printing complex chocolate objects: Platform design, optimization and evaluation. *J. Food Eng*, 215, 13-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.029>
- Le Tohic, C., O'Sullivan, J. J., Drapala, K. P., Chartrin, V., Chan, T., Morrison, A. P., Kelly, A. L. (2018). Effect of 3D printing on the structure and textural properties of processed cheese. *J. Food Eng*, 220, 56-64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.003>.
- Lille, M., Nurmela, A., Nordlund, E., Metsa-Kortelainen, S., Sozer, N. (2018). Applicability of protein and fiber-rich food materials in extrusion-based 3D printing. *J. Food Eng*, 220, 20–27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.034>
- Lipton, J., Arnold, D., Nigl, F., Lopez, N., Cohen, D., Norén, N., (2010). Mutlimaterial food printing with complex internal structure suitable for conventional postprocessing. 21st annual international solid freeform fabrication symposium-an additive manufacturing conference (pp. 809–815).
- Lipton, J. I., Cutler, M., Nigl, F., Cohen, D., Lipson, H. (2015). Additive manufacturing for the food industry-A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 43(1), 114–123. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.02.004>.
- Liu, Z., Zhang, M., Bhandari, B., Wang, Y. (2017). 3D Printing: Printing precision and application in food sector. *Trends Food Sci. Technol.*, 69, 83–94. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.018>.
- Liu, Z., Zhang, M., Bhandari, B., Yang, C. (2018). Impact of rheological properties of mashed potatoes on 3D printing. *J. Food Eng*, 220, 76-82. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.017>.
- Mantihal, S., Prakash, S., Godoi, F. C., Bhandari, B. (2017). Optimization of chocolate 3D printing by correlating thermal and flow properties with 3D structure modeling. *Innov Food Sci Emerg.*, 44, 21-29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.012>.
- Mantihal, S., Prakash, S., Bhandari, B. (2019). Texture-modified 3D printed dark chocolate: Sensory evaluation and consumer perception study. *J. Texture Stud.*, 50(5), 386-399. doi: <https://doi.org/10.1111/jtxs.12472>.
- Michaeli, J. G., DeGroff, M. C., Roxas, R. C. (2017). Error aggregation in the reengineering process from 3D scanning to printing. *Scanning*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1218541>.
- Molitch-Hou, M. (2015). Bocusini plug & play food 3D printer. 3D Printing Industry. <https://3dprintingindustry.com/news/bocusini-plug-play-food-3d-printer-to-heat-up-kickstarter-tomorrow-48767/> . (Accessed: 01 July 2021)
- Nasa, National Aeronautics and Space Administration (2013). 3D Printing: Food in space. https://www.nasa.gov/directorates/spacetech/home/feature_3d_food.html. (Accessed: 15 July 2021)
- Ötleş, S. (2016). Gıda sektöründe üç boyutlu yazıcıların kullanım olanakları. *Dünya Gıda*, 2016(11): 110–114.
- Peppel, C. V. D. (2015). 3D food printing MSc Thesis. Wageningen University, Netherlands, Holland.
- Pérez, B., Nykvist, H., Brøgger, A. F., Larsen, M. B., Falkeborg, M. F. (2019). Impact of macronutrients printability and 3D-printer parameters on 3D-food printing: A review. *Food Chem.*, 287, 249-257.
- Pitayachaval, P., Sanklong, N., Thongrak, A. (2018). A review of 3D food printing technology. In *MATEC Web of Conferences* (Vol. 213, p. 01012). EDP Sciences. doi: <https://doi.org/10.1051/mateconf/201821301012> .
- Prakash, S., Bhandari, B.R., Godoi, F.C., Zhang, M. (2019). Future outlook of 3D food printing. *Fundamentals of 3D Food Printing and Applications*, Godoi, F.C. (ed.), Bhandari, B.R. (ed.), Prakash, S. (ed.), Zhang, M. (ed.), Academic Press, London,

- the UK, pp. 373-381. ISBN: 012814565X, 9780128145654.
- Rayna, T., Striukova, L. (2016). From rapid prototyping to home fabrication: How 3D printing is changing business model innovation. *Technol Forecast Soc Change.*, 102, 214-224. doi: <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2015.07.023>.
- Severini, C., Derossi, A., Ricci, I., Caporizzi, R., Fiore, A. (2018). Printing a blend of fruit and vegetables. New advances on critical variables and shelf life of 3D edible objects. *J. Food Eng.*, 220, 89-100. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.08.025>
- Shahbazi, M., Jäger, H. (2020). Current status in the utilization of biobased polymers for 3D printing process: a systematic review of the materials, processes, and challenges. *ACS Appl. Bio Mater.*, 4(1), 325-369. doi: <https://doi.org/10.1021/acsaabm.0c01379>.
- Simon (2015). PepsiCo is creating new deep-ridged potato chips on 3D printers 3D Printer News & 3D Printing News. <https://3dfoodprintingconference.com/food/pepsico-is-creating-new-deep-ridged-potato-chips-on-3d-printers/> (Accessed: 28 April 2021).
- Sun, J., Peng, Z., Yan, L., Fuh, J. Y. H., Hong, G. S. H., Fuh, J. Y. (2015a). 3D food printing—an innovative way of mass customization in food fabrication. *Int J. Bioprinting*, 1(1), 27-38. doi: 10.18063/IJB.2015.01.006.
- Sun, J., Zhou, W., Huang, D., Fuh, J. Y. H., Hong, G. S. (2015b). An Overview of 3D printing technologies for food fabrication *Food Bioproc Tech.*, 8(8), 1605-1615). doi: 10.1007/s11947-015-1528-6.
- Tan, C., Yan Toh, W., Wong, G., Li, L. (2018). Extrusion-based 3D food printing – Materials and machines, *Int J. Bioprinting*, 4(2): 143. doi: 10.18063/IJB.v4i2.143.
- Tess (2016). Columbia scientists are developing a 3D food printer that can cook your food <https://www.3ders.org/articles/20160801-columbia-engineers-are-developing-a-3d-food-printer-that-can-cook-your-food.html> (Accessed: 02 June 2021).
- Türker, İ., İşleröglü, H. (2020). Gıda Mühendisliği ve Gastronomi Bilimi: Ortak Yaklaşımlar ve Ortak Gelişim. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 8(2), 1552-1577. doi: <https://doi.org/10.21325/jotags.2020.621>.
- Vancauwenberghe, V., Katalagarianakis, L., Wang, Z., Meerts, M., Hertog, M., Verboven, P., Nicolai, B. (2017). Pectin based food-ink formulations for 3-D printing of customizable porous food simulants. *Innov Food Sci Emerg.*, 42, 138-150. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.06.011>
- Vialva, T. (2018). Novameat 3D prints vegetarian steak from plant-based proteins. <https://3dprintingindustry.com/news/novameat-3d-prints-vegetarian-steak-from-plant-based-proteins-144722/>. (Accessed: 15 May 2021).
- Wang, L., Zhang, M., Bhandari, B., Yang, C. (2018). Investigation on fish surimi gel as promising food material for 3D printing. *J. Food Eng.*, 220, 101-108. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.029>.
- Warner, E.L., Norton, L.T., Mills, T.B. (2019). Comparing the viscoelastic properties of gelatin and different concentrations of kappa-carrageenan mixtures for additive manufacturing applications. *J. Food Eng.*, 246: 58-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.10.033>.
- Watkin, H. (2016). World's first 3D printing restaurant opens in London. <https://all3dp.com/worlds-first-3d-printing-restaurantcoming-london/>. (Accessed: 02 April 2021).
- Wiggers, K. (2017). From pixels to plate, food has become 3D printing's delicious new frontier. <https://www.digitaltrends.com/cool-tech/3d-food-printers-how-they-could-change-what-you-eat/>. (Accessed: 13 June 2021).
- Yang, F., Zhang, M., Bhandari, B. (2017). Recent development in 3D food printing. *Crit Rev Food.*, 57(14), 3145-3153. doi: <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1094732>.
- Yang, F., Zhang, M., Bhandari, B., Liu, Y. (2018). Investigation on lemon juice gel as food material

for 3D printing and optimization of printing parameters. *LWT-Food Sci Technol.*, 87, 67–76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.054>

Yang, F., Guo, C., Zhang, M., Bhandari, B., Liu, Y. (2019). Improving 3D printing process of lemon juice gel based on fluid flow numerical simulation. *LWT-Food Sci Technol.*, 102, 89–99. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.031>.

Zoran, A., Coelho, M. (2011). Cornucopia: the concept of digital gastronomy. *Leonardo*, 44(5), 425–431. doi: https://doi.org/10.1162/LEON_a_00243.



ZERDEÇALIN SU İLE EKSTRAKSİYONUNDA ULTRASES İŞLEMİNİN ETKİSİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTIN PÜSKÜRTEREK KURUTMA YÖNTEMİYLE ENKAPSÜLASYON KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

Keziban Kübra Güngör, Gülderen Coşgun, Merve Özdemir, Mehmet Torun*
Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 01.10.2021; Kabul / Accepted: 27.01.2022; Online baskı / Published online: 14.02.2022

Güngör, K.K., Coşgun, G., Özdemir, M., Torun, M. (2022). Zerdeçalın su ile ekstraksiyonunda ultrases işleminin etkisi ve elde edilen ekstraktın püskürterek kurutma yöntemiyle enkapsülasyon koşullarının optimizasyonu. *GIDA* (2022) 47 (1) 107-120 doi: 10.15237/gida.GD21129

Güngör, K.K., Coşgun, G., Özdemir, M., Torun, M. (2022). Influence of ultrasound treatment on turmeric aqueous extraction and optimization of the spray drying conditions for encapsulation of the extract. *GIDA* (2022) 47 (1) 107-120 doi: 10.15237/gida.GD21129

ÖZ

Bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen zerdeçal rizomlarından fenolik madde ekstraksiyonunda ultrases desteğinin ekstraksiyon süre ve sıcaklığına etkisi araştırılmış, zerdeçal ekstraktının püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsülasyonunda bazı işlem parametrelerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Toplam fenolik bileşen miktarının belirlenebilmesi amacıyla geleneksel ekstraksiyon üç farklı sıcaklık (55, 75 ve 95°C) ve dört farklı sürede (15, 30, 45 ve 60 dak.) gerçekleştirilirken, ultrases destekli ekstraksiyon ise; 25°C sıcaklıkta, altı farklı sürede (0,5, 1, 2, 3, 4 ve 5 dak.) gerçekleştirilmiştir. Toplam fenolik madde miktarının en yüksek miktarda (1436.68 mg GAE/100 g KM) elde edildiği koşullarda (ultrases destekli, 25°C ve 2 dak.) üretilen zerdeçal ekstraktı maltodekstin ve modifiye nişasta kullanılarak püskürterek kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş, toplam fenolik madde miktarı, kurutma verimi, Carr indeksi, Hue açısı ve çözünürlük değerleri kullanılarak optimum işlem şartları belirlenmiştir. Taşıyıcı materyal olarak %15 maltodekstrin ve %5 modifiye nişasta karışımının kullanılmasıyla 156°C hava girişi sıcaklığında gerçekleştirilen işlem, optimum enkapsülasyon koşulu olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Zerdeçal (*Curcuma longa* L.), ultrases, ekstraksiyon, püskürterek kurutma, toplam fenolik içeriği

INFLUENCE OF ULTRASOUND TREATMENT ON TURMERIC AQUEOUS EXTRACTION AND OPTIMIZATION OF THE SPRAY DRYING CONDITIONS FOR ENCAPSULATION OF THE OBTAINED EXTRACT

ABSTRACT

In this study, the effect of ultrasound assisted extraction on time and temperature for phenolic extraction from turmeric rhizomes grown in our country was investigated, and some process parameters were optimized in the encapsulation of turmeric extract by spray drying method. For this

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ torun@akdeniz.edu.tr

☎ (+90) 242 310 6520

☎ (+90) 242 310 6306

Mehmet Torun; ORCID no: 0000-0002-6287-2993

Keziban Kübra Güngör; ORCID no: 0000-0003-2430-4669

Gülderen Coşgun; ORCID no: 0000-0002-6689-943X

Merve Özdemir; ORCID no: 0000-0002-1962-4118

purpose, conventional extraction at three different temperatures (55, 75 and 95°C) and four different times (15, 30, 45 and 60 min.), ultrasound assisted extraction at 25 °C in six different times (0.5, 1, 2, 3, 4 and 5 min.) was performed to determine the total amount of pheolic substance in the extracts. Turmeric extract, obtained under conditions (ultrasound assisted, 25°C and 2 min.) with the highest amount of total phenolic substance (1436.68 mg GAE/100 g DM), was encapsulated by spray drying method using maltodextrin and modified starch, and optimum processing conditions were determined by using total phenolic content, drying yield, Carr index, Hue angle and solubility values. Mixture of 15% maltodextrin and 5% modified starch as carrier material, also 156°C air inlet temperature was determined as optimum conditions.

Keywords: Turmeric (*Curcuma longa* L.), ultrasound, extraction, spray drying, total phenolic content

GİRİŞ

“Hint Safranı” olarak da bilinen zerdeçal (*Curcuma longa* L.) Zingiberaceae familyasından Asya ve Orta Amerika’da yaygın olarak yetiştirilen çok yıllık bir bitkidir (Patel vd., 2021). Zerdeçal tropikal bir bitki olup, deniz seviyesinden 1500 m yükseklikte, yıllık sıcaklığın 20-35°C arasında değiştiği, kumlu veya killi-tınlı topraklara sahip bölgelerde verimli bir şekilde yetiştirilebilmektedir (Hailemichael ve Zakir, 2021). Hindistan, dünya zerdeçal üretiminin %78’lik kısmını tek başına gerçekleştirirken %8’lik üretimle Çin, ikinci sırada yer almakta ve onu Myanmar, Nijerya ve Bangladeş takip etmektedir (Singh vd., 2020). Özellikle Orta Doğu ve Asya ülkelerinde baharat olarak kullanımı yaygın olan zerdeçalın geçmişten bu yana Çin, Hindistan ve Endonezya gibi ülkelerde bitkisel ilaç karışımlarında da sıklıkla yer aldığı bildirilmektedir (Tayyem vd., 2006). Endüstriyel olarak ise günümüzde zerdeçalın renk, lezzet ve biyoaktif özelliklerinden dolayı gıda, gıda takviyesi, kozmetik, eczacılık ve tekstil sektörlerinde kullanıldığı görülmektedir. Zerdeçalın kullanılan kısımları olan rizomları, hasadı takiben genellikle kurutulup toz forma dönüştürülerek mikrobiyolojik ve kimyasal açıdan güvenli bir yapının kazandırılması sağlanmaktadır (Komonsing vd., 2021). Kuru zerdeçal rizomları makro bileşenler açısından incelendiğinde %69.43 karbonhidrat, %6.3 protein, %5.1 yağ ve %3.5 mineral (Tanvir vd., 2017) içermekle birlikte, zerdeçalın biyoaktif özellikleri temel olarak içeriğindeki fenolik maddelerden ileri gelmektedir. Zerdeçal rizomlarında en fazla bulunan ve ürünün sarı renginden de sorumlu olan fenolik maddeler kurkuminoidler olup bunlar içerisinde en önemlisi yaklaşık %2-6 oranında bulunan kurkumindir. Demetoksikurkumin ve bismetoksikurkumin kurkuminden sonra zerdeçaldaki önemli diğer

kurkuminoid yapıdaki bileşenler olup (Komonsing vd., 2021), kurkuminoidlerin antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar (Yang vd., 2020), anti-HIV (Mathew ve Hsu, 2018), antitümör, antikanser ve antiviral (Zhang vd., 2015) etkilerinin olduğu bildirilmektedir.

Bahsedilen önemli biyolojik etkilerinden dolayı gıda, ilaç ve kozmetik gibi alanlarda kullanımı yaygın olan kurkuminoidlerin zerdeçaldan ekstrakte edilip stabil bir formda üretilmesi ekonomik anlamda oldukça önemli görülmektedir. Nitekim, bitki materyallerinden fenolik bileşikler verimli bir şekilde kazanabilmek için mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon (UDE) ve süperkritik CO₂ ekstraksiyonu dahil olmak üzere çeşitli yeni ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir (Banozic vd., 2020). UDE çevre dostu, kolay uygulanabilir ve ucuz olması nedeniyle diğer ekstraksiyon teknikleri içerisinde dikkat çekmektedir. Ultrases dalgaları uygulandığı materyallerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmekte, oluşan kavitasyon etkisiyle ekstrakte edilebilir bileşiklerin salınımı kolaylaşmakta ve bitki hücre yapısının bozulmasıyla kütle transferi kolaylaşmaktadır. Ekstraksiyon sırasında ultrasesin bir diğer etkisi ise bitki dokularında erozyon olarak adlandırılan bölgesel hasara yol açması ve bu şekilde bitki matrisinde çözücünün difüzyonunu arttırmasıdır (Güngör, 2021).

Zerdeçal ekstraktının kolay kullanılabilir bir formda bulunması ve enkapsüle edilerek ısı, ışık, oksijen vb. çevre koşullarına karşı yüksek depolama stabilitesine sahip olması özellikle gıda endüstrisi açısından tercih edilebilirliğini arttırmaktadır. Bu amaçla sıvı bir ürünün atomizer yardımı ile sıcak bir hava ortamına verilerek

aniden toz forma dönüştürülmesi işlemi olan püskürterek kurutma yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Püskürterek kurutma işlem şartları (kurutma havası giriş ve çıkış sıcaklığı, besleme oranı, aspirasyon hızı) ve kurutma sırasında kullanılan taşıyıcı materyalin özellikleri son ürünün kalitesi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Püskürterek kurutma işleminde genellikle kullanılan taşıyıcı maddeler; proteinler (sodyum kazeinat, peyniraltı suyu proteini, jelatin), gamlar (gam arabik, sodyum aljinat, karragenan, guar gam), selülozlar (metilselüloz, etilselüloz vb.) ve karbonhidratlardır (maltodekstrinler, modifiye nişasta, siklodekstrinler) (Balcı-Torun, 2019). Püskürterek kurutmada kullanılan taşıyıcı maddelerde iyi bir film oluşturma, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite gösterme, yüksek çözünürlük ve düşük maliyet temel olarak aranan özelliklerdendir. Tek bir taşıyıcı maddenin tüm bu özelliklere sahip olması zor olduğu için, taşıyıcı maddelerin bir arada kullanılması ile istenilen özellikler sağlanabilmektedir (Özgüner-Kabak, 2019). Püskürterek kurutma işleminde nişastanın kısmi hidrolizinden türetilen bir polisakkarit olan maltodekstrin (MD) en fazla kullanılan taşıyıcı maddelerden biridir. MD nispeten düşük maliyet, nötr tat, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite ve oksidasyona karşı iyi koruma gibi avantajlara sahip olmasına rağmen, emülsifiye edici kapasitesinin düşük olmasından dolayı özellikle aroma salınımının da minimize edilmek istendiği oleoresin gibi bitki ekstraktı karışımlarında arap zamkı, modifiye nişasta ve proteinler gibi diğer taşıyıcılarla birlikte kullanımı tercih edilmektedir (Carneiro vd., 2013).

Literatür incelendiğinde zerdeçal ekstraktı ve oleoresinlerinin maltodekstrin (Coronel-Delgado vd., 2017), peyniraltı suyu proteini (Gomes vd., 2020), arabik gam (Aniesrani Delfiya vd., 2014, Bucurescu vd., 2018), maltodekstrin/arabik gam karışımı (Papillo vd., 2019), maltodekstrin/arabik gam/modifiye nişasta karışımı (Cano-Higuaita vd., 2015), pullulan (Kshirsagar vd., 2009), maltodekstrin ve Hi-Cap (Patel vd., 2021), maltodekstrin/jelatin karışımı (Ferreira vd., 2019), arabik gam/peyniraltı suyu proteini ve maltodekstrin/peyniraltı suyu proteini karışımları

(Köprüalan vd., 2021), pektin, maltodekstrin, ksantan gam ve inülin (Goëlo vd., 2020) gibi taşıyıcı maddeler kullanılarak püskürterek kurutma yöntemiyle toz forma dönüştürüldüğü çalışmalar mevcuttur. Yapılan bu çalışmada ise benzer makalelerden farklı olarak taşıyıcı madde karışımları (maltodekstrin ve modifiye nişasta) ile birlikte püskürterek kurutma sıcaklığı da bağımsız bir değişken olarak ele alınmış olup bu faktörlerin kurutma verimi yanında zerdeçal ekstraktının çözünürlük, Hue açısı ve Carr indeks değerleri ile toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan zerdeçal (*Curcuma longa* L.) örnekleri Antalya'nın Gazipaşa ilçesinde bulunan yerel bir üreticiden temin edilmiştir. Örnekler kullanılmadan önce soğuk su ile yıkanmış, kabukları soyulmuş ve dondurulduktan sonra vakum altında kurutulmuştur. Analizlerde kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich (Darmstadt, Almanya) ve Merck (Darmstadt, Almanya) firmalarından temin edilmiştir.

Dondurarak Kurutma

Zerdeçal örnekleri -80°C'deki dondurucuda 6 saat boyunca dondurma işlemine tabi tutulmuş olup ardından dondurucudan alınan örnekler, dondurarak kurutma yöntemiyle (OPERON FDU&FDB, Kore) 40 mmHg mutlak basınçta nem değeri yaklaşık %3'e gelinceye kadar 30 saat süreyle kurutulmuştur. Bu şartlar yapılan ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Kurutulan örnekler daha sonra ekstraksiyonda homojen partikül boyutu sağlamak amacıyla 500 µm'lik eleklerden geçirilmiş ve elekten geçen toz ürün ile çalışmalara devam edilmiştir.

Geleneksel ekstraksiyon

Zerdeçal örneklerinin geleneksel yöntemle ekstraksiyonunda çözgen olarak saf su kullanılmış, katı:su (1:100 g/mL) oranı daha önce bitki ekstraksiyonu üzerine yapmış olduğumuz çalışma (Torun vd., 2015) ve kullanılan katının sıvı ile yeterli teması göz önünde bulundurularak belirlenmiştir. Ekstraksiyonun en uygun sıcaklık

ve süre değerlerini belirlemek amacıyla ise üç farklı sıcaklık (55, 75 ve 95°C) ve dört farklı sürede (15, 30, 45 ve 60 dak.) çalkalamalı su banyosunda (Daihan WSB-30) 100 mL'lik cam kavanozlar içerisinde 150 rpm karıştırma hızında çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra örnekler, kaba filtre kağıdından (gözenek çapı 2-4 µm) süzülüş, ardından oda sıcaklığına gelmeleri sağlanmış ve toplam fenolik madde analizi için kullanılmıştır.

Ultrases destekli ekstraksiyon

Ekstraksiyon süresini kısaltmak ve yüksek sıcaklıklarda ekstraksiyon sırasında oluşabilecek biyoaktif madde degradasyonlarını engellemek için çalışmada 25°C'de ultrases destekli ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem (1:100 g/mL) oranında zerdeçal:saf su kullanılarak, sabit genlikte (%55), altı farklı sürede (0.5, 1, 2, 3, 4, 5 dak.), 13 mm problu ve 20 kHz sabit frekansta çalışan ultrases cihazı (VC750, 750 W, Sonic and Materials, Inc., Mewtown, Conn., A.B.D.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sırasında sıcaklığı sabit tutabilmek için çift cidarlı beher kullanılmış ve su sirkülasyonu su banyosuyla (RW-3025 Lab Copanion, Kore) sağlanmıştır. Ekstraksiyon işleminin ardından alınan örnekler kaba filtre kağıdından (gözenek çapı 2-4 µm) süzülerek toplam fenolik madde analizi için kullanılmıştır.

Püskürterek Kurutma

Toplam fenolik madde miktarının en yüksek bulunduğu şartlarda elde edilen ekstrakt laboratuvar ölçekli (Büchi Mini Püskürtmeli Kurutucu, B-290, İsviçre) püskürterek kurutucuda enkapsüle edilmiş ve taşıyıcı madde seçimi ile püskürterek kurutma sıcaklığı Design Expert 10 paket programında cevap-yüzey metodu kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre optimize edilmiştir. Kurutma işlemi öncesinde ekstraktın %20'si kadar taşıyıcı materyal (maltodekstrin ve modifiye nişasta) kullanılmış ve kullanılan materyallerin karışım içerisindeki oranı bağımsız değişkeni oluşturmuştur. Ayrıca bir diğer bağımsız değişken olan püskürterek kurutma giriş sıcaklığı da faktöriyel olarak üç noktada (135, 150 ve 165°C) desene katılmış, kurutma işlemlerinde besleme

oranı (400-600 mL/saat), çıkış sıcaklığı (85°C) ve aspirasyon hızı (%85) sabit tutulmuştur. Örneklerin su aktivitesi değeri 0.2-0.3 aralığında olacak şekilde kurutma işlemi yapılmış ve cevap olarak kurutma verimi ile elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarı, çözünürlük, Carr indeks ve Hue açısı değerleri kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde tayini

Elde edilen ekstraktlarda ve toz ürünlerde toplam fenolik madde miktarı Şkerget vd. (2005)'e göre spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. Bu amaçla, elde edilen ekstraktlardan ön çalışma ile elde edilen seyreltme oranından 0.5 mL örnek cam tüpler içerisine aktarılmış, üzerine 2.5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (%10'luk) ve 2 mL %7.5'lik (Na₂CO₃) çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vortekle (DragonLab, MX-S) 30 s karıştırıldıktan sonra 50°C'deki su banyosunda 5 dak bekletilmiştir. Daha sonra su banyosundan alınan örnekler karanlık bir ortamda 10 dak bekletildikten sonra spektrofotometrede (Shimadzu UV-vis 160A) 760 nm dalga boyunda absorbansları okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan eğri yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru örnek ağırlığına dönüştürülmüştür. Aynı işlemler mikrokapsüllerin %1 (ağırlık/hacim) saf su içerisinde çözündürülmesiyle elde edilen ekstraktlarda da yapılarak mikrokapsüllerin fenolik madde miktarları hesaplanmıştır.

Kurutma verimi

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen zerdeçal mikrokapsüllerinin verim değerleri, son ürün miktarının beslenen karışımdaki kuru madde miktarına oranlanmasıyla hesaplanmıştır (Şahin-Nadeem vd., 2011).

Çözünürlük analizi

Mikrokapsüllerin çözünürlük analizinde Şahin-Nadeem vd. (2011)'in uyguladığı yöntem kullanılmıştır. Bu doğrultuda 0.50±0.001g örnek tartılarak üzerine 50 mL su ilave edilmiş ve 5 dakika 600d/dak'da manyetik karıştırıcıda (Jeio Tech MS-32M) karıştırılmıştır. Elde edilen çözeltiler santrifüj tüplerine aktarıldıktan sonra 3000 g'de 5 dakika santrifüj (Herolab Unigen

MR, Germany) edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte kalan fazdan 20 mL, darası alınan petrilere aktarılarak 70°C’de sabit tartıma gelinceye kadar bekletilmiş ve çözünürlük, (%) ağırlık farkından hesaplanmıştır.

Carr indeks değerinin hesaplanması

Mikrokapsüllerin yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk sonuçlarından aşağıdaki eşitlik kullanılarak Carr indeks (CI) değerleri hesaplanmıştır.

$$CI = (q_t - q_b) / q_t \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Eşitlikte q_b , örneklerin yığın yoğunluğu değerlerini (kg/m^3); q_t ise sıkıştırılmış yoğunluk değerlerini (kg/m^3) ifade etmektedir. Mikrokapsüllerin yığın yoğunluğu 10 mL’lik mezür içerisinde hava boşluğu kalmayacak şekilde, herhangi bir basınç uygulamaksızın 2 g tartıldıktan sonra kütle/hacim oranında hesaplanmıştır (Bhandari vd., 1992; Koç 2015). Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ise 2 g toz örneğin tartıldığı silindirik kabın 35 defa (toz ürünlerin arasında oluşan boşlukların kaybolması için) manuel olarak sert bir zemine vurulup sıkıştırıldıktan sonraki hacim okunarak yine kütle/hacim oranından hesaplanmıştır (Beristan vd., 2001).

Renk analizi

Püskürterek kurutma işlemi sonrasında elde edilen enkapsüle zerdeçal örneklerinin %1 (ağırlık/hacim)’lik sulu ekstraktlarının renk değerleri Konica-Minolta CR-400 renk ölçer cihazı kullanılarak ölçülmüş, ölçülen a (yeşillik-kırmızılık) ve b (mavilik-sarılık) renk değerleri üzerinden örneklerin Hue açısı (h°) değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Şahin-Nadeem vd., 2011).

$$h^\circ = \frac{180}{\pi} \times \tan^{-1}(b/a) \quad (\text{Eşitlik 2})$$

İstatistiksel analiz

Ekstraksiyon sonucunda elde edilen sonuçların ortalamalarına varyans analizi uygulanmış, önemli bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya koyulmuştur. Varyans analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi SAS Institute (Cary, NC, ABD) tarafından hazırlanan “The SAS system for Windows V7” isimli istatistiksel

yazılım programı kullanılarak yapılmıştır. Püskürterek kurutma işleminin optimum koşullarının belirlenebilmesi için Design-Expert Paket Programı (Stat-Ease Inc., Version 10, Minneapolis, ABD) kullanılmış, sonuçlar ANOVA analizi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

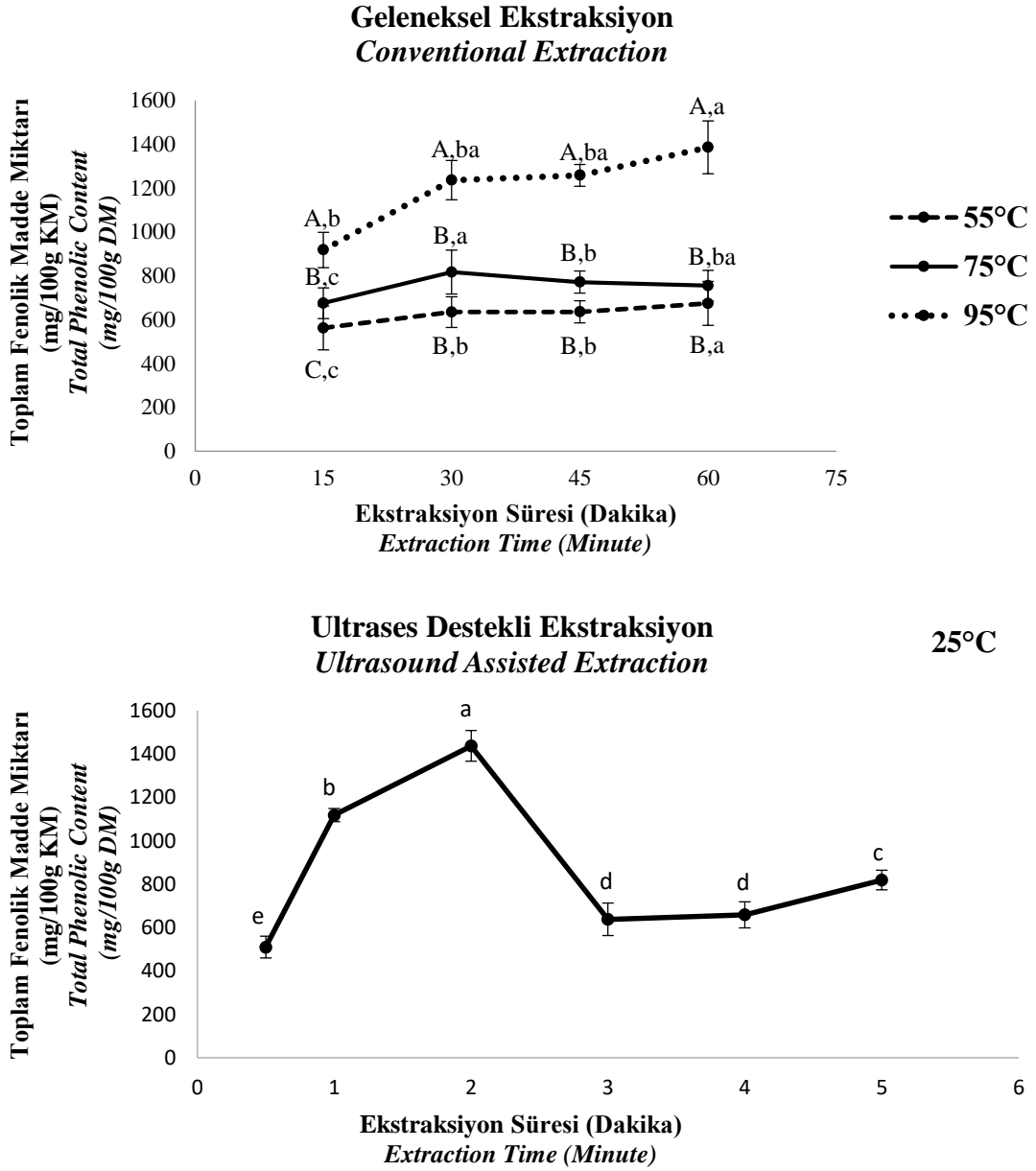
Ekstraksiyon şartlarının toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi

Suda çözünür zerdeçal mikrokapsüllerinin üretiminde ilk aşama ekstraksiyon olup suya geçebilecek fenolik maddelerin en yüksek oranda alınabilmesi ekstraksiyondan sonraki aşamaların verimliliği açısından önem arz etmektedir. Bu nedenle geleneksel yöntemle farklı sıcaklıklarda (55, 75 ve 95°C) ve sürelerde (15, 30, 45 ve 60 dak.), ultrases destekli yöntemde ise oda sıcaklığında (25°C) farklı sürelerde (0,5, 1, 2, 3, 4 ve 5 dak.) ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Geleneksel yöntemle yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı değerleri sıcaklık ve süreye bağlı olarak 563.70-1371.408 mg GAE/100 g kuru madde (KM) arasında değişim göstermiştir (Şekil 1).

Ekstrakte edilebilir fenolik madde miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi ile artış gösterdiği, 55 ve 75°C’lerde yapılan ekstraksiyon işleminin toplam fenolik madde miktarı üzerinde 15. dakikadan sonra istatistiki açıdan ($P>0.05$) önemli olmadığı görülmüştür. Sana vd. (2019) tarafından zerdeçal rizomlarından su ile yapılan ekstraksiyon sonucunda ekstraktların toplam fenolik madde miktarının 60. dakika sonunda 889.63 mg olduğu belirlenmiştir. Yine benzeri bir çalışmada zerdeçal rizomlarının 25°C’de 1 saat süreyle yapılan ekstraksiyonu sonucu elde edilen su ekstraktının toplam fenolik madde miktarı 496.76 mg GAE/100 g KM olarak bulunmuştur (Nisar vd., 2015). Rapor edilen sonuçlarla çalışmamızda elde edilen sonuçlar kısmen benzerlik göstermekle birlikte aradaki farklılıkların materyal ile ekstraksiyon şartlarından (besleme oranı, sıcaklık, karıştırma hızı vb.) ileri geldiğini söylemek mümkündür. Şekil 1’de verilen sonuçlar incelendiğinde ultrases desteğiyle geleneksel yöntemle göre çok daha düşük sıcaklıkta (25°C) ve

kısa sürede (2 dak.) daha fazla fenolik maddenin (1436.68 mg GAE/100 g KM) ekstrakte edilebildiği görülmektedir. Bu durum ultras

sonucu oluşan kavitasyonla hücre duvarının parçalanarak fenoliklerin kütle transferinin artmasıyla ilişkilendirilmektedir (Yang vd., 2020).



Şekil 1. Ekstraksiyon koşullarının toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi. Farklı harfler $P<0.05$ seviyesinde ekstraksiyon süresine ve sıcaklığına bağlı farklılıkları ifade etmektedir.

Figure 1. Influence of extraction conditions on total phenolic content. Different letters indicate differences at the $P<0.05$ level depending on the extraction time and temperature.

Püskürterek Kurutma Koşullarının Optimizasyonu

En fazla fenolik madde miktarının elde edildiği koşullarda (25°C’de 2 dakika süreyle ultrases destekli ekstraksiyon) üretilen zerdeçal ekstraktı cevap-yüzey metoduna göre oluşturulan deneme desenine göre püskürterek kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş, optimum koşullar toplam fenolik madde miktarı (en yüksek), kurutma

verimi (en yüksek), Carr indeks (en düşük), Hue açısı ve çözünürlük (en yüksek) değerleri kullanılarak belirlenmiştir. Deneme desenine göre üretilen zerdeçal mikrokapsüllerinin test edilen özelliklerine ait sonuçlar Çizelge 1’de ve bağımsız değişkenlerin bu özellikler üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu ise Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 1. Zerdeçal mikrokapsüllerinin bazı özellikleri üzerine püskürterek kurutma koşullarının etkisi
Table 1. Influence of spray drying conditions on some properties of turmeric microcapsules

Deneme Experiment	MD (%)	MN (%)	Sıcaklık (°C) Temperature (°C)	Su aktivitesi (<i>a_w</i>)	Toplam fenolik madde miktarı (mg/100g mikrokapsül) Total phenolic content (mg/ 100 g microcapsule)	Verim (%) Yield (%)	Carr indeks Carr index	Hue açısı (h°) Hue angle (h°)	Çözünürlük (%) Solubility (%)
1	20	0	165	0.1925	262.00	87.80	28.38	86.18	100.00
2	15	5	150	0.2298	464.16	91.92	23.00	87.18	100.00
3	20	0	135	0.1312	246.77	78.41	23.89	87.18	98.60
4	0	20	135	0.1022	325.92	70.22	26.13	93.35	97.88
5	10	10	135	0.1641	301.27	76.36	28.58	92.23	99.48
6	0	20	150	0.1236	418.55	70.80	25.00	92.76	94.15
7	5	15	135	0.1242	311.07	70.74	25.98	92.61	97.70
8	10	10	150	0.1877	359.24	90.96	24.68	91.10	96.28
9	0	20	150	0.1345	372.30	81.44	26.38	91.74	93.10
10	20	0	150	0.1514	353.99	98.92	19.70	90.02	99.00
11	10	10	165	0.2335	292.66	85.04	20.75	89.67	98.60
12	0	20	165	0.2971	305.72	88.28	24.10	88.26	91.70
13	10	10	150	0.1287	363.60	93.15	24.68	89.85	98.80

MD: Maltodekstrin, MN: Modifiye nişasta, MD: Maltodextrin, MS: Modified starch

Çizelge 2. Püskürterek kurutma yöntemiyle elde edilen zerdeçal mikrokapsüllerinin bazı kalite özellikleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları

Table 2. ANOVA results showing the effect of independent variables on some quality characteristics of turmeric microcapsules obtained by spray drying method

Parametreler Parameters	Model	Toplam fenolik madde miktarı Total phenolic content	Kurutma verimliliği Drying yield	Carr indeks Carr index	Hue açısı (h°) Hue angle (h°)	Çözünürlük (%) Solubility (%)
P değeri P value	Model	0.0033	0.0019	0.0229	0.0048	0.0417
	Model uyumsuzluğu Lack of fit	0.2721	0.8775	0.2386	0.2388	0.6109
R ²		0.6811	0.9040	0.9496	0.7458	0.9307
Düzeltilmiş R ² Adjusted R ²		0.6174	0.8355	0.8489	0.6610	0.7922

Model uyumsuzluğu tüm özellikler için önemsiz bulunurken, model toplam fenolik madde miktarı, kurutma verimi ve Hue açısı değerleri üzerinde $P<0.01$ seviyesinde; Carr indeks ve çözünürlük değerleri üzerinde ise $P<0.05$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Her bir özellik için önerilen model denkleminin R^2 değerleri 0.6811-0.9496; düzeltilmiş R^2 değerleri ise 0.6174-0.8489 arasında bulunmuştur. Regresyon katsayısı R^2 , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmaktadır. Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da R^2 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı (düzeltilmiş R^2) değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir. R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini gösterdiği bildirilmektedir (Koç, 2015). Her bir cevap üzerinde bağımsız değişkenlerin etkisi aşağıda yer alan ayrı başlıklar altında açıklanmıştır.

Toplam fenolik madde üzerine püskürterek kurutma şartlarının etkisi

Zerdeçal mikrokapsüllerinin toplam fenolik madde miktarı 262.00-464.16 mg/100 g arasında bulunmuş olup, bağımsız değişkenlerin cevap üzerindeki etkileri Şekil 2'de gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde örneklerin toplam fenolik madde miktarının karışımda yer alan taşıyıcı maddelerden çok fazla etkilenmediği, orta sıcaklıklarda yüksek, düşük ve yüksek sıcaklıklarda ise miktarın azaldığı görülmektedir. Ghandehari Yazdi vd. (2021) tarafından antep fıstığı kabuğu fenoliklerinin üç farklı sıcaklıkta (140, 150 ve 160°C) püskürterek kurutma yöntemiyle enkapsüle edildiği çalışmada en yüksek fenolik maddenin 150°C'de elde edildiği bildirilmiştir. Yüksek sıcaklıklarda fenolik madde miktarının azalması bu bileşenlerin ısıya hassas olmaları nedeniyle meydana gelen degradasyonla ilişkilendirilirken (Sablania ve Bosco, 2018), düşük sıcaklıklarda ise damlacık yüzeyinde yarı geçirgen zarın hızlı bir şekilde oluşmamasından dolayı çekirdek materyalin tutulumunun istenen düzeyde sağlanamaması ile ilişkilendirilmektedir (Tsali ve Goula, 2018).

Kurutma verimliliği üzerine püskürterek kurutma şartlarının etkisi

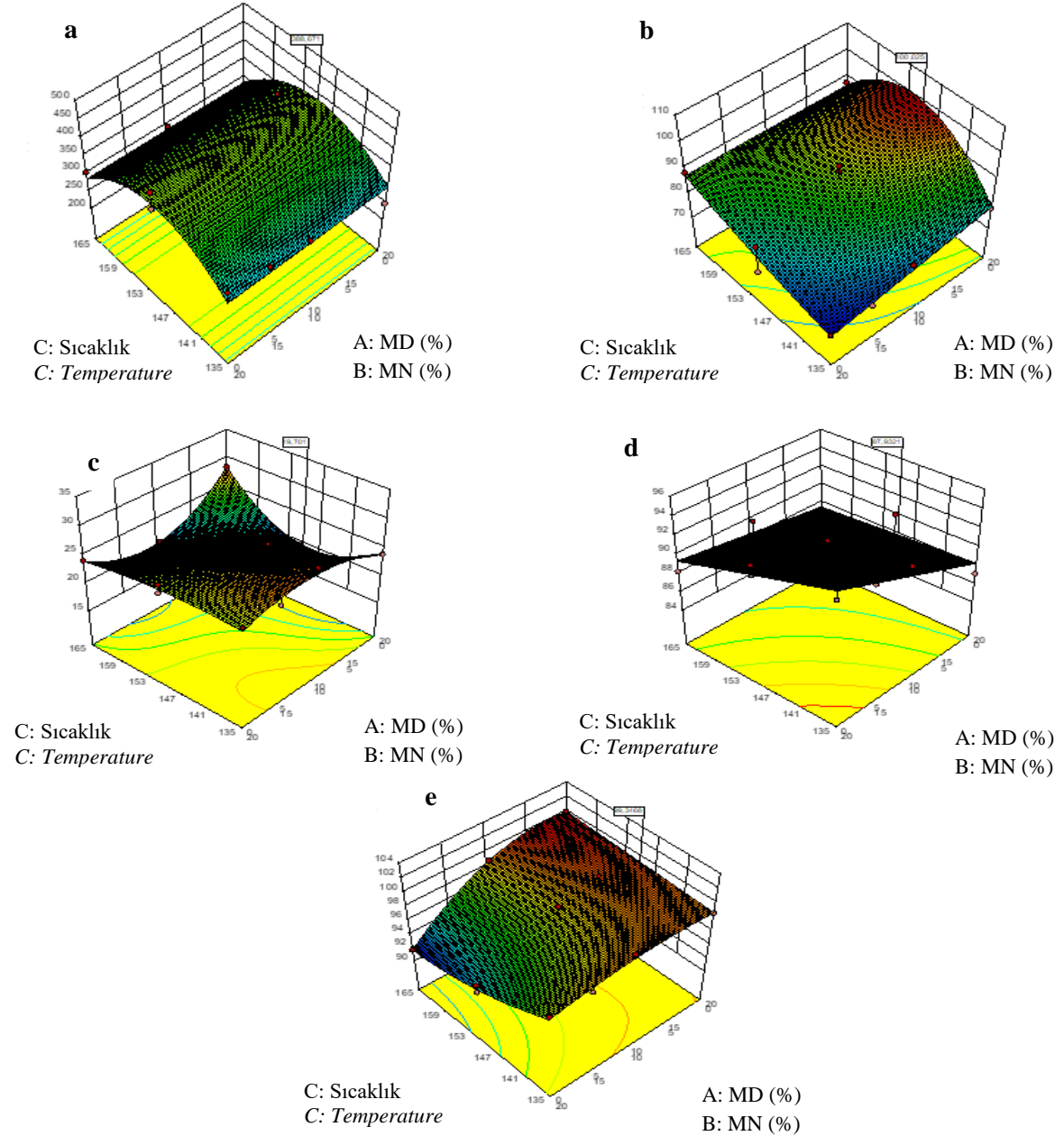
Püskürterek kurutma üzerine yapılan etken maddelerin enkapsülasyonu işlemlerinde, stabil kapsüllerin üretiminin önemli olmasının yanında daha da önemli olan bir diğer husus da kurutma işleminin ne kadar verimde gerçekleştirildiğidir. Yapılan çalışmalar sonucunda laboratuvar ölçekli püskürtmeli kurutucuda kurutma işleminin verim açısından başarılı olarak sayılabilmesi için ürün veriminin en az %50 olması gerektiği belirtilmiştir (Bhandari vd., 1997; Vidović vd., 2014). Bu çalışma kapsamında püskürterek kurutma yöntemiyle %70.22-98.92 arasında verimde zerdeçal mikrokapsülleri elde edilebilmiştir. Püskürterek kurutma sıcaklığının artması ile verimin arttığı ve verim üzerinde asıl etkili faktörün taşıyıcı materyalin olduğu görülmüştür. Taşıyıcı karışımındaki maltodekstrin oranının artması kurutma veriminin de artmasına neden olmuştur (Şekil 2). Zahterin püskürterek kurutulmasını konu alan bir çalışma sonucunda karışımdaki maltodekstrin oranının artmasıyla kurutma veriminin arttığı, verimli sayılabilecek bir kurutma için en az %10 oranında maltodekstrin kullanılması gerektiği, ancak çok yüksek oranlarda maltodekstrin kullanılması durumunda bitkiden gelen karakteristik, istenilebilecek lezzetin maskelendiği belirtilmiştir (Vidović vd., 2014).

Carr indeks değeri üzerine püskürterek kurutma şartlarının etkisi

Carr indeks değeri toz ürünlerin akabilirlik özelliği hakkında fikir vermesi açısından önemli bir parametre olarak değerlendirilmektedir. Toz ürünlerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluklarını kullanarak belirlenen "Carr indeks" değerinin 15'den küçük olması durumunda akabilirlik çok iyi, 15-20 arasında iyi, 20-35 arasında zayıf, 35-45 arasında kötü, 45'ten büyük ise çok kötü olarak tanımlanmaktadır (Carr, 1965). Bu tanımlamaya göre zerdeçal mikrokapsüllerinin Carr indeks değeri sonuçları değerlendirildiğinde "kötü" ve "çok kötü" olarak tanımlanabilecek nitelikte ürünün bulunmadığını söylemek mümkündür (Çizelge 1). Bağımsız değişkenlerin orta noktalarında Carr indeks değeri istenilen şekilde düşük bulunmuş olup, püskürterek kurutma giriş hava sıcaklığı ve

karışımındaki maltodekstrin oranı arttıkça artış göstermiştir (Şekil 2). Jangam ve Thorat (2010) tarafından zencefil ekstraktının püskürtürerek kurutma yöntemi ile toz forma dönüştürülmesinin amaçlandığı çalışmada 120-160°C arasındaki

kurutma sıcaklıklarında deneme gerçekleştirilmiş ve çalışma sonucunda bu çalışma ile uyumlu şekilde optimum Carr indeks değerinin 150°C elde edilebildiği belirtilmiştir.



Şekil 2. Püskürtürerek kurutma yöntemi ile elde edilen zerdeçal mikrokapsüllerinin (a: Toplam fenolik madde miktarı, b: Kurutma verimliliği, c: Carr indeksi, d: Hue açısı değeri, e: Çözünürlük değeri) yanıt yüzey grafikleri

Figure 2. Response surface graphs of turmeric microcapsules obtained by spray drying (a: total phenolic content, b: Drying yield, c: Carr index, d: Hue angle value, e: Solubility value)

Hue açısı değeri üzerine püskürterek kurutma şartlarının etkisi

Zerdeçal mikrokapsüllerinin %1 (ağırlık/hacim)'lik su ekstraktının Hue açısı değeri ölçülerek zerdeçala özgü sarımsı rengin püskürterek kurutma işlem koşulları ile değişimi incelenmiştir. Hue açısının 0° olması kırmızıyı, 90° olması sarıyı, 180° olması yeşili ve 270° olması ise ürünün mavi renkte olduğunu ifade etmekte, bu açı değerlerinin aralarına denk gelen kısımlarda ise ara renkler oluşmaktadır (Tasova ve Ozkurt, 2018). Şekil 2'de verilen bağımsız değişkenlerin Hue açısı değeri üzerindeki etkisini gösteren grafik incelendiğinde karışımdaki modifiye nişasta oranının artması ve kurutma sıcaklığının azalması ile Hue açısı değerinin artarak 90°'ye yaklaştığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu durum yüksek kurutma sıcaklıklarında zerdeçalın sarı renginden sorumlu olan kurkuminooidlerin degradasyonuna bağlı olarak sarı rengin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Kurkumin ekstraktının 110 ve 150°C'de püskürterek kurutulduğu çalışma sonuçları düşük sıcaklıkta yapılan kurutma işlemi sonrasında kurkumin kazanımının daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Liu vd., 2016).

Çözünürlük değeri üzerine püskürterek kurutma şartlarının etkisi

Çizelge 1'de verilen zerdeçal tozlarına ait çözünürlük sonuçları incelendiğinde değerlerin %91.70-100 arasında değiştiği, elde edilen tozların suda iyi çözünürlük özelliğine sahip olduğu görülmektedir. Tüm örnekler suda iyi çözünürlük özelliği gösterse de özellikle karışımdaki maltodekstrin oranının artmasıyla çözünürlük değerinin artış gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 2). Balcı-Torun (2019), aroma maddelerini püskürterek kurutma yöntemiyle toz forma dönüştürdüğü çalışmada, taşıyıcı materyal olarak maltodekstrin ve modifiye nişastanın birlikte kullanıldığı durumda bu çalışma ile benzer şekilde maltodekstrin oranının artmasıyla örneklerin çözünürlük değerlerinin arttığını tespit etmiştir.

Teorik olarak belirlenen optimum koşulların deneysel olarak doğrulanması

Optimum işlem koşulları olarak karışımda %15 oranında maltodekstrin, %5 oranında modifiye nişasta kullanılması gerektiği ve püskürterek kurutma hava giriş sıcaklığının 156°C olması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Optimum koşullarda test edilen parametrelerin tahminlenen değerleri deneysel olarak da doğrulanmış ve aradaki sapmaları da gösteren sonuçlar Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Zerdeçal mikrokapsüllerinin deneysel ve teorik olarak elde edilen analiz sonuçları
Table 3. Experimental and theoretical analysis results of turmeric microcapsules

	Toplam fenolik madde miktarı (mg/100g mikrokapsül) <i>Total phenolic content (mg/100 g microcapsule)</i>	Verim (%) <i>Yield (%)</i>	Carr indeksi <i>Carr index</i>	Hue açısı (h°) <i>Hue angle (h°)</i>	Çözünürlük (%) <i>Solubility (%)</i>
Teorik <i>Theoretical</i>	380.56	95.08	26.04	88.60	99.20
Deneysel <i>Experimental</i>	392.56	91.10	26.37	87.50	97.40
Farklılık (%) <i>Difference (%)</i>	3.15	4.19	1.27	1.24	1.82

Optimum koşullarda teorik ile deneysel veriler arasındaki farkın %15'ten az olması beklenmektedir (Myers vd., 2011). Bu anlamda püskürterek kurutma tekniğiyle zerdeçal

enkapsülasyonunda bu çalışma için optimum koşulların deneysel olarak doğrulanabildiğini söylemek mümkündür.

SONUÇ

Zerdeçal, içeriğindeki özellikle kurkumin başta olmak üzere fenolik maddelerden dolayı sağlıklı yaşamın önemini daha da fazla anlaşıldığı günümüzde tüketimi en fazla artış gösteren ürünlerden biri olmuştur. Özellikle zerdeçal bazlı ekstraktların fonksiyonel özellik kazandırılmak istenen gıdalara katkılanma eğiliminde olduğu görülmektedir. Bu anlamda su bazlı bir ekstrakt elde etmek için uygun koşulların belirlenerek elde edilen ekstraktın kolay kullanılabilir ve stabil depolanabilir bir formda üretilmesi oldukça önemlidir. Bu makalede de zerdeçal fenolikleri üzerine ekstraksiyon şartlarının etkisi araştırılmış, elde edilen ekstraktın toz forma dönüştürülmesi için kullanılan püskürterek kurutma yönteminin taşıyıcı madde ve kurutma giriş sıcaklığı açısından en uygun şartları belirlenmiştir. Çalışma sonuçları, ultrases desteğiyle geleneksel yöntemle göre çok daha düşük sıcaklıkta (25°C) ve kısa sürede (2 dak.) daha fazla fenolik maddenin (1436.68 mg GAE/100 g KM) ekstrakte edilebileceğini göstermiştir. Püskürterek kurutma işleminin optimum koşulları olarak karışımda %15 oranında maltodekstrin, %5 oranında modifiye nişasta kullanılması gerektiği ve püskürterek kurutma hava giriş sıcaklığının 156°C olması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışmada ülkemizde yetiştiriciliği yapılmaya başlanan zerdeçal rizomları kullanılmış olup, yetiştiriciliğinin ve kullanımının yaygınlaşmasında katma değerli ürünlerin üretimi ile ilgili bilimsel çalışmaların daha fazla yapılması oldukça önemlidir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yer alan yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Keziban Kübra GÜNGÖR, Gülderen COŞGUN ve Merve ÖZDEMİR, analizlerin yürütülmesi, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi ve makale taslağının yazım sürecinde katkı sağlamışlar; Mehmet TORUN, denemenin kurulması, analiz sonuçlarının kontrol edilerek değerlendirilmesi, taslak makalenin düzeltilmesi ve çalışma için maddi kaynak temini aşamalarında

katkı sağlayarak yüksek lisans öğrencilerine danışmanlık yapmıştır.

TEŞEKKÜR

Antalya Gazipaşa ilçesinde zerdeçal üreticiliği yapan ve çalışmanın materyallerini temin eden Süleyman TUNCER'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aniesrani Delfiya, D. S., Thangavel, K., Natarajan, N., Kasthuri, R., Kailappan, R. (2015). Microencapsulation of turmeric oleoresin by spray drying and *in vitro* release studies of microcapsules. *J Food Process Eng*, 38(1): 37–48, doi: 10.1111/jfpe.12124.
- Balcı-Torun, F. (2019). Farklı enkapsülasyon yöntemleri kullanılarak elde edilen aroma kapsüllerinin depolama stabilitesinin ve gıda katkı maddesi olarak kullanımının araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, Türkiye, 182 s.
- Banožić, M., Babić, J., Jokić, S. (2020). Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste—a review. *Ind Crops Prod*, 144, doi: 10.1016/j.indcrop.2019.112009.
- Bhandari, B. R., Dumoulin, E. D., Richard, H. M. J., Noleau, I., Lebert, A. M. (1992). Flavor encapsulation by spray drying: application and linalyl acetate. *Food Rev Int*, 57 (1): 217–221, doi: 10.1111/j.1365-2621.1992.tb05459.x.
- Bhandari, B.R., Datta, N., Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Dry Technol*, 15(2): 671–684, doi: 10.1080/07373939708917253.
- Beristain, C., Garcia, H., Vernon-Carter, E. (2001). Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *LWT-Food Sci and Technol (N Y)*, 34 (6): 398–401, doi: 10.1006/fstl.2001.0779.
- Bucurescu, A., Blaga, A.C., Estevinho, B. N., Rocha, F. (2018). Microencapsulation of Curcumin by a Spray-Drying Technique Using Gum Arabic as Encapsulating Agent and Release

- Studies. *Food Bioproc Tech*, 11(10): 1795–1806, doi: 10.1007/s11947-018-2140-3.
- Cano-Higuita, D. M., Vélez, H. A. V., Telis, V. R. N. (2015). Microencapsulation of turmeric oleoresin in binary and ternary blends of gum Arabic, maltodextrin and modified starch, *Cienc Agrotecnol*, 39(2): 173–182, doi: 10.1590/S1413-70542015000200009.
- Carneiro, H. C. F., Tonon, R.V., Grosso, C. R. F., Hubinger, M. D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J Food Eng*, 115(4): 443–451, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033.
- Carr, R.L. (1965). Evaluating flow properties of solids. *Chem Eng*, 72: 163-168.
- Coronel-Delgado, A. Y., Ciro-Velásquez, H. J., Restrepo-Molina, D. A. (2017). Secado por aspersión de extractos líquidos de cúrcuma: Evaluación del proceso y propiedades de calidad del producto. *Ing Compet*, 19(1): 219, doi: 10.25100/iyc.v19i1.2146.
- Cortés-rojas, D. F., Souza, C. R. F., Olivera, W. P. (2014). Chemical Engineering Research and Design Optimization of spray drying conditions for production of *Bidens pilosa* L. dried extract. *Chem Eng Res Des*, 93: 366–376, doi: 10.1016/j.cherd.2014.06.010.
- Ferreira, S., Piovanni, G. M. O., Malacrida, C. R., Nicoletti, V. R. (2019). Influence of emulsification methods and spray drying parameters on the microencapsulation of turmeric oleoresin. *Emir J Food Agric*, 31(7): 491–500, doi: 10.9755/ejfa.2019.v31.i7.1968.
- Hailemichael, G., Zakir, M. (2021). Pre- and post-harvest practices influencing yield and quality of turmeric (*Curcuma longa* L.) in Southwestern Ethiopia: A review. *Afr J Agric Res*, 17(8): 1096–1105, doi: 10.5897/ajar2020.15409.
- Ghandehari Yazdi, A. P., Barzegar, M., Sahari, M. A., Gavlighi, H. A. (2021). Encapsulation of pistachio green hull phenolic compounds by spray drying. *J Agric Sci Technol*, 23(1): 51–64.
- Goëlo, V., Chaumon, M., Goncalves, A., Estevinho, B. N., Lepaba, F. R. (2020). Polysaccharide-based delivery systems for curcumin and turmeric powder encapsulation using a spray-drying process. *Powder Technol*, 370: 137–146, doi: 10.1016/j.powtec.2020.05.016.
- Gomes, J. V. P., Oliveira, L. A., Francisquini, J. A., Anunciação, P. C., Stephani, R., Oliveira, L. F., Perrone Í. T., Carvalho, A. F., Lucia, C. M. D. (2020). Morphological characterization of whey protein concentrate admixture of microencapsulated curcumin by spray drying. *J Food Process Preserv*, 45(2): 1–8, doi: 10.1111/jfpp.15141.
- Güngör, K. K. (2021). Balkabağı kabuğundan çevre dostu yöntemler kullanılarak β -karoten ekstraksiyonu ve elde edilen ekstraktın farklı yöntemlerle enkapsülasyonu. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Türkiye, 69 s.
- Jangam, S. V., & Thorat, B. N. (2010). Optimization of spray drying of ginger extract. *Dry Technol*, 28(12), 1426-1434.
- Koç, M. (2015). Farklı kurutma yöntemleri ile bal tozu üretim koşullarının optimize edilmesi ve depolama stabilitesinin belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, 202 s.
- Komonsing, N., Khuwijtjaru, P., Nagle, M., Müller, J., Mahayothee, B. (2021). Effect of drying temperature together with light on drying characteristics and bioactive compounds in turmeric slice. *J Food Eng*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110695.
- Köprüalan, Ö., İltter, I., Akyıl, S., Koç, M., Kaymak Ertekin, F. (2021). Improving the stability of oily turmeric extract by microencapsulation using spray drying technique. *J Dispers Sci Technol*, doi: 10.1080/01932691.2021.1929290.
- Kshirsagar, A. C., Yenge, V. B., Sarkar, A., Singhal, R. S. (2009). Efficacy of pullulan in emulsification of turmeric oleoresin and its subsequent microencapsulation. *Food Chem*, 113(4): 1139–1145, doi: 10.1016/j.

- Liu, W., Chen, X. D., Cheng, Z. (2016). On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. *J Food Eng*, 169: 189–195, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.08.034.
- Mathew, D., Hsu, W. L. (2018). Antiviral potential of curcumin. *J Funct Foods*, 40: 692–699, doi: 10.1016/j.jff.2017.12.017.
- Myers R. H., Montgomery D. C., Anderson-Cook, C. M. (2011). *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. 3th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Nisar, T., Iqbal, M., Raza, A., Safdar, M., Iftikhar, F., Waheed, M. (2015). Estimation of Total Phenolics and Free Radical Scavenging of Turmeric (*Curcuma longa*). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*, 15(7): 1272–1277, doi: 10.5829/idosi.ajeaes.2015.15.7.9527.
- Özgüner-Kabak, M. (2019). Meyan kökünde bulunan bazı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu üzerine farklı yöntemlerin etkisinin araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Türkiye, 70 s.
- Papillo, V. A., Arlorio, M., Locatella, M., Fusob, L., Pellegrini, N., Foglianod, V. (2019). In vitro evaluation of gastro-intestinal digestion and colonic biotransformation of curcuminoids considering different formulations and food matrices. *J Funct Foods*, 59: 156–163, doi: 10.1016/j.jff.2019.05.031.
- Patel, S. S., Pushpadass, H. A., Franklin, M. E. E., Battula, S. N., Vellingiri, P. (2021). Microencapsulation of curcumin by spray drying: Characterization and fortification of milk. *J Food Sci Technol*, doi: 10.1007/s13197-021-05142-0.
- Sablania, V., Bosco, S. J. D. (2018). Optimization of spray drying parameters for *Murraya koenigii* (Linn) leaves extract using response surface methodology. *Powder Technol*, 335: 35–41, doi: 10.1016/j.powtec.2018.05.009.
- Sahin Nadeem, H., Torun, M., Özdemir, F. (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *Food Sci Technol*, 44: 7: 1626–1635, doi: 10.1016/j.lwt.2011.02.009.
- Sana, S., Arshad, M. U., Saeed, F., Ahmad, R. S., Imran, A., Tufail, T. (2019). Nutritional characterization of cinnamon and turmeric with special reference to their antioxidant profile. *Int J Biosci*, 15(4): 178–187, doi: 10.12692/ijb/15.4.178-187.
- Singh, R., Feroze, S.M., Kumar, S., (2020). Production of Turmeric in North East Hill Region of India: A Value Chain Analysis. *Indian J Agric Econ*, 75(4): 359–374.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem*, 89(2): 191–198, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.02.025.
- Şahin Nadeem, H., Torun, M., Özdemir, F. (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT - Food Sci Technol*, 44(7): 1626–1635, doi: 10.1016/j.lwt.2011.02.009.
- Tanvir, E. M., Hossen, M. S., Hossain, M. F., Afroz, R., Gan, S. H., Khalil, M. I., Karim, N. (2017). Antioxidant properties of popular turmeric (*Curcuma longa*) varieties from Bangladesh. *J Food Qual*, 1–8, doi: 10.1155/2017/8471785.
- Tasova, M., Özkurt, M. (2018). Korunga (*Onobrychis sativa* L.) Tohumlu ğunun Bazı Biyoteknik ve Renk Özelliklerinin Belirlenmesi. *Int J Life Sci Biotechnology*, 1(2): 48–58, doi: 10.38001/ijlsb.475100.
- Tayyem, R. F., Heath, D.D., Al-Delaimy, W. K., Rock, C.L. (2006). Curcumin content of turmeric and curry powders. *Nutr Cancer*, 55(2): 126–131, doi: 10.1207/s15327914nc5502_2.
- Torun M., Dincer C., Topuz A., Sahin-Nadeem H., Ozdemir F. (2015). Aqueous extraction kinetics of soluble solids, phenolics and flavonoids from sage (*Salvia fruticosa* Miller) leaves.

J Food Sci Technol, 52(5): 2797-2805, doi: 10.1007/s13197-014-1308-8.

Tsali, A., Goula, A. M. (2018). Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. *Powder Technol*, 340: 194–207. doi: 10.1016/j.powtec.2018.09.011.

Vidović, S. S., Vladić, J. Z., Vaštag, Ž. G., Zeković, Z. P., Popović, L. M. (2014). Maltodextrin as a carrier of health benefit compounds in *Satureja montana* dry powder extract obtained by spray drying technique. *Powder Technol*, 258, 209–215, doi: 10.1016/j.powtec.2014.03.038.

Yang, Q. Q., Chenga, L. Z., Zhangb, T., Yaronc, S., Jiand, H. X., Suia, Z. Q., Corkea, H. (2020). Phenolic profiles, antioxidant, and antiproliferative activities of turmeric (*Curcuma longa*). *Ind Crops Prod*, 152: 1-8, doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112561.

Zhang, N., Li, H., Jia, J., He, M. (2015). Anti-inflammatory effect of curcumin on mast cell-mediated allergic responses in ovalbumin-induced allergic rhinitis mouse. *Cell Immunol*, 298(1–2): 88–95, doi: 10.1016/j.cellimm.2015.09.010.



KOLORİMETRİK LOOP-MEDIATED İZOTERMAL AMPLİFİKASYON METODU İLE *LISTERIA MONOCYTOGENES*'İN TAVUK ETLERİNDE HIZLI TESPİTİ

Mehmet Yüksel^{1*}, Selahattin Sert¹, Arzu Kavaz Yüksel², Bülent Çetin¹, Mustafa Gürses¹

¹Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Erzurum, Türkiye

Geliş / Received: 21.09.2021; Kabul / Accepted: 17.02.2022; Online baskı / Published online: 14.02.2022

Yüksel, M., Sert, S., Kavaz Yüksel, A., Çetin, B., Gürses, M. (2022). Kolorimetrik loop-mediated izotermal amplifikasyon metodu ile *Listeria monocytogenes*'in tavuk etlerinde hızlı tespiti. GIDA (2022) 47 (1) 121-135 doi: 10.15237/gida.GD21125

Yüksel, M., Sert, S., Kavaz Yüksel, A., Çetin, B., Gürses, M. (2022). Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in chicken meats with colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. GIDA (2022) 47 (1) 121-135 doi: 10.15237/gida.GD21125

ÖZ

Bu çalışmanın amacı tavuk etlerinden (n:50; bütün kanat, göğüs, bageç; toplamda N: 150) *Listeria monocytogenes*'in tespitinde kolorimetrik loop-mediated izotermal amplifikasyon'un (LAMP) performansını değerlendirmektir. Bu amaçla, tavuk etleri 10⁰-10⁴ CFU/25 g (veya bütün tavuk eti) seviyede *L. monocytogenes* ve rekabetçi mikrobiyotaya olarak kullanılan 5 diğer bakteri (*Salmonella* Typhimurium, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*) ile inoküle edildi. Ön zenginleştirme sonrası örnekler geleneksel kültürel, gerçek zamanlı PZR ve LAMP kullanılarak analiz edildi. Virulans *hlyA* gen'in primer setleri (*L. monocytogenes*-özü) hidroksinaftol mavisi (HNB) ile görselleştirilmiş LAMP için kullanıldı. Bu hedef gen 65°C 45 dakikada spesifik primerler kullanılarak çoğaltıldı. Üç metot ile gerçekleştirilen analizlerin sonucunda doğal olarak kontamine olmuş 150 örneğin 9'unda (%6) *L. monocytogenes* varlığı tespit edildi. LAMP, qPCR ve klasik metot doğal ve yapay olarak kontamine olmuş örneklerden *L. monocytogenes* için aynı tespit performansını gösterdi. Bu sonuçlar HNB-LAMP yönteminin, PCR'a alternatif olarak, izotermal koşullar altında *L. monocytogenes*'e duyarlı, spesifik, basit, hızlı bir tespit tekniği olarak kullanılabilirliğini ve *L. monocytogenes*'in tavuk etlerinden saptanma potansiyeline sahip olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: Loop-mediated izotermal amplifikasyon (LAMP), gerçek zamanlı PZR, *Listeria monocytogenes*, tavuk etleri, hızlı tanımlama

RAPID DETECTION OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN CHICKEN MEATS WITH COLORIMETRIC LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP) METHOD

ABSTRACT

The object of this study is to evaluate the performance of the colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in detecting *Listeria monocytogenes* from chicken meats (n: 50; whole wing, breast,

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: mehmet.yuksel@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 5808

☎: (+90) 442 236 0958

Mehmet Yüksel; ORCID no: 0000-0001-6566-1385

Selahattin Sert; ORCID no: 0000-0003-1733-4843

Arzu Kavaz Yüksel; ORCID no: 0000-0001-8292-9259

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

Mustafa Gürses; ORCID no: 0000-0001-6859-4085

drumstick; totally N: 150). For this purpose, the chicken meats were artificially contaminated with 10^0 - 10^4 CFU/25 g (or sample) of *L. monocytogenes* and 5 others bacteria were used as competitive microbiota. After pre-enrichment, the samples were analyzed using conventional cultural, LAMP and real-time PCR methods. Primer sets of virulence gene *hlyA* were used for the *L. monocytogenes*-specific visualized LAMP with hydroxynaphthol blue (HNB) dye and amplified the target gene using specific primers at 65 °C for 45 min. As a result of analysis performed by three methods in the naturally contaminated samples, the presence of *L. monocytogenes* was detected in 9 of 150 samples (6%). The LAMP, qPCR and conventional method showed similar detection performances for *L. monocytogenes* in the naturally or artificially contaminated samples. These results demonstrated the use of HNB-LAMP method for, as an alternative to PCR, sensitive and specific to *L. monocytogenes* under isothermal conditions, could use as a simple, rapid detection technique and has the potential for detection of *L. monocytogenes* from the chicken meats.

Keywords: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP), Real-time PCR, *Listeria monocytogenes*, chicken meats, rapid detection

GİRİŞ

Listeriyozis vakalarına sebebiyet veren *L. monocytogenes*; zorlu çevre koşullarında hayatta kalabilen bir patojendir. Bu patojen pişmemiş veya yetersiz ısı işlem uygulanmış et, çiğ süt ve ürünlerinde, meyve ve sebzelerde bulunabilir. Ayrıca; gıdaların işlenmesi esnasında çeşitli kaynaklardan kontaminasyon riski de ortaya çıkabilir. Özellikle kontaminasyon olan bir üründen pişmiş ürüne, çiğ tüketilen sebze ve meyve gibi gıdalara çapraz bulaşı listeriyozis vaka olasılıklarını arttırmaktadır (Wang vd. 2015; Feng vd. 2018).

Gıda Güvenliği açısından *L. monocytogenes*, buzdolabı sıcaklıklarında canlı kalabilen ve çoğalan, ozmotik stresi tolere edebilme yeteneğiyle önemli bir patojendir (Rhoades vd. 2009; Goh vd. 2012). *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş gıdaların potansiyel insan sağlığı riskini değerlendirmek için güvenilir, özgün, hassas belirleme yöntemlerine ihtiyaç vardır. Süregelen geleneksel kültürel metotta kontamine şüphesi olan gıdanın selektif sıvı besiyerlerinde ön zenginleştirme, seçici agarlarda izolasyon ve şüpheli kolonilerin tanımlanması amacıyla biyokimyasal testler yapılmaktadır. Bu kültürel metot standart olarak kabul görmüş olsa da zaman (5 gün) alıcıdır. Hem de bu analizler sarf malzemeyle birlikte iş gücü ve donanımlı bir laboratuvar gerektirmektedir (Lee vd., 2015; Feng vd., 2018).

Nükleik asit temelli (Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), izotermal amplifikasyon vb.) moleküler

tanı teknolojilerinin gelişimiyle birlikte analiz süresi önemli ölçüde kısaltılmıştır. Gıdalarda *L. monocytogenes*'in hızlı aranması için multiplex PCR (Jamali vd., 2015; Wiczorek and Osek, 2017), immunomagnetic separation ile birlikte PCR (Ayaz vd., 2009), real-time PCR (Traunsek vd., 2011), ve multiplex realtime PCR (Xiao vd., 2014) gibi yöntemler kullanılmıştır. Ancak; nükleik asit temelli bu yöntemler pahalı ekipman ve sarf malzemenin yanı sıra daha eğitilmiş personel ve donanımlı laboratuvara ihtiyaç duymaktadır. Örneğin; klasik PCR yönteminde DNA ekstraksiyonu, genetik materyalin amplifikasyonu için primerler ve uygun çözeltiler, değişken termal döngüyü sağlayıcı cihazlar, amplifikasyonun kontrolü amacıyla görüntüleme kimyasalları ve ekipmanları lazımdır. Nükleik asit temelli metotlardan birisi olan Loop-mediated izotermal amplifikasyon (LAMP, döngüye dayalı izotermal amplifikasyon) çoğaltılması arzu edilen DNA kısımlarını yüksek duyarlılık ve etkinlikte, izotermal koşullarda (63-65°C), iplikcik yer değiştirmesi esasına dayanarak çoğaltabilen nükleik asit temelli bir yöntemdir (Notomi vd. 2000).

LAMP metodu, çoğaltılması istenen DNA'da altı farklı bölgeden tanımlanıp özel olarak dizayn edilen 4 veya 6 primer eşliğinde DNA polimeraz sayesinde gerçekleştirilir. Bu şekilde LAMP, izotermal olarak inkübe edilmiş reaksiyon ortamında spesifik bir gen bölgesini çoğaltıp belirleyebilir (Notomi vd. 2000; Nagamine vd. 2002; Sagcan ve Kara, 2019).

Diğer nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinden farklı olarak, LAMP basitliğinin yanı sıra yüksek amplifikasyon etkinliği gibi avantajlara sahiptir. LAMP için bir termal döngü cihazı olmaksızın bir su banyosu veya standart bir ısıtıcı blok ile amplifikasyon işlemi başarılabilir. Ayrıca, amplifikasyonun kontrolünde jel elektroforezi ve görüntüleme ekipmanı da gerekmez (Tomlinson and Boonham 2008). LAMP reaksiyon sonucu, interkalatör özelliğe sahip PicoGreen, SYBR Green I, Etidyum bromür gibi özel boyalara veya hidrosinaftol mavisi (HNB), Malaşit yeşili (MG), Kalsein gibi metal indikatörlerle görülebilir (Paridavd. 2008).

LAMP reaksiyonu sonucunda amplifikasyonun negatif veya pozitif olduğu reaksiyon ortamına hidrosinaftol mavisi (HNB) ilave edilerek tespit edilebilmektedir. Bu metal indikatörü reaksiyon ortamının pH'sına bağlı olarak renk değiştirmektedir. İzotermal sürece girmemiş olan reaksiyon ortamı HNB ilave edildiğinde normalde mor menekşe rengindedir. Fakat; amplifikasyon gerçekleştiğinde HNB'nin rengi gök mavisine döner ve reaksiyonun pozitif olduğu bu şekilde çıplak gözle yorumlanabilir. Reaksiyon boyunca ortamda yan ürün olarak oluşan pirofosfatların HNB+Mg²⁺ kompleksinden Mg²⁺ iyonlarını uzaklaştırarak ortam pH'sında değişiklik meydana getirdiği için rengin gök mavisine (sky blue) dönüştüğü belirtilmiştir. Bu boya LAMP için bazı avantajlar sağlamaktadır: reaksiyon ortamında inhibe edici değildir ve kapalı reaksiyon ortamına önceden ilave edilir. İkincisi çıplak gözle renk değişimi kolayca görülebilir ve belirgindir. Son olarak hazırlanması kolay (suda çözünür) ve ucuzdur (Goto vd. 2009; Srisrattakarn vd. 2017; Wang vd., 2017).

Bu çalışmada, tavuk etlerinden *L. monocytogenes*'in hızlı tespiti için *hlyA* gene göre oluşturulan primerlerle kolorimetrik (HNB) LAMP yönteminin hassasiyeti, özgünlüğü geleneksel kültürel yöntem ve real-time PCR ile kıyaslanarak yorumlanması amaçlandı.

MATERYAL VE YÖNTEM

Tavuk etleri

Toplamda 150 adet (bütün kanat, göğüs, bageç; n: 50) tavuk eti Erzurum ilinde 2017 yılı Mart-Nisan aylarında perakende satış yapan marketlerden temin edildi. Örnekler PVC ambalajlarda paketlenmiş halde satıcıdan alınmıştır. Her paket bir numune olarak kabul edildi. Temin edilen örnekler en kısa zamanda ve soğuk zincir şartlarında (+2°C ile +8°C) laboratuvara ulaştırıldı. Materyaller sıcaklığın korunması için buz aküleri içeren strafor kutu içerisinde taşınmış ve analizlere kadar sıcaklığı 4°C ayarlanmış soğutucuda muhafaza edildi. Örnekler laboratuvara ulaştırıldıktan sonra en geç 30 dakika sonrasında analizlere alındı.

Çalışmada kullanılan kültürler

Bu çalışmada, mikrobiyolojik ve/veya moleküler genetik analizlerde Çizelge 1'de verilen kültürler kullanılmıştır. Bu kültürler Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'na ait kültür koleksiyonundan temin edildi. Laboratuvarında -80°C'de muhafaza edilen kültürlerin aktifleştirilmesi Trypticase Soy Yeast Extract (TSYE) sıvı besiyerinde yapıldı. *C. jejuni* ve *C. coli* için TSYE besiyerine %5 oranında defibrine at kanı ilave edildi.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan kültürler

Table 1. Cultures used in this study

Kültürler / Cultures	Diğerleri / Others
<i>Listeria</i> spp.	
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	<i>Salmonella</i> Typhimurium (RSSK 95091)
<i>L. monocytogenes</i> NCTC 10527	<i>Campylobacter jejuni</i> (ATCC 33560) <i>Campylobacter coli</i> (ATCC 33559) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) <i>Citrobacter freundii</i> (NCTC 6272)
<i>L. ivanovii</i> ATCC 19119	
<i>L. innocua</i> NCTC 11288	

ATCC: American Type Culture Collection, NCTC: National Collection of Type Cultures, RSSK: Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu

Örneklerin inokülasyonu

In vitro koşullarda inokülasyonları yapılacak tavuk etleri mikrobiyota ve diğer kalıntılardan arındırılması için steril saf su ile yıkama işlemine tabi tutuldu. Kısaca; 25 g örnek 225 mL (veya ağırlıklarına göre 1:10 oranında) steril saf su ile 3 dk yıkandı. Bu işlem her örnek için 3 defa tekrar edildi. Tavuk etleri yıkandıktan sonra inokülasyon öncesi kontrol amacıyla paketlerden numune alınmış ve belirtilen analizler bu numunelere de uygulanmıştır. Yıkamadan sonra *L. monocytogenes* (ATCC 7644), *Listeria monocytogenes* (NCTC 10527) ile 10^0 - 10^4 CFU/25 g olacak şekilde uygun kültür dilüsyonları hazırlandı. Aynı şekilde rekabetçi mikrobiyota olarak seçilen 5 kültür karışımı için dilüsyonlar hazır hale getirildi. Hem *L. monocytogenes* suşları için hem de rekabetçi mikrobiyota için hazırlanan inokülasyonların konsantrasyonu McFarland densitometer (DEN-1 McFarland Densitometer, Biosan) kullanılarak kontrol edilmiştir. Steril fizyolojik tuzlu su (%0.85 NaCl) ile yaklaşık olarak 10^8 CFU/mL olacak şekilde ana dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu ana inokülasyon çözeltileri 10-kat seyreltme metoduyla 25 g tavuk eti için 10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 CFU olacak şekilde optimize edilmiştir. Uygun dilüsyonlardan 100 µL alınarak mikropipet ile yıkanan örnekler steril stomacher içerisinde çoklu noktasal olarak inoküle edildi ve kültür-örnek etkileşimi için 1-2 saat 4°C'de bekletildi (Arunrut vd. 2018).

Listeria monocytogenes ve diğer *Listeria* türleri için kültürel metot

ISO 11290-1:2017 koduyla standart metot olarak sunulan ve TSE tarafından ülkemizde de geçerliliği olan TS EN ISO 11290-1 yönteme göre *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri için analizler iki aşamalı zenginleştirme, izolasyon ve doğrulama testlerini içermektedir. Kısaca; örnekler öncelikle ağırlıklarına göre 1:10 oranında Buffered Peptone Water (Tamponlanmış Peptonlu Su, TPS) ile filtreli stomacher poşeti içerisinde rinsing (yıkama) işlemine tabi tutuldu. Ön zenginleştirme amacıyla steril kavanoz içerisinde 10 mL tavuk yıkama suyuna 90 mL Half Fraser Broth eklendi ve 30°C'de aerob koşullarda 24 saat inkübasyona bırakıldı. Ön zenginleştirme işlemine tabi tutulan her bir örnekten 1 mL

homojenizat alınıp 9 mL Fraser Broth içeren tüplere aktarılıp 37°C, 48 ± 2 aerobik inkübasyon uygulandı. Zeytin yeşili-siyah renk veren tüplerden birer öze dolusu Chromocult Listeria Selective Agar (Merck 1.00427), Oxford Listeria Selective Agar (Merck 1.07004) ve PALCAM Agar (Merck 1.11755) besiyerlerine çizim yapılmıştır. Bu seçici agarlarda üreyen yaklaşık 1 mm çaplı tipik kolonilerden 1-5 adet seçilerek biyokimyasal ve diğer testler yapılmak üzere, TSA-YE'ye (Tryptic Soy Agar-Yeast Extract; Oxoid CM 131) aktarıldıktan sonra 30°C'de 1 gün inkübasyona bırakıldı. Üreyen kolonilere sırası ile; Gram boyama, katalaz (%3'lük H₂O₂ ile), oksidaz (Bactident oxidase, Merck 113300), Christie, Atkins ve Munch-Peterson (CAMP) hemoliz testleri yapıldı. Biyokimyasal doğrulama amacıyla API Listeria (bioMerieux) kit ile birlikte karbonhidrat testleri (Ksiloz, Ramnoz, Mannitol) uygulandı (Hitchins vd. 2017). Gram pozitif, Katalaz pozitif, oksidaz negatif, CAMP pozitif, Ramnoz pozitif, Ksiloz ve Mannitol negatif ve API web system software ile sonucu %90 *L. monocytogenes* üzeri olan kültürler *L. monocytogenes* olarak belirlendi. Ayrıca, *L. monocytogenes*'in örneklerden identifikasyonu için Singlepath® L'mono (Merck Millipore, 104148) immünolojik hızlı kit üretici yönergesine göre kullanıldı.

PCR ve LAMP için bakteriyel DNA ekstraksiyonu

Ön zenginleştirmeye tabi tutulmuş homojenizatlardan 1 mL alınarak mikrosantrifüj tüplere transfer edildi. Sırasıyla; i) 900 x g, 1 dakika santrifüjleme, ii) süpernatant yeni bir mikrosantrifüj tüpe alındıktan sonra 10.000 x g, 5 dakika santrifüjleme, iii) süpernatant elemine edildikten sonra geriye kalan pellet üzerine Tris-EDTA (pH 8.0) Buffer ilave edildi. Bu karışım 95-100°C'de 10 dakika süreyle ısıtıcı blokta ısıtıldı. Oda sıcaklığına getirilen bu karışım 13.700 x g 4°C'de 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatant LAMP ve PCR işlemleri için DNA kalıp olarak kullanıldı. DNA saflığı ve konsantrasyonu Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek, USA) cihazında Take3 Micro-Volume Plate kullanılarak gerçekleştirildi. A₂₆₀/A₂₈₀ oranı 1.8-2.0 aralığındaki DNA'lar kullanıldı (Yamazaki vd. 2009; Van Tongeren vd., 2011; Tang vd. 2011).

LAMP analizinde kullanılan primerlerin özgünlüğünü kontrol etmek amacıyla referans kültürlerden DNA ekstraksiyonu *mericon* DNA Bacteria Kit (QIAGEN, Cat. No. / ID: 69525) kullanılmıştır. Bu amaçla üreticinin yönergesi takip edilmiştir.

LAMP protokolü

LAMP reaksiyonu için *Bst* 3.0 DNA Polimeraz ve bu enzimin optimum aktivite gösterdiği ortamı sağlayan Isothermal Amplification Buffer II Pack (New England Biolabs), dNTP (Sigma Aldrich), LAMP Primer karışımı, sonucun gözlenmesi için

hidroksinaftol mavisi (HNB) (Sigma Aldrich, Product No: 1.04593) ve reaksiyon hacmini tamamlamak için moleküler saf su kullanıldı. HNB çözeltisi moleküler ağırlığı: 620,47 g/mol olan HNB'den 0,02325 g alınarak 10 mL saf su içerisinde çözündürülerek hazırlandı. 25 µL LAMP reaksiyon hacminde 1 µL ilave edildiğinde konsantrasyonu 150 µM olarak optimize edildi. Reaksiyonda kullanılan bileşenler ve miktar/konsantrasyonları Çizelge 2'de gösterildiği gibidir.

Çizelge 2. LAMP için kullanılan bileşenler ve miktar/konsantrasyonları

Table 2. Ingredients used for LAMP and their amount/concentration

Bileşen / Ingredients	Hacim (25 µL/Reaksiyon) / Volume
10X Isothermal Amplification Buffer II	2.5 µL
10 mM dNTPs	3.5 µL (1.4 mM final)
100 mM MgSO ₄	1.5 µL (6 mM+2 mM buffer=8 mM final)
Primerler Primers	1.3 µL (1.6 µM FIP/BIP, 0.2 µM F3/B3, 0.8 µM LoopF/B)
<i>Bst</i> 3.0 (8,000 U/mL)	1 µL (0.32 U/µL)
DNA template	2 µL (50 µg/mL)
HNB	1 µL (150 µM)
H ₂ O	Saf su ile 25 µL'ye tamamlanır

LAMP reaksiyonunda kullanılan primerler *L. monocytogenes hlyA* gen hedef alınarak dizayn edildi (Çizelge 3). Bu primerler liyofilize halde HPLC

saflığında olup üreticinin (Integrated DNA Technologies, IDT, Leuven, Belçika) yönergesine göre ultra saf su ile hazırlandı.

Çizelge 3. LAMP için kullanılan primerler

Table 3. Primers used in LAMP

Hedef/Referans	Primer ^b	Sekans (5'-3')
Tang vd. (2011) ^a ;	FIP	CGTGT ¹ TTCTT ¹ TCGATTGGCGTCTT ¹ TTTTCAT CCATGGCACCACC (F1c-F2)
	BIP	CCACGGAGATGCAGTGACAAATGTT ¹ TGGATT TCTTCTT ¹ TTCTCCACAAC (B1-B2c)
	F3	TTGCGCAACAAACTGAAGC (F3)
	B3	GCTTT ¹ TACGAGAGCACCTGG (B3c)
	LF	TAGGACTTGCAGGCGGAGATG (LFc)
	LB	GCCAAGAAAAGGTTACAAAGATGG (LB)

^a*L. monocytogenes hlyA* gen (GenBank erişim numarası NC012488)

^bF3: forward internal primer; B3: backward inward primer; FIP: forward inner primer; BIP: backward inner primer; LF: loop forward primer; LB: loop backward primer

Çizelge 2’de belirtilen bileşenler uygun hacimlerde alınarak toplamda 25 µL reaksiyon karışımı 0,2 mL PCR tüplerinde ısıtıcı blokta 60°C ve 65°C sıcaklık, 15, 30, 45, 60, 120 dk süre kombinasyonu uygulandı. Bu süreler sonunda reaksiyonu sonlandırmak amacıyla 80-82°C’de 2 dakika daha ısıtma yapıldı. Bu işlemler sonucunda tüpler bir beyaz zeminde konumlandırıldı ve 10 dk içerisinde HNB’ye bağlı renk değişimi gözlemlendi.

LAMP analizinin spesifikliğinin belirlenmesi

Yöntemin spesifikliğini belirlemek için, LAMP analizi, dört *Listeria* suşundan ve beş *Listeria* olmayan suştan (Çizelge 1) elde edilen DNA kalıplarıyla yukarıda açıklanan koşullar altında gerçekleştirildi. Her DNA örneği en az iki kez LAMP analizine alındı.

LAMP analizinin hassasiyetinin belirlenmesi

LAMP metodunun duyarlılığı, pozitif kontrol olarak *L. monocytogenes* suşu ATCC 7644 kullanılarak belirlendi. Metodun belirleme limiti (limit of detection, LOD) aynı DNA kalıplarında PCR ile karşılaştırılarak tespit edildi. *L. monocytogenes* kültürünün ddH₂O (double distilled water) ile 5-5x10⁶ CFU/mL aralığındaki dilüsyonlarından 100 µL alınarak DNA

ekstraksiyonu yapıldı. Bu DNA örnekleri PCR ve LAMP hassasiyetlerinin belirlenmesi için kullanıldı. Saf kültür dilüsyonlarından 100 µL PALCAM ve Chromocult *Listeria* Selective Agar’a ekildi. Agarlarda 36-48 saat, 37°C inkübasyon sonrasında oluşan kolonilerin sayımı gerçekleştirildi. LOD, *L. monocytogenes*’in en düşük konsantrasyonda üç tekrarlar tespit edildiği değer olarak verildi. Ayrıca saflaştırılmış DNA ekstraktları 10 kat seyreltme (800 ng, 80 ng, 8 ng, 800 pg, 80 pg, 8 pg) ile de her iki yöntemle analize alındı.

qPCR protokolü

Tavuk eti örneklerinden *L. monocytogenes* tespiti için mericon *L. monocytogenes* Kit (QIAGEN, Cat. No. / ID: 290123) kullanılmıştır. Kit içeriğinde Internal Control (iç kontrol), Positive Control (pozitif kontrol), Multiplex PCR Master Mix, QuantiTect Nucleic Acid Dilution Buffer, RNase-free water mevcuttur. Üreticinin reaksiyon hazırlama yönergesine uyularak PCR reaksiyonu Rotor-Gene Q real-time PCR cihazında Çizelge 4. ve Çizelge 5’te belirtilen koşullara göre gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon sonuçları Rotor-Gene Q Ver. 2.3.1.49 (QIAGEN) yazılımı kullanılarak belirlenmiştir.

Çizelge 4. Materyal ve kontrol reaksiyonları için hacimler

Table 4. Setup of sample and control reactions

Bileşen/ Component	Materyal için PCR/PCR for material	Pozitif PCR kontrol/Positive PCR control	Negatif PCR kontrol/Negative PCR control
Sulandırılmış mericon PCR karışımı <i>Reconstituted mericon Assay</i>	10 µL	10 µL	10 µL
Bakteriyel DNA <i>Bacterial DNA</i>	10 µL	-	-
Çözündürülmüş pozitif Kontrol DNA <i>Dissolved Positive Control DNA</i>	-	10	-
QuantiTect Nucleic Acid Dilution Buffer Veya RNase-free water	-	-	10 µL
Toplam Hacim/Total Volume	20 µL	20 µL	20 µL

Çizelge 5. Rotor-Gene Q ile PCR protokolü
Table 5. PCR protocol with Rotor-Gene Q

Adım/ Step	Süre/Time	Sıcaklık/Temperature	Açıklama/Comments
Başlangıç aktivasyonu <i>Initial activation</i>	5 dakika	95°C	HotStarTaq Plus DNA polimeraz aktivasyonu
3 aşamalı Döngü			
Denatürasyon <i>Denaturation</i>	15 saniye	95°C	40 Döngü 60°C'de veri toplama/ <i>Data collection at 60°C</i>
Bağlanma <i>Annealing</i>	15 saniye	60°C	
Uzatma <i>Extension</i>	10 saniye	72°C	

İstatistiksel analizler

İstatistiksel analiz, Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak yapıldı. LAMP analizi, gerçek zamanlı PCR ve standart kültür yönteminin sonuçlarına göre tanısal kalite kriterleri belirlenerek değerlendirildi. Bu değerlendirmede tanısal duyarlılık (diagnostic sensitivity, SE), özgüllük (specificity, SP) ve doğruluk (accuracy, AC) ile pozitif (positive, PPV) ve negatif (negative, NPV) tahmin değerleri hesaplandı. Sonuçların uyumu gerçek pozitif (TP) veya gerçek negatif (TN) şeklinde verildi. Sonuçların uyuşmaması yanlış pozitif (FP) veya yanlış negatif (FN) olarak belirtildi. Bu parametrelerin hesaplanması için aşağıdaki formüller kullanılmıştır (Garrido-Maestu vd., 2017; Kreitlow vd., 2021).

$$SE = \left[\frac{TP}{TP + FN} \right] \times 100 \quad (1)$$

$$SP = \left[\frac{TN}{TN + FP} \right] \times 100 \quad (2)$$

$$AC = \left[\frac{TP + TN}{N} \right] \times 100 \quad (3)$$

(N = analize alınan toplam numune sayısı)

$$PPV = \left[\frac{TP}{TP + FP} \right] \times 100 \quad (4)$$

$$NPV = \left[\frac{TN}{TN + FN} \right] \times 100 \quad (5)$$

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Tavuk etlerinde LAMP ve diğer yöntemlerle *L. monocytogenes* varlığı

LAMP metodunun gıdalarda *L. monocytogenes* tespiti için kullanılabilirliğini göstermek için 150 tavuk eti örneği LAMP, qPCR ve standart kültürel metot ile analize alındı. Bu üç yöntemin sonuçları Çizelge 6'da özetlenmiştir. Tavuk eti örneklerinde, LAMP, qPCR ve kültürel metot ile 9 (9/150, %6) örnek *L. monocytogenes* pozitif bulundu. Standart kültürel metot ile kıyaslandığında qPCR ve LAMP tespit doğruluğu açısından %100 uyum sağlamıştır. Tang et al (2011) yaptıkları çalışmada LAMP yönteminin doğruluğunu "altın standart" olarak kabul edilen kültürel metotla kıyasladığında aynı sonucu bulduklarını bildirmişlerdir.

Geleneksel kültürel yöntemde PALCAM ve Chromocult besiyerlerinde tipik kolonilerin oluşumuna takiben gerekli identifikasyon testleri yapıldıktan sonra 9 örneğin *L. monocytogenes* pozitif olduğu tespit edildi. Bu izolatların hedef patojen olduğu API Listeria ve Singlepath® L'mono kitleriyle de doğrulandı (Şekil 1). API kit sonucu yazılımla değerlendirildiğinde %98,69 ihtimalle 9 örnekte şüpheli izolatların *L. monocytogenes* olduğu görüldü. *Listeria* türleri içerisinde insanlarda listeriozis rahatsızlıklarına sebep olabilen bu türün gıdalarda varlığı risk olarak değerlendirilmektedir (Setiani vd., 2015).

LAMP ve qPCR için bakteriyel DNA kalitesi
Nükleik asit örneklerinin hızlı bir şekilde saflığının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan en temel yöntemlerden birisi örneklerin 260 nm ve 280 nm

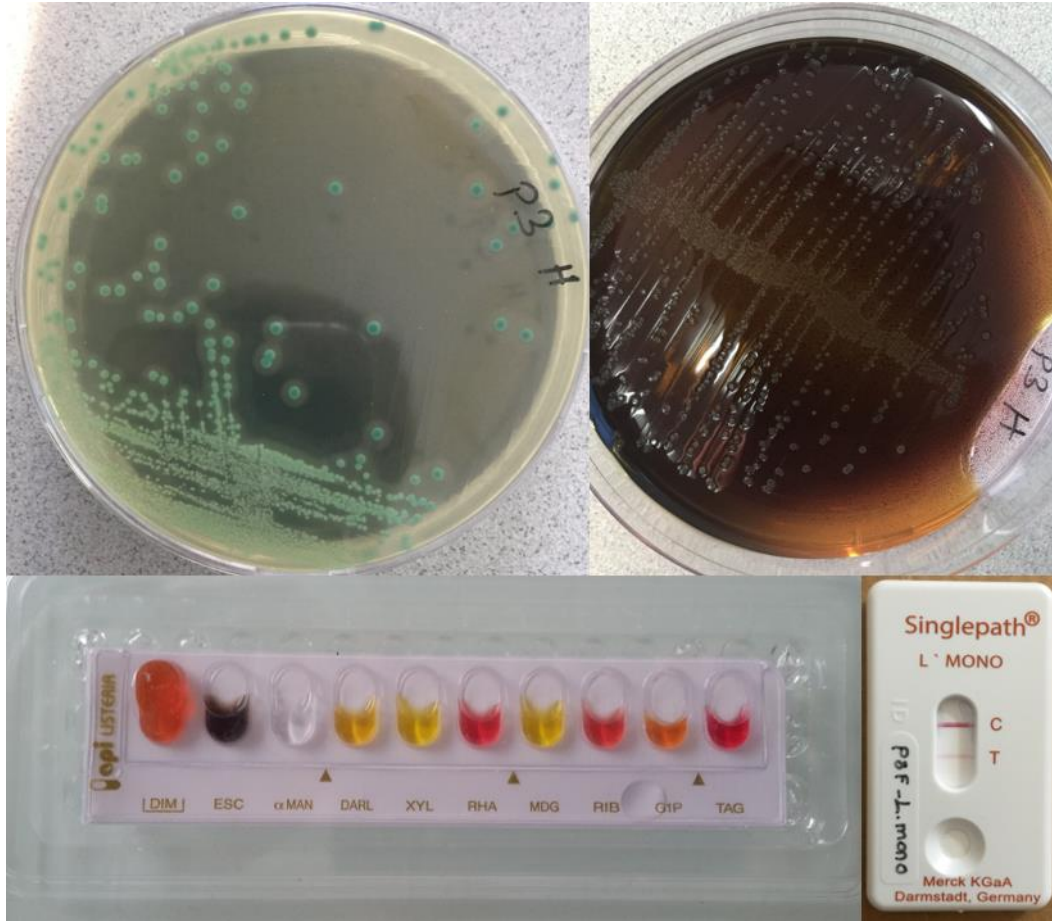
spektrofotometrik absorbans ölçümlerinin oranıdır. *L. monocytogenes* ATCC 7644, NCTC 10527 kültürlerinden belirtilen metot ile DNA ekstraksiyonu yapılmış ve kalite tespit edilmiştir

(Şekil 2). Bu yöntemin kültürlerden genomik ekstraksiyon saflığında yüksek derecede etkili olduğu görüldü.

Çizelge 6. Tavuk etlerinde LAMP, qPCR ve geleneksel metot sonuçları

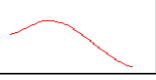
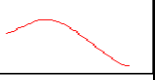
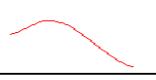
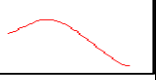
Table 6. Results of LAMP, qPCR and traditional method in chicken meats

Metot	Örnekler (150 adet)/ Samples (n:150)					
	Bütün kanat (50) <i>Whole wing</i>		Göğüs (50) <i>Breast</i>		Baget (50) <i>Drumstick</i>	
	Pozitif <i>Positive</i>	Negatif <i>Negative</i>	Pozitif <i>Positive</i>	Negatif <i>Negative</i>	Pozitif <i>Positive</i>	Negatif <i>Negative</i>
LAMP	2	48	4	46	3	47
qPCR	2	48	4	46	3	47
Kültürel/ <i>Cultural</i>	2	48	4	46	3	47
Toplam/ <i>Total</i>	9 Pozitif/ Positive, 141 Negatif/Negative (9/150, %6)					



Şekil 1. Spesifik besiyerlerinde olası *L. monocytogenes* izolatları ve identifikasyonu

Figure 1. Isolates of *L. monocytogenes* in the specific media and their identification

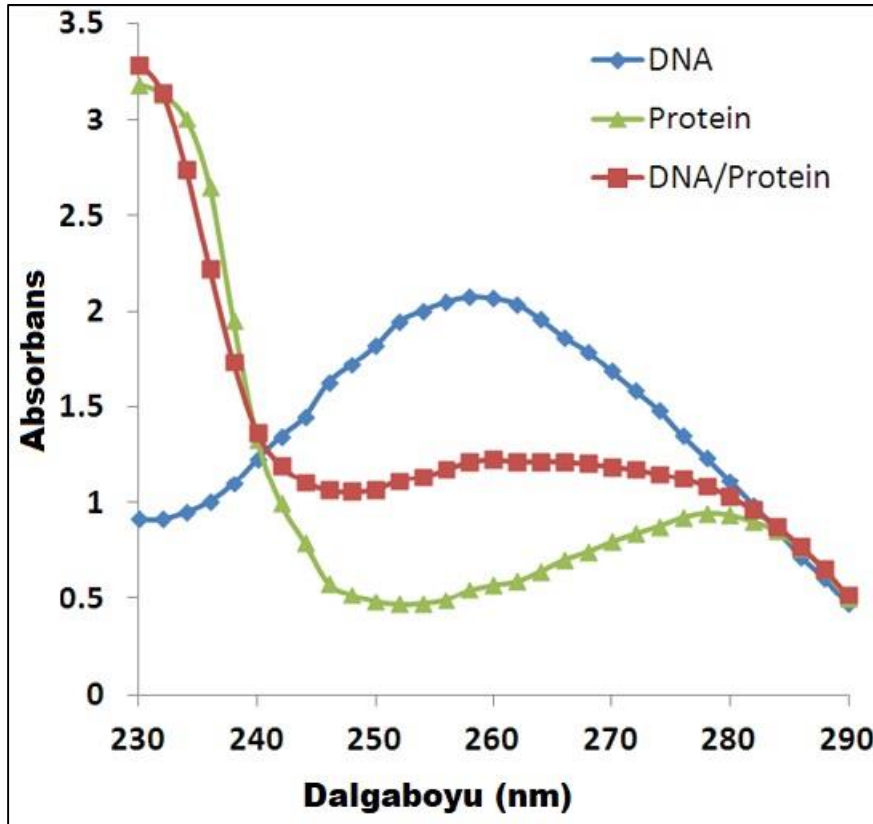
ATCC 7644	NCTC 10527	Well ID	Örnek1	Örnek1Tek	Well ID
		Spectrum			Spectrum
1,8 832,388	1,799 844,302	260/280 ng/µL	1,903 193,811	1,899 196,302	260/280 ng/µL

Şekil 2. *L. monocytogenes* ATCC 7644, NCTC 10527 kültürlerinden ve ön zenginleştirme sonrası materyalden izole edilen bakteriyel DNA kalitesi

Figure 2. Quality of bacterial DNA isolated from cultures of *L. monocytogenes* ATCC 7644, NCTC 10527 and material after pre-enrichment

DNA kalitesinin standarda yakın çıkması (Şekil 3); protein gibi safsızlıkların düşük seviyede olduğunu göstermektedir. Bu safsızlıkların düşük seviyede olması, PCR ve LAMP işlemlerinde inhibisyon riskinin elemine edilmesi açısından önemlidir (Brescia, 2012; Piskata vd., 2019). Bu çalışmada kullanılan termal lizasyon yöntemi

yüksek kalitede DNA sağlamıştır. Özellikle ön zenginleştirme sıvılarında çoğalan hedef bakterilerden DNA izolasyonunda 3 aşamalı santrifüj yöntemi sıvı besiyerinden ve tavuk etlerinden gelen inhibitörlerin elemine edilmesinde etkili olduğu görülmektedir (Van Tongeren vd., 2011).



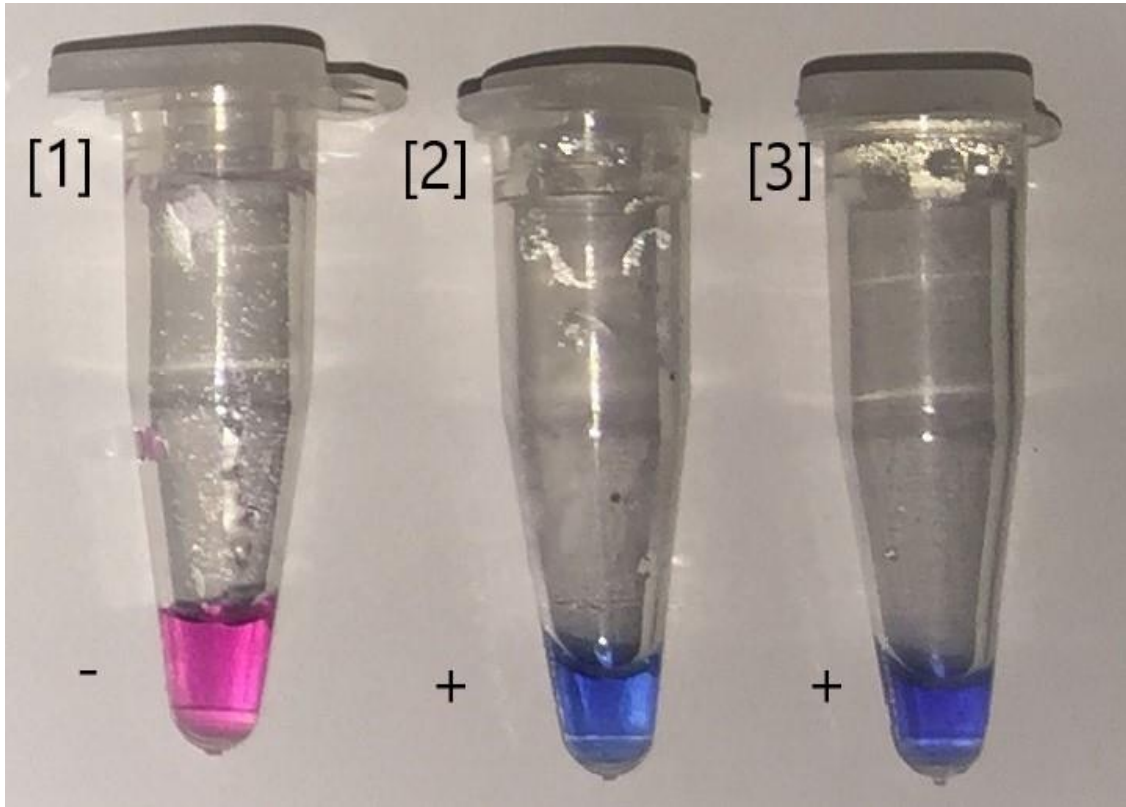
Şekil 3. DNA, protein ve DNA/protein biyomoleküllerin spektral karşılaştırılması (Brescia, 2012)

Figure 3. Spectral comparison of DNA, protein and DNA/protein biomolecules

LAMP sonucun HNB ile gözlenmesi

Bu çalışmada, LAMP sonucu oluşan amplifikasyon ürünleri kolorimetrik olarak belirlendi. Bu amaçla reaksiyon ortamına ilave edilen HNB (150 µM) izotermal işleme tutulmadan önce mor menekşe bir renk oluşturmaktadır. LAMP sonucunda amplifikasyon ürünlerinin oluşmasıyla reaksiyon ortam rengi çıplak gözle görülebilecek şekilde gök mavi renge dönmektedir (Şekil 4). HNB boyasının

LAMP ürünlerinin belirlenmesinde kullanımı Goto vd. (2009) tarafından valide edilmiştir. HNB ile optimize edilen LAMP reaksiyon karışımlarıyla görsel belirleme birçok çalışmada kullanılmıştır (Soli vd. 2013; Mohon vd. 2014; Pang vd. 2019). Bu boya reaksiyon ortamına izotermal uygulamadan önce ilave edildiği için DNA inhibisyonuna sebep olabilecek kontaminasyonların da önüne geçilmektedir (Jin vd. 2019).



- [1] LAMP termal reaksiyon öncesinde ve sonrasında negatif kontrol
[1] after and before LAMP thermal reaction for negative control
[2] *L. monocytogenes* ATCC 7644 kültürüne ait DNA amplifikasyon sonucu,
[2] *L. monocytogenes* ATCC 7644 DNA amplifications result
[3] *L. monocytogenes* NCTC 10527 kültürüne ait DNA amplifikasyon sonucu
[3] *L. monocytogenes* NCTC 10527 DNA amplifications result

Şekil 4. HNB-LAMP ürünlerinin çıplak gözle belirlenmesi
Figure 4. Visual detection of HNB-LAMP products by naked eye

LAMP için optimizasyon

Çalışmada LAMP için uygulanan 60°C ve 65°C sıcaklığın amplifikasyon açısından bir farklılığı görülmemiştir. Ancak; bazı çalışmalarda 65°C

izotermal uygulamanın amplifiye edilen LAMP ürünlerinin daha fazla miktarda oluştuğu bildirilmiştir (Zhao vd. 2010a; Zhao vd. 2010b; Wang vd. 2012).

Wu et al (2014) gıdalarda LAMP ile *L. monocytogenes* tespiti için yaptığı çalışmada 59-65°C sıcaklık aralığındaki uygulamadan 63°C sıcaklığın daha iyi sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir. Bu sürenin 45 dk uygulanmasıyla *L. monocytogenes* türüne ait *hlyA* veya *iap* geninin çoğaltıldığını da bildirmişlerdir. Belirtilen araştırmalara paralel olarak bu çalışmada 60-65°C sıcaklık aralığının 45 dk uygulanmasının yeterli olduğu görülmüştür.

LAMP analizinin duyarlılığı ve belirleme limiti

L. monocytogenes ATCC 7644 kültürünün 5x10⁶ CFU/mL, 5x10⁵ CFU/mL, 5x10⁴ CFU/mL, 5x10³ CFU/mL, 5x10² CFU/mL, 5x10¹ CFU/mL, 5 CFU/mL dilüsyonlardan DNA ekstraktları LAMP ve qPCR için değerlendirildi. Bu saf kültür qPCR ve LAMP yöntemlerinin 5 CFU/mL seviyesinde belirleme limitine sahip oldukları görüldü. Bu kıyasla iki yöntemin *L. monocytogenes* için hassas olduğu belirlendi (Şekil 5). Shan vd. (2012) 96 *L. monocytogenes* ve 11 *Listeria* olmayan kültürle yaptıkları *hlyA* gen tabanlı LAMP çalışmada belirleme limitlerini 6 CFU/reaksiyon olarak bulmuşlardır. Wang vd. (2015) aynı geni hedef alarak yürüttükleri çalışmada LAMP için belirleme limitinin tampon sıvıda 2.4 CFU/reaksiyon, sütte ise 24 CFU/reaksiyon olduğunu belirtmişlerdir.

Saflaştırılmış genomik DNA için LAMP ve qPCR 800 ng-80 pg aralığını pozitif olarak tespit edebildi. Kısacası; saflaştırılmış DNA için de yöntemlerin aynı hassasiyetlere sahip olduğu görüldü. Geleneksel kültürel yöntem, LAMP ve PCR yönteminin aynı örneklerde pozitif veya negatif sonuçlar vermesi her üç yöntemin performansının aynı olduğunu göstermektedir. Fakat; LAMP yöntemi klasik kültür yöntemine kıyasla daha az zaman alıcıdır. Klasik kültürel yöntemin en az 72 saate kadar verebildiği bir sonucu LAMP 24 saate kadar verebilmektedir. Bu süre örneklerin ön zenginleştirilmesi ve DNA izolasyon aşamalarıyla en fazla 25-26 saat sürebilmektedir.

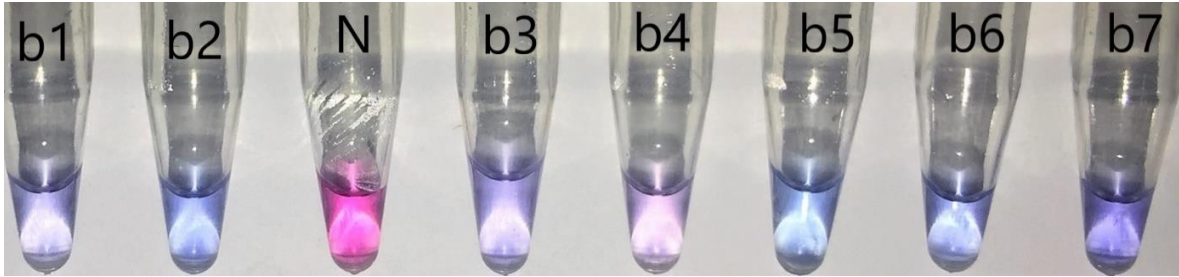
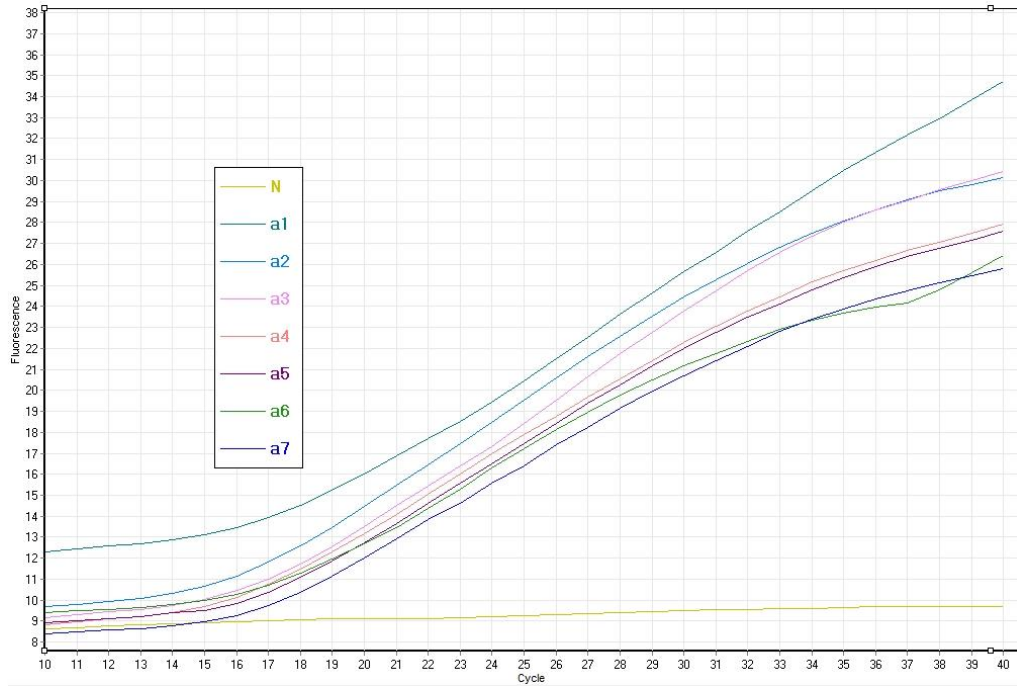
Klasik PCR ve LAMP uygulamasının karşılaştırıldığı birçok çalışmada LAMP'ın PCR'dan 10-100 kat daha hassas olduğu

vurgulanmıştır (Wang vd. 2010; Wang vd. 2012; Wu vd. 2014; Wachiralurpan vd. 2017). Klasik PCR ile kıyaslandığında LAMP için klasik bir laboratuvar termal döngüyü sağlayan bir cihaza ihtiyaç olmadan standart bir blok ısıtıcı ile amplifikasyon sağlanabilmektedir. Ayrıca qPCR için termal döngüyü gerçekleştiren cihaza ve sonuçları yorumlamayı sağlayan yazılımlara ihtiyaç vardır. Bunların aksine Şekil 4'de görüldüğü gibi LAMP sonucu çıplak gözle rahatlıkla yorumlanabilmektedir. qPCR ile karşılaştırıldığında LAMP kullanım kolaylığı ve ekipman gereksinimi gibi avantajlara sahiptir (Kiddle vd. 2012; Yan vd. 2019).

LAMP primerlerinin özgüllüğü

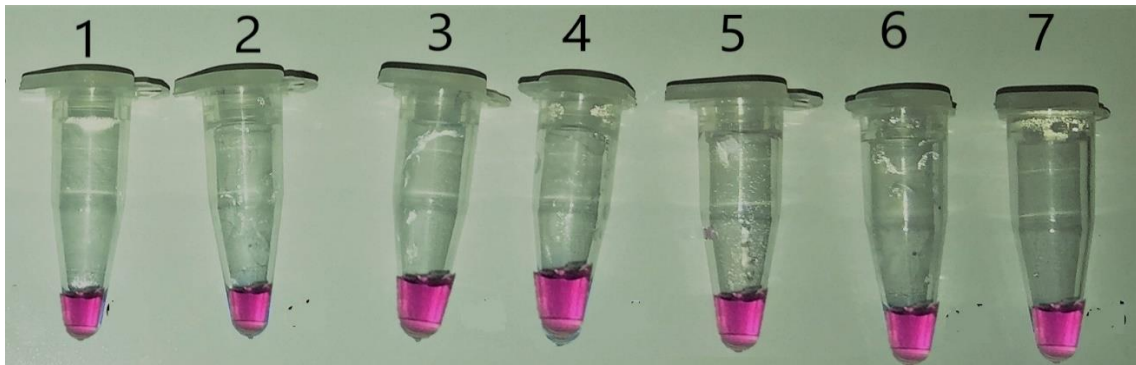
LAMP primerlerinin özgüllüğünü kontrol etmek amacıyla farklı bakterilerle eşleşip eşleşmediği kontrol edildi. Bu doğrultuda, (1) *L. ivanovii* ATCC 19119, (2) *L. innocua* NCTC 11288, (3) *Salmonella Typhimurium* (RSSK 95091), (4) *Campylobacter jejuni* (ATCC 33560), (5) *Campylobacter coli* (ATCC 33559), (6) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25 923), (7) *Citrobacter freundii* (NCTC 6272) kültürlerine ait DNA ekstraktları kullanıldı. Primerler, *L. monocytogenes* ATCC 7644, NCTC 10527 haricinde pozitif amplifikasyon vermemiştir (Şekil 6).

LAMP reaksiyonun özgüllüğü, doğrudan amplifikasyon için hedeflenen genin dizisini kapsayan primer gruplarına bağlıdır. Bu nedenle hedef mevcut olmadıkça amplifikasyon gerçekleşmeyecektir (Parida vd. 2008; da Costa vd. 2014). Çalışmada kullanılan primerler *L. monocytogenes hlyA* genine göre dizayn edildiğinden diğer kültürlerle ait DNA kısımlarını çoğaltmamıştır. Bu veriler gıdalardan *L. monocytogenes*'in tespiti için LAMP yönteminde *hlyA* genin kullanımının doğruluğunu göstermektedir (Ledlod vd. 2020).



a1-a7: qPCR için 5 CFU-5x10⁶ CFU/mL aralığındaki dilisüyonlar, N: Negatif kontrol (DNA olmadan)
a1-a7: 5 CFU-5x10⁶ CFU/mL serial dilutions for *Qpcr*, N: Negativecontrol (without DNA)
b1-b7: LAMP için 5 CFU-5x10⁶ CFU/mL aralığındaki dilisüyonlar, N: Negatif kontrol (DNA olmadan)
b1-b7: 5 CFU-5x10⁶ CFU/mL serial dilutions for *Qpcr*, N: Negativecontrol (without DNA)

Şekil 5. qPCR (a) ve LAMP (b) ve yöntemlerinin hassasiyeti
Figure 5. Sensitivity of qPCR (a) and LAMP (b) methods



Şekil 6. LAMP primerlerinin özgüllüğü
Figure 6. Specificity of LAMP primers

SONUÇ

Sonuç olarak; LAMP yöntemi ile tavuk etlerinden *L. monocytogenes* varlığının tespiti başarılı bir şekilde kısa sürede yapılabileceği görüldü. Klasik kültürel yöntemle kıyaslandığında %100 doğruluk gösteren bu yöntem qPCR ile de sonuçlar açısından uyum gösterdi. Fakat; hız açısından qPCR ve LAMP daha öncelikli bir tercih olabilir. Bununla birlikte PCR ekipmanları olmayan laboratuvarlarda LAMP reaksiyonu ısıtıcı blok yardımıyla izotermal koşullarda gerçekleştirilebilir. Ayrıca genetik materyalin amplifikasyon kontrolü LAMP reaksiyon ortamına ilave edilen HNB ile çıplak gözle anlık olarak gözlenebilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yazarların, başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma MY ve SS tarafından tasarlanmış, analizler MY, AKY ve BÇ tarafından gerçekleştirilmiştir. Yazarlar makalenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okuyarak onaylamışlardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 2476 ID ve PRJ2016/267 kodlu proje ile maddi olarak destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Ayaz, N.D., Ayaz, Y., Kaplan, Y. Z., Dogru, A. K., & Aksoy, M. H. (2009). Rapid detection of *Listeria monocytogenes*, in chicken carcasses by IMS-PCR. *Annals of Microbiology*, 59(4), 741e744.

Brescia, P. (2012). Micro-volume purity assessment of nucleic acids using A260/A280 ratio and spectral scanning. BioTek Instruments, Winooski, VT, Tech. Rep. AN060112-12, Rev, 06-04.

da Costa, A. , de Lira Nunes, M. , Mendes-Marques, C. , de Almeida, A. and Leal, N. (2014) Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for the Detection of *Listeria monocytogenes* and Major Pathogenic Serotypes. *American Journal of Analytical*

Chemistry, 5, 1057-1064. doi: 10.4236/ajac.2014.516112.

Feng, J., Dai, Z., Tian, X., & Jiang, X. (2018). Detection of *Listeria monocytogenes* based on combined aptamers magnetic capture and loop-mediated isothermal amplification. *Food Control*, 85, 443-452.

Garrido-Maestu, A., Azinheiro, S., Carvalho, J., Abalde-Cela, S., Carbó-Argibay, E., Diéguez, L., vd. (2017). Combination of microfluidic loop-mediated isothermal amplification with gold nanoparticles for rapid detection of *Salmonella* spp. in food samples. *Frontiers in Microbiology*, 8:2159.

Goh, S. G., Kuan, C. H., Loo, Y. Y., Chang, W. S., Lye, Y. L., Soopna, P., ... & Son, R. (2012). *Listeria monocytogenes* in retailed raw chicken meat in Malaysia. *Poultry science*, 91(10), 2686-2690.

Goto, M., Honda, E., Ogura, A., Nomoto, A., & Hanaki, K. I. (2009). Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue. *Biotechniques*, 46(3), 167-172.

Hitchins, A.D., Jinneman, K. and Chen, Y., 2017. BAM: Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. *Bacteriological Analytical Manual*.

Jamali, H., Paydar, M., Ismail, S., Looi, C. Y., Wong, W. F., Radmehr, B., vd. (2015). Prevalence, antimicrobial susceptibility and virulotyping of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolated from open-air fish markets. *BMC Microbiology*, 15(1), 144.

Jin, Z., Ding, G., Li, G., Yang, G., Han, Y., Hao, N., ... & Li, W. (2020). Rapid detection of foodborne bacterial pathogens using visual high-throughput microfluidic chip. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 95(5), 1460-1466.

Kiddle, G., Hardinge, P., Buttigieg, N. vd. GMO detection using a bioluminescent real time reporter (BART) of loop mediated isothermal amplification (LAMP) suitable for field use. *BMC Biotechnology* 12, 15 (2012). <https://doi.org/10.1186/1472-6750-12-15>

Kreitlow, A., Becker, A., Ahmed, M., Kittler, S., Schotte, U., Plötz, M., & Abdulmawjood, A.

- (2021). Combined Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays for Rapid Detection and One-Step Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Meat Products. *Frontiers in Microbiology*, 12, 668824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.668824>
- Ledlod, S., Bunroddith, K., Areekit, S., Santiwatanakul, S., & Chansiri, K. (2020). Development of a duplex lateral flow dipstick test for the detection and differentiation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in meat products based on loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Chromatography B*, 1139, 121834.
- Lee, S. H., Ahn, J. Y., Lee, K. A., Um, H. J., Sekhon, S. S., Park, T. S., ... & Kim, Y. H. (2015). Analytical bioconjugates, aptamers, enable specific quantitative detection of *Listeria monocytogenes*. *Biosensors and Bioelectronics*, 68, 272-280.
- Mohon, A. N., Elahi, R., Khan, W. A., Haque, R., Sullivan Jr, D. J., & Alam, M. S. (2014). A new visually improved and sensitive loop mediated isothermal amplification (LAMP) for diagnosis of symptomatic falciparum malaria. *Acta Tropica*, 134, 52-57.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., vd. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), 63e69.
- Pang, B., Yao, S., Xu, K., Wang, J., Song, X., Mu, Y., ... & Li, J. (2019). A novel visual-mixed-dye for LAMP and its application in the detection of foodborne pathogens. *Analytical Biochemistry*, 574, 1-6.
- Parida, M., Sannarangaiah, S., Dash, P. K., Rao, P. V. L., & Morita, K. (2008). Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Reviews in Medical Virology*, 18(6), 407-421.
- Piskata, Z., Servusova, E., Babak, V., Nesvadbova, M., & Borilova, G. (2019). The quality of DNA isolated from processed food and feed via different extraction procedures. *Molecules*, 24(6), 1188.
- Rhoades, J. R., Duffy, G., & Koutsoumanis, K. (2009). Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. *Food Microbiology*, 26(4), 357-376.
- Sagcan, H., & Kara, N. T. (2019). Detection of Potato ring rot Pathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* by Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Scientific Reports*, 9(1), 1-8.
- Setiani, B. E., Elegado, F. B., Perez, M. T. M., Mabesa, R. C., Dizon, E. I., & Sevilla, C. C. (2015). API Listeria rapid kit for confirmatory phenotypic conventional biochemical test of the prevalence *Listeria monocytogenes* in selected meat and meat products. *Procedia Food Science*, 3, 445-452.
- Shan, X., Zhang, Y., Zhang, Z., Chen, M., Su, Y., Yuan, Y., ... & Shi, L. (2012). Rapid detection of food-borne *Listeria monocytogenes* by real-time quantitative loop-mediated isothermal amplification. *Food Science and Biotechnology*, 21(1), 101-106.
- Srisrattakarn, A., Lulitanond, A., Wilailuckana, C., Charoensri, N., Wonglakorn, L., Saenjamla, P., ... & Chanawong, A. (2017). Rapid and simple identification of carbapenemase genes, bla NDM, bla OXA-48, bla VIM, bla IMP-14 and bla KPC groups, in Gram-negative bacilli by in-house loop-mediated isothermal amplification with hydroxynaphthol blue dye. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(7), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2295-5>
- Tang, M. J., Zhou, S., Zhang, X. Y., Pu, J. H., Ge, Q. L., Tang, X. J., & Gao, Y. S. (2011). Rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* by loop-mediated isothermal amplification. *Current Microbiology* 63(6), 511-516.
- Traunsek, U., Toplak, N., Jersek, B., Lapanje, A., Majstorovic, T., & Kovac, M. (2011). Novel cost-efficient real-time PCR assays for detection and quantitation of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiological Methods*, 85, 40e46.

- Van Tongeren, S. P., Degener, J. E., & Harmsen, H. J. M. (2011). Comparison of three rapid and easy bacterial DNA extraction methods for use with quantitative real-time PCR. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 30(9), 1053-1061.
- Wang DG, Huo GC, Ren DX, Li YG (2010) Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for detecting *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Journal of Food Safety* 30:251-262.
- Wang, G., Qian, W., Zhang, X., Wang, H., Ye, K., Bai, Y., & Zhou, G. (2015). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat meat products in Nanjing, China. *Food Control*, 50, 202-208.
- Wang, L., Li, Y., Chu, J., Xu, Z., & Zhong, Q. (2012). Development and application of a simple loop-mediated isothermal amplification method on rapid detection of *Listeria monocytogenes* strains. *Molecular Biology Reports*, 39(1), 445-449.
- Wang, T., Kim, S. and An, J.H., 2017. A novel CMOS image sensor system for quantitative loop-mediated isothermal amplification assays to detect food-borne pathogens. *Journal of Microbiological Methods*, 133, 1-7.
- Wieczorek, K., & Osek, J. (2017). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiology*, 64, 164e171.
- Wu, R., Liu, X., Guo, B., Chen, F., & Wang, X. (2014). Development of double loop-mediated isothermal amplification to detect *Listeria monocytogenes* in food. *Current Microbiology*, 69(6), 839-845.
- Xiao, X. L., Zhang, L., Wu, H., Yu, Y. G., Tang, Y. Q., Liu, D. M., vd. (2014). Simultaneous detection of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*, by multiplex real-time PCR assays using high-resolution melting. *Food Analytical Methods*, 7(10), 1960e1972.
- Yan H, Zhang J, Ma D, Yin J. 2019. qPCR and loop mediated isothermal amplification for rapid detection of *Ustilago tritici*. *PeerJ* 7:e7766 <https://doi.org/10.7717/peerj.7766>
- Yamazaki W, Taguchi M, Kawai T, Kawatsu K, Sakata J, Inoue K, Misawa, N. 2009. Comparison of loop-mediated isothermal amplification assay and conventional culture methods for detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in naturally contaminated chicken meat samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(6), 1597-1603.
- Zhao X, Li Y, Wang L, You L, Xu Z, Li L, He X, Liu Y, Wang J, Yang L (2010) Development and application of a loop-mediated isothermal amplification method on rapid detection *Escherichia coli* O157 strains from food samples. *Molecular Biology Reports*, 37, 2183–2188.

SÜRK PEYNİRİNDEN İZOLE EDİLEN KÜFLERİN PCR YÖNTEMİYLE TANIMLANMASI

Yusuf Esen^{1*}, Özlem Turgay²

¹Gıda Teknolojisi Programı, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Ardahan Üniversitesi, Ardahan, Türkiye
²Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, Türkiye

Geliş / Received: 24.11.2021; Kabul / Accepted: 21.01.2022; Online baskı / Published online: 17.02.2022

Esen, Y., Turgay, Ö. (2022). Sürk peynirinden izole edilen küflerin PCR yöntemiyle tanımlanması. *GIDA* (2022) 47(1) 136-146 doi: 10.15237/gida.GD21144

Esen, Y., Turgay, Ö. (2022). Identification of molds isolated from sürk cheese by PCR method. *GIDA* (2022) 47(1) 136-146 doi: 10.15237/gida.GD21144

ÖZ

Bu çalışmada olgunlaşmış Sürk peyniri örneklerinde baskın olan küf mikrobiyotasının büyük ölçüde tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada analizleri yapılan Sürk örnekleri, Hatay-Antakya piyasasındaki 36 farklı iş yerinden tesadüfi olarak temin edilmiştir. Olgunlaşmış Sürklerden izole edilen küflerdeki ITS bölgesinden faydalanılarak tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Örneklerden elde edilen 67 izolatin genetik identifikasyonu sonucunda 9 farklı tür tanımlanmıştır. Bu küf türleri Sürk örneklerindeki baskınlık oranlarına göre sırasıyla *Penicillium commune* (%55.5), *Alternaria alternata* (%33.3), *Cladosporium cladosporioides* (%30.5), *Epicoccum nigrum* (%16,6), *Aspergillus flavus* (%16,6), *Penicillium chrysogenum* (%13.8), *Aspergillus niger* var. *awamori* (%11.1), *Phoma sojaicola* (%8,3) ve *Bipolaris tetramera* (%2.7)'dir. Bu çalışma, olgunlaşmış Sürk peynirinin küf mikrobiyotasının genetik olarak tanımlandığı ilk çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Olgunlaşmış Sürk peyniri, küf, mikrobiyota, PCR.

IDENTIFICATION OF MOLDS ISOLATED FROM SÜRK CHEESE BY PCR METHOD

ABSTRACT

In this study, a large-scale identification of the predominant mold microbiota in ripened Surk samples was achieved. Surk cheese samples analyzed in the study were obtained randomly from 36 different cheese shops in the Hatay-Antakya market. Identifications were carried out using the ITS region in the molds isolated from ripened Surks. As a result of the genetic identification of 67 isolates obtained from the samples, 9 different strains were identified. According to the dominance rates of these mold strains in Surk samples, *Penicillium commune* (55.5%), *Alternaria alternata* (33.3%), *Cladosporium cladosporioides* (30.5%), *Epicoccum nigrum* (16.6%), *Aspergillus flavus* (16.6%), *Penicillium chrysogenum* (13.8%), *Aspergillus niger* var. *awamori* (11.1%), *Phoma sojaicola* (8.3%) and *Bipolaris tetramera* (2.7%). This is the first study in which the mold microbiota of ripened Surk cheese has been genetically identified.

Keywords: Ripened Surk cheese, mold, microbiota, PCR.

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yusufesen@ardahan.edu.tr

☎ (+90) 478 211 7575

☎ (+90) 478 211 7544

Yusuf Esen; ORCID no: 0000-0003-1173-0677

Özlem Turgay; ORCID no: 0000-0003-2286-833X

GİRİŞ

Sürk, Arapça'da çökelek anlamına gelmektedir. Mahreç işaretinde belirtildiği üzere, üretimde kullanılacak çökeleğin elde edilebilmesi için öncelikle süttten yoğurt üretilmesi gerekmektedir. Daha sonra üretilen yoğurt 1-2 gün oda sıcaklığında (23-25 °C) ekşitilir. Ardından yoğurda 1:1 oranında su ilave edilerek ayran yapılır. Elde edilen ayran çalkalanır ve yayık üzerinde kalan yağ üstten alınır. Altta ki yağsız ayran kaynatılır ve soğuduktan sonra tülbent ile süzülür. Bu işlemle elde edilen çökelek, Sürk peyniri üretiminde kullanılmaktadır. Bir süt ürünü olan Sürk peynirinin üretimi, çökeleğe belirli baharatların eklenmesi, yoğurma, şekillendirme ve olgunlaştırma aşamalarından oluşmaktadır. Sürk peyniri yapımında kullanılan baharat karışımında belirli oranlarda kekik, yenibahar, karanfil, mahlep, hindistan cevizi, kimyon, tarçın, zencefil, fesleğen, rezene, çörek otu, pul biber ve kişniş bulunmaktadır. Bunlara ek olarak tuz ve sarımsak da eklenebilmektedir. Konik olarak hazırlanan Sürk peyniri karışımı taze tüketilmekte veya isteğe göre 1-6 ay olgunlaştırılarak tüketilmektedir (Anonymous, 2018; Güler, 1999).

Sürk peyniri, özellikle Hatay'da ve Türkiye'nin Doğu Akdeniz bölgesinde, Suriye'de, Lübnan'da ve tüm Orta Doğu'da bilinmekte ve tüketilmekte olan bir süt ürünüdür. Fakat Türkiye dışındaki coğrafyalarda farklı isimlerle anılmaktadır. Ülke ve bölgeye bağlı olarak shanklish, shinklish, shankleesh veya sorke isimleriyle bilinmektedir (Addas, 2013; Serhan ve Mattar, 2013; Toufeili vd., 1995). Bahsi geçen coğrafyaların yanı sıra Lübnanlı göçmenler sayesinde (Lübnan sivil savaşı sebebiyle göçenler) Arjantin'in Corrientes bölgesinde de bilinen bir süt ürünü haline gelmiştir (Patino vd., 1999). Ayrıca 2018 yılı başlarında Türk Patent Enstitüsü tarafından Sürk peynirine coğrafi işaret verilmiştir (Anonymous, 2018).

Küfler her türlü gıdada üreyebildikleri gibi birçok peynir de doğal olarak gelişmekte ya da özellikle geliştirilmektedirler. Türkiye'de ve dünyanın çoğu ülkesinde peynirlerde geliştirilen küfler vasıtasıyla olgunlaştırılan küflü peynir çeşitleri bulunmaktadır. Rokfor, Çedar ve Parmesan

peynirleri ile Konya küflü peyniri, Erzurum göğermiş peyniri, Kars gravyer peyniri ve Divle tulum peyniri bunlardan en çok bilinenleridir. Ancak küf gelişimi, çürüme, toksinler, kötü tatlar, renk bozulması şeklinde ortaya çıkabilen çok farklı çeşitlerde bozulmalara da sebep olabilmektedirler (Erdogan vd., 2003).

Fakat bu olumsuzluklara rağmen küfler peynir mikrobiyotasının önemli bir parçası olarak her zaman karşımıza çıkmaktadır. Küflerin peynir üretiminde birincil starter olarak kullanılmasından ziyade ikincil starter kültür olarak kullanıldığı bilinmektedir (Cantor vd., 2017). Geleneksel metotlarla üretilen birçok peynir çeşidinde uzun olgunlaşma sürelerinden ötürü ürünlerin yüzeyinde küfler gelişmektedir. Küflerin ürettiği enzimlerin, proteoliz yetenekleri sayesinde aroma gelişimine büyük fayda sağlamalarından ve peynir kalitesini arttırmalarından ötürü, küf gelişimi olgunlaşmış peynirlerde istenen bir durumdur. Fakat olgunlaştırma periyodu boyunca nem, pH, sıcaklık gibi ortam şartlarının kontrolsüz olması mikotoksin üretebilen küflerin de gelişmesine sebep olabilmektedir. Bu nedenle peynirlerin olgunlaştırıldığı ortam koşullarının kontrol altında tutulması oldukça önem arz etmektedir (Cantor vd., 2017; Delgado vd., 2016). Aroma ve tekstürle ilgili faydalarının yanında, bazı küfler antifungal karakteristiklere sahip peptidler ve proteinler (Anti Fungal Protein-AFP) üretebilmektedirler. Bu sayede mikotoksin üretme yeteneği olan küflerin ve istenmeyen bazı mayaların gelişiminin inhibisyonu açısından biyokontrol imkânı sağlamaktadırlar (Hegedüs ve Marx, 2013).

Bu çalışmada, Hatay-Antakya piyasasından temin edilen Sürk peyniri örneklerinin baskın küf mikrobiyotasının tanımlanması amacıyla kültürel yöntemlerle birlikte PCR metodu kullanılmıştır. Bu amaçla önce Sürk peyniri örneklerinden alınan numunelerin küf yükleri PDA ve MEA besiyerleri kullanılarak belirlenmiştir. Daha sonra morfolojik olarak farklı olan tüm küf kolonileri saflaştırılmış ve bu kolonilerden DNA izolasyonları yapılmıştır. Son olarak elde edilen DNA izolatları ITS primerleri kullanılarak PCR, elektroforez jelde yürütme ve sekans analizine tabi tutulmuştur. Elde edilen gen dizileri BLAST algoritması

kullanılarak değerlendirilmiş ve tanımlamalar yapılmıştır. Bu çalışma Sürk'te bulunan küf mikrobiyotasının belirlenmesi amacıyla yapılmış olan ilk araştırmadır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan 36 adet Sürk peyniri örneği, Hatay-Antakya piyasasından temin edilmiştir. Örnekler satış noktalarından piyasaya sunulduğu şekilde alınarak steril poşetler içerisinde ve soğutuculu termosla laboratuvara getirilmiştir. Analizler gerçekleştirilene kadar ve tüm çalışma boyunca Sürk peyniri örnekleri +4°C de buzdolabında bekletilmiştir.

Yöntem

Küf mikrobiyotasının identifikasyonu

Örneklerin Analize Hazırlanması

Örneklerin tanımlamaya hazırlanmasında kullanılan yöntem seyreltme plaka tekniğidir. Dilüsyonlar diğer mikrobiyolojik analizlere göre hazırlanmış olsa da küf sporları çok kolay dibe çöktükleri için ekim mümkün olduğu kadar kısa sürede yapılmıştır (Yoltaş, 2007). Analizler Sürk peyniri örneklerinin dış ve iç kısımlarından eşit miktarda karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Dış kısımlarda yoğun küflenme gözlemlendiğinden ve tüm farklı morfolojiye sahip koloniler saflaştırıldığından dolayı örnekleme bu şekilde yapılmıştır.

Piyasadan temin edilen Sürk peyniri örneklerinin her birinden 10 g alınarak aseptik koşullar altında 90 ml steril Tween 80'li %0.85'lik NaCl çözeltisi içerisinde alınarak 1/10 oranında seyreltilmiştir. Bu halde 1-2 saat bekletildikten sonra homojenizasyon için çalkalayıcıda 30 d çalkalanarak, 9'ar ml steril %0.85'lik NaCl çözeltisi ile 10⁻²-10⁻⁶'lık dilüsyonlar hazırlanmış ve 10⁻⁴, 10⁻⁵ ve 10⁻⁶'lık seyreltmelerden paralellik olacak şekilde steril standart petri kaplarına 1'er ml dökme ekim yöntemi ile ekim yapılmıştır. Genel fungal floranın belirlenmesi için RBCA (Rose Bengal Chloramphenicol Agar) besiyeri, ozmofilik türlerin belirlenmesi için ise MEA+%40 sakkaroz (Malt Extract Agar) ortamları kullanılmıştır. Dört günlük inkübasyondan sonra petrielerde oluşan küf

kolonileri makromorfolojik farklılıklarına göre izole edilmişlerdir. Bu işlem sonrasında ise küflerin tanımlanmasına geçilmiştir (Anonymous, 2012).

İzolatların Tanınması

İzole edilen küfler ilk önce cins düzeyinde tayinlerinin, yapılabilmesi için MEA ve PDA ortamlarına inoküle edilmişlerdir. 25°C'de 5-7 gün inkübasyondan sonra koloniler makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmiş ve cins düzeyinde tanımlanmışlardır (Domsch vd., 1995; Hasenekoğlu, 1991; Klich, 2002; Pitt, 2000).

DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu amacıyla Doyle ve Doyle (1987) tarafından tavsiye edilen CTAB (cetyltrimethyl amonium bromide) Metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. İlk olarak 1.5 mL'lik tüplere kolonilerden örnekler aktarılmıştır. Üzerlerine 500 µL CTAB Buffer eklendikten sonra 2 d boyunca vortex karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. Daha sonra 30 dakikada bir karıştırılmak üzere 65°C'lik su banyosunda 1,5 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra tüplere 233 µL izopropanol ilave edilerek 65°C'lik su banyosunda 15 d bekletilmiştir. Bu süre sonunda 1 d boyunca ters düz edilerek karıştırılmıştır. Karıştırılan tüpler, 500 µL kloroform:izoamil alkol (24:1) ilavesinden sonra tekrar 65°C'lik su banyosunda 5 d bekletilmiştir. Tüpler bekletildikten sonra 14000 devir/d'da 5 d boyunca santrifüj edilmişlerdir. Bu işlem sonrasında her bir tüpteki süpernatantın 500 µL'si dikkatlice alınarak içerisinde 400 µL izopropanol bulunan 1,5 mL'lik tüplere aktarılmıştır. Çalkalanarak iyice karıştırılan tüpler 14000 devir/d'da 5 d boyunca santrifüj edilmişlerdir. İzolasyonun son aşamasında elde edilen süpernatant tamamen uzaklaştırılarak kalan katı kısmın üzerine %70'lik soğutulmuş etanol eklenmiştir. Tüpler 70°C'lik su banyosunda 10 d bekletildikten sonra 14000 devir/d'da 5 d boyunca santrifüj edilmişlerdir. Santrifüjden sonra katı kısımdan kayıp olmamasına özen gösterilerek süpernatant uzaklaştırılmış ve eser miktarda da olsa kalan etanolün uçması için 70°C'lik su banyosunda 5 d bekletilmiştir. Kurutulan örnek 40 µL steril saf su ile süspanse edilmiş ve PCR

(Polymerase Chain Reaction) için kullanıma hazır hale getirilmiştir.

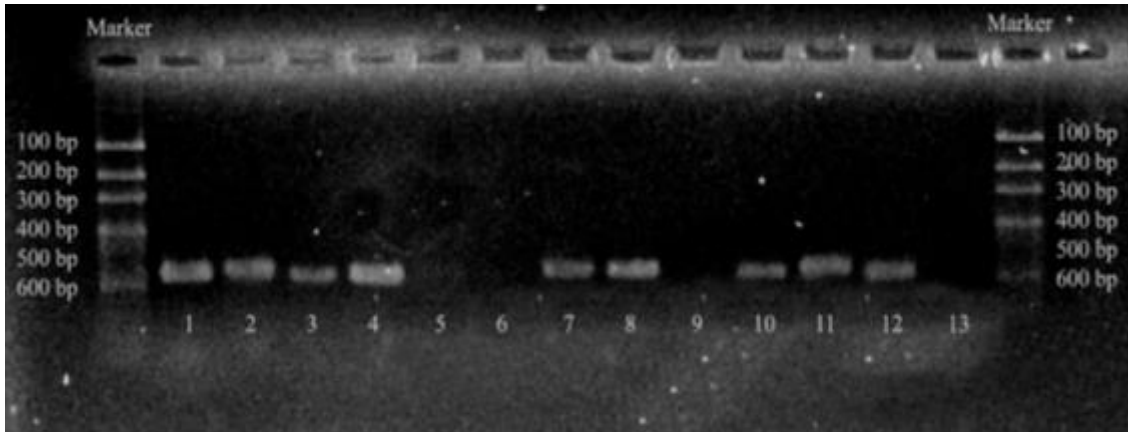
İzolatların Genetik Tanısı

İzole edilen küflerin genetik tanısı, Internal Transcribed Spacer (ITS) bölgesi hedef alınarak gerçekleştirilmiştir. Bölgeye özgü birçok primer bulunmakla beraber en çok kullanılan ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) ve ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) tercih edilmiştir. PCR karışımı 15 µL master mix (Qiagen) 0,5 µL ITS1 (ileri) 0,5 µL ITS4 (geri) 3 µL kalıp DNA ve 11 µL su kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler, 95°C'de 15 d ilk denatürasyon, bunu takiben 35 döngü olacak şekilde 96°C'de 30 sn denatürasyon, 50°C'de 15 sn bağlanma ve 68°C'de 120 sn uzama basamakları ve son olarak 72°C'de 10 d uzama basamağından oluşacak şekilde programlanan PCR thermocycler cihazına (FAVORGEN Peltier Based Thermal Cycler, Model FAPCR 96G) yerleştirilmiştir. Seçilmiş olan programla hedef bölgenin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (White vd., 1990). PCR işlemi sonucu elde edilen

ürün agaroz (Sigma Aldrich) jelde yürütülerek (Thermo Scientific OWL B3) (120 V, 50 mA, 150 d) UV ışık altında kontrol edilmiştir. Yapılan işlemler sonucunda hedeflenen 600 baz çifti uzunluktaki bölgenin amplifiye edilip edilmediği belirlenmiştir. Elde edilen ampliconlar saflaştırılarak sekans analizine tabi tutulmuştur. DNA sekanslama işlemi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Üniversite Sanayi Kamu İşbirliği Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÜSKİM) Laboratuvarında, hizmet alımı ile ABI 3130 XL genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sekans sonuçları BLAST (BLAST, 2021) algoritması kullanılarak değerlendirilmiştir (Belén Flórez vd., 2007).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Gerçekleştirilen PCR ve agaroz jelde yürütme işlemlerinin ardından 600 baz çifti uzunlukta görülen bantlara ait örnekler sekans analizine tabi tutulmuştur. Marker eşliğinde yürütülen identifikasyona yönelik PCR ürünlerinin jel görüntüleri Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Sürk peyniri örneklerinden izole edilen küflere ait DNA'ların agaroz jel görüntüsü.

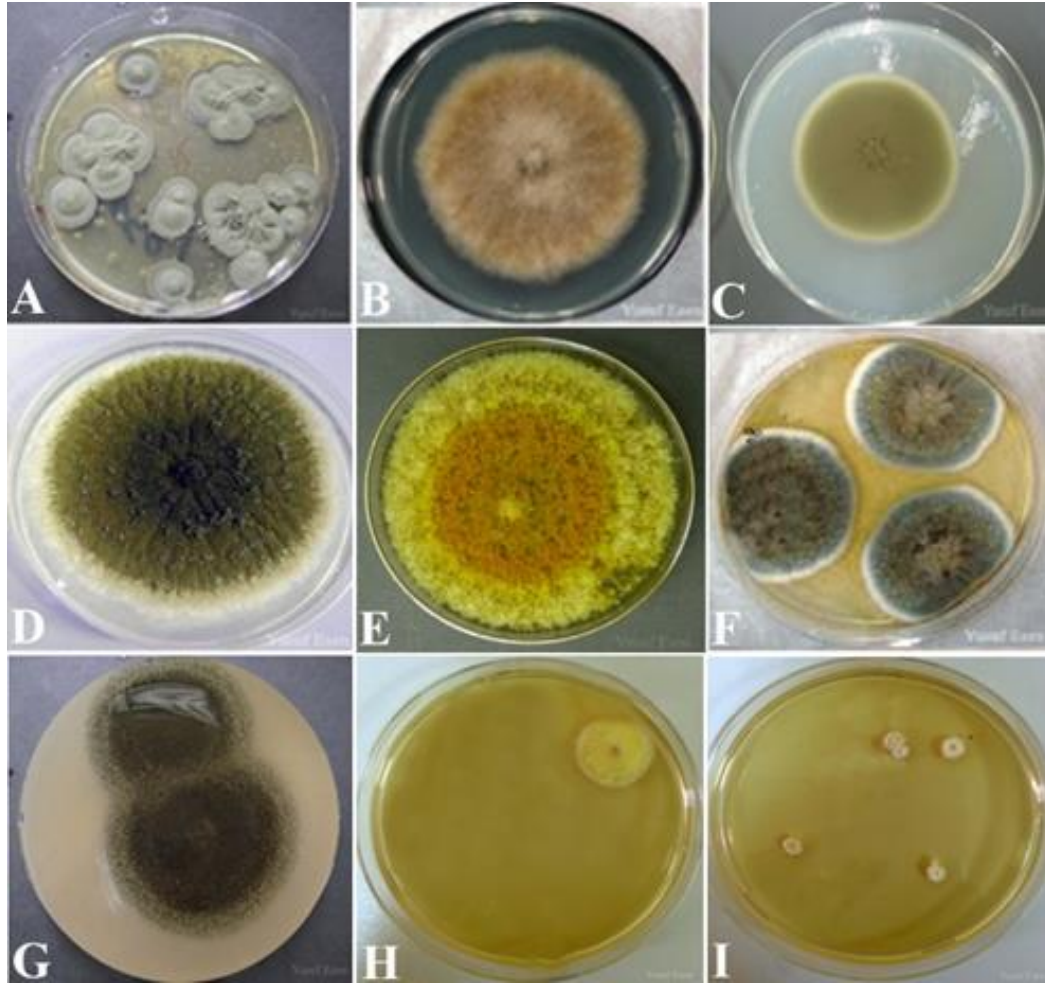
Figure 1. Agarose gel image of the DNA of molds isolated from Sürk cheese samples.

Sekans analizleri sonucunda elde edilen gen dizileri Clone Manager Professional Edition (Scientific & Educational Software) programı yardımıyla düzenlenmiştir. Düzenlenen gen dizilerinin, BLAST (BLAST, 2021) algoritması kullanılarak hangi mikroorganizmaya ait oldukları tür düzeyinde tespit edilmiştir.

Piyasadan temin edilen 36 adet Sürk peyniri örneğinden toplam 67 adet küf izolati elde edilmiştir. Örneklerden elde edilen izolatlarda en fazla bulunan küf türü *Penicillium commune* olarak tanımlanmıştır. En az bulunan küf türü ise tek bir örnekten izole edilen *Bipolaris tetramera* olmuştur.

P. commune, peynirlerde en fazla bozulmaya sebep olan küf türlerinin başında gelmektedir (Taniwaki vd., 2001). Peynir ve diğer süt ürünlerinin üretiminde en çok karşılaşılan problemlerden biri olduğu bildirilmiştir (Lund vd., 2003). Fakat çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre olgunlaştırılarak tüketilen Sürk peynirlerinde baskın (%55.5) olarak bulunan küf türü olduğu söylenebilir. Çakmakçı vd. (2010) ve Hayaloglu ve Kırbag (2007)'ın benzer ürünlerde gerçekleştirmiş oldukları küf tanımlama işlemleri sonucunda *P.*

*commune*ye rastlandığı görülmektedir. *P. commune*, roquefortin ve siklopiazonik asit gibi toksinleri üreten bir tür olmasına rağmen bu toksinleri üretebilmek için bazı optimum şartlara ihtiyaç duymaktadır (Pitt vd., 1986). Bu çalışmada mikotoksin profili incelenmediğinden tanımlanan *P. commune* türünün mikotoksin üretilip üretilmediği bilinmemektedir. *P. commune* suşuna ait MEA'daki (25°C-5 gün) koloni morfolojisi Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. A: *P. commune*, B: *A. alternata*, C: *C. cladosporioides*, D: *A. flavus*, E: *E. nigrum*, F: *P. chrysogenum*, G: *A. niger* var. *awamori*, H: *P. sojicola*, I: *B. tetramera* suşlarının MEA ve PDA besiyerlerindeki koloni morfolojileri (25°C'de 5 gün).

Figure 2. Colony morphology of A: *P. commune*, B: *A. alternata*, C: *C. cladosporioides*, D: *A. flavus*, E: *E. nigrum*, F: *P. chrysogenum*, G: *A. niger* var. *awamori*, H: *P. sojicola*, I: *B. tetramera* strains on MEA and PDA media (5 days at 25°C)

Alternaria alternata, *P. commune*'den sonra Sürk peynirlerinden en fazla örnekten izole edilen küf türüdür (%33.3). Bir bitki patojeni olup genellikle domateste lekelenmeyle sonuçlanan bazı bitki hastalıklarına sebep olduğu bilinmektedir (Solfrizzo vd., 2005). Daha önce peynir türleriyle ilgili yapılan küf izolasyonu çalışmalarında bu türe hiç rastlanmadığı görülmüştür. Ancak Sürk peynirleriyle ilgili küf tanımlamaya yönelik daha önce yapılmış bir çalışma olmadığından, bu türün varlık sebebi ile ilgili kesin bir kanıya varılamamıştır. Ancak bitkisel kaynaklı olduğu belirtilen bu türün Sürk peyniri bileşimine giren baharat benzeri bitkisel katkı maddelerinden kontamine olduğu düşünülebilir. Youssef vd., (2021)'nin gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada, *A. alternata* tarafından üretilen alternariol monomethyl ether (AME), alternariol (AOH) toksinlerinin insanlarda kansere yakalanma konusunda, özellikle de özafagus (yutak) kanseri açısından çok önemli rol oynadığı ortaya koyulmuştur. *A. alternata*'nın MEA'daki (25°C-5 gün) koloni morfolojisi Şekil 2'de verilmiştir.

Örneklerden elde edilmiş olan izolatlar arasında tanımlanan bir başka küf türü ise *Cladosporium cladosporioides*'tir. Sürk peyniri örneklerinin %30,5'inde bu küf türüne rastlanmıştır. *C. cladosporioides*, bitkilerde hastalığa sebep olan bir küf türüdür (Wang vd., 2013). Bu nedenle örneklere yine baharatlar vasıtasıyla kontamine olmuş olabileceği düşünülmektedir. Bu türün daha önce herhangi bir süt ürünüde bulunduğu dair bir literatür bilgisine rastlanmamıştır. Ancak Sert (1992)'in Erzincan taze tulum peyniri, taze beyaz, taze Civil ve kaşar peynirlerinde gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada aynı cinse ait *C. herbarum* türü tanımlanmıştır.

Bunun yanı sıra, Hayaloglu ve Kirbag (2007) küflü peynirler üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada *Cladosporium* cinsine ait küflerin tanımlandığını bildirmişlerdir. *C. cladosporioides* türü küfler, kalfostinler olarak bilinen ve protein kinaz C enzimini inhibe eden bir dizi metabolit üretmektedirler. Protein kinaz C enzimi hücre içi veya hücreler arası sinyal transdüksiyonunda önemli rolü olan bir enzimdir (Kobayashi vd., 2012; Salvatore vd., 2021). Bu enzimin düzgün

çalışmaması diyabet, ateroskleroz, otoimmünite, kanser gibi hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Basu vd., 2020). Dolayısıyla bu küf türünün örnekler içerisinde toksin oluşturabilecek ortamı bulmuş olma ihtimalinin oldukça kötü sonuçlar doğurabileceği görülmektedir. *C. cladosporioides*'in PDA'daki (25°C-5 gün) koloni morfolojisi Şekil 2'de gösterilmiştir.

Epicoecum nigrum ve *Aspergillus flavus* türleri ise Sürk peyniri örnekleri içerisinde eşit oranda (%16.6) tanımlanmışlardır. *E. nigrum* da bir bitki patojenidir (Larena vd., 2005). *S. aureus* suşlarına karşı antibiyotik aktivite gösterdiği bilinen ve epikorazin A-B gibi bazı antibiyotikler üreten bu türün literatürde insan sağlığını olumsuz etkileyecek bir aktivitesine rastlanmamıştır (Fávaro vd., 2012). *A. flavus* ise saprofit ve hastalık yapan bir küf türü olmakla birlikte dünyanın her yerinde hemen her üründen izole edilebilmektedir (Bignell, 2010). Spesifik olarak izole edildiği ürünler ise tahıllar, kuru baklagiller ve baharatlardır (Ramírez-Camejo vd., 2012). Fakat sağlıklı şartlarda üretilip saklanmayan birçok ürüne olduğu gibi Sürk peynirine de kontamine olması, beklenen bir durumdur. *A. flavus* yüksek patojeniteye sahip aflatoksin çeşitlerini üretebilen bir küf türüdür. Ayrıca sterigmatosistin, siklopiazonik asit, kojik asit, β -nitropropionik asit, aspartoksin, aflatrem, [gliotoksin](#), ve aspergilk asit gibi toksinlerin de üretimini üstlenen bu tür, bahsi geçen toksinlerin birikimlerinden kaynaklanan hastalıklardan dolayı oldukça tehlikeli patojenler sınıfına girmektedir (Hedayati vd., 2007). Ancak daha önce de belirtildiği gibi tanımlanan *A. flavus* suşlarının Sürk peyniri içerisinde toksin üretebilecek ortamı bulup bulamadıkları araştırılmadığından bu ürünün tüketimi konusunda kesin bir yargıya varılamamaktadır. *A. flavus* ve *E. nigrum*'un PDA'daki (25°C-5gün) koloni morfolojisi Şekil 2'de verilmiştir.

Sürk peynirlerinden izole edilen küfler arasında, bulunma oranı %13.8 olarak tespit edilen *Penicillium chrysogenum*, ılıman ve subtropikal iklimte sahip bölgelerde üretilen ve tüketilen tuzlu gıda ürünlerinde yaygın olarak bulunan bir küf türüdür (Samson vd., 2010). Ayrıca kapalı ortamlardan da

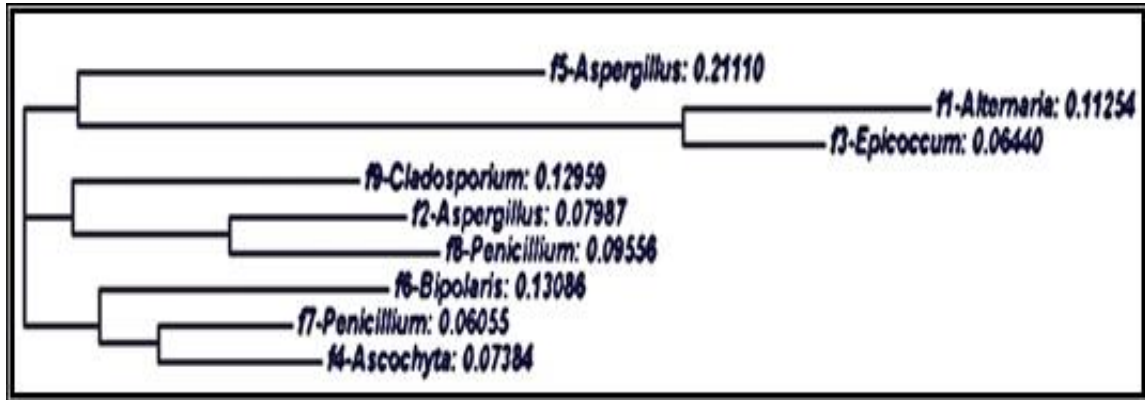
sıklıkla izole edilebilen bir küf türü olduğu bilinmektedir (Andersen vd., 2011). Özkalp (1992)'in Konya küflü peynirinde gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada *P. chrysogenum* türüne ait küflerin %4.73 oranında izole edildiği bildirilmiştir. *Penicillium* cinsine ait bu türün nadiren insan sağlığına zarar verdiği hatta penisilin gibi bazı antibiyotiklerin devamlı üreticisi olduğu tespit edilmiştir. Bunların yanı sıra düşük de olsa toksik etkisi olan rokfordin C, meleagrin, chrysogine, xantocillin, sekalonik asit, sorrentanon, sorbisilin ve PR-toksin gibi kimyalları da ürettiği *P. chrysogenum* hakkında yapılmış çalışmalar sonucu elde edilen bilgilerden (de Hoog, vd., 2000). Literatür taraması sonucu elde edilen bilgiler ışığında bu küf türünün Sürk peynirinde bulunmasının olumlu sonuçlar doğurabileceği söylenebilir. *P. chrysogenum*' un MEA'daki (25°C-5 gün) koloni morfolojisi Şekil 2'de verilmiştir.

Aspergillus niger var. *avamori*, Sürk peyniri örneklerinin %11.1'inde tespit edilmiştir. Sert (1992)'in Erzincan'ın taze tulum peynirleri ile Erzurum'un taze beyaz ve Cıvil peynirleri üzerinde gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada *A. niger* suşlarının 136 izolattan 1 tanesinde tanımlandığı bilinmektedir. Bu küf türü, bitkilerde siyah küf olarak bilinen bir hastalığa neden olmaktadır (Klich, 2002; Samson vd., 2004). İnsanlarda ise diğer *Aspergillus* türleri kadar olmamakla birlikte, hastalıklara neden olduğu ancak vücuda çok fazla spor alınması durumunda

ölümcül olabileceği bildirilmiştir (Varga vd., 2007). *A. niger* var. *avamori*'nin PDA'daki (25°C-5 gün) koloni morfolojisi Şekil 2'de gösterilmiştir.

Sürk peyniri örneklerinden en az oranda izole edilen küf türleri ise *Phoma sojicola* (%8.3) ve *Bipolaris tetramera* (%2.7) olmuştur. Nadiren de olsa bitkiler üzerinde, özellikle de soya fasulyesinde patojenite gösteren bir küf olan *P. sojicola* (*Ascochyta sojicola*) bu etkiyi gösterdiği bitkiler için sıklıkla öldürücü özellik göstermektedir (Kövics vd., 2014). *B. tetramera* türünün de çok önemli bir bitki patojeni olduğu bildirilmektedir (Manamgoda vd., 2012). Uygun ortam ve sıcaklıklarda lipofilik bir toksin olan 6-klorodehidrokurvularin üreten *B. tetramera* (*Cochliobolus spicifer*), birincil metabolit olarak fitotoksik etkisi olduğu bilinen kurvularin üretmektedir (Dai vd., 2010). Ayrıca bitkilerin gelişmesini destekleyen spiciferinin maddesini de üreten bir küf türü olduğu bildirilmektedir (Bender vd., 2009). Bu her iki küf türünün de peynirlerden veya Sürk peyniri benzeri çökelek ürünlerinden daha önce izole edildiğine dair bir bilgiye rastlanmamıştır. *P. sojicola*'nın (25°C-5 gün) ve *B. tetramera*'nın PDA'daki (25°C-3 gün) koloni morfolojisi Şekil 2'de verilmiştir.

Tanımlanan küf türleri arasındaki evrimsel ilişkiyi göstermesi amacıyla Clustal (2021) programı kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu filogenetik ağaç Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Tanımlanan türler arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren filogenetik ağaç.
Figure 3. Phylogenetic tree showing the evolutionary relationship between the identified species.

SONUÇ

Bu çalışmada, Hatay-Antakya piyasasından temin edilen 36 adet Sürk peyniri örneğinden elde edilen 67 adet küf izolatının genetik identifikasyonu yapılarak sonuçlar literatürden elde edilen bilgiler ışığında değerlendirilmiştir. Sürk peynirlerinde en fazla bulunan küf türünün *Penicillium commune* olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen tüm küf türleri cins bazında değerlendirildiğinde *Penicillium* cinsine ait türlerin baskın olduğu görülmektedir. Bitki patojeni oldukları bilinen küflerin, Sürk peynirlerinin bileşimindeki baharat ve otlardan kontamine olduğu düşünülmektedir. İdentifikasyonu yapılan küflerden, gıda güvenliği açısından potansiyel olarak olumsuz etki gösterebilecek türler *Aspergillus flavus*, *A. niger* var. *awamori* ve *Cladosporium cladosporioides* olarak belirlenmiştir. Ayrıca *Epicocum nigrum* ve *Penicillium chrysogenum* türlerinin antibiyotik metabolit üretme ihtimalleri sayesinde gelecekte yapılacak çalışmalarda olumlu yönde kullanılabilecekleri anlaşılmaktadır. Küf mikrobiyotasının çeşitliliği, ürünlerin potansiyel olarak mikotoksin içerebileceğini düşündürmektedir. Bu durumdan dolayı Sürk peynirinin mikotoksin profilinin geniş çaplı bir çalışmayla ortaya koyulması gerekmektedir. Henüz olgunlaştırılmış Sürk peynirlerinin, Aflatoxin M1 dışında mikotoksin içerikleri ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmadığından, tüketilebilirlikleri ile ilgili kesin bir yargıya varılamamaktadır. Fakat *A. alternata* ve *A. flavus* gibi kuvvetli toksin üreticisi olan küf türlerinin varlığından dolayı Sürk peynirinin halk sağlığı açısından dikkatlice incelenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 2013/2-1 YLS numaralı proje ile maddi olarak destekleyen Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürlerimizi sunarız.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yer alan yazarların ve kurumların arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Bu çalışmanın danışmanlığı Özlem TURGAY tarafından yürütülmüş, planlamalar Özlem

TURGAY ve Yusuf ESEN tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın laboratuvar analizleri Yusuf Esen tarafından yapılmıştır. Yazarlar makale yazımına katkıda bulunmuş ve Özlem TURGAY son halini inceleyerek onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Addas, M. (2013). Syrian Shanklish and Its Quality. Master Dissertation, Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Hania, Greek, 51 p.

Andersen, B., Frisvad, J. C., Søndergaard, I., Rasmussen, I. S., Larsen, L. S. (2011). Associations between Fungal Species and Water-Damaged Building Materials. *Appl Environ Microbiol* 77(12), 4180–4188, doi: 10.1128/aem.02513-10

Anonymous. (2018). Antakya Küflü Sürk'ü (Çökeleği) Mahreç İşareti Mahreç No: 359. Turkish Patent and Trademark Office. Ankara. <https://www.ci.gov.tr/Files/GeographicalSigns/359.pdf>

Anonymous. (2012). TS ISO 21527-1:2008 Food and animal feed microbiology - horizontal method for counting yeast and molds. Turkish Standards Institution, Ankara

Basu, S., González, B., Li, B., Kimble, G., Kozminski, K. G., Cullen, P. J. (2020). Functions for Cdc42p BEM adaptors in regulating a differentiation-type MAP kinase pathway. *Mol Biol Cell* 31(6), 491–510. doi: 10.1091/mbc.E19-08-0441

Belén Flórez, A., Álvarez-Martín, P., López-Díaz, T. M., Mayo, B. (2007). Morphotypic and molecular identification of filamentous fungi from Spanish blue-veined Cabrales cheese, and typing of *Penicillium roqueforti* and *Geotrichum candidum* isolates. *Int Dairy J* 17(4), 350-357. doi: 10.1016/j.idairyj.2006.04.002.

Bender, C. F., Yoshimoto, F. K., Paradise, C. L., Brabander, J. K. De. (2009). A Concise Synthesis of Berkelic Acid Inspired by Combining the Natural Products Spiciferin and Pulvilloric Acid. *J Am Chem Soc* 131(32), 11350–11352. doi: 10.1021/ja905387r.

- Bignell, E. (2010). *Aspergillus*: Molecular Biology and Genomics. By Masayuki Machida and Katsuya Gomi (Eds.). *Biotechnology J* 5(3), 336–337. doi: 10.1002/biot.201000025.
- BLAST. (2021). BLAST Program. https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome (Erişim tarihi: 15 Kasım 2021)
- Çakmakçı, S., Dağdemir, E., Gürses, M., Çetin, B., Hayaloglu, A. A. (2010). Küflü Civil Peynir Üretimi için Bazı Küflerin İzolasyonu, Tanımlanması, Peynir Üretiminde Kullanılması ve Üretilen Peynirlerin Karakterizasyonu. Tübitak Projesi Sonuç Raporu, Proje No: TOVAG 108O509, Erzurum.
- Cantor, M. D., van den Tempel, T., Hansen, T. K., Ardö, Y. (2017). Blue Cheese. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Fourth Edition*, McSweeney, P., L., H., (Chief ed.), Academic Press, UK, pp. 929–954.
- Clustal. (2021). Clustal W Program. <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/> (Erişim tarihi: 11 Kasım 2021).
- Dai, J., Krohn, K., Flörke, U., Pescitelli, G., Kerti, G., Papp, T., Kurtán, T. (2010). Curvularin-Type Metabolites from the Fungus *Curvularia* sp. Isolated from a Marine Alga. *Eur. J. Org. Chem* 2010(36), 6928–6937. doi: 10.1002/ejoc.201001237.
- de Hoog, G. S., Guarro, J., Gene, J., Figueras, M. J., Elgart, M. L., (2000). *Atlas of Clinical Fungi*. Centraalbureauvoor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands, 1126 p.
- Delgado, J., Peromingo, B., Núñez, F., Asensio, M. A. (2016). Use of molds and their antifungal proteins for biocontrol of toxigenic molds on dry-ripened cheese and meats. *Curr. Opin. Food Sci.* 11, 40–45.
- Domsch, K. H., Gams, W., Anderson, T. H. (1995). *Compendium of Soil Fungi*, Academic Press, (Vol 1-2) London, UK, 859 p.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19(1), 11–15.
- Erdogan, A., Gurses, M., Sert, S. (2003). Isolation of moulds capable of producing mycotoxins from blue mouldy Tulum cheeses produced in Turkey. *Int J Food Microbiol* 85(1–2), 83–85.
- Fávaro, L. C. de L., Sebastianes, F. L. de S., Araújo, W. L. (2012). *Epicoccum nigrum* P16, a Sugarcane Endophyte, Produces Antifungal Compounds and Induces Root Growth. *PLoS ONE* 7(6), e36826.
- Güler, M. B. (1999). Some studies on the production, the properties and the possibilities of sürk (mouldy coekelek) and carra (pottery) cheese in Hatay region. PhD Dissertation, Çukurova University Institute of Science Food Engineering Department, Adana, Turkey, 160 p.
- Hasenekoğlu, İ. (1991). *Toprak Mikrofungusları* (7. baskı). Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 421 s.
- Hayaloglu, A. A., Kirbag, S. (2007). Microbial quality and presence of moulds in Kufly cheese. *Int J Food Microbiol* 115(3), 376–380.
- Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P., Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology* 153(6), 1677–1692.
- Hegedüs, N., Marx, F. (2013). Antifungal proteins: More than antimicrobials?. *Fungal Biol. Rev.* 26(4), 132–145.
- Klich, M. A. (2002). *Identification of Common Aspergillus Species*. Centraal Bureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands, 116 p.
- Kobayashi, E., Ando, K., Nakano, H., Iida, T., Ohno, H., Morimoto, M., Tamaoki, T. (1989). Calphostins (UCN-1028), novel and specific inhibitors of protein kinase C. I. Fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological activities. *J. Antibiot.* 42(10), 1470–1474.
- Kövics, G. J., Sándor, E., Rai, M. K., Irinyi, L. (2014). Phoma-like fungi on soybeans. *Crit Rev Microbiol* 40(1), 49–62.
- Larena, I., Torres, R., De Cal, A., Liñán, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., Usall, J. (2005). Biological control of postharvest brown rot

- (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biol Control* 32(2), 305–310.
- Lund, F., Nielsen, A. B., Skouboe, P. (2003). Distribution of *Penicillium commune* isolates in cheese dairies mapped using secondary metabolite profiles, morphotypes, RAPD and AFLP fingerprinting. *Food Microbiol* 20(6), 725–734.
- Manamgoda, D. S., Cai, L., McKenzie, E. H. C., Crous, P. W., Madrid, H., Chukeatirote, E., Hyde, K. D. (2012). A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris* - *Cochliobolus* - *Curvularia* Complex. *Fungal Divers* 56(1), 131–144.
- Özkalp, B. (1992). *The investigation of mold flora and mycotoxins (B1 B2 G1 G2 and penicillic acid) in mildy cheeses which have been produced in and around of Konya.*, PhD Dissertation, Selçuk University Institution of Science Biology Department, Konya, Turkey, 55 p.
- Patino, E. M., Giorgi, E. J., Mendez, F. Y. (1999). Shanklish cheese - an artisanal product from Corrientes Province, Argentina. *Revista Argentina de Lactologia* 18, 77–81.
- Pitt, J.I., Cruickshank, R. H., Leistner, L. (1986). *Penicillium commune*, *P. camembertii*, the origin of white cheese moulds, and the production of cyclopiazonic acid. *Food Microbiol* 3(4), 363–371.
- Pitt, John I. (2000). *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species* (3. baskı): Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization Division of Food Processing, New South Wales, Australia, 197 p.
- Ramírez-Camejo, L. A., Zuluaga-Montero, A., Lázaro-Escudero, M., Hernández-Kendall, V., Bayman, P. (2012). Phylogeography of the cosmopolitan fungus *Aspergillus flavus*: is everything everywhere? *Fungal Biology* 116(3), 452–463.
- Salvatore, M. M., Andolfi, A., Nicoletti, R. (2021). The Genus *Cladosporium*: A Rich Source of Diverse and Bioactive Natural Compounds. *Molecules* 26(13), 3959.
- Samson, R.A., Houbaken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C., Andersen, B. (2010). *Food and Indoor Fungi*. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. Utrecht, Netherlands, 481 p.
- Samson, Robert A., Houbaken, J. A. M. P., Kuijpers, A. F. A., Frank, J. M., Frisvad, J. C. (2004). New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section Nigri. *Stud Mycol* 50, 45–61.
- Serhan, M., Mattar, J. (2013). Characterization of four lebanese artisanal goat milk cheeses: Darfiyeh, Aricheh, shankleesh and Serdale by physico-chemical, microbiological and sensory analyses. *J Food Agric Environ* 11(3–4), 97–101.
- Sert, S. (1992). Bazı peynir çeşitlerinde küf florası ve aflatoksin içerikleri ile aflatoksin potansiyellerinin araştırılması: 1. Küf Florası. *Atatürk Ü. Zir. Fak. Der.* 23(2), 89-100.
- Solfrizzo, M., Girolamo, A. De, Vitti, C., Tylkowska, K., Grabarkiewicz-Szczęsna, J., Szopińska, D., Dorna, H. (2005). Toxigenic profile of *Alternaria alternata* and *Alternaria radicina* occurring on umbelliferous plants. *Food Addit Contam* 22(4), 302–308.
- Taniwaki, M. ., Hocking, A. ., Pitt, J. ., Fleet, G. (2001). Growth of fungi and mycotoxin production on cheese under modified atmospheres. *Int J Food Microbiol* 68(1–2), 125–133.
- Toufeili, I., Shadarevian, S., Artinian, T., Tannous, R. (1995). Ripening changes and sensory properties of bovine, caprine and ovine shankleesh. *Int Dairy J* 5(2), 179–189.
- Varga, J., Kocsubé, S., Tóth, B., Frisvad, J. C., Perrone, G., Susca, A., Samson, R. A. (2007). *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriolate black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *Int J Syst Evol Microbiol* 57(8), 1925–1932.
- Wang, X., Radwan, M. M., Taráwneh, A. H., Gao, J., Wedge, D. E., Rosa, L. H., Cutler, S. J. (2013). Antifungal Activity against Plant Pathogens of Metabolites from the Endophytic Fungus *Cladosporium cladosporioides*. *J Agric Food Chem* 61(19), 4551–4555.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: *PCR Protocols*, Innis, M., A., (Chief ed.), Academic Press, USA, pp. 315–322.

Yoltaş, A. (2007). Isolation and identification of fungi in muesli and breakfast cereals on market in and around İzmir. Master Dissertation, Ege University Institution of Science Biology Department, İzmir, Turkey, 249 p.

Youssef, N. H., Qari, S. H., Behiry, S. I., Dessoky, E. S., El-Hallous, E. I., Elshaer, M. M., Heflish,

A. A. (2021). Antimycotoxigenic Activity of Beetroot Extracts against *Alternaria alternata* Mycotoxins on Potato Crop. *Applied Sciences* 11(9), 4239.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Mencevsoğlu, A., Peren Aykac, D. *Authentication of hazelnut oil by portable FT-NIR, FT-MIR and Raman spectrometers combined with multivariate data analysis* / Fındık yağının FT-NIR, FT-MIR ve Raman spektrometreleri ile birlikte çok bileşenli veri analizleri kullanılarak doğrulanması.....1-14
- Yoldas, O., Caltınoglu-Toraman, C., Sensoy, I., Sibel Karakaya, S. *Enhanced bioaccessibility by extrusion process and quality parameters of red pepper pulp added extrudates* / Ekstrüzyon işlemiyle artırılmış biyoerişim ve kırmızı biber posası eklenmiş ekstrüde ürünlerin kalite parametreleri15-24
- Yavuz, A., Azar, İ., Özcan, A., Ülkü, N. *A multiclass method for the analysis of antibiotic residues in milk powder and whey powder by UPLC-MS/MS* / Süt tozu ve peyniraltı suyu tozunda antibiyotik kalıntılarının UPLC-MS/MS ile analizinde çoklu grup yöntemi.....25-33
- Sisman, S., Yagci, B., Ermis, E. *Physical properties of protein extract powder from stale bread and evaluation of its use in wheat bread containing chickpea flour* / Bayat ekmekten elde edilen protein ekstrakt tozunun fiziksel özellikleri ve nohut unu içeren buğday ekmeğinde kullanımının değerlendirilmesi 34-41
- Güldane, M., Herken, E. N. *The impact of partial sweetener substitution on physicochemical, textural and sensory properties of biscuits* / Kısmi tatlandırıcı ikamesinin bisküvilerin fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşal özelliklerine etkisi.....66-77

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Yaver, E. *Fermente tahıl benzeri ürünlerin bisküvinin fiziksel, besinsel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of fermented pseudocereals on physical, nutritional and sensory characteristics of cookie*55-65
- Güngör, K. K., Coşgun, G., Özdemir, M., Torun, M. *Zerdeçalın su ile ekstraksiyonunda ultrases işleminin etkisi ve elde edilen ekstraktın püskürtürerek kurutma yöntemiyle enkapsülasyon koşullarının optimizasyonu* / *Influence of ultrasound treatment on turmeric aqueous extraction and optimization of the spray drying conditions for encapsulation of the obtained extract* 107-120
- Yüksel, M., Sert, S., Kavaz Yüksel, A., Çetin, B., Gürses, M. *Kolorimetrik loop-mediated izotermal amplifikasyon metodu ile Listeria monocytogenes'in tavuk etlerinde hızlı tespiti* / *Rapid detection of Listeria monocytogenes in chicken meats with colorimetric loop-mediated isothermal amplification (lamp) method*121-135
- Esen, Y., Turgay, Ö. *Sürk peynirinden izole edilen küflerin PCR yöntemiyle tanımlanması* / *Identification of molds isolated from Sürk cheese by PCR method* 136-146

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Cavlak, N. Selvi, M.S. *Gıda fiyatlarındaki aşırı artışların olası nedenleri ve Covid-19'un etkisi* / *Possible causes of excessive increase in food prices and the impact of Covid-19*.....42-54
- Özer, Ö., Karakaya, S., Nehir El, S. *Gıdaların besleyicilik özelliklerini değerlendiren indeksler* / *Indexes evaluate the nutritional properties of foods*.....78-90
- Meral, H., Demirdöven, A. *Gıdanın özelleştirilmesi ve detaylandırılmasında üç boyutlu (3D) yazıcının kullanımı* / *Three-dimensional (3D) printing technology for customization and elaboration of food*91-106