

GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ

JOURNAL OF FOOD AND FEED SCIENCE - TECHNOLOGY

Yıl/Year : 17

Sayı/Number: 23

2020/1

Olgunlaştırılmış Peynirlerde Bulunan Biyoaktif Peptitler

Bioactive Peptides in Cheeses

Neslihan TURAN, M. Zeki DURAK

Determination of the Phycocyanin, Protein Content and Sensory Properties of Muffins Containing Spirulina Powder or Fresh Spirulina

Taze Spirulina veya Spirulina Tozu İçeren Muffinlerin Fikosiyanin, Protein İçeriği ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi

Betül GÜROY

Maraş Dondurmasının Bazı Özelliklerinin İncelenmesi

Some Properties of Maras Ice Cream

Fatma FEDAKAR, Özlem TURGAY

Et Ürünlerinde Hidroksiprolin Miktarının Belirlenmesinde Mikrodalga ile Protein Hidrolizi Yönteminin Araştırılması

An Investigation of Microwave Protein Hydrolysis for Determination of Hydroxyproline in Meat and Meat Products

Tuğba GEZGİN, Sümeyye KARAKUŞ, Hüseyin BÜLBÜL

Kaba Yem Kalitelerinin Belirlenmesinde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Yöntemlerin Karşılaştırılması

Comparison of Some Commonly Used Methods in Roughage Quality Determination

Yasemin VURARAK, Mustafa AVCI, Murat Reis AKKAYA

LC-MS/MS ile Enerji İçeceklerinde Taurin, İnositol ve Glukoronolaktonun Belirlenmesinde Metot Validasyon Çalışmaları

Method Validation for Determination of Taurine, Inositol and Glucoronolactone in Energy Drinks by LC-MS/MS

Pınar MANARGA BİRLİK, Ayşe Binnur KARATAŞ, İbrahim Emre TOKAT

GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

Journal of Food and Feed Science - Technology

ISSN 1303-3107

Yayın Bilgileri (Editorial Information)

Gıda ve Yem Kontrol Merkez
Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Adına
Sahibi
Owner on behalf of Central Research
Institute of Food and Feed Control

Yıldırım İSTANBULLU
(Enstitü Müdürü-Institute Manager)

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü (Editor)
Dr. Nazan ÇÖPLÜ

Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor)
Dr. Vesile ÇETİN

Reklam ve Abone İşleri
(Advertisement and Subscription)
Ekrem KATMER

Grafik Tasarım (Graphics Design)
Fatma GÜNGÖR BOYNUEĞRİ

Basım (Printing)
SANAT MATBAASI
Selamet Mah. Dr. Sadık Ahmet Cad.
Sütçüoğlu Sit. A Blok 27/A
Osmangazi/BURSA
sanatmat@hotmail.com
Tlf : +90 224 224 28 29
Faks : +90 224 222 00 54

Yönetim ve Yayın Adresi (Administration and
Publishing Address)

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma
Enstitüsü Müdürlüğü
Adalet Mh. 1. Hürriyet Caddesi, No: 128
Hürriyet - 16160 Osmangazi / BURSA

Tlf: + 90 224 246 47 20 (Pbx)
Faks: + 90 224 246 19 41

E-posta (E-mail):
bursagida@tarimorman.gov.tr

Web adresi (Web site):
arastirma.tarimorman.gov.tr/bursagida

Bu Sayının Bilimsel Yayın Danışmanları* (Advisory Board)

Prof. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve
Teknolojisi Fakültesi, Çanakkale Uygulamalı Bilimler
Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü

Prof. Dr. Kağan KÖKTEN
Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü

Prof. Dr. Oya İŞİK
Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,
Temel Bilimler Bölümü, Deniz Biyolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN
İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi,
Balıkçılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Bölümü,
Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Tülay ÖZCAN
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Ufuk KARADAVUT
Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü

Doç. Dr. Ahmet Levent İNANÇ
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi,
Mühendislik-Mimarlık Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Teknolojisi Anabilim Dalı

Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER
Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen - Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Doç. Dr. Oktay YERLİKAYA
Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü,
Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Ahu ERDEM KAHRAMAN
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü,
Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Sümeyra Sultan TİSKE İNAN
Karaman Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi,
Mühendislik Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Bilimleri Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Tuba ŞANLI
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü,
Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Öğr. Gör. Dr. Kader ÇETİN
Bursa Uludağ Üniversitesi, Karacabey Meslek Yüksek Okulu,
Gıda İşleme Bölümü

* İsimler ünvanlarına göre alfabetik sıra ile yazılmıştır.



arastirma.tarimorman.gov.tr/bursagida

ISSN 1303-3107

GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

Journal of Food and Feed
Science - Technology

Yıl/Year : 17

Sayı/Number: 23

2020/1

GIDA VE YEM KONTROL MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ - BURSA
CENTRAL RESEARCH INSTITUTE OF FOOD AND FEED CONTROL - BURSA

YAYIN KURULU * (Editorial Board)

- Dr. Nazan ÇÖPLÜ** (Sorumlu Yazı İşleri Müdürü (Editor), Bursa)
Dr. Vesile ÇETİN (Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor), Bursa)
Prof. Dr. Abdulkadir ÇILTAŞ, Erzurum
Prof. Dr. Ali GÜNDOĞDU, Gümüşhane
Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ, Samsun
Prof. Dr. Belgin İZGİ, Bursa
Prof. Dr. Belgin SIRIKEN, Samsun
Prof. Dr. Duygu GÖÇMEN, Bursa
Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU, İstanbul
Prof. Dr. Faruk BALCI, Bursa
Prof. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU, Çanakkale
Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK, Ankara
Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ, İstanbul
Prof. Dr. Hale ŞAMLI, Bursa
Prof. Dr. Hasan YALÇIN, Kayseri
Prof. Dr. Hüseyin ESECELİ, Bandırma
Prof. Dr. İbrahim AK, Bursa
Prof. Dr. Kağan KÖKTEN, Bingöl
Prof. Dr. Mehmet YÜCEER, Malatya
Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU, Bursa
Prof. Dr. Muhammet ARICI, İstanbul
Prof. Dr. Murat ZENCİRKIRAN, Bursa
Prof. Dr. Nurcan DEĞİRMENCİOĞLU, Bandırma
Prof. Dr. Nurgül ÖZBAY, Bilecik
Prof. Dr. Osman KOLA, Adana
Prof. Dr. Osman TİRYAKİ, Çanakkale
Prof. Dr. Oya IŞIK, Adana
Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ, Bursa
Prof. Dr. Ömer Utku ÇOPUR, Bursa
Prof. Dr. Özkan ÖZDEN, İstanbul
Prof. Dr. Ramazan GÖKÇE, Denizli
Prof. Dr. Seran TEMELLI, Bursa
Prof. Dr. Ş. Şule CENGİZ, Bursa
Prof. Dr. Tanay BİLAL, İstanbul
Prof. Dr. Tuba YILDIRIM, Amasya
Prof. Dr. Tülay ÖZCAN, Bursa
Prof. Dr. Ufuk KARADAVUT, Kırşehir
Prof. Dr. Uğur GÜNŞEN, Bandırma
Prof. Dr. Ümit GEÇGEL, Tekirdağ
Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA, Adana
Doç. Dr. Ahmet Levent İNANÇ, Kahramanmaraş
Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT, Bursa
Doç. Dr. Aycan TOSUNOĞLU, Bursa
Doç. Dr. Bilgen OSMAN, Bursa
Doç. Dr. Canan Ece TAMER, Bursa
Doç. Dr. Derya YEŞİLBAĞ, Bursa
Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER, Bursa
Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK, İstanbul
Doç. Dr. Halef DİZLEK, Osmaniye
Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN, Bursa
Doç. Dr. M. Haluk TÜRKDEMİR, Bursa
Doç. Dr. Oktay YERLİKAYA, İzmir
Doç. Dr. Osman ÜÇÜNCÜ, Gümüşhane
Doç. Dr. Rasim Alper ORAL, Bursa
Doç. Dr. Remziye YILMAZ, Ankara
Doç. Dr. Salih KARASU, İstanbul
Doç. Dr. Saliha ŞAHİN, Bursa
Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY, Bursa
Doç. Dr. Şebnem PAMUK, Afyonkarahisar
Doç. Dr. Şule TURHAN, Bursa
Doç. Dr. Yasemin ŞAHAN, Bursa
Doç. Dr. Zeki GÜRLER, Afyonkarahisar
Dr. Öğr. Üyesi A. Fatih DAĞDELEN, Bursa
- Dr. Öğr. Üyesi Aşkın BİRGÜL**, Bursa
Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Neslihan DÜNDAR, Bursa
Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül KUMRAL, Bursa
Dr. Öğr. Üyesi Bayram ÇETİN, Kırklareli
Dr. Öğr. Üyesi Cemalettin BALTACI, Gümüşhane
Dr. Öğr. Üyesi Gamze TOYDEMİR ŞEN, Alanya
Dr. Öğr. Üyesi Gökhan İNAT, Samsun
Dr. Öğr. Üyesi Gözde TÜRKÖZ BAKIRCI, İzmir
Dr. Öğr. Üyesi Harun HURMA, Tekirdağ
Dr. Öğr. Üyesi Hasan CANKURT, Kayseri
Dr. Öğr. Üyesi Hatice Ahu ERDEM KAHRAMAN, Burdur
Dr. Öğr. Üyesi İnci ÇINAR, Kahramanmaraş
Dr. Öğr. Üyesi İncilay GÖKBULUT, Malatya
Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GENÇ, İstanbul
Dr. Öğr. Üyesi Perihan YOLCI ÖMEROĞLU, Bursa
Dr. Öğr. Üyesi Sümeyra Sultan TİSKE İNAN, Kahraman
Dr. Öğr. Üyesi Tuba ŞANLI, Ankara
Öğr. Gör. Dr. Cumhuri BERBEROĞLU, Bursa
Öğr. Gör. Dr. Engin YILMAZ, Bursa
Öğr. Gör. Dr. Hüseyin Can ALPSOY, Bursa
Öğr. Gör. Dr. Kader ÇETİN, Bursa
Öğr. Gör. Dr. Mesut Ertan GÜNEŞ, Bursa
Dr. Arzu ÜRŞEN AŞYEMEZ, Bursa
Dr. Ayşegül AYDIN ŞAHİNOĞLU, Bursa
Dr. Banu Bilge OVALI, Bursa
Dr. Emine ALKIN, Bursa
Dr. Fatma GÜNGÖR BOYNUYERİ, Bursa
Dr. Figen KÜTÜKOĞLU, Bursa
Dr. Gülnur BİRİCİK, Bursa
Dr. Gülsen SÖYLEMEZ, Bursa
Dr. H. Özgül UÇURUM, Bursa
Dr. Nurşen ÇİL, Bursa
Dr. Şafak ANDIÇ, Bursa
Ahmet BUDAKLIER, Ankara
Ahmet KILINÇ, Bursa
Ali ÖZCAN, Bursa
Arzu YAVUZ, Bursa
Ayşe Binnur KARATAŞ, Bursa
Ekrem KATMER, Bursa
Erhan YEDİKARDAŞ, Ankara
Filiz ÇAVUŞ, Bursa
Habil UMUR, Bursa
Hacer EKŞİ KARAAĞAÇ, Bursa
Hakan TOSUNOĞLU, Bursa
Hakan YAVAŞ, Bursa
Halil Rıza AVCI, Bursa
Hatice AYKIR, Ankara
İ. Emre TOKAT, Bursa
İmran KAYA, Bursa
İsmail AZAR, Bursa
Mehmet SAĞLAM, Bursa
Meral KAYGISIZ, Bursa
Müge NEBİOĞLU, Bursa
Nagihan UĞUR, Bursa
Nesrin KURTAR BOZBIYIK, Ankara
Nurcan AYŞAR GÜZELSOY, Bursa
Nurdan AKBAŞ, Bursa
Orhan EREN, Bursa
Özlem ASLAN, Bursa
Özlem IŞIK, Bursa
Sema DEMİR, Bursa
Sibel PARSEKER YÖNEL, Bursa
Şeref TEPE, Ankara

* İsimler ünvanlarına göre alfabetik sıra ile yazılmıştır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Derleme/Review

Olgunlaştırılmış Peynirlerde Bulunan Biyoaktif Peptitler

Bioactive Peptides in Cheeses

Neslihan TURAN, M. Zeki DURAK

1

Özgün Araştırma/Original Article

Determination of the Phycocyanin, Protein Content and Sensory Properties of Muffins Containing Spirulina Powder or Fresh Spirulina

Taze Spirulina veya Spirulina Tozu İçeren Muffinlerin Fikosiyanın, Protein İçeriği ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi

Betül GÜROY

10

Maraş Dondurmasının Bazı Özelliklerinin İncelenmesi

Some Properties of Maras Ice Cream

Fatma FEDAKAR, Özlem TURGAY

19

Et Ürünlerinde Hidroksiprolin Miktarının Belirlenmesinde Mikrodalga ile Protein Hidrolizi Yönteminin Araştırılması

An Investigation of Microwave Protein Hydrolysis for Determination of Hydroxyproline in Meat and Meat Products

Tuğba GEZGİN, Sümeyye KARAKUŞ, Hüseyin BÜLBÜL

25

Kaba Yem Kalitelerinin Belirlenmesinde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Yöntemlerin Karşılaştırılması

Comparison of Some Commonly Used Methods in Roughage Quality Determination

Yasemin VURARAK, Mustafa AVCI, Murat Reis AKKAYA

30

LC-MS/MS ile Enerji İçeceklerinde Taurin, İnositol ve Glukoronolaktonun Belirlenmesinde Metot Validasyon Çalışmaları

Method Validation for Determination of Taurine, Inositol and Glucoronolactone in Energy Drinks by LC-MS/MS

Pınar MANARGA BİRLİK, Ayşe Binnur KARATAŞ, İbrahim Emre TOKAT

39



Peynirlerde Bulunan Biyoaktif Peptitler Bioactive Peptides in Cheeses

Neslihan TURAN¹, M. Zeki DURAK²

¹ Gıda Yük. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0001-8342-6557

² Doç. Dr., Yıldız Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İSTANBUL, TÜRKİYE- ORCID ID:0000-0001-7245-1116

Geliş Tarihi : 18.10.2019

Kabul Tarihi : 07.01.2020

Öz

Amaç: Süt proteinleri çeşitli besinsel, fonksiyonel ve biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Pek çok süt proteini, spesifik biyoaktiviteler gösteren peptitlerin kaynaklarıdır. Süt proteinlerinin birincil yapıları içinde gizli olan biyoaktif peptitler, ana protein dizilimi içinde inaktiftir. Proteolitik enzimlerin hidrolizi, proteolitik starter kültürlerle fermentasyon ve gastrointestinal sindirim sonucu ana protein yapısından salınırlar ve çeşitli biyolojik aktiviteler sergilerler. Bu biyoaktiviteler arasında; anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitör, opioid, mineral bağlama, antioksidan, antibakteriyel ve antikarsinojen gibi etkiler yer almaktadır.

Sağlıklı bir diyetin önemli bir bileşeni olan peynirler, tüketiciler tarafından beğenilen duyu özellikleri ve yüksek seviyedeki tüketimleri ile biyoaktif peptitlerin alımı için en popüler gıdalardır. Farklı ve karmaşık üretim yöntemleri ile üretilen peynirler, son ürünün tat, koku ve tekstür gibi özelliklerini etkileyen pek çok peptit içermektedir. Bu çalışmada, peynirlerde bulunan biyoaktif peptitlerle ilgili çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoaktif Peptitler, Peynir, Proteoliz, ACE İnhibitör Etki, Antioksidan Etki, Antimikrobiyal Etki

Abstract

Objective: Milk proteins exert various nutritional, functional and biological functions. Many milk proteins are sources of peptides possess specific bioactivities. Bioactive peptides, which are hidden in the primary structures of milk proteins, are inactive in the main protein sequence and are released by hydrolysis of proteolytic enzymes, fermentation with proteolytic starter cultures and gastrointestinal digestion. These bioactivities include; ACE inhibitor, opioid, mineral binding, antioxidant, antibacterial and anticancer effects.

Cheeses, as a part of healthy diet, are the most popular foods for the intake of bioactive peptides with their pleasant sensory properties and high consumption. Cheeses contain numerous peptides which affect the taste, odor and texture properties of the final product due to the variety and complexity of the production methods. In this work, studies on bioactive peptides in cheeses were reviewed.

Keywords: Bioactive Peptides, Cheese, Proteolysis, ACE Inhibitor Activity, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity

1.Giriş

Biyoaktif peptitler, diyetle alınan proteinlerin gıda işleme prosesleri ve sindirimleri sonrasında oluşan ve vücutta çeşitli fonksiyonların yürütülmesini sağlayan peptit dizilimleri olarak değerlendirilmektedir (Korhonen ve Pihlanto 2006). Yapısal olarak endojen peptitlere benzer özellikte olan bazı peptitler, organizmada hormon, nörotransmitter (nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir hücre arasında iletişimi sağlama) veya antibiyotik gibi davranabilir (De Simone ve ark. 2009, Skwarek ve ark. 2018). Gıdalarda bulunan biyoaktif peptitler hakkında sayısız çalışma bulunmakla birlikte ilk kez süt

ürünlerinde keşfedilmişlerdir ve sağlık yararları nedeniyle süt ürünleri çok çalışılmıştır (Toldrá ve ark. 2018, Korhonen ve Pihlanto 2006, De Castro ve Sato 2015, Santiago-López ve ark. 2018). Bilinen pek çok biyoaktif peptit kısa aminoasit zincirlerinden (2-20 amino asit kalıntısı) oluşmaktadır (Korhonen ve Pihlanto 2006). Bu özellikleriyle, büyük moleküllere göre sindirim kanallarından kolayca geçebilme ve kan dolaşımına ulaşıp hedef dokulara ulaşabilme gibi avantajlara sahiptir (De Simone ve ark. 2009). Farmasötik ilaçlara bilinen yan etkisi olmayan alternatifler olarak değerlendirilen biyoaktif peptitler, proteince zengin çeşitli gıdalarla günlük olarak

tüketilebilmektedir. Farklı kaynaklar kullanarak biyoaktif peptit üretme ve bunları fonksiyonel gıda, ilaç veya kozmetik üretiminde kullanma konusuna ilgi artmaktadır (Kunda ve ark. 2012).

Genel olarak süt ürünleri özellikle fermente süt ürünleri tüketiciler tarafından beğenilen duyuşal özellikleri ve yüksek seviyedeki tüketimleri ile biyoaktif peptitlerin alımı için en popüler gıdalardır (Ahtesh ve ark. 2018). Süt ürünleri arasında peynirler üretim yöntemlerinin farklılığı ve karmaşıklığı nedeniyle, son ürünün tat, koku ve tekstür gibi özelliklerini etkileyen sayısız peptit içermektedir. Bu peptitlerden bazıları ACE inhibitör, opioid, mineral bağlama, antioksidan, antibakteriyel gibi özelliklere de sahiptir (Sienkiewicz-Szapka ve ark. 2009, De Simone ve ark. 2009, Saito ve ark. 2000, Bütikofer ve ark. 2007, Baptista ve ark. 2018).

2. Peynirde Biyoaktif Peptitlerin Oluşumu

Süt proteinlerinin birincil yapıları içinde gizli olan biyoaktif peptitler, ana protein dizilimi içinde inaktiftir, proteolitik enzimlerin hidrolizi, proteolitik starter kültürlerle fermentasyon ve gastrointestinal sindirim sonucu salınırlar (Korhonen ve Pihlanto 2006). Peynir, üretim ve olgunlaşma sırasında gerçekleşen proteoliz sonucu salınan çok sayıda peptit içeren önemli bir süt ürünüdür. Biyolojik ve biyokimyasal olarak dinamik bir ürün olan peynirin üretimi sırasında uygulanan, ısı işlem, homojenizasyon, basınç uygulamaları, sütün koagülasyonu ve olgunlaştırma gibi teknolojik işlemler süt bileşenlerinin yapısını etkiler ve biyoaktif bileşiklerin salınmasını tetikleyebilir (Santiago-López ve ark. 2018). Son ürünün peptit profili, peynirin çeşidi ve olgunlaşma süresine bağlıdır (Gómez-Ruiz ve ark. 2006).

Peynir üretiminde farklı sıcaklıklarda uygulanabilen ısı işlemler peynir kompozisyonu ve dolayısıyla peynir kalitesini etkilemenin yanı sıra son ürünün biyoaktif peptit içeriğini de etkilemektedir (Santiago-López ve ark. 2018, Silva ve ark. 2006). Süt proteinleri açısından bakıldığında ısı işlem sütün stabilitesinin belirlenmesinde ve fonksiyonel performansında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, ısı işlem sırasında gerçekleşen reaksiyonlar nedeniyle proteinlerin yapılarında oluşan değişimlerin biyoaktivitesini etkileyebileceği belirtilmiştir (Otağ ve Hayta 2013).

Peynirlerin olgunlaşması sırasında kazeinler proteinazlarla büyük peptitlere parçalanmakta ve ikinci aşamada peptidazlarla küçük peptitlere ve aminoasitlere indirgenmektedir (Bütikofer ve ark. 2007). Kazeinin indirgenmesinden sorumlu hidroliz enzimlerinin kaynakları arasında kazein kalıntı pıhtıları, doğal süt enzimleri, starter kültür enzimleri,

ikincil kültürler ve starter olmayan laktik asit bakterilerinin enzimleri yer almaktadır (Baptista ve ark. 2018). Isıl işlemler sonucu sütte bulunan doğal enzimlerin aktivitesinde değişimler oluşmaktadır ve bu değişimler sonucu sütün ve bu sütle üretilen son ürünün peptit içeriği de etkilenmektedir (Santiago-López ve ark. 2018).

Olgunlaştırılmış peynirlerin mikrobiyal nişi; laktik asit bakterileri (LAB), mayalar ve bazı küflerin bulunduğu karmaşık bir ortamdır. Bu mikroorganizmalar son ürünün kendine has duyuşal özelliklerinin gelişmesi açısından önemlidir. Peynirde bulunan LAB bir kısmı üretim sırasında starter olarak katılabilirken, bazıları starter kültür olarak ilave edilmeyen peynirde doğal olarak bulunan laktik asit bakterileridir (starter olmayan LAB; örneğin, laktobasiller, pediokoklar, enterokoklar, lökonostoklar). Starter olmayan LAB için temel kaynak süt olmakla birlikte peynir katkıları veya üretimde kullanılan alet-ekipmanlardan da ürüne LAB bulaşabilmektedir ve böylece konsantrasyonları artmaktadır (Santiago-López ve ark. 2018). Olgunlaşma sırasında LAB, biyoaktif peptitler, ekzopolisakkaritler, vitaminler, gama aminobütirik asit (GABA) ve oligosakkaritlerin salınmasını sağlamaktadır. Bazı çalışmalarda üretim sırasında, peynir üretiminde kullanılan geleneksel starter kültürün yanı sıra ilave kültür kullanımının biyoaktif etkileri artırdığı belirlenmiştir (Ong ve ark. 2007, Ong ve Shah 2008, Gupta ve ark. 2009, Torres-Llanez ve ark. 2011, Padghan ve ark. 2018).

3. Biyoaktif Peptitlerin Fonksiyonları

Biyoaktif peptitler ilaç veya hormon benzeri özellikler göstermektedir. Bu peptitler, hedef hücrelerin üzerine spesifik reseptörlerle bağlanarak ve farklı biyolojik tepkiler başlatarak biyolojik fonksiyonları değiştirebilmektedir. Peynirlerde bulunan biyoaktif peptitlerin sergilediği biyolojik aktiviteler ve dizilimleri ile ilgili çalışmalar Çizelge 1’de özetlenmiştir.

3.1. Antihipertensif Etki

Arteriyel hipertansiyon, vücutta dolaşan kanı oksijenlenmek üzere kalpten akciğerlere getiren damarlarda (pulmoner arterlerde) kan basıncının artması olarak tanımlanmaktadır (De Castro ve Sato 2015). Arteriyel hipertansiyon dünyada yetişkinlerin %25’ ini etkilemektedir, 2025 yılına kadar toplam nüfusun %29’ unu yaklaşık 1,65 milyar insanı etkileyeceği tahmin edilmektedir (De Castro ve Sato 2015). Hipertansiyon kontrol edilebilir olmakla birlikte kardiyovasküler hastalıklar ve felç için bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir (Torres-Llanez ve ark. 2011).

Çizelge 1- Farklı peynir çeşitlerinde belirlenen biyoaktif peptitler ve etkileri

Peynir Çeşidi	Peptit Dizilimi ve Kaynak Protein	Biyoaktivite ve Özelliği	Kaynak
Gouda, Emmental, Blue, Camembert, Havarti	RPKHPIKHQ α 1-kazein (f 1–9), RPKHPIKHQGLPQ α 1-kazein (f 1–13), YPPFGPIPN β -kazein (f 60–68) MPFPKYVPVQPF β -kazein (f 109–119)	ACE inhibitör etki <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i>	Saito ve ark. 2000
Pecorino Romano, Canestrato Pugliese, Crescenza, Caprino del Piemonte, Caciocavallo, Mozzarella (İtalya)	RFVVAPFPE, FVAPFPEVFG, GLSPEVLNENLL, MAIPPKKNQD, YPFTGPIPN	Antibakteriyel etki	Rizzello ve ark. 2005
Cabrales, Idiazábal, Roncal, Manchego, Mahón ve keçi peyniri (İspanya)	VRGP, PFP, QP, DKIHHP, PKHP, FP, PP, DKIHHPF	ACE inhibitör etkinin 1000 kDa molekül ağırlığından düşük permeatta daha yoğun	Gomez-Ruiz ve ark. 2006
39 İsviçre peyniri ve olgun Gouda, Allgauer Limburger, Munster, Reblochon, Gorgonzola, Roquefort, Manchengo, Feta	IPP ve VPP	ACE inhibitör etkili oldukları bilinen IPP ve VPP miktarlarının çiğ süttten üretilen ve olgunlaştırılmış çeşitlerde daha yüksek miktarda	Bütikofer ve ark. 2007
Cheddar	RPKHPIKHQ α 1-kazein (f 1–9), RPKHPIK α 1-kazein (f 1–7), RPKHPI α 1-kazein (f 1–6), DKIHHPF β -kazein (f 47–52), FVAPFPEVF α 1-kazein (f 24–32), KKYKVPQLE α 1-kazein (f 102–110), YQEPVLPVVRGPFPIIV β -kazein (f 193–209)	ACE inhibitör etkide probiyotik kültür kullanımıyla artış	Ong ve ark. 2007
Cheddar	ARHPHPH κ -kazein (f 96-102), RPKHPIKHQ α 1-kazein (f 1-9), RPKHPIK α 1-kazein (f 1-7), RPKHPI α 1-kazein (f 1-6), FVAPFPEVF α 1-kazein (f 24-32), YQEPVLPVVRGPFPIIV β -kazein (f 193-209)	ACE inhibitör etki, ilave probiyotik kültür kullanımıyla artmış, olgunlaşmaya bağlı	Ong ve Shah 2008
Cheddar	-	Antioksidan etki, ilave kültür kullanımıyla artan olgunlaşmaya bağlı	Gupta ve ark. 2009
Brie, Rokpol, Edamski, Gouda, Kasztelan	-	Agonistik ve antagonistik opioid etki	Sienkiewicz-Szfaqpa ve ark. 2009
Asiago d'allevo	PFPE α 1-kazein f(27–30), DKIHHPF β -kazein f(47–52) FVAPFPE α 1-kazein f(24–30), NVPGEIVE β -kazein f(7–14), RELEEL β -kazein f(1–6), FVAPFPEVF α 1-kazein f(24–32), YQEPVLPVVRGPFPIIV β -kazein f(193–209)	ACE inhibitör etki olgunlaşmayla değişmemiştir.	Lignitto ve ark. 2010
Japonya'da satılan Montagnard, Pont-l'evéque, Brie, Camembert, Danablu ve Blue	-	Antiproliferatif etki (Lösemi hücre kültürü)	Yasuda et al. 2010
Fresco (Meksika, taze peynir)	YQEPVLPVVRGPFPI β -kazein (f193–207), YQEPVLPVVRGPFPIIV β -kazein (f193–209), FVAPFPEVFGK α 1-kazein (f24–34), EVLNENLLRF α 1-kazein (f14–23), RPKHPIKHQGLPQEV α 1-kazein (f1–15) RPKHPIKHQGLPQEVLNENLLR α 1-kazein (f1–22) YQEPVLPVVRGPF β -kazein (f193–205)	Antioksidan etki	Torres-Llanez ve ark. 2011
Coalho (Brezilya)	israsidin (α 1-kazein f(1-23))	Antioksidan etki, Antimikrobiyal etki, Zn bağlama etkisi	Silva ve ark. 2012

Parmigiano-Reggiano		Antioksidan etki olgunlaşmadan ve gastrik sindirimden etkilenmemiştir.	Bottessini ve ark. 2013
Süzme (Cottage) Peynir (Meksika)		Antioksidan etki olgunlaşmaya bağlıdır.	Abadía-García ve ark. 2013
Burgos tipi peynir (İspanyol)	SDIPNPIGSENSEKTTMPLW α 1-kazein (180-199), YQQPVLGPVVRGPFPIIV β -kazein (193-209), LLYQQPVLGPVVRGPFPIIV β -kazein (191-209)	Antioksidan etki üretimde kullanılan enzim çeşidine göre değişim göstermiştir.	Timón ve ark. 2014
Stracchino (İtalya)	EAMAPK, AVYPYQ	Antioksidan etki	Pepe ve ark. 2016
Cheddar		Antikarsinojenik etki	Rafiq ve ark. 2018
Tulum peyniri (keçi ve ineksütünden üretilmiş)	-	Antioksidan etki, antimikrobiyal etki, Fe ²⁺ bağlama etkisi süt elde edilen türe göre değişmiştir.	Öztürk ve Akın 2018
Kalari Peyniri (Himalayalar)	-	Antikarsinojenik etki, antimikrobiyal etki, bağışıklık düzenleyici etki, antidiyabetik etki probiyotik ilave kültür kullanımıyla artmıştır.	Mushtaq ve ark. 2019
Chiapas (Meksika)	-	Antihipertensif ve ACE inhibitör etki, antioksidan etki	Gonzalez-Gonzalez ve ark. 2019

(-) Belirlenmemiştir.

ACE, ACE renin–angiotensin ve kallikrein–kinin sistemleri yoluyla kan basıncının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan çok fonksiyonlu bir dipeptidilkarboksipeptidazdır (EC 3.4.15.1) (Li ve ark. 2015). Angiotensin-I oktapeptittir ve bu halde inaktiftir, hidrolizi sonrası oluşan angiotensin-II bir hegzapeptittir ve güçlü bir damar daraltıcıdır (vazokonstriktör). ACE, Angiotensin-I'in angiotensin-II'ye dönüşümünü ve güçlü bir vasodilatör olan bradikinin inaktivasyonunu katalizleyerek kan basıncını kontrol etmektedir (Torres-Llanez ve ark. 2011, De Castro ve Sato 2015). Bu enzimin çeşitli şekillerde inaktivasyonu kan basıncı düşürülerek kontrol edilebilmektedir (Gomez-Ruiz ve ark. 2006). Sentetik ACE inhibitörlerinin kronik kuru öksürük, anjiödem gibi etkilerinin olması nedeniyle gıdalardan elde edilen ACE inhibitör peptitler sentetik ilaçlara göre daha güvenli ve daha sağlıklı doğal alternatifler olarak kabul edilmişlerdir (Li ve ark. 2015, De Castro ve Sato 2015, Gomez-Ruiz ve ark. 2006, Sagardia ve ark. 2013). ACE inhibitör peptitlerinin pek çok farklı protein kaynağı bulunmakla beraber süt proteinleri ana kaynakları olarak kabul edilmektedir (Li ve ark. 2015). ACE'nin iki katalitik bölgesine bağlanabilecek pek çok farklı peptit inhibitör bulunmaktadır ve bağlanma peptidin kimyasal yapısına bağlıdır (Ong ve ark. 2007, Gomez-Ruiz ve ark. 2006). Peptidin karbon ucundaki tripeptit yapıda aromatik veya dallanmış yani hidrofobik yapılar bulunmasının bağlanma için gerekli olduğu bildirilmiştir (Hernández-Ledesma ve ark. 2005, Ong ve ark. 2007, De Castro ve Sato 2015).

İki güçlü ACE inhibitör peptidi, VPP ve IPP, *Lactobacillus helveticus* ve *Saccharomyces cerevisiae* ile sütün fermantasyonu sırasında kazeinden türevlenir ve antihipertensif etkiden sorumlu oldukları ticari bir ürün olan Calpis ieinde (sour milk) gösterilmiştir (Hernández-Ledesma ve ark. 2005). Bu peptitlerin karbon uçta bulunan Pro-Pro diziliminin proteazlar ve peptidazlarla ileri sindirime dirençli olduğu ve kolayca intestinal sistemden geçebildikleri belirtilmiştir (Skwarek ve ark. 2018). Bütikofer ve ark. (2007) kısa ve uzun süreli insan denemelerinde kan basıncını düşürdüğu belirlenen VPP ve IPP peptitlerinin miktarlarını 39 İsviçre peyniri ve diğer ülkelerin peynirlerinde belirleyerek karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda LC-MSMSMS (sıvı kromatografi ile birleştirilmiş üçlü kütle spektrometrisi) ile yapılan analiz sonucu belirlenen VPP ve IPP peptit konsantrasyonu ile IC50 değerlerinin korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Çiğ süttten üretilen olgunlaştırılmış peynirlerin VPP ve IPP içeriklerinin pastörize süttten üretilen ve yumuşak yapılı peynirlerden daha yüksek ACE inhibitör etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

Peynirin olgunlaşması sırasında proteoliz ve peptit oluşumu devam ettiği için farklı olgunlaşma sürelerine sahip peynirlerde ACE inhibitör etki olgunlaşma süresince değişebilmektedir. Gouda, Blue, Edam ve Havarti peynirlerinin farklı olgunluk sürelerinde ACE inhibitör ve antihipertensif etkileri *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılmıştır (Saito ve ark. 2000). *In vitro* testlerde en yüksek ACE inhibitör etki

24 aylık Gouda peynirinde belirlenirken, *in vivo* çalışmalarda 8 ay olgunlaştırılmış Gouda, Blue, Edam ve Havarti peynirlerinin tüketilmesi sonucu sistolik kan basıncı seviyesindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve en güçlü antihipertensif etkinin 8 ay olgunlaştırılmış Gouda peynirinde olduğu belirlenmiştir. Gomez-Ruiz ve ark. (2002) Manchengo peynirinin antihipertensif etkisinin olgunlaşmayla değiştiğini, ilk 4 ayda düşerken 8. ayda en yüksek seviyeye ulaşmış 12. aydan sonra tekrar düştüğünü bildirmişlerdir. İspanya'da üretilen Cabrales, Idiazábal, Roncal, Manchego, Mahón ve keçi peynirinde ACE inhibitör etkili peptitler tanımlanmış ve bunlardan 8 tanesi (VRGP, PFP, QP, DKIHP, PKHP, FP, PP, DKIHPF) sentezlenerek ACE inhibisyon etki sentetik peptitlerde de belirlenmiştir (Gomez-Ruiz ve ark. 2006).

İlave kültür kullanımının biyoaktif peptit içeriğine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Cheddar peynirinde olgunlaşma sırasında probiyotik mikroorganizmaların ACE inhibitör oluşumunu artırdığı belirtilmiştir (Ong ve ark. 2007). Yine Cheddar peynirine ilave kültür eklenerek yapılan bir başka çalışmada ACE inhibitör etkinin olgunlaşmanın ilk zamanlarında yüksek olduğu ancak, proteolizin ilerlemesiyle etkinin azaldığı bildirilmiştir (Ong ve Shah 2008). Bu çalışmada tanımlanan peptitler; κ -kazein (f 96-102), α 1-kazein (f 1-9), α 1-kazein (f 1-7), α 1-kazein (f 1-6), α 1-kazein (f 24-32) ve β -kazein (f 193-209) dizilimleridir. Benzer bir çalışmada, Meksika'da üretilen olgunlaştırılmayan bir peynir çeşidi olan Fresco peynirine spesifik laktik asit bakterileri ilave edilmiş ve ACE inhibitör etkiye sahip peptitlerin oluşması sağlanmıştır (Torres-Llanez ve ark. 2011).

3.2. Antioksidatif Etki

Serbest radikaller normal hücre metabolizmasının yan ürünleri olarak oluşan kararsız bileşiklerdir. Bunlar, organizmada diğer gruplar ve maddelerle hızlıca reaksiyona girerek hücre ve doku hasarına neden olmaktadır. Düşük ve orta dereceli serbest radikal miktarları işgalci patojenleri öldürmek, yara iyileştirme ve doku tamir prosesleri gibi yararlı etkilere sahip olmakla birlikte, fazla miktarlarının proteinlere zarar verdiği, membran fosfolipidlerini ve düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) okside edebildiği, DNA mutasyonuna, hücre hasarına ve apoptoze (programlanmış hücre ölümü) neden olabildiği bildirilmiştir (De Castro ve Sato 2015, Basilicata ve ark. 2018). Bu radikallere aşırı maruziyet ateroskleroz (damar sertleşmesi), diyabet ve kanser gibi hastalıkların gelişimiyle ilişkilendirilmiştir (De Castro ve Sato 2015). Serbest radikallerin gastrointestinal sistemde fazlaca üretilmesi intestinal dokunun geçirgenliğini artırarak gastrik kanser, ülser ve kronik intestinal inflamasyon gibi gastrointestinal sistem hastalıklarına katkıda

bulunmaktadır (Basilicata ve ark. 2018). Bu hastalıklardan korunma için hayati öneme sahip olan antioksidanların, bu işlevlerinin yanı sıra hipertansiyonun engellenmesinde etkili oldukları, antioksidanca zengin diyetlerin insan ve farelerde kan basıncını düşürdüğü bildirilmiştir (Hernández-Ledesma ve ark. 2007). Ayrıca oksidatif strese karşı savunma mekanizmasının kaybıyla artan yaşlanmanın yavaşlatılması için uygun bir diyetle sürekli antioksidan alınması gerektiği belirtilmiştir (Hernández-Ledesma ve ark. 2005). Gıdaların içerisinde bulunan serbest radikallerin aktiviteleri sonucu kalite özellikleri zayıflar, ransit tat ve koku oluşumuyla raf ömrü kısalmır. Bu nedenle gıdalarda bunları inhibe eden antioksidanlar kullanılmaktadır. Hem gıdalarda koruyucu olarak hem de sağlık açısından kullanılan antioksidanlar arasında doğal alternatifler talep görmektedir (Huma ve ark. 2018).

Glutasyon (γ -ECG) ve karnosin (β -alanil-L-histidin) gibi bazı antioksidan etkili peptitler gıdalarda doğal olarak bulunmaktadır. Bunların dışında, bazı antioksidatif peptitler de proteinlerin hidroliziyle elde edilebilmektedir (De Castro ve Sato 2015). Peptitlerin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, serbest radikalleri uzaklaştırdığı, metal iyonlarıyla şelat oluşturduğu ve reaktif oksijen türlerini elimine ettiği bazı çalışmalarda gösterilmiş olmakla birlikte antioksidan mekanizma kesin olarak belirlenemediği bildirilmiştir (De Castro ve Sato 2015, Athira ve ark. 2014, Skwarek ve ark. 2018). Genellikle peptitlerin antioksidan etkisi amino asit kompozisyonuna ve amino asitlerin dizilimlerine bağlıdır (De Castro ve Sato 2015, Skwarek ve ark. 2018).

Öner ve Sarıdağ (2018) kaşar peynirinde antioksidan etkiye sahip olan peptitleri tanımlamışlardır. Bu çalışmada incelenen kaşar peynirlerinin antioksidan etkilerindeki farklılığın peynirin olgunlaşma derecesiyle ilgili olduğu belirtilmiş ve antioksidan etkiye sahip üç adet peptit dizilimi (RPKHPIK-H-Q, RPKHPIK, RPKHPIKH+Q) tanımlanmıştır. Benzer şekilde, Gupta ve ark. (2009) Cheddar peynirinin antioksidan etkisinin olgunlaşmayla bağlantılı olduğunu, olgunlaşmanın dördüncü ayında maksimum seviyeye ulaştıktan sonra düşmeye başladığını ve yedinci aydan sonra benzer seviyelerde kaldığını belirlemişlerdir. Basilicata ve ark. (2018) manda sütünden üretilen süt ürünlerinde bulunan biyoyararlanılabilir antioksidan peptitleri araştırmışlar ve antioksidan aktiviteye sahip yaygın olarak bulunan bir laktoglobulin kalıntısını (YVEELKPTPEGDL, f:60-72) tanımlamışlardır. Çalışmada tanımlanan peptidin intestinal epitel hücreler üzerinde hidrojen peroksitle indüklenmiş oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Geleneksel Hint fermente süt ürünü Lassi ile yapılan bir çalışmada belirlenen antioksidan etkili peptitlerin β -kazein, α 1-kazein ve κ -kazein türevleri olduğu belirlenmiştir (Padghan ve ark. 2018). Ayrıca aynı

çalışmada geleneksel starter kültüre ilave olarak *Lactobacillus acidophilus* ile üretilen Lassi'nin antioksidan olarak potansiyelinin normal Lassi'ye göre daha büyük olduğu bildirilmiştir. İnek ve keçi sütünden üretilen Erzincan tulum peynirinin antioksidan etkisi DPPH ve ABTS radikallerinin yakalanması olmak üzere iki farklı metotla belirlenmiştir (Öztürk ve Akın 2018). Bu radikallerin inaktivasyonu konusunda peptit fraksiyonlarında farklılıklar görülmüş ve bu farklılıkların radikallerin suda çözünürlüklerine bağlı olarak farklı şekilde reaksiyona girmelerinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda peynir yapımında kullanılan sütün çeşidi ve peynirin olgunlaşma derecesinin antioksidan etki üzerine etkili olduğu belirtilmiştir. Bottesini ve ark. (2013) farklı olgunlaşma düzeylerindeki Permigiano Reggiano peynirinin suda çözünür ekstraktlarının yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu etkinin olgunlaşma süresi ve *in vitro* gastrointestinal sindirimden etkilenmediğini bildirmişlerdir.

3.3. Antimikrobiyal Etki

Son yıllarda bakterilerin geleneksel antibiyotiklere karşı direnç geliştirmeleri ve aynı zamanda yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi çalışmalarındaki yavaşlama nedeniyle doğal kaynaklardan düşük toksisite ve yüksek spesifikliğe sahip antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi önem kazanmıştır. Antimikrobiyal peptitlerin kanda ve serumda stabil olmaları nedeniyle enfeksiyon kontrolünde ve gıdalarda koruyucu olarak kullanılacakları belirtilmektedir (Pessione ve Cirrincione 2016). Doğada yaygın olarak bulunan antimikrobiyal peptitler organizmaya dışarıdan gelen mikroorganizmaların kolonizasyonuna karşı ilk savunmayı oluşturmaktadır (De Castro ve Sato 2015). Yeni doğan bebekler için antimikrobiyal peptitlerin hayati olduğu, sütün içeriğindeki imminoglobulin, lizozim, laktoferrin, laktoperoksidaz sistemi ve peptitlerle antimikrobiyal etkisi olduğu bildirilmiştir (Sultan ve ark. 2018). Antimikrobiyal peptitlerin etki mekanizmaları iyi bilinmemekle birlikte, membran içinde porlar ve kanallar oluşturarak anabolik proseslerin oluşumunu bozabilecekleri belirtilmiştir (Castellano ve ark. 2016). Diyet proteinlerinden üretilen antimikrobiyal peptitler, göreceli olarak küçük (20-46 aminoasit kalıntısı), bazik (lizin veya arjinince zengin) ve amfifil (hem hidrofilik hem de hidrofobik özellikte) yapıya sahiptir (Toldrá ve ark. 2018).

Literatürde rennet ile muamele edilmiş süttten elde edilen lakteninden sonra antimikrobiyal olduğu belirlenen peptitler arasında kazeidinler, israsidin, kazosidin-1, kappasin ve laktoferrin yer almaktadır (Rizzello ve ark. 2005). Rizzello ve ark. (2005) dokuz çeşit İtalyan peynirinin (Parmigiano Reggiano, Pecorino Romano, Fossa, Canestrato Pugliese,

Caciocavallo, Gorgonzola, Crescenza, Mozzarella ve Caprino del Piemonte) *Escherichia coli* K12, *Yersinia enterocolitica* X8, *Bacillus megaterium* F6, *Listeria innocua* DSM20649, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ve *Lactococcus lactis* spp. cremoris WG2, *Salmonella* spp., *Lactobacillus sakei* A15, *Lactobacillus helveticus* PR4 bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Crescenza, Caprino del Piemonte, Caciocavallo, Pecorino Romano, Canestrato Pugliese ve Crescenza peynirlerinin araştırmada kullanılan bakterilere karşı çeşitli düzeylerde antimikrobiyal etki belirlenmiştir. Ancak Reggiano, Fossa ve Gorgonzola peynirleri olgunlaşma sırasında gerçekleşen yüksek oranda proteoliz nedeniyle antimikrobiyal etki göstermemiştir. Farklı türlerin sütleriyle üretilen peynirlerde benzer yapıda antibakteriyel peptit oluşmaktadır. Kimozin peynirde antimikrobiyal etkinin oluşabilmesi için temel etken olarak değerlendirilmiştir. Brezilya'da üretilen Coalho peynirinin *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisinin bulunduğu belirlenmiştir (Silva ve ark. 2012). Coalho peynirinin suda çözünür ekstraktlarında kimozinin as1-kazeini hidrolizi sonucu salınan israsidin f (1-23) tanımlanmıştır. Keçi ve inek sütüyle üretilen tulum peynirlerinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, keçi sütünden üretilen tulum peynirinin olgunlaşmanın 90. gününden sonra *Salmonella typhmuri* ATCC 14028'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Öztürk ve Akın 2018). Himalayalar'da üretilen bir peynir çeşidi olan Kalari peyniriyle yapılan çalışmada antimikrobiyal etki araştırılmıştır (Mushtaq ve ark. 2019). Probiyotik suşlar *Lactobacillus plantarum* NCDC 012, *Lactobacillus casei* NCDC 297 ve *Lactobacillus brevis* NCDC 021 ile zenginleştirilerek üretilen tüm Kalari peynirlerinin kullanım miktarına bağlı antimikrobiyal etkisi olduğu bildirilmiştir.

3.4. Diğer Etkiler

Kontrolsüz ve normal olmayan hücre büyümesini içeren bir grup hastalık olarak karakterize olan kanser, çeşitli organları etkilemekle birlikte sindirim sistemini etkileyen kanser çeşitleri zayıf yeme alışkanlıklarıyla ilişkilendirilmiştir (Sultan ve ark. 2018). Farklı kanser türlerinin önlenmesinde diyetin önemli yer tuttuğu ve süt proteinleri ile bu proteinlerin fraksiyonlarının kanser tedavisinde potansiyeli bulunduğu belirtilmektedir (Skwarek ve ark. 2018). Huma ve ark. (2018) Cheddar peynirinin hücrel oksidatif strese karşı koruyucu etkisini *in vivo* ve *in vitro* olarak belirlemiştir. Bu çalışmada antioksidan etkili peptitlerin *in vivo* etkisi insan kolon kanser hücre (CaCO₂) kültürüyle çalışılmış ve kansere karşı koruyucu oldukları belirlenmiştir. Cheddar peynirinin insan akciğer kanser hücrelerinin gelişmesini, hücre döngüsünü bozup aşırı apoptosisi uyarak inhibe

ettiği belirlenmiştir (Rafiq ve ark. 2018). Kalari peynirine probiyotik kültür ilavesiyle yapılan çalışmada, üç farklı kanser hücre kültürüne karşı, gelişmeyi inhibe edici, bağışıklık düzenleyici ve antidiyabetik etki belirlenmiştir (Mushtaq ve ark. 2019). Manda sütünden üretilen mozzarella peynirinin suda çözünür ekstraktlarıyla yapılan bir çalışmada *in vitro* ve *in vivo* olarak antienflamatuvar etkili peptitler belirlenmiştir; bu peptitlerin intestinal epitelyum üzerinde terapötik etkisi olduğu ve kansere karşı koruyucu olabileceği belirtilmiştir (Tenore ve ark. 2018).

Opioid etki gösteren β -kazomorfinlerin analjezik ve bağışıklık düzenleyici etkiye sahip olduğu; besin alımı, solunum, kan basıncı, hormon ve enzim seviyelerini düzenledikleri bildirilmiştir (Sienkiewicz-Szapka ve ark. 2009). Brie, Rokpol, Edamski, Gouda ve Kasztelan peynirlerinde antagonistik opioid peptitler kazoksin-6, kazoksin-C ve laktoferroksin A belirlenmiştir. De Simone ve ark. (2009) mozzarella peynirinin üretimi sırasında oluşan

peynir altı suyunun hücre düzenleyici etkisini indüklenmiş oksidatif strese maruz bırakılan CaCO_3 hücre kültürüyle belirlemişlerdir.

4. Sonuç

Peynir, dengeli bir diyetin önemli bir parçası ve sıklıkla tüketilen bir süt ürünüdür. Yüksek protein içeriği ve üretimi sırasında uygulanan işlemler sonucu peynir, ideal bir biyoaktif peptitler kaynağı haline gelmektedir. Gıdalarda bulunan biyoaktif peptitler, geleneksel ilaçlara bilinen yan etkileri olmayan doğal alternatifler olarak değerlendirilmektedir. Spesifik sağlık yararları tespit edilmiş bazı süt ürünleri ticari olarak üretilmektedir. Peynirlerdeki biyoaktif peptitlerin metabolomiks, ayırma ve tespit teknikleriyle tanımlanması ilk aşamada yapılmalıdır. Ayrıca, biyoaktif peptitlerin sindirim ile uğradıkları değişimler, kan dolaşımına girmeleri ve etki mekanizmalarının araştırılması önemlidir. Bu bilgiler, fonksiyonel gıdaların bileşiminde yer alacak güçlü doğal bileşenler olarak biyoaktif peptitlerin anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

5. Kaynaklar

Abadía-García, L., Cardador, A., Martín del Campo, S.T., Arvizu, S.M., Castaño-Tostado, E., Regalado-González, C., García-Almendarez, B. and Amaya-Llano, S.L., 2013. Influence of Probiotic Strains Added to Cottage Cheese on Generation of Potentially Antioxidant Peptides, Anti-Listerial Activity, and Survival of Probiotic Microorganisms in Simulated Gastrointestinal Conditions. *International Dairy Journal*, 3:191-197.

Ahtesh, F.B., Stojanovska, L. and Apostolopoulo, V., 2015. Processing and Sensory Characteristics of a Fermented Low-Fat Skim Milk Drink Containing Bioactive Antihypertensive Peptides, a Functional Milk Product. *International Journal of Dairy Technology*, Vol 71:230-239.

Athira S., Mann B., Saini P., Sharma R., Kumar R. and Singh A.K., 2014. Production and Characterisation of whey Protein Hydrolysate Having Antioxidant Activity from Cheese Whey. *J Sci Food Agric* 2015; 95: 2908–2915.

Baptista, D.P., Galli, B.D., Cavalheiro, F.G., Negrão, F., Eberlin, M.N. and Gigante, M.L., 2018. *Lactobacillus helveticus* LH-B02 favours the release of bioactive peptideduring Prato cheese ripening. *International Dairy Journal* 87: 75-83.

Basilicata, M.G., Pepe, G., Adesso, S., Ostacolo, C., Sala, M., Sommella, E., Scala, M. C., Messori, A., Autore, G., Marzocco, S. and Campiglia, P., 2018. Antioxidant Properties of Buffalo-Milk Dairy Products: A -Lg Peptide Released after Gastrointestinal Digestion of Buffalo Ricotta Cheese Reduces Oxidative Stress in Intestinal Epithelial Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1955.

Bottesini, C., Paoletta, S., Lambertini, F., Galaverna, G., Tedeschi, T., Dossena, A., Marchelli, R. and Sforza, S., 2013. Antioxidant Capacity of Water Soluble Extracts from Parmigiano-Reggiano Cheese. *Int J Food Sci Nutr*, 64: 953-958.

Bütikofer, U., Meyer, J., Sieber, R. and Wechsler, D., 2007. Quantification of the Angiotensin-Converting Enzyme-Inhibiting Tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in Hard, Semi-hard and Soft Cheeses. *International Dairy Journal* 17:968–975.

Castellano, P., Mora, L., Escudero, E., Vignolo, G., Aznar, R. and Toldrá F., 2016. Antilisterial Peptides from Spanish Dry-Cured Hams. Purification and Identification. *Food Microbiology*, 59: 133–141.

De Castro, R.J.S. and Sato, H.H., 2015. Biologically Active Peptides: Processes for their Generation, Purification and Identification and Applications as Natural Additives in the Food and Pharmaceutical Industries. *Food Research International*, 74: 185–198.

De Simone, C., Picariello, G., Mamone, G., Stiuso, P., Dicitore, A., Vanacore, D., Chianese, L., Addeo, F. and Ferrantia, P., 2009. Characterisation and Cytomodulatory Properties of Peptides from Mozzarella di Bufala Campana Cheese whey. *J.Pept.Sci.*; 15:251–258.

Gómez-Ruiz, J.A., Ramos, M. and Recio, I., 2002. Angiotensin-I-Converting Enzyme-Inhibitory Peptides in Manchego Cheeses Manufactured with Different Starter Cultures. *Int.Dairy J.*, 12: 697–706).

Gómez-Ruiz, J. A., Taborada, G., Amigo, L., Recio, I. and Ramos, M., 2006. Identification of ACE-Inhibitory Peptides in Different Spanish Cheeses by Tandem Mass Spectrometry. *Eur. Food Res. Technol.*, 223:595–601.

- Gonzalez-Gonzalez, C.R., Machado, J., Correia, S., McCartney, A.L., Elmore, J.S. and Jauregic, P., 2019. Highly Proteolytic Bacteria from Semi-Ripened Chiapas Cheese Elicit Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibition and Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology* 111: 449–456.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R. and Sangwan, R.B., 2009. Antioxidant Activity of Cheddar Cheeses at Different Stages of Ripening. *International Journal of Dairy Technology*, Vol 62, No 3: 339-347.
- Hernández-Ledesma, B., Miralles, B., Amigo, L., Ramos, M. and Recio, I., 2005. Identification of Antioxidant and ACE-Inhibitory Peptides in Fermented Milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1041–1048.
- Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Recio, I. and Bartolomeä, B., 2007. ACE-Inhibitory and Radical-Scavenging Activity of Peptides Derived from α -lactoglobulin f(19-25). Interactions with Ascorbic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 3392-3397.
- Huma, N., Rafiq, S., Sameen, A., Pasha, I. and Khan, M.I., 2018. Antioxidant Potential of Buffalo and Cow Milk Cheddar Cheeses to Tackle Human Colon Adenocarcinoma (CaCO₂) Cells. *Asian-Australas J Anim Sci* Vol. 31, No. 2:287-292.
- Korhonen, H. and Pihlanto, A., 2006. Bioactive Peptides: Production and Functionality. *International Dairy Journal*, 16, 945-960.
- Kunda, P.B., Benavente, F., Catalá-Clariana, S., Giménez, E., Barbosa, J. and Sanz-Nebot, V., 2012. Identification of Bioactive Peptides in a Functional Yogurt by Micro Liquid Chromatography time-of-Flight Mass Spectrometry Assisted by Retention Time Prediction. *Journal of Chromatography A*, 1229: 121–128.
- Li, Y., Sadiq, F.A., Liu, T.J. Chen, J.C. and He, G.O., 2015. Purification and Identification of Novel Peptides with Inhibitory Effect Against Angiotensin I-converting Enzyme and Optimization of Process Conditions in Milk Fermented with the yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of Functional Foods*, 16: 278–288.
- Lignitto, L., Cavatorta, V., Balzan, S., Gabai, G., Galaverna, G., Novelli, E., Sforza, S. and Segato, S., 2010. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Activity of Water-Soluble Extracts of Asiago d'allevo Cheese. *International Dairy Journal* 20: 11–17.
- Mushtaq, M., Gani, A. and Masoodi, F.A., 2019. Himalayan Cheese (Kalari/Kradi) Fermented with Different Probiotic Strains: In vitro Investigation of Nutraceutical Properties. *LWT - Food Science and Technology*, 104: 53–60.
- Ong, L., Henriksson, A. and Shah, N.P., 2007. Angiotensin Converting Enzyme-Inhibitory Activity in Cheddar Cheeses Made with the Addition of Probiotic *Lactobacillus casei* sp. Lait, 87:149–165.
- Ong, L. and Shah, N.P., 2008. Influence of Probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus helveticus* on Proteolysis, Organic Acid Profiles, and ACE-Inhibitory Activity of Cheddar Cheeses Ripened at 4, 8, and 12°C. *J. Food Sci.*, 73:111–120.
- Otağ, F.B ve Hayta, M., 2013. Gıdalarda Biyoaktif Peptit Oluşumu ve Aktivitesi Üzerine Isıl İşlem ve Fermantasyonun Etkileri. *Gıda*, 38(5): 307-314.
- Öner, Z. and Sarıdağ, A.M., 2018. Identification of Bioactive Peptides in Kashar Cheese and its Antioxidant Activities. *Int J Agric Environ Food Sci*, 2(2):44-49.
- Öztürk, H.İ. and Akın, N., 2018. Comparison of some Functionalities of Water Soluble Peptides Derived from Turkish Cow and Goat Milk Tulum Cheeses During Ripening. *Food Sci. Technol, Campinas*, 38(4): 674-682.
- Padghan, P.V., Mann, B. and Hat, S., 2018. Purification and Characterization of Antioxidative Peptides Derived From Fermented Milk (Lassi) by Lactic Cultures. *Int J Pept Res Ther*, Volume 24, Issue 2, 235–249.
- Pepe, G., Sommella, E., Ventre, G., Scala, M.C., Adesso, S., Ostacolo, C., Marzocco, S., Novellino, E. and Campigli, P., 2016. Antioxidant Peptides Released from Gastrointestinal Digestion of “Stracchino” Soft Cheese: Characterization, *In vitro* Intestinal Protection and Bioavailability. *Journal of Functional Foods* 26: 494–505.
- Pessione, E. and Cirrincione, S., 2016. Bioactive Molecules Released in Food by Lactic Acid Bacteria: Encrypted Peptides and Biogenic Amines. *Front. Microbiol.* 7:876.
- Rafiq, S., Huma, N., Gulzar, N., Murtaza, M.A. and Hussain, I., 2018. Effect of Cheddar Cheese Peptide Extracts on Growth Inhibition, Cell Cycle Arrest and Apoptosis Induction in Human Lung Cancer (H-1299) Cell Line. *International Journal of Dairy Technology*, Vol 71, No 4: 975-980.
- Rizzello, C.G., Losito, I. Gobbetti, M., Carbonara, T., de Bari, M.D. and Zambonin, P.G., 2005. Antibacterial Activities of Peptides from the Water-Soluble Extracts of Italian Cheese Varieties. *J. Dairy Sci.*, 88:2348–2360.
- Sagardia, I., Iloro, I., Elortza, F. and Bald, C., 2013. Quantitative Structure-activity Relationship Based Screening of Bioactive Peptides Identified in Ripened Cheese. *International Dairy Journal* 33: 184-190.
- Saito, T., Nakamura, T., Kitazawa, H., Kawai, Y. and Itoh, T., 2000. Isolation and Structural Analysis of Antihypertensive Peptides that Exist Naturally in Gouda cheese. *J. Dairy Sci.*, 83:1434–1440.
- Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J.E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Liceaga, A.M. and González-Córdova, A.F., 2018. Invited Review: Bioactive Compounds Produced during Cheese Ripening and Health Effects Associated with Aged Cheese Consumption. *J. Dairy Sci.* 101 :3742–3757.

- Sienkiewicz-Szłapka, E., Jarmołowska, B., Krawczuk, S., Kostyra, E., Kostyra, H. and Iwana, M., 2009. Contents of Agonistic and Antagonistic Opioid Peptides in Different Cheese Varieties. *International Dairy Journal* 19: 258–263.
- Silva, S.V., Pinhalto, A. and Malcata, F.X., 2006. Bioactive Peptides in Ovine and Caprine Cheeselike Systems Prepared with Proteases from *Cynara cardunculus*. *J. Dairy Sci.* 89:3336–3344.
- Silva, R.A., Lima, M.S.F., Viana, J.B.M., Bezerra, V.S., Pimentel, M.C.B., Porto, A.L.F., Cavalcanti, M.T.H. and Lima Filho, J.L., 2012. Can artisanal “Coalho” Cheese from Northeastern Brazil be used as a Functional Food? *Food Chem.*, 135:1533–1538.
- Skwarek, A., Darewicz, M. and Borawska-Dziadkiewicz, J., 2018. Ripened Cheese as a Source of Bioactive Peptides. *Biotechnology and Food Science*, 82(1): 49-60.
- Sultan, S., Huma, N., Butt, M.S., Aleem, M. and Abbas, M., 2018. Therapeutic Potential of Dairy Bioactive Peptides: A Contemporary Perspective, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58:1, 105-115, DOI: 10.1080/10408398.2015.1136590.
- Tenore, G.C., Pagano, E., Lama, S., Vanacore, D., Di Maro, S., Maisto, S., Capasso, R., Merlino, F., Borrelli, F., Stiuso, P. and Novellino, E., 2018. Intestinal Anti-Inflammatory Effect of a Peptide Derived from Gastrointestinal Digestion of Buffalo (*Bubalus bubalis*) Mozzarella Cheese.
- Timón, M. L., Parra, V., Otte, J., Broncano, J. M. and Petron, M. J., 2014. Identification of Radical Scavenging Peptides (<3 kDa) from Burgos-type Cheese. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 57:359–365.
- Toldrá, F., Reig, M., Aristoy, M.C. and Mora, L., 2018. Generation of Bioactive Peptides During Food Processing. *Food Chemistry*, Volume 267: 395-404.
- Torres-Llanez, M.J., González-Córdova, A.F., Hernández-Mendoza, A., García, H. S. and Vallejo-Córdoba, B., 2011. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity in Mexican Fresco Cheese. *J. Dairy Sci.*, 94:3794–3800.
- Yasuda, S. Ohkura, N., Suzuki, K., Yamasaki, M., Nishiyama, K., Kobayashi, H., Hoshi, Y., Kadooka, Y. and Igoshi, K., 2010. Effects of Highly Ripened Cheeses on HL-60 Human Leukemia Cells: Antiproliferative Activity and Induction of Apoptotic DNA Damage. *J. Dairy Sci.*, 93: 1393–1400.



Determination of the Phycocyanin, Protein Content and Sensory Properties of Muffins Containing Spirulina Powder or Fresh Spirulina

Taze Spirulina veya Spirulina Tozu İçeren Muffinlerin Fikosiyanin, Protein İçeriği ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi

Betül GÜROY¹

¹ Assis. Prof. Dr. Central Research Laboratory, Yalova University, YALOVA, TURKEY- ORCID ID: 0000-0002-4298-6256

Geliş Tarihi :11.01.2019

Kabul Tarihi :08.10.2019

Abstract

Objective: The aim of this study was to evaluate the nutritional and sensory qualities of muffins containing fresh Spirulina (*Arthrospira platensis*) or Spirulina powder (dried Spirulina).

Materials and Methods: Spirulina forms of fresh or dried was added to muffins at 3 different levels (4%, 6% and 8%). Spirulina-free muffins was prepared as a control group. Groups were evaluated by sensory analysis in terms of appearance, texture, taste, odor, color and general acceptability. Protein and phycocyanin analyzes were performed in muffins.

Results and Conclusion: In groups containing 6% and 8% fresh Spirulina were found to contain higher phycocyanin than the all groups containing dried Spirulina ($p > 0,05$). In the group containing 8% fresh Spirulina, the purity of phycocyanin was determined at food grade (A_{620} / A_{280}). The group containing 8% dried Spirulina was found to be the group with the lowest scores in terms of odor and color ($p < 0,05$). A higher sensory score was detected in the groups with 6% and 8% fresh Spirulina compared to the group containing 8% dried Spirulina ($p < 0,05$).

Keywords: Spirulina, Muffin, Phycocyanin, Protein, Sensory Properties

Öz

Amaç: Çalışmada, taze Spirulina (*Arthrospira platensis*) veya Spirulina unu (kurutulmuş Spirulina) içeren muffinlerin protein ve fikosiyanin içeriği ile duyusal özellikleri değerlendirilmiştir.

Materyal ve Yöntem: Spirulina'nın taze veya kurutulmuş formları 3 farklı seviyede (%4, %6 ve %8) muffin karışımlarına eklenmiştir. Kontrol grubuna Spirulina katılmamıştır. Gruplar görünüm, doku, tat, koku, renk ve genel kabul edilebilirlik açısından duyusal analizlerle değerlendirilmiş olup muffinlerin protein ve fikosiyanin içeriği analiz edilmiştir.

Bulgular ve Sonuç: %6 ve %8 taze Spirulina içeren gruplarda, diğer gruplardan daha yüksek fikosiyanin içeriği tespit edilmiştir ($p > 0,05$). %8 taze Spirulina içeren grubun fikosiyanin saflığı gıda derecesi (A_{620} / A_{280}) olarak ölçülmüştür. %8 kurutulmuş Spirulina içeren grup, koku ve renk açısından en düşük puan alan grup olarak bulunmuştur ($p < 0,05$). %6 ve %8 taze Spirulina içeren grupların, %8 kurutulmuş Spirulina içeren gruba kıyasla duyusal puanlamada daha yüksek skor elde ettiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Anahtar Sözcükler: Spirulina, Çörek, Fikosiyanin, Protein, Duyusal Özellikler

1. Introduction

It is thought that bakery products, including pastries, are a carbohydrate-rich energy source that plays an important role in human biology and disease development. Functional carbohydrate foods are considered as an alternative to the protection of health, since a significant part of the daily energy demand is provided from carbohydrates. Bioactive

components in foods refer to compounds derived from animal and plant sources that have a regulatory function beyond adequate nutrition in the human system (Hayes and Tiwari 2015). Functionally, the use of bioactive components in carbohydrate foods is not sufficiently common. Functional foods are a food or food ingredient with good health benefits that should be preferred during the day's energy needs.

Spirulina is a micro-algae with functional food properties. Dairy products (Güroy et al. 2016, Güroy and Keskin 2016), bakery products (Abd El Baky et al. 2015) and the use of functional foods in the baby food market are becoming widespread (Bigliardi and Galati 2013). Diplock et al. (1999) have been reported that functional foods can be used to modulate physiological systems to improve the physiological functions positively with anti-carcinogenic antimutagenic antioxidative effects that may reduce the risk of exposure to a disease or increase the welfare of the body's health. Memije-Lazaroa et al. (2018) which states that it is necessary to develop new therapeutic strategies to reduce the causes of cardiovascular complications associated with chronic kidney disease, has used nutraceuticals such as *Arthrospira maxima* (Spirulina) and C-phycoerythrin. They found that *A. maxima* and C-phycoerythrin reduce the causes of hypertension, left ventricular hypertrophy, renal dysfunction and oxidative stress associated with chronic kidney disease in the kidney and heart. Results suggests that *A. maxima* or C-phycoerythrin can be used to prevent the development of chronic kidney disease associated cardiovascular complications and to delay chronic kidney disease.

In general, microalgae can produce a great variety of secondary metabolites, which do not occur in other organisms. Spirulina is one of the fast-growing microalgae species that can produce many bioactive compounds, especially phycocyanin (Güroy et al. 2017) most commonly used in industrial areas.

Arthrospira platensis (Spirulina) used in this study was produced in Schlösser (1994) nutrient conditions and in 635 L volume raceway type algal tanks under laboratory conditions at 30°C temperature. The aim of this study was to determine the optimum use of Spirulina powder and fresh Spirulina in muffins.

2. Materials and Methods

2.1. *Spirulina (Arthrospira) platensis* Culture

The *Spirulina (Arthrospira) platensis* was cultured in Algae Culture Unit of Yalova University. The starter cultures were prepared by inoculating *Spirulina platensis* in Schlösser (1994) medium at 30°C and illumination of 2500 lux (16 h). The *Arthrospira (Spirulina) platensis* was cultivated 625 L of Schlösser's medium. Cultural homogenization was achieved using air pumps with an air flow rate of 30 L/h.

2.2. Fresh Spirulina biomass and Spirulina powder

Fresh Spirulina Preparation: Microalgae culture (*Arthrospira platensis*) was collected by passing through 80 micron fabric, washed with tap water and then filtered to harvest a dark green slurry. The dark green-colored paste biomass that filtered from the water was called "fresh Spirulina" (Figure 1).



Figure 1. Fresh Spirulina
Spirulina Powder Preparation: The freshly harvested Spirulina was first dried with freeze drier for 22 hours at -60°C. It was then ground to obtain "Spirulina powder" (Figure 2).



Figure 2. Spirulina powder

2.3. Formulation of Muffins

The experimental muffins formula is shown in Table 1. Butter, sugar and eggs were mixed using a mixer for 2 min at medium speed. Then, all ingredients were added and blended 1 minute. Muffin dough was prepared using a mixer and special muffin dough bowl. Fresh or powder Spirulina was added at ratios

4‰, 6‰ and 8‰ by weight of the muffin dough mixtures (Figure 3). Muffin were immediately baked for 35 min at 170°C in an oven, cooled, and then removed from baking bowl. They were further cooled to room temperature and stored in plastic bags until used.

Table 1. Ingredients of muffins prepared using Spirulina

Ingredients (g)	Control	Fresh Spirulina biomass			Spirulina powder		
		4 ‰	6 ‰	8 ‰	4 ‰	6 ‰	8 ‰
Egg	15	16,7	17,02	17,59	17,28	17,52	17,86
Sugar	26,6	27,9	28,4	28,37	28,8	29,21	29,76
Milk	39,9	41,9	42,5	42,56	43,2	43,81	44,65
Butter	31,9	33,5	34,1	34,05	34,56	35,05	35,72
Baking powder	1,33	1,4	1,42	1,41	1,44	1,46	1,48
Vanillin	1,33	1,4	1,42	1,41	1,44	1,46	1,48
Wheat Flour	47,9	50,3	51,1	51,07	51,84	52,58	53,58
Spirulina biomass	0	0,63	0,95	1,32	0	0	0
Spirulina powder	0	0	0	0	0,64	0,98	1,34

Dough weight respectively; 149,9 g, 157,2 g, 159,7 g, 165,1 g, 162,1 g, 164,4 g, and 167,5 g



Figure 3. Dough mixture of different group muffins

2.4. Protein and Phycocyanin Analysis

Protein was analyzed by Kjeldahl method. Phycocyanin analysis were performed by spectrophotometrically methods. The percentage of crude phycocyanin was calculated according to the formula stated in Equation 1 (Boussiba and Richmond 1979, Oliveira et al. 2009). The method followed is that to extract blue supernatant; dry weight of sample of all experiment groups was calculated after drying in the oven at 80°C for 6h. To determine the percentage of crude phycocyanin, 40 mg of each group was weighed, 10 mL of phosphate buffer

(100 mM) added and stirred until complete dissolution. The samples were stored in refrigerator at 4°C overnight. The samples were subsequently mixed in centrifuge at 10°C, at 3500 rpm for 5 min. After centrifuge blue supernatant was reserved for spectrophotometric analysis. The analysis procedure was conducted in triplicate. After centrifuge, blue supernatant was separated from residue. The absorbance value of blue supernatant was read in a spectrophotometer at 620 nm using phosphate buffer as blank. Phycocyanin was calculated according to the following Equation 1.

$$\text{Equation 1: \% Crude C- Phycocyanin (C-PC)} = \frac{[A(620) \times 10 \times 100]}{3,39 \times \text{sample (mg)} \times (\% \text{ dry weight})}$$

$A(620)$ is the absorbance of sample supernatant at 620 nm, 10 is the dilution volume, 100 is the representative of 100%, and 3,39 is the extinction of coefficient for phycocyanin at 620 nm.

The purity of C-phycocyanin is determined by the equality of A_{620} / A_{280} (Antelo et al. 2010). When A_{620} / A_{280} ratio is $\geq 0,7$ and above, the degree of purity of phycocyanin is expressed in the food grade as a natural blue color additive in foods. When the A_{620} / A_{280} is between 0,7 and 3,9 the phycocyanin purity is considered to be of the reactive grade. A_{620} / A_{280} is considered to be an analytical grade

when 4 and above. In this study, the degree of purity of the phycocyanin was calculated according to the Equality 2 according to A_{620} / A_{280} absorbance ratio using the spectrophotometry-based method (Antelo et al. 2010). The C-phycocyanin purity ratio is considered as the food grade when A_{620} / A_{280} is $\geq 0,7$, and as the reagent grade when A_{620} / A_{280} is between 0,7 and 3,9; and as analytical grade when A_{620} / A_{280} is $\geq 4,0$. C-phycocyanin purity ratio was calculated using the spectrophotometry-based method on the absorbance ratio A_{620} / A_{280} . Calculations of purity ratio is given below;

$$\text{Equation 2: Purity ratio} = \frac{A(620)}{A(280)}$$

Phycocyanin concentration refers to the amount of the phycocyanin in blue supernatant. The C-phycocyanin concentration in mg/mL was calculated from the optical densities at

652 and 615 nm by spectrophotometry-based method (Bennett and Bogorad 1973). Calculations of phycocyanin concentration is presented Equation 3.

$$\text{Equation 3: C-PC (mg/mL)} = \frac{[A(615) - 0.474 * A(652)]}{5.34}$$

Yield refers to the amount of the phycocyanin in cakes containing Spirulina. The Phycocyanin yield was calculated using the method described by

(Silveira et al. 2007). Calculations of phycocyanin yield is presented Equation 4.

$$\text{Equation 4: Yield of phycocyanin (mg/g)} = \frac{[C-PC (mg/mL) * \text{Solvent volume (mL)}]}{\text{dry biomass (g)}}$$

2.5. Sensory Analysis

The sensory evaluation was performed by a panel of 10 people trained in the Department of Food Processing at Yalova University. We evaluated muffins the 6-point hedonic scale. 5 represented the highest degree and represented at least 1, color, taste, texture, appearance, texture and overall acceptability. For sensory analysis, muffins from different groups are presented in Figure 4.

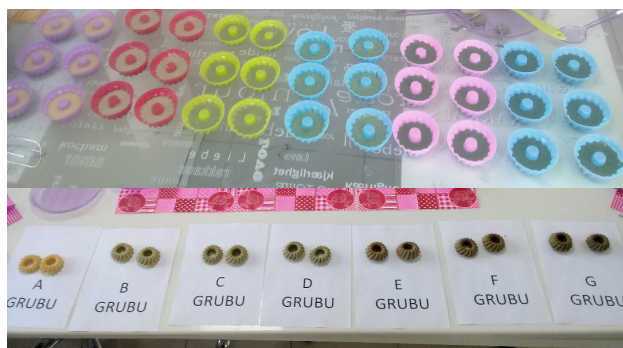


Figure 4. Muffins from different groups for sensory analysis

2.6. Statistical analysis

Statistical analysis was performed with SPSS software (version 20.0, SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Experimental groups were compared using ANOVA followed by Tukey post hoc test ($p < 0,05$).

3. Results and Discussion

3.1. Sensory Analysis

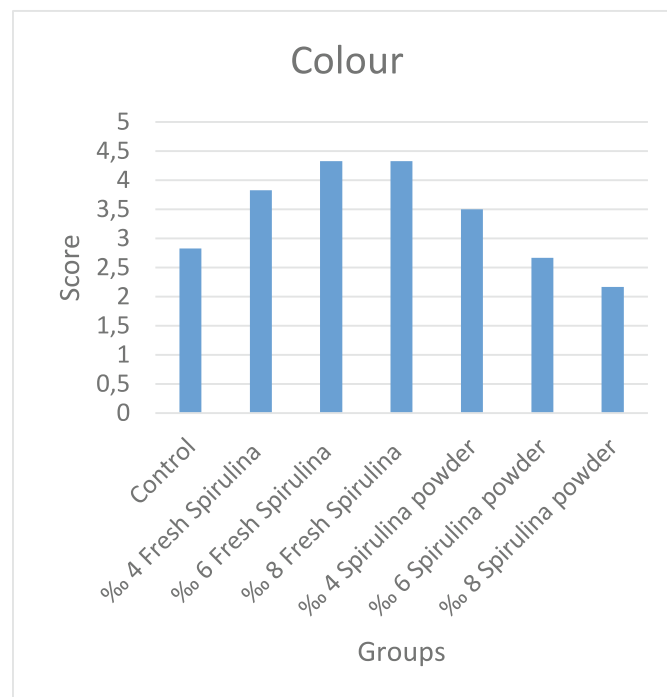
In the sensory analysis, there were no significant differences between the groups in terms of appearance, texture, taste and general acceptability parameters (Table 2). Depend on the scores, 8% fresh Spirulina groups were the highest with regard to appearance, texture and general acceptability parameters ($p > 0,05$). Even though there were no significant differences between the groups, 8% fresh biomass group had the highest score in terms of general acceptability. Although there was no statistically significant difference in taste parameters with other groups, in 4 % Spirulina powder group had the highest score ($p > 0,05$).

Table 2. Sensory analysis

Parameters	Control	4‰ biomass	6‰ biomass	8‰ biomass	4 ‰ powder	6‰ powder	8‰ powder
Appearance	2,83±1,47	3,00±1,26	3,50±0,84	4,17±0,75	4,00±1,26	2,67±1,97	3,00±1,90
Texture	3,50±1,38	3,67±1,21	3,50±1,05	4,33±0,82	4,00±0,89	2,83±1,72	3,00±1,55
Taste	3,17±1,17	3,50±1,38	3,50±1,52	3,50±1,38	3,83±1,17	3,50±1,05	3,17±1,17
Odour	4,00±1,55 ^{ab}	4,67±0,52 ^b	3,83±1,17 ^{ab}	4,17±0,75 ^{ab}	4,00±1,26 ^{ab}	3,33±1,63 ^{ab}	2,83±1,83 ^a
Colour	2,83±1,47 ^{ab}	3,83±1,33 ^{ab}	4,33±1,03 ^b	4,33±0,82 ^b	3,50±1,76 ^{ab}	2,67±1,97 ^{ab}	2,17±1,83 ^a
Acceptability	2,67±1,37	3,33±1,37	3,17±1,33	3,83±1,17	3,50±1,22	3,50±1,38	3,17±1,17

Significant differences were found in odor and color parameters between the groups. The highest score in terms of odor was 4‰ fresh Spirulina group ($p<0,05$). The lowest score in terms of odor was 8‰ Spirulina powder group ($p<0,05$). In control group were similar score in terms of odor 4‰ and 6‰ Spirulina powder groups with 6‰ and 8‰ fresh Spirulina groups. Natural or synthetic colorants are used to improve the

color quality of food products. Phycocyanin a natural blue pigment and is a functional bioactive substance that is preferred in the food industry instead of synthetic pigments (Jespersen et al. 2005). According to the results of sensory analysis, higher scores were determined in color scores 6‰ and 8‰ fresh Spirulina groups compared to 8‰ Spirulina powder group ($p<0,05$) (Figure 5).

**Figure 5.** Sensory analysis results in terms of colour

Sensory results of this study have shown that the use of Spirulina biomass can be more preferable than the control in general acceptability assessments. The fresh Spirulina in muffins provided a more pronounced color and increased preference. According to these results, the Spirulina biomass-containing muffins were determined to be as palatable as control group. Saggi and Sundaravalli (2013) reported that they added 6,6 g, 100 g, and 10 g of Spirulina flour to 100 g of a cupcake mixture, and obtained positive results in sensory analysis in

different traditional products including Spirulina. Moreover, according to the results of microbial analysis, it was reported that bacteria and fungi did not occur at the 30th day of the study. Additionally, Beaulieu et al. (2015) reports that antibacterial peptides isolated from algal protein hydrolysates show inhibitory activity against *Staphylococcus aureus*. Although no shelf life study was conducted in this study, results were obtained that could shed light on different researches.

3.2. Protein and Phycocyanin Analysis

Nutritional quality were evaluated among the research groups by protein and phycocyanin analysis. Results showed that significant differences were found between the content of phycocyanin (C-PC)

and the purity ratio among the groups containing Spirulina (Table 3). The highest phycocyanin yield was 21,05% in 8‰ fresh Spirulina and the lowest phycocyanin content was 10,21% in 4‰ Spirulina powder (Figure 6).

Table 3. Protein and phycocyanin analysis

Groups	Purity Ratio	% C-PC	Phycocyanin concentration(mg/mL)	Phycocyanin yield (mg/g)	% Protein
% 4 Spirulina Biomass	0,2	0,61	0,05	12,62	6,76
% 6 Spirulina Biomass	0,5	0,99	0,08	20,44	7,68
% 8 Spirulina Biomass	0,7	0,99	0,09	21,05	7,73
% 4 Spirulina powder	0,3	0,47	0,04	10,21	6,74
% 6 Spirulina powder	0,4	0,60	0,05	11,96	7,14
% 8 Spirulina powder	0,3	0,71	0,06	14,74	7,55
Control	none	none	none	none	6,32
Spirulina powder*	4,1	22,82	2,35	575,12	60
Fresh Spirulina *	1,3	39,05	0,51	120,53	60

* *Spirulina platensis* (Spirulina powder/fresh) used in this study was analyzed before adding the muffins.

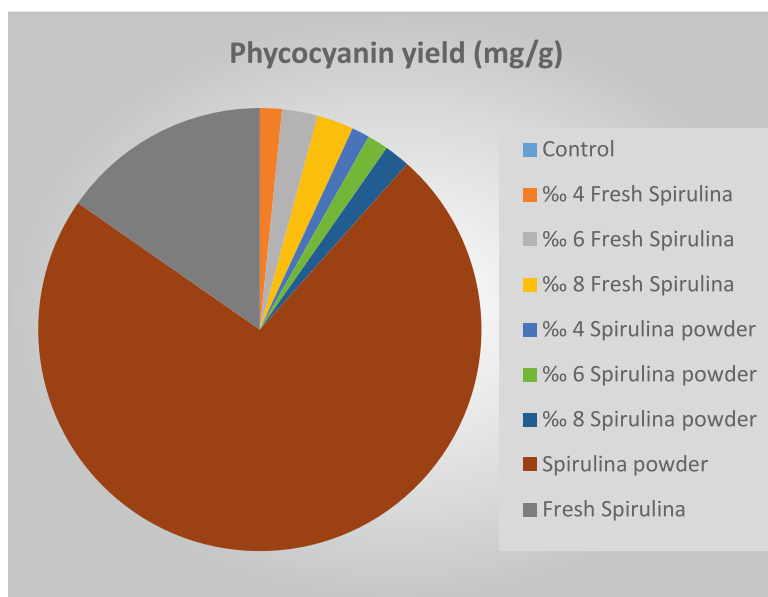


Figure 6. Phycocyanin yield of muffin groups

Phycocyanin is a pigment sensitive to heat treatment (Güroy et al. 2017). About 20% of the dry weight of Spirulina may contain phycocyanin (Vonshak 1997). Spirulina powder used in the experiments is high in phycocyanin content and above 4 purity ratio (Table 3). In this study, the dried Spirulina group was twice exposed to heat treatment. When Spirulina is subjected to heat treatment, losses occur in the amount of phycocyanin in its composition (Figure 8). Although freeze drying preserves the properties of the components (Güroy et al. 2017), the expected results were not observed in this study. Spirulina, which was

brought into the powder form, was probably affected by external factors (such as light). Therefore, the damage of phycocyanin may have seen more. Even so, with the increase in the proportion of Spirulina in muffins, it has been determined that the content of phycocyanin is also positively affected, among the experimental groups. The use of Spirulina in fresh biomass or powder form in muffins has changed the values of phycocyanin. Spirulina powder containing groups contained lower level phycocyanin than those made with fresh biomass (Figure 6).

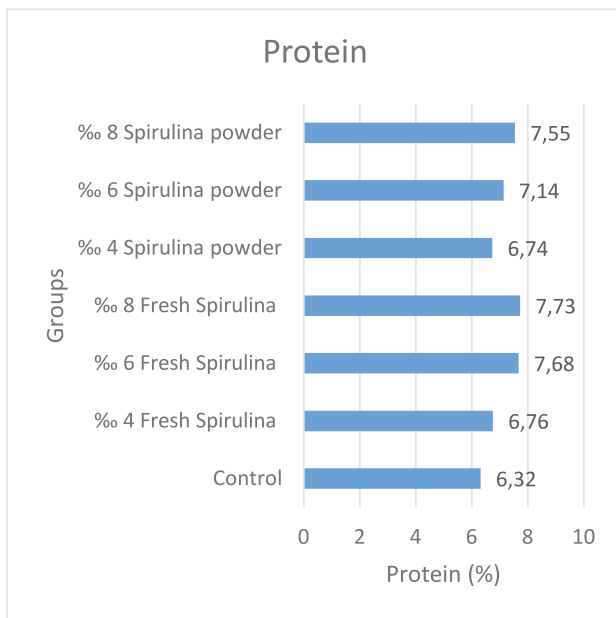


Figure 7. Protein analysis of muffin groups

In this trial, phycocyanin purity was positively influenced by the increase in Spirulina ratio in muffins. Phycocyanin purity degree is an important criterion for the determination of industrial use. If the purity ratio is 0,7 and above, the purity of phycocyanin at the food grade, the purity of the phycocyanin ratio between 2 and 3,9 is considered to be the reactive grade. It is accepted that it has an analytical purity degree of 4 and above (Kuddus et al. 2013). The green color in the muffins groups prepared with dried biomass was more prominent and bright. In the group containing 8‰ fresh Spirulina biomass, the purity of phycocyanin (Table 3) was determined at food grade (A_{620}/A_{280}). However, it is possible to talk about phycocyanin in the group which contains only 8‰ fresh biomass. Although Spirulina powder provides a greener appearance in the dough mixture (Figure 3), we can understand that it is caused by chlorophyll. Although many plant sources contain chlorophyll, Spirulina is one of the rare sources of phycocyanin. According to the results of this research, the use of fresh Spirulina biomass in the production of muffin will give us the opportunity to benefit more from the phycocyanin. In this trial, it was determined that the adding fresh Spirulina biomass improved the phycocyanin quality of muffins. In a scientific research aimed at functional food development with the addition of Spirulina biomass and phycocyanin to biscuits has been reported to result in a more accentuated green color in the biscuit with an increase in the amount of biomass (3‰, 6‰ and 9‰). Foods containing bioactive substances are nutritional groups

known as functional food that have the role of improving, treating and positively promoting human health (Vulic et al. 2014). Although all groups the muffins adding Spirulina contain phycocyanin, the 6‰ and 8‰ fresh Spirulina containing groups best meet this definition.

While bakery products are a food source consumed in daily nutrition, most of them are known to be low protein. However, it is possible to produce high quality products when prepared with high value added foods such as Spirulina. With the increase in the ratio of Spirulina, protein content in all groups showed a tendency to increase. While 6,32% protein content was determined in the control group, 7,73% protein was determined in the 8% fresh Spirulina containing muffins (Figure 7).

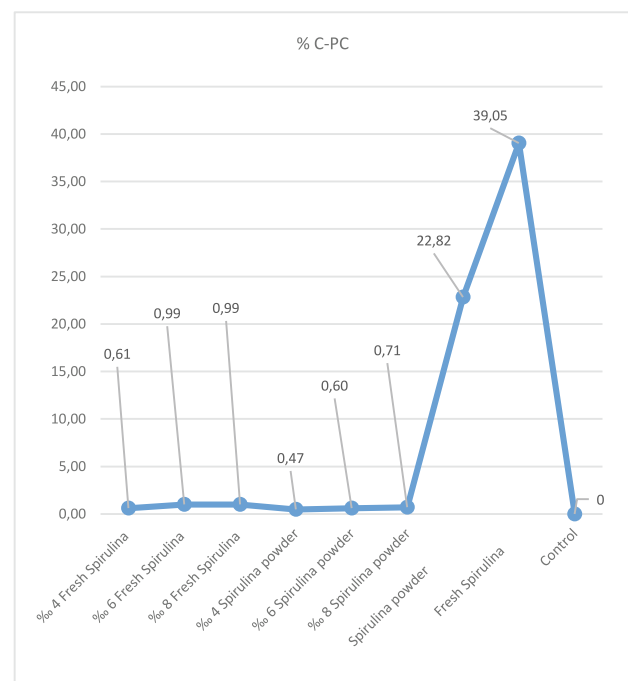


Figure 8. Phycocyanin analysis in Spirulina groups

In this study, it was determined that Spirulina addition to muffin improved the protein content. Ak et al. (2016) achieved results that improved protein content (11.63%) with the addition of 10% Spirulina powder in bread. It is also reported that mold is prevented in bread stored in room conditions. To investigate new alternative protein sources that can be used for human in bakery products that it has been reported that a protein-rich substance (47% protein) of insect powder (*Acheta domestica*) is useful for protein and fiber content replace wheat meal (González et al. 2019). Shahbazizadeh et al. (2015) reported that Iranian traditional cookies have changed the dried *Spirulina platensis* biomass by 0.5%, 1% and 1.5% instead of wheat flour, and that Spirulina reinforced cookies have a favorable effect on antioxidant properties.

In addition that they found increasing of iron, protein and gamma-linolenic acid content of Spirulina adding and organoleptic evaluation made by hedonic tests, the samples containing 1% and 1.5% Spirulina powder the highest scores after the control. According to the results of this study, the positive effects of the use of Spirulina in muffins are seen. In terms of protein, phycocyanin and its overall acceptability, the author recommends using 6% and 8% fresh Spirulina in muffins.

5. References

Abd El Baky, H.H., El Baroty, G.S. and Ibrahim, E.A., 2015. Functional Characters Evaluation of Biscuits Sublimated with Pure Phycocyanin Isolated from Spirulina and Spirulina Biomass. *Nutricion Hospitalaria (Nutr Hosp.)*; 32(1):231-241. DOI:10.3305/nh.2015.32.1.8804

Ak, B., Avşaroğlu, E., Işık, I., Özyurt, G., Kafkas, E., Etyemez, M. and Uslu, L., 2016. Nutritional and Physicochemical Characteristics of Bread Enriched with Microalgae *Spirulina platensis* Int. Journal of Engineering Research and Application, Vol. 6, Issue 12, (Part-4), pp.30-38.

Antelo, F.S., Anschau, A., Costa, J.A.V. and Kalil, S.J., 2010. Extraction and Purification of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* in Conventional and Integrated Aqueous Two-Phase Systems, *J Braz Chem Soc* 21. 921–926. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532010000500022>

Beaulieu, L., Bondu, S., Doiron, K., Rioux, L.E. and Turgeon, S.L., 2015. Characterization of Antibacterial Activity from Protein Hydrolysates of the Macroalga *Saccharina longicruris* and Identification of Peptides Implied in Bioactivity. *Journal of Functional Foods*, 17, 685-697. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.026>

Bennett, A. and Bogorad, L., 1973. Complimentary Chromatic Adaptation in a Filamentous BlueGreen Alga, *The Journal of Cell Biology* 58, (2), 419-435.

Bigliardi, B. and Galati, F., 2013. Innovation Trends in the Food Industry: The Case of Functional Foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31, 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>

Boussiba, S. and Richmond, A.E., 1979. Isolation and Characterization of Phycocyanins from the Blue-Green Alga *Spirulina platensis*. *Arch Microbiol* 120. 155–9.

Diplock, A.T., Aggett, P.A., Ashwell, M., Borner, F., Fern, E.B. and Roberfroid, M.B., 1999. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. *British Journal of Nutrition (Br J Nutr)*; 81:1, 1-27.

4. Conclusion

Experimental groups containing Spirulina biomass gave positive results in terms of nutritional quality and preference. In fact, biomass can be said to have better protected of freshness due to less heat treatment. Among marketable Spirulina products, fresh Spirulina is recommended to be widely used. The author believes that fresh Spirulina biomass should be considered just like daily milk and Spirulina culture should be expanded.

González, C.M., Garzón, R., and Rosell, C.M., 2019. Insects as Ingredients for Bakery Goods. A Comparison Study of *H. illucens*, *A. domestica* and *T. molitor* flours. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, (51), 205-210. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.021>

Güroy, B. and Keskin, G., 2016. The Effect of Spirulina Powder or Biomass Added in Yogurt on Sensory and Bacteriological Analysis. 2. Algal Technology (Oral presentation). Izmir, Turkey.

Güroy, B., Güroy, D. and Keskin, G., 2016. Effects on Microbiological and Sensory Parameters of Buttermilk as Fermented Milk Product of *Spirulina platensis* Biomass (Oral presentation). International Congress on Food of Animal Origin, Cyprus, (No:3050859).

Güroy, G., Karadal, O., Mantoğlu, S. and Cebeci, O.I., 2017. Effects of Different Drying Methods on C-phycocyanin Content of *Spirulina platensis* Powder. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(2): 129-132. doi: 10.12714/egejfas.2017.34.2.02

Hayes, M. and Tiwari, B.K., 2015. Bioactive Carbohydrates and Peptides in Foods: An Overview of Sources, Downstream Processing Steps and Associated Bioactivities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 22485-22508; doi:10.3390/ijms160922485

Jespersen, L., Strømdahl, L.D., Olsen, K. and Skibsted, L.H., 2005. Heat and Light Stability of Natural Blue Colorants for Use in Confectionery and Beverages. *Eur Food Res Technol*. 220: 261–266. doi: 10.1007/s00217-004-1062-7

Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G. and Al-Hazimi, A., 2013. Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin. *BioMed Research International*. ID 742859:9. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/742859>.

Memije-Lazarova, I.N., Blas-Valdivia, V., Franco-Colín, M. and Cano-Europa, E., 2018. *Arthrospira maxima* (Spirulina) and C-phycocyanin Prevent the Progression of Chronic Kidney Disease and its Cardiovascular Complications. *Journal of Functional Foods*, Volume 43, Pages 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.01.013>

Oliveira, E.G., Rosa, G.S., Moraes, M.A. and Pinto, L.A.A., 2009. Characterization of Thin Layer Drying of *Spirulina platensis* Utilizing Perpendicular Air Flow, *Bioresource Technology* 100. 1297-303. doi: 10.1016/j.biortech.2008.05.052

Saggu, S.R. and Sundaravalli, A., 2013. Development and Evaluation of Value-Added Iron Rich *Spirulina* Millet Mix Flour. *International Journal of Science and Research*, Volume 5 Issue 10, (IJSR)ISSN (Online): 2319-7064. Paper ID: ART20162539

Schlösser, U.G., 1994. SAG-Sammlung von Algenkulturen at the University of Goettingen Catalogue of Strains. *Bot. Acta* 107, 113-186.

Shahbazizadeh, S., Khosravi-Darani, K. and Sohrabvand, S., 2015. Fortification of Iranian Traditional Cookies with *Spirulina platensis*. *Annual Research & Review in Biology* 7(3): 144-154, Article no.ARRB.2015.117ISSN: 2347-565X. DOI: 10.9734/ARRB/2015/13492

Silveira, S. T., Burkert, J. F. M., Costa, J.A.V., Burkert, C.A.V. and Kalil, S.J., 2007. Optimization of Phycocyanin Extraction from *Spirulina platensis* Using Factorial Design. *Bioresource Technology* 98, 1629-1634. doi:10.1016/j.biortech.2006.05.050

Vulic, J., Čebovic, T., Čanadanovic-Brunet, J., Četkovic, G., Čanadanovic, V., Djilas, S., and Tumbas, V., 2014. *In vivo* and *in vitro* Antioxidant Effects of Beetroot Pomace Extracts. *Journal of Functional Foods*. 6: 68-175. DOI 10.1016/j.jff.2013.10.003



Maraş Dondurmasının Bazı Özelliklerinin İncelenmesi

Some Properties of Maras Ice Cream

Fatma FEDAKAR¹, Özlem TURGAY²

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, KAHRAMANMARAŞ, TÜRKİYE-ORCID ID: 0000-0003-1046-9980

² Prof. Dr., Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, KAHRAMANMARAŞ, TÜRKİYE- ORCID ID: 000-0003-2286-833X

Geliş Tarihi : 04.07.2019

Kabul Tarihi : 27.12.2019

Amaç: Bu çalışma Maraş dondurmasının bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Yöntem: Kahramanmaraş'ta üretilen ve 1. kalite olarak satışa sunulan 5 farklı dondurma örneğinde üç tekrar olarak yapılmıştır.

Bulgular ve Sonuç: Yapılan analiz sonuçlarına göre kuru madde (%), kül (%), titrasyon asitliği (% laktik asit), protein (%), şeker (%), yağ (%), pH değeri, hacim artışı ve viskozite (cp) ortalama değerleri sırasıyla %38,17 (p<0,05); 0,98 (p<0,05); 0,27 (p<0,05); 4,79 (p<0,05); 21,55 (p<0,05); 5,27 (p<0,05); 6,43 (p>0,05); 2,62 (p<0,05); 31,18 (p>0,05) olarak tespit edilmiştir. İlk erime ve tam erime zamanı 23,8 (p<0,05) ve 76,8 (p<0,05) dakikada gerçekleşmiştir. Dondurma örneklerinin erime oranları 30. dakikada %15,8, 40. dakikada %19,8, 50. dakikada %47,6 ve 70. dakikada %75,4 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca dondurma örneklerinde bazı mineral madde miktarları şu şekildedir: ortalama kalsiyum 1.341,0 mg/kg, fosfor 1056,6 mg/kg, sodyum 296,6 mg/kg, potasyum 1.182,0 mg/kg, demir 0,003 mg/kg, çinko 5,3 mg/kg ve magnezyum 167,7 mg/kg (p<0,05).

Anahtar Kelimeler: Maraş Dondurması, Fiziksel Özellikler, Kimyasal Özellikler

Objective: This study was conducted to detect some physical and chemical properties of Maras ice cream.

Materials and Methods: Analyzes were made using 5 different ice cream samples that were first quality and randomly selected from known brands of Kahramanmaraş ice cream producers.

Results and Conclusion: According to results of average values of dry matter (%), ash (%), titration acidity (%), protein (%), sugar (%), fat (%), pH rate, overrun and viscosity rates were 38,17 (p<0,05); 0,98 (p<0,05); 0,27 (p<0,05); 4,79 (p<0,05); 21,55 (p<0,05); 5,27 (p<0,05); 6,43 (p>0,05); 2,62 (p<0,05); 31,18 (p>0,05), respectively. First melting and full melting time were concluded as 23,8 (p<0,05) and 76,8 (p<0,05) minutes. Melting rate at 30., 40., 50. and 70. min were calculated as 15,8; 19,8; 47,6; 75,4 %, respectively Average values were found as for calcium 1.341,0 mg/kg, phosphor 1.056,6 mg/kg, sodium 296,6 mg/kg, potassium 1.182,0 mg/kg, iron 0,003 mg/kg, zinc 5,3 mg/kg and magnesium 167,7 mg/kg, (p<0,05).

Keywords: Maras Ice cream, Physical properties, Chemical properties

1.Giriş

Süt; memeli canlılarda doğum sonrası salgılanan, içeriğinde yavrunun ihtiyacı olan önemli maddeleri bulunduran ve kendine has tadı ve kokusu olan bir besin maddesidir (Badem 2006). Diğer besin maddelerine kıyasla hemen hemen bütün besin elementlerini, enzimleri, vitaminleri, antikorları ve daha birçok yararlı maddeyi yapısında bulunduran sindirimi kolay, organizmanın gelişebilmesi için gerekli organik ve anorganik bileşiklerden oluşmuş bir gıda maddesidir (Metin 2005, Badem 2006).

Bitkisel ve hayvansal gıdalar içerisinde önemli bir yere sahip olan sütün taşınmasının zorluğu, hacimli olması ve çabuk bozulması gibi sebepler daha uzun

ömürlü ürünlere dönüştürülmesini zorunlu kılmıştır. Dayanıklı süt ürünleri denildiğinde akla gelen ve son yıllarda önemli gelişmeler gösteren dondurma hem ülkemizde hem de dünyada tüketilen bir gıdadır (Antepüzümü 2005).

Dondurma Tebliği'ne göre (Anonim 2005), dondurma, bileşiminde süt ve/veya süt ürünleri, şeker, içme suyu, izin verilen katkı maddeleri içeren, arzu edildiğinde yumurta ve/veya yumurta ürünleri, salep, aroma maddeleri ve çeşni maddeleri gibi bileşenleri bulunduran karışımın tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulmasıyla elde edilen, yumuşak veya sertleştirildikten sonra tüketime sunulan

üründür. Bileşimlerine, aromalarına ve pazar taleplerine göre dondurma; sade dondurma, meyveli dondurma, Maraş usulü dondurma ve Maraş dondurması olarak, yenilebilir buzlu ürünler ise; meyveli buz, sütlü buz, su buz, sorbe, bitkisel yağlı sütlü buz olarak sınıflandırılmaktadır.

Maraş dondurması ülkemizde markalaşmış bir ürün olmasının yanı sıra onun başlıca özelliği üretiminde salep kullanılmasıdır. Halep'ten gelerek Kahramanmaraş'a yerleşen Hacı Mehmet isimli bir şahsın Kahramanmaraş'ta salepli dondurmanın ilk üreticisi olduğu düşünülmektedir. Maraş Dondurması üretiminde tercih edilen, dondurmanın yapı, tekstür ve aromasında önemli yere sahip olan salep yaklaşık 2300 rakıma sahip Ahir Dağı'nda ve çevresinde yaygın olarak bulunmaktadır. (Tekinşen ve Yalçın 2008). Kahramanmaraş ve çevresi, yumruları salep olarak kullanılan yabani orkideler bakımından ülkenin önemli bir yöresi olup, yetişen başlıca yabani orkide türleri ise *Orchis spitzelii*, *Dactylorhiza osmanica*, *O. tridentata*, *O. anatolica*, *O. mascula*, *Orphys holoserica*, *O. morio*, *Himantoglossum affine*, *Dactylorhiza romana*, *Anacamptis pyramidalis*'dir (Tekinşen ve ark. 2011, Turgay ve Çınar 2017).

Karışımında fonksiyonel özelliğe sahip stabilizatör ve emülgatör maddeler mikse etkin bir şekilde işlenmektedir. Bu katkı maddeleri az oranlarda ve genellikle miks ile birlikte ilave edilirler. Dondurmanın erimeye karşı gösterdiği direnç derecesi, yapısı ve kütlesiyle kalitesi belirlenmektedir. -18°C'lik muhafaza sırasında fiziksel yapısının bozulmaması onun kaliteli bir dondurma olduğunu göstermektedir (Marshall ve ark. 2003, Tekinşen ve Yalçın 2008).

Geçmişte yapılan bilimsel çalışmalar ışığında, Maraş Dondurmasında yapılan fiziksel ve kimyasal analizler ve karşılaştırılmış sonuçlar ile harmanlanmış bu çalışmanın sonraki çalışmalara ışık tutması hedeflenmiştir. Bu çalışmada ülkemizde sevilerek tüketilen Maraş Dondurmasının kuru madde (%), kül (%), titrasyon asitliği (% laktik asit), protein (%), şeker (%), yağ (%), pH değeri, hacim artışı, viskozite, ilk erime ve tam erime zamanı ile mineral madde oranının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Materyal olarak Kahramanmaraş iline ait dondurma üretim tesislerinden temin edilen Maraş Dondurmasından 5 farklı dondurma örneği kullanılmıştır. Örneklere A, B, C, D, E olarak kodlanmıştır ve 3 tekrar olarak, 2016 yılı yaz döneminde çalışılmıştır. Kahramanmaraş'ta dondurma üreticileri yağ ve protein içeriğine bağlı olarak farklı kalite ve fiyatlarda Maraş dondurması üretmektedirler. Bu çalışmada 1. Kalite olarak satılan dondurma örnekleri kullanılmıştır.

Analizler Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Örneklerde kuru madde, kül, hacim artışı tayini, kısmi erime (ilk damlama) ve tam erime süresinin belirlenmesi, erime oranları, pH tayini, viskozite tayini, yağ tayini, protein tayini, toplam şeker tayini, titrasyon asitliği, mineral madde analizleri yapılmıştır.

2.2. Yöntem

Çalışmada, kuru madde tayini, kül tayini (Anonim 2015), protein analizleri (Metin ve Öztürk 2002), toplam şeker analizi Lane Eynon metoduna göre, hacim artışı ve yağ tayini (Metin 2012), viskozite tayini (Kaçar 2002), erime oranı (Sarioğlu Yavaş, 2015), ilk damlama zamanı (Atsan ve Çağlar 2008), titrasyon asitliği (Bakır 2015) yapılmıştır. Örneklerin mineral madde içerikleri (Ca, P, Na, K, Fe, Zn, Mg) ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry) ile yapılmıştır.

3. Tartışma ve Sonuç

Örneklerde ortalama kuru madde %36,8-40,3, kül %0,9-1,09, % titrasyon asitliği 0,23-0,34, protein %3,91-5,76, şeker %16-28,6, yağ %4,36-6,03 arasında tespit edilmiştir. Örneklerin pH değerleri 6,31-6,58 arasında, hacim artışı değerleri %24,77-33,86 aralığında, cp cinsinden en yüksek viskozite değeri 3,49 en düşük viskozite değeri ise 29,49 olarak, ilk damlama sürelerini 13-39,5 dk aralığında, en uzun tam erime sürelerini 60-70 dk aralığında bulunmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Maraş dondurması örneklerinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları

Örnek	Kuru Madde (%)	Kül (%)	Titrasyon Asitliği (% laktik asit)	Protein (%)	Şeker (%)	Yağ (%)	pH	Hacim Artışı (%)	Viskozite (cp)	İlk Damlama	Tam Erime
1	38,9	1,09	0,34	5,76	18,47	5,29	6,43	12,3	31,49	24,0	70
2	38,0	0,92	0,23	3,91	20,48	4,36	6,58	12,1	30,98	24,0	73
3	40,3	1,08	0,26	5,17	28,06	6,03	6,46	25,9	29,49	13,0	75
4	36,8	0,9	0,26	4,33	16,00	5,73	6,31	12,5	31,11	18,5	81
5	36,8	0,9	0,27	4,77	24,75	4,93	6,37	22,3	29,77	39,5	85

Kuru madde miktarı dondurmanın kalitesine, besleyicilik özelliğine önemli katkıda bulunmaktadır. Eksikliğinde ise yapı kusurları, kısa sürede erime ve tat bozukluğu gibi istenmeyen durumlar görülmektedir. Ortalama kuru madde miktarının %36,8-40,3 aralığında olduğu görülmüştür. Çelik ve Turgay (2016), ortalama kuru madde oranını $38,36 \pm 1,82$ olarak tespit etmişlerdir. Dondurma Tebliği'nde yarım yağlı dondurma için belirlenen kuru madde oranı en az %31 (Anonim 2005) olarak belirlenmiştir.

Mineral madde oranı açısından önemli olan kül değerleri %0,9-1,09 aralığında bulunmuştur. Çelik ve Turgay (2016), geleneksel Maraş dondurmasının özellikleri çalışmasında kül oranını $0,21 \pm 0,03$ olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca kül miktarının genellikle kuru madde oranına bağlı olarak arttığını da belirtmişlerdir.

Dondurma örneklerinin asitlik değerleri %0,22-0,43 arasında, titrasyon asitliği analiz sonuçları (% laktik asit cinsinden) ise titrasyon asitliği 0,23-0,34 arasında tespit edilmiştir. Dondurmanın depolama süresi, bileşimindeki stabilizatörler ve üretim sırasında kullanılan süt çeşidi titrasyon asitliği farklılıklarına sebep olabilmektedir. Yeşilsu (2006), sade ve çikolatalı dondurmalarda asitliğin, yağsız kuru maddede bulunan proteinlerden ve sütte bulunan karbondioksitten kaynaklanabileceğini belirtmiştir.

Protein değeri %3,91-5,76 arasında tespit edilmiştir. Karaman (2011), %0,5 ve 1 oranında stabilizatör kullanılarak ürettiği dondurma örneklerinde protein değerlerini %3,38-4,52 arasında bulmuştur. Sonuçlarımızda uyumludur.

Örneklerdeki toplam şeker analiz sonuçları %16-28,6 aralığında değişim göstermiştir. Uludağ (2010), şekerin kuru madde miktarını, tadı ve kıvamı ayarlama da etkili bir ham madde olduğunu ayrıca viskoziteyi artırmakta, donma noktası üzerinde ve aroma maddelerinin belirginleşmesinde rol oynadığını belirtmiştir. Maraş Dondurması standardına göre Maraş dondurmasında minimum şeker oranının %20 olması gerekmektedir (Anonim 2000).

Dondurmanın niteliğini belirleyen en önemli özelliklerden biri yağ olup, dondurma formülasyonunda öncelikle süttten gelen yağın miktarı dikkate alınır ve bu miktar üzerinden hesaplama yapılarak yağ miktarı ayarlanır (Yeşilsu 2006). Çalışmada dondurmaların yağ oranının 4,36-6,03 aralığında olduğu gözlenmiştir.

pH analizleri sonuçlarına göre en düşük değer 6,31, en yüksek değer ise 6,58 olarak tespit edilmiştir. Çelik ve Turgay (2016) örnek dondurmaların 25°C'deki pH

değerlerini ortalama 6,35 olarak bulmuşlardır. Kuşçu (2015), farklı oranlarda prebiyotik lifli Stevia özünün probiyotik dondurmanın kalitesi üzerine etkisine ait çalışmada pH değerlerinin 6,10-6,28 arasında olduğu belirlenmiştir.

Hacim artışı değerleri %24,77-33,86 aralığında bulunmuştur. Dondurma Tebliği'nde Maraş dondurması hacim genişlemesi değerini en fazla %35 olarak bildirilmiştir (Anonim 2005). Güven ve ark. (2010), dondurmadaki hacim artışı değerinin kıvamı etkilemesinin yanı sıra dondurmanın yüksek lezzet kalitesine, besin değerine ve randımanına katkısı oldukça fazla olduğunu ve hacim artışını dondurmanın içerisine aldığı hava miktarı olarak belirtmişlerdir. Kır (2007), dondurmanın içerisine hapsettiği hava eğer gereğinden az ise, hacim artışının dondurmaya sıkı ve sert bir yapı kazandıracağını, yeme kalitesinin ve randımanının azalacağını belirtmiştir. Havanın gereğinden fazla hapsedilmesi halinde ise dondurmanın dayanıklılığının zayıflayacağını, kıvamının bozulacağını bildirmiştir. Koyun (2009), dondurma miksinin viskozitesinin, dondurmanın hava tutabilme kapasitesi ve dövülebilme yeteneği bakımından önemli bir parametre olduğunu, Kesenkaş ve ark. (2012), miksin viskozitesini yağ ve stabilizatör gibi katkı maddelerinin kalitesi ve miktarı ile miksin yapım prosesi ve toplam kuru madde miktarının etkideğini bildirmişlerdir. Dondurma örneklerinin üreticiden alınan mikslere göre cp cinsinden en yüksek viskozite değeri 3,49, en düşük viskozite değeri ise 29,49 olarak tespit edilmiştir. Güven ve Karaca (2002), viskozite veya akmaya karşı gösterilen direncine, dondurma miksinin özelliklerinden birisi olduğunu ve dövülebilme niteliğiyle dondurmaya verilen havanın tutulması açısından miksin belli bir düzeyde viskozite değerlerine sahip olması gerektiğini belirtmişlerdir.

Dondurma örneklerinin ilk damlama süresi 13-39,5 dakika, tam erime süresi 70-85 dk olarak tespit edilmiştir. Atsan ve Çağlar (2008), dondurmanın ısı şokuna dayanıklılığını etkileyen faktörlerden birinin erime oranı olduğunu bildirmişlerdir. Örneklerin 30, 40, 50 ve 70. dakikaların sonundaki erime oranları; 30. dakikada %15,8, 40. dakikada %19,8, 50. dakikada %47,6 ve 70. dakikada %75,4 olarak tespit edilmiştir. Erime oranları ortalamalar arası farklılıklar istatistiksel olarak önemli düzeydedir. Turgut (2006), çalışmasında dondurmanın erime özellikleri ve sıklığı üzerine şeker ve yağ oranının önemli derecede etkili olduğunu bildirmiştir.

Elde edilen verilerin varyans analizi sonucuna göre kuru madde, kül oranları, titrasyon asitliği, protein oranları, şeker, yağ oranları, hacim artışı, ilk damlama

süreleri, en uzun tam erime süreleri ortalamalar arası farklılıkları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). pH ve viskozite değerleri ortalamalar arası farklılıkları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). pH ve viskozite değerleri ortalamalar arası farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Örneklerin içerdiği mineral madde oranları (mg/kg) Çizelge 2’te verilmiştir. Kalsiyum 1.174,0-1.506,5, fosfor 1.120,0-941,7, sodyum 102,5-410,3, potasyum 937-1.315,0 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Örneklerdeki Ca, P, Na, K, Fe, Zn, Mg bulguları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq 0,05$).

Çizelge 2. Maraş dondurması örneklerinin mineral madde içeriği

Mineral Madde (mg/kg)	Dondurma Örnekleri				
	1	2	3	4	5
Kalsiyum (Ca)	1.448	1.347,5	1.506,5	1.174	1.229
Fosfor (P)	977,85	1.146,5	1.120	941,7	1.118
Sodyum (Na)	102,5	337,5	363	410,3	278,5
Potasyum (K)	1.225	937	1.315	1.147,5	1.285,5
Demir (Fe)	0,00095	0,00125	0,00129	0,00225	0,00175
Çinko (Zn)	4,84	5,31	5,9	4,5205	5,66
Magnezyum (Mg)	175,9	165,4	180,45	160,05	155,75

Çalışmada birinci kalite 5 adet Maraş dondurması kullanılmıştır. Bu dondurma örneklerinde kül, hacim artışı, pH, titrasyon asitliği, viskozite, yağ, protein, şeker ve mineral madde (Ca, P, Na, K, Fe, Zn, Mg), ilk erime, tam erime ve erime oranları (30.,40., 50. ve 70. dakikalarda) analizleri yapılmış sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Çalışmada kullanılan dondurma örnekleri arasında pH ve viskozite farklılıkları önemsiz bulunmuşken ($p>0,05$) diğer parametreler arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Dondurmanın özelliklerini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır bunlardan bazılarını sıralayacak olursak; hammaddeye işlenen sütün oranı ve cinsi, kullanılan katkı maddelerin kalitesi, oranı ve mineral maddece zenginliği, işlenme sıcaklığı, dondurucu çeşidi, şoklama ve depolama sıcaklığı ve nem olarak sıralanabilir. Kahramanmaraş’ta geleneksel yöntemlerle üretimi yapılan Maraş dondurmasının üretiminde uygulanan kalite standartlarının (yağ içeriği, kuru madde, kül, şeker, protein gibi) korunarak tüm mevsimlerde tüketilmesi ve dünya çapında olması için özen gösterilmesi gerekmektedir.

Kahramanmaraş yöresinde Maraş dondurmasının temelini oluşturan tatlı yiyecek/içeceklerin şehre has köklü bir geçmişi vardır. Proses aşamasında tebliğde izin verilen gıda katkı ve renk maddelerinin kullanılması, miksin uygun soğuklukta şoklanması, soğutulması, paketlenmesi, etiketlenmesi, depolanması ve üretim sonrası soğuk zincire uygun dağıtım yapılması büyük önem arz etmektedir. Dondurma üreticileri bu bilinçle hareket etmelidir.

Geleneksel olarak pastanelerde üretilen ve külahlarda yenilen Maraş dondurması günümüzde sadece çocuklara hitap etmekte kalmayıp endüstriyel olarak çok farklı lezzetlerde üretilen ve ambalajlanan bir ürün haline gelerek sektörde önemli bir rekabet ortamı oluşturmuştur. Dondurmanın dayanıklılığını ve kalitesini belirlerken tek bir kriter yeterli değildir. Bundan dolayıdır ki üreticiler nitelikli Maraş dondurması üretirken tebliğde verilen gereklilikleri yerine getirmeli, tüketici taleplerini yakından izleyip, pazarı takip etmeli ve talep edilecek formda ve kalitede dondurma çeşitleri geliştirme yoluna gitmelidir. Günümüzde dondurma endüstrisi büyük gelişme göstermekte ve sıkı bir rekabet ortamı oluşturmaktadır. Diğer dondurmalarından yapı, dayanıklılık açısından farkı kaliteden ödün vermeden devam etmelidir. Bu amaç için kaliteli keçi sütü ve salep eldesi için gerekli çalışmalar yapılmalıdır. Üreticilere burada düşen görevler ise dondurmanın modern tesislerde en iyi kalite ve standartlarda teknolojik yeniliklerle harmanlanarak üretimini sağlayarak Maraş Dondurması adının bilinirliğini ve güvenilirliğini arttırmak, bu markayı ileriye taşımayı hedef edinmektir.

4. Teşekkür

Bu çalışma KSÜ-BAP tarafından Kahramanmaraş Yöresine Ait Maraş Dondurmasının Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi adlı KSÜ Araştırma Fonu Projesi, 2016/6-28 YLS olarak desteklenmiştir.

5. Kaynaklar

- Anonim, 2000. TS 1249. Maraş Dondurması, TSE, Ankara.
- Anonim, 2005. Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği, Tebliğ No: 2004/45.
- Anonim, 2013. TS 4265. Dondurma-Süt Esaslı, TSE, Ankara.
- Anonim, 2015. Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi - Muhtemel *Escherichia coli*'nin Belirlenmesi ve Sayımı İçin Yatay Yöntem- En muhtemel sayı tekniği, TS ISO 7251, TSE, Ankara.
- Antepüzümü, F., 2005. Bal ve Glikoz Şurubu Kullanımının Kahramanmaraş Tipi Dondurmaların Kalitesi Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Atsan, E. ve Çağlar, A., 2008. Dondurmanın Bazı Fiziksel ve Duyusal Özellikleri Üzerine Farklı Emülgatörlerin Etkisi, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 39 (1): 75-81.
- Badem, A., 2006. Keçiyoynuzu Pekmezli Dondurma Üretiminde Kullanılan Karragenan, Ksantan ve Keçiyoynuzu Zamklarının Dondurmaların Kaliteleri Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Bakır, E., 2015. Probiyotik Bakterilerin Dondurma Üretiminde Kullanımı Üzerine Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Çelik, E. and Turgay, Ö., 2016. Some Properties of Traditional Maras Ice Cream, International Congress on Food of Animal Origin, 10-13 November, Near East University, North Cyprus.
- Güven, M. and Karaca O.B., 2010. Düşük Yağ Oranlı Kahramanmaraş Tipi Dondurma Üretiminde Emülgatör Kullanımının Dondurmaların Özellikleri Üzerine Etkileri. Gıda Dergisi, 35: 97-104.
- Güven, M., Karaca O.B., Kaçar A., Hayaloğlu A.A. ve Yaşar K., 2002. Kahramanmaraş Tipi Dondurma Üretiminde Salebe Alternatif Stabilizör Olarak Keçiyoynuzu Sakızının Kullanım Olanakları. Gıda Teknolojisi, 7:41-48.
- Kaçar, A., 2002. Farklı Oranlarda Yağsız Kurumadde İçeren Enerjisi Azaltılmış Dondurmaların Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Karaman, N., 2011. Salep ve Bazı Stabilizatörlerin Maraş Dondurmasının Çeşitli Nitelikleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Kesenkaş, H., Akbulut, N., Yerlikaya, O., Akpınar, A. ve Açı, M., 2012. Kefir dondurması Üretiminde Soya Sütünün Kullanım Olanakları Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 50(1):1-12 ISSN 1018-8851s.
- Kır, R., 2007. Farklı Tip Yağ Kullanımının Dondurmanın Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Koyun, A., 2009. Endüstriyel Dondurma Üretiminde Yağsız Süttozu, Peyniraltı Suyu, Protein Konsantresi Kullanımının Dondurmaya Uygunluğunun Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Kuşçu, H., 2015. Probiyotik Dondurmanın Kalite Özellikleri Üzerine Farklı Oranlarda Prebiyotik Lif İçeren Stevia Özü İlavesinin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Marshall, R.T., Goff, H.D. and Hartel, R.W., 2003. Ice Cream, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 6th Edition, New York, USA, 371p.
- Metin, M., 2005. Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi, E. Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 33, Baskı:6, E. Ü. Basımevi, Bornova İzmir, s.1.2.
- Metin, M., 2012. Süt ve Mamulleri Analiz Yöntemleri. Ege Üniversitesi Basımevi, 439s.
- Metin, M. ve Öztürk, G.F., 2002. Süt ve Mamulleri Analiz Yöntemleri, Ege Meslek Yüksekokulu Basımevi, Bornova-İzmir, 439s.
- Sarioğlu, Yavaş, A., 2015. Düşük Kalorili Dondurma Üretiminde Doğal Tatlandırıcı Olarak Stevia Ekstraktı Kullanımının Ürünün Kalite Kriterleri Üzerine Etkisi, Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Tekinşen, K.K. ve Yalçın, Ö., 2008. E407: Karragenan, Gıda Teknolojisi Dergisi (12): 61-64.
- Tekinşen, K.K., Güner, A. ve Uçar, G., 2011. Dondurma Üretiminde Konjak Sakızının Kullanılabilir İmkânları, Eurasian J. Vet. Sci., 2011, 27: 4, 199-206.
- Turgay, Ö. ve Çınar, İ., 2017. Salep: The Common Name of The Plant, Powder, Hot Beverage, Food Ingredient. KSU Mühendislik Bilimleri Dergisi, 20(3): 68-71.

Turgut, T., 2006. Bazı Probiyotik Bakterilerin Dondurma Üretiminde Kullanım İmkanları, Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Uludağ, P., 2010. Türkiye’de Dondurma Sektörü, Tüketici Eğilimleri ve Firmalara Arası Rekabet, Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Yeşilsu, A.F., 2006. Dondurmanın Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Bazı Pekmez Çeşitlerinin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.



Et Ürünlerinde Hidroksiprolin Miktarının Belirlenmesinde Mikrodalga ile Protein Hidrolizi Yönteminin Araştırılması

An Investigation of Microwave Protein Hydrolysis for Determination of Hydroxyproline in Meat and Meat Products

Tuğba GEZGİN¹, Sümeyye KARAKUŞ², Hüseyin BÜLBÜL³

¹ Dr, Tarım ve Orman Bakanlığı Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü / KONYA, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-9119-5063

² Vet. Hek., Tarım ve Orman Bakanlığı Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü / KONYA, TÜRKİYE

³ Ziraat Yük. Müh., Tarım ve Orman Bakanlığı Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü / KONYA, TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 27.08.2019

Kabul Tarihi : 28.11.2019

Öz

Amaç: Bu çalışmada, et ve et ürünlerinde hidroksiprolin tayini için mikrodalga kapalı yakma sistemiyle protein hidrolizi araştırılmış ve sonuçlar standart hidroliz yöntemiyle karşılaştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem: Bu amaçla, 36 adet et ürünü örneği (sucuk, salam, köfte, döner, hamburger) 6 M HCl ile mikrodalga kapalı yakma sisteminde basınç kontrollü veya sıcaklık kontrollü olarak iki farklı programda hidroliz edilmiş, elde edilen hidrolizatlar NMKL-AOAC (Anonim 1990) metodunda olduğu gibi spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

Bulgular ve Sonuç: Ölçüm sonuçları, standart hidroliz sonuçları ile istatistiki olarak karşılaştırılmıştır. Et ve et ürünlerinde hidroksiprolin tayini için mikrodalga (basınç kontrollü veya sıcaklık kontrollü) ile protein hidroliz işlemi standart hidrolize göre çok daha kısa sürede (yaklaşık 30 dk.) tamamlanmış, istatistiki test sonuçlarına göre, mikrodalga hidroliz yöntemi sonuçları, standart hidroliz yöntemi sonuçları ile yüksek korelasyon göstermiş ($r^2 = 0,99$) ve %99,9 güven aralığında sonuçla arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Hidroksiprolin, Mikrodalga, Hidroliz, Salam

Abstract

Objective: In this study, protein hydrolysis by microwave digestion system for determination of hydroxyproline was investigated and results were compared with standard hydrolysis.

Materials and Methods: For this purpose 36 meat samples in different types (sucuk, salami, doner, meatball, hamburger) were hydrolysed with 6 M HCl by Microwave at two different programmes as temperature controlled or pressure controlled and obtained hydrolyzates were analysed as in NMKL-AOAC (Anonim 1990), spectrophotometrically.

Results and Conclusion: Results of measurements were compared with results of standart method, statistically. Protein hydrolysis for determination of hydroxyproline in meat and meat products was completed in a very shorter time (about 30 min.) by microwave (temperature controlled or pressure controlled) and according to the results of statistical tests, the results of microwave hydrolyse has shown high correlation ($r^2=0,99$) with the results of standart hydrolyse and it was found no significant difference between the results of microwave hydrolysis and standard hydrolyse at 99,9% confidence level.

Key Words: Hydroxyproline, Microwave, Hydrolysis, Salami

1.Giriş

Et ve et ürünlerinin protein kalitesi, bağ doku proteinlerinin miktarıyla ilişkilidir (Zarkadas ve ark. 1988). Düşük et kalitesi (hem besinsel hem de tekstürel açıdan) hem sindirebilirliğinin düşük olması hem de esansiyel aminoasitleri içermemesi nedeniyle bağ dokusu miktarının yüksek olduğu bir et bileşimini ifade eder (Laakkonen ve ark. 1970). Hidroksiprolin tayini, et ve et ürünlerinde bağ doku miktarının belirlenmesinde kullanılan analizdir. Hidroksiprolin aminoasiti bağ dokunun yapısını oluşturan kolajen proteinine özgü ve kasın fibriller protein yapısında bulunmayan bir aminoasittir (Young ve Pellet 1984). Et ve et ürünlerinde hidroksiprolin miktarının belirlenmesinde standart NMKL-AOAC (Anonim 1990) spektrofotometrik metodu en yaygın kullanılan metottur. Metot prosedüründe protein hidrolizi 7 N sülfürik asit ile 105°C'de 16 saatte gerçekleştirilmektedir. Bu hidroliz işlemi hem uzun sürmekte hem de sonrasında numunelerin süzülmesi ve seyreltilmesi işlemleri yoğun iş gücü gerektirmektedir. Hidroksiprolin aminoasidinin geleneksel hidroliz yöntemi ise 6 M HCl ile 24 saat olarak bilinmektedir (Moore ve ark. 1958).

Mikrodalga ile protein hidrolizi ilk defa Chen ve ark. (1987) tarafından ticari mikrodalga ile gerçekleştirilmiştir. Sonrasında Gilmann ve Woodward (1989), örnek miktarı düşük olduğu durumlar için gaz fazı mikrodalga hidroliz yöntemini önermişlerdir. Et ve et ürünlerinde hidroksiprolin tayininde Mikrodalga hidroliz yöntemi, ilk defa İsviçre Et Enstitüsü'nde (Swedish Meat Research Institute, Kavlinge, Sweden) Kolar ve Berg (1990), 30 farklı et örneğini, 2 gr numune ve 15 mL 6M HCl kullanarak basınç kontrollü ve basınç kontrolsüz olarak 2 farklı yöntemle mikrodalga ile hidroliz ederek, standart metot (Anonim 1990) ile karşılaştırmış, mikrodalga ile protein hidrolizi ile standart metot kadar doğru ve kesin sonuçlar elde edildiğini belirtmişlerdir. Marconi ve ark. (1995), peynir ve buğday örneklerini mikrodalga ile basınç kontrollü olarak 100 psi basınçla hidroliz ederek aminoasit bileşimlerini analiz etmişler, mikrodalga kullanılarak hidroliz ile tutarlı ve tekrar edilebilir sonuçlar elde edildiğini, özellikle kromatografik çalışmalarda kontaminasyon ve operatör hatalarının minimize edildiğini belirtmişlerdir. Messia ve ark. (2008), et bazlı gıda ürünlerinde 4-hidroksiprolin miktarının tespiti için basınç ve sıcaklık kontrollü olarak 100-130 psi basınç altında 100-155°C'de gerçekleştirdikleri mikrodalga hidroliz yöntemiyle geleneksel hidroliz (etüv'de 110°C'de 24 saat) yöntemini karşılaştırarak iki hidroliz yöntemi arasında istatistiki olarak önemli derecede fark olmadığını belirtmişlerdir.

Mikrodalga kapalı yakma sistemi, mikrodalga ışınlarının salınımıyla elektriksel alan ve manyetik alanın etkisiyle oluşan elektromanyetik radyasyonun

enerjisiyle moleküllerin ısınmasını sağlayan bir teknolojidir (Engelhart 1990). Mikrodalga kapalı yakma sisteminde kullanılan elektromanyetik güç, gücün uygulandığı süre, gücün dağılım yaptığı numunenin cinsi ve miktarı, numunenin hidrolizi için kullanılan asit miktarı gibi faktörler hidroliz işlemi üzerine önemli derecede etkilidir.

Bu çalışmada et ve et ürünlerinde hidroksiprolinin spektrofotometrik tayini için gerçekleştirilen protein hidrolizi aşaması mikrodalga kapalı yakma sistemi ile basınç kontrollü veya sıcaklık kontrollü olarak iki farklı yöntemle gerçekleştirilerek, elde edilen hidrolizatlar spektrofotometrede okunarak, standart metot (Anonim 1990) ölçüm sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

5 farklı et ürünü örneği (sucuk, salam, döner, hamburger ve köfte) ve 1 adet referans malzeme (FAPAS TET018-RM) 3 paralelli ve farklı zamanlarda 2 tekerrür olarak analiz edilmiş, 6x3x2=36 adet örnek mikrodalga ile basınç kontrollü veya sıcaklık kontrollü olarak iki farklı programda, aynı zamanda standart NMKL-AOAC (Anonim 1990) metoduna göre 3 farklı şekilde hidroliz edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Standart Hidroliz

Standart hidroliz işlemi, NMKL-AOAC (Anonim 1990) metoduna göre yapılmıştır. 4 gr et örneği 7 N H₂SO₄ ile etüvde 105°C'de 16 saat hidroliz edilmiştir. Elde edilen hidrolizatlar sıcakken Whatman No:1 filtre kağıdından 500 mL'lik balon jodelere süzümüştür. Çizgisine kadar su ile tamamlanarak elde edilen filtratlar, +4°C'de saklanmıştır.

2.2.2. Mikrodalga ile Hidroliz

Mikrodalga hidroliz işlemi, MarsXpress Mikrodalga (CEM, 2011) cihazında gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.1. Basınç Kontrollü Mikrodalga Programı

Kolar ve Berg (1990) metoduna göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. 0,4 gr et örneği 50 mL kapasiteli Teflon PFA mikrodalga vesselere tartıldıktan sonra üzerine 8 mL 6 M HCl ilave edilerek kapakları sıkıca kapatılmıştır. Örnekler mikrodalga kapalı yakma sisteminde basınç kontrollü program ile 100 psi basınç altında Çizelge 1.'de yer alan programa göre iki aşamalı olarak hidroliz edilmiştir. Hidroliz işlemi tamamlandıktan sonra vesseler el değme sıcaklığına soğutulmuş ve hidrolizatlar sıcak halde Whatman No:1 filtre kağıdından 50 mL'lik balonlara süzülerek çizgisine su ile tamamlanmıştır. Elde edilen hidrolizatlar +4°C'de saklanmıştır.

Çizelge 1. Basınç kontrollü mikrodalga hidroliz programı

	1.aşama	2.aşama
Power (% , 800 W)	100	80
Hidroliz süresi (dk.)	10	10
Basınç (max,psi)	90	100

2.2.2.2.Sıcaklık Kontrollü Mikrodalga Programı

Messia ve ark. (2008)'in metoduna göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. 0,4 gr et örneği Xpress tip 110 mL kapasiteli vessellere tartılmış ve üzerine 8 mL 6 M HCl ilave edilerek ağzları sıkıca kapatıldıktan sonra mikrodalga kapalı yakma sisteminde sıcaklık kontrollü program seçilerek Çizelge 2'de belirtilen programa göre her hidrolizde 12 adet vessel kullanılarak iki aşamalı program ile hidroliz edilmiştir. Hidrolizde kullanılacak örnek sayısı 12'den az olduğu zaman diğer vesseller aynı miktarda asit ile doldurularak vessel sayısı 12'ye tamamlanmış, hidroliz işlemi tamamlandıktan sonra vesseller el değme sıcaklığına kadar soğutulmuş, hidrolizatlar sıcak halde Whatman No:1 filtre kağıdından 50 mL'lik balonlara süzülerek çizgisine su ile tamamlanmıştır. Elde edilen hidrolizatlar +4°C'de saklanmıştır.

Çizelge 2. Sıcaklık kontrollü mikrodalga hidroliz programı

	1.aşama	2.aşama
Power (% , 800 W)	100	80
Çıkış süresi (dk.)	05	05
Kalma süresi (dk.)	20	10
Sıcaklık (max,°C)	100	155

2.2.3.Spektrofotometrede Okuma İşlemi

Elde edilen hidrolizatlara, NMKL-AOAC (Anonim 1990) metodunun G. bölümünden itibaren aynı işlemler uygulanmış içeriğindeki hidroksiprolin miktarına göre 100 mL'lik balonlara 05-20 mL alınarak seyreltilen örnekler, başka bir tüpe 2mL alınarak üzerine Kloramin-T Oksidasyon solüsyonu ilave edildi. Standartlar (0,6, 1,2, 1,8, 2,4 µg/mL hidroksiprolin) da aynı şekilde 2 mL bir tüpe alınarak 1 mL oksidasyon solüsyonu ilave edilmiştir. Standartlar ve örnekler karanlık bir yerde 20 dk. bekletilerek üzerlerine 1 mL DMAB renk solüsyonu ilave edilmiş 15 dk. 60°C'de su banyosunda bekletilmiştir. Renk dönüşümü sağlanan standartlar ve örnekler spektrofotometrede 560±2 nm'de 4 noktalı kalibrasyon eğrisiyle okuma yapılmıştır.

Mikrodalga ile hidroliz edilen örnekler için sonuç hesaplama:

$$\text{Hidroksiprolin g/100 g} = \frac{\text{Okunan değer} \times 0,25}{\text{Numune mik}(\text{gr}) \times S^*(\text{mL})}$$

NMKL-AOAC metodu'na göre hesaplama:

$$\text{Hidroksiprolin g/100 g} = \frac{\text{Okuma değeri} \times 2,5}{\text{Numune mik}(\text{gr}) \times S^*(\text{mL})}$$

*S: Seyreltme işleminde 100 mL'lik balona alınan hidrolizat hacmi (mL).

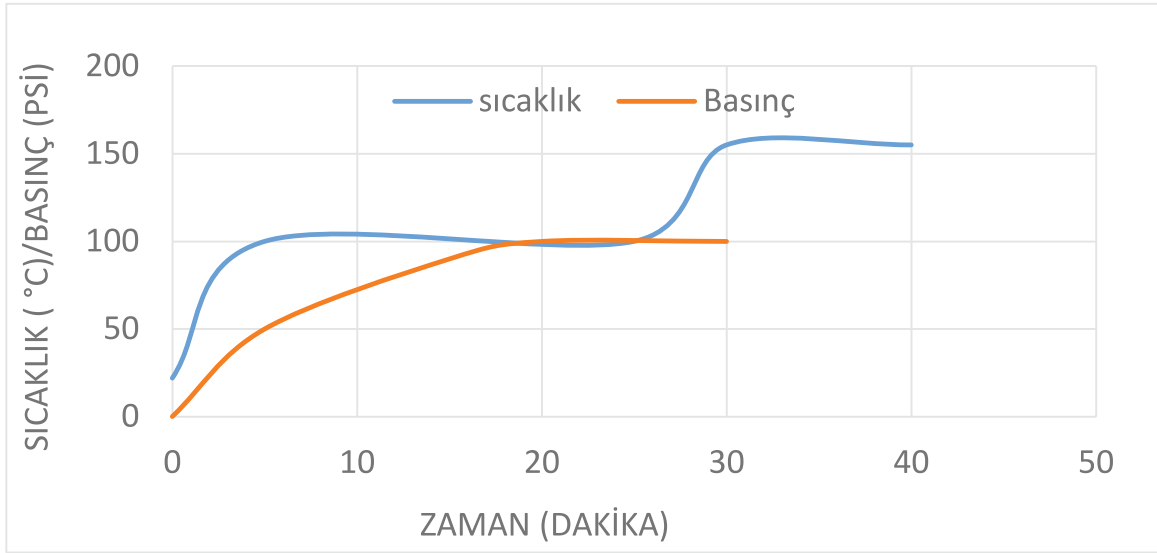
2.2.4.İstatistiki Analiz

Mikrodalga ile basınç kontrollü veya sıcak kontrollü olarak hidrolize edilen örneklerin spektrofotometre'de elde edilen ölçüm sonuçları ile Standart hidroliz ile spektrofotometrede elde edilen ölçüm sonuçları student-t test (bağımsız iki örnek) testine tabi tutulmuştur (Microsoft Office Excel 2013). Aynı zamanda regresyon analizi yapılarak iki hidroliz yöntemi arasındaki korelasyon gösterilmiştir.

3.Tartışma ve Sonuç

Salam numunesinin basınç kontrollü mikrodalga ile hidroliz (P-MD)'ine ait basınç-zaman grafiği ve sıcaklık kontrollü mikrodalga ile hidroliz (T-MD)'ine ait sıcaklık-zaman grafiği Şekil 1.'de verilmiştir. Basınç kontrollü mikrodalga ile hidroliz ile hidroliz aşamasının ilk 10 dakikasında basınç 100 psi'a ulaşmakta, bu aşamadan sonra Çizelge 1.'deki gibi uygulanan gücün yüzdesi düşürülerek basıncın sabit kalması sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra basınçta hafif iniş çıkışlar gözlemlenmiştir. Sıcaklık kontrollü mikrodalga hidroliz programında ise ilk 5 dakikada sıcaklık 100°C'ye ulaşmış, daha sonra 20 dakika boyunca 100°C'de sabit tutulmuştur. Programın ikinci aşamasında uygulanan gücün yüzdesi düşürülerek sıcaklık kontrolü daha yüksek bir sıcaklığa getirilerek bu sıcaklıkta 10 dakika daha mikrodalga uygulanmıştır.

Sıcaklık kontrollü mikrodalga hidroliz programının, basınç kontrollü mikrodalga hidroliz programına göre 20 dk. daha uzun sürdüğü görülmektedir. Sıcaklık kontrollü hidroliz programında basınç faktörünün düşük seviyelerde kalması ve hidrolizi sınırlayan tek faktörün sıcaklık oluşu hidrolizin daha uzun sürmesine neden olmaktadır. Sıcaklık kontrollü mikrodalga hidroliz programında kullanılan vessel tiplerinin ve hacimsel büyüklüklerinin farklı olması da hidroliz süresini etkileyen diğer faktörlerdir.



Şekil 1. Salam numunesinin mikrodalga ile hidrolizine ait Basınç/Sıcaklık- Zaman grafiği

Messia ve ark. (2008)'ın et bazlı ürünlerde hidroksiprolin değerinin belirlenmesi amacıyla yapmış oldukları çalışmada basınç ve sıcaklık kontrollü olarak gerçekleştirdikleri hidroliz işlemi için iki aşamalı programda toplam 6 dk.'nın yeterli geldiğini göstermişlerdir. Marconi ve ark. (1995) farklı gıda örneklerinde aminoasit analizi amacıyla 100 psi basınç altında iki aşamalı olarak toplam 20 dk.'da hidroliz işlemi gerçekleştirmişlerdir. Kolar ve Berg (1990), 2 gr et örneğinde 15 mL 6 M HCl ile 3 aşamalı hidroliz programıyla basınç kontrollü veya kontrolsüz olarak toplam 30 dk.'da hidroliz işlemi tamamladıklarını göstermişlerdir. Çalışmamızda elde

edilen hidroliz sürelerinin bahsedilen kaynaklardan farklı olmasında; alınan örnek ve asit miktarlarının, kullanılan mikrodalga cihazlarının, cihaz etkinliğinin, hidroliz programlarının ve vessel tiplerinin farklı olması gibi nedenler etkili olmaktadır.

6 farklı çeşit et ürününden (salam, sucuk, döner, köfte, hamburger, FAPAS TET018 RM) 36 adet örneğin basınç kontrollü mikrodalga ile hidroliz (P-MD), sıcaklık kontrollü mikrodalga ile hidroliz (T-MD) ve standart metod NMKL-AOAC (Anonim 1990) ile elde edilen hidroksiprolin (g/100 gr) değerleri ve bu değerlerin istatistiksel olarak karşılaştırmaları Çizelge 3.'de verilmiştir.

Çizelge 3. Basınç Kontrollü Mikrodalga hidroliz (PMD), Sıcaklık Kontrollü Mikrodalga hidroliz (TMD) ve Standart Hidroliz (SH) ile elde edilen hidroksiprolin (g/100 g) değerlerine ait istatistiksel test sonuçları

	n	Hidroksiprolin (g/100 gr)			t-test**	
		PMD	TMD	SH	PMD-SH	TMD-SH
Salam	6	0,157±0,005	0,152±0,005	0,156±0,005	0,76	0,24
Sucuk	6	0,256±0,004	0,256±0,004	0,257±0,004	0,44	0,38
Döner	6	0,042±0,002	0,042±0,002	0,038±0,002	0,01	0,02
Köfte	6	0,139±0,004	0,142±0,003	0,141±0,002	0,28	0,44
Hamburger	6	0,239±0,005	0,239±0,005	0,237±0,003	0,44	0,54
FAPAS TET018RM	6	0,692±0,008	0,693±0,008	0,692±0,007	0,94	0,91
Korelasyon Katsayısı (SH ile)	36	0,999	0,998			
Regresyon Denklemi *(SH ile)	36	Y=0,997x+0,001	Y=0,998x+0,0007			

*: $x = \text{NMKL-AOAC(SH)}$, $y = \text{Mikrodalga hidroliz}$

** = t kritik (iki uçlu) değeri 2,57'dir. Elde edilen t değerleri t-kritik'den küçük olduğundan, sonuçlar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir.

Her iki mikrodalga hidroliz yöntemiyle de (Basınç kontrollü mikrodalga hidroliz yöntemi ve sıcaklık kontrollü mikrodalga hidroliz yöntemi) standart hidroliz ile yakın sonuçlar elde edilmiştir. Her bir çeşit et ürünü için elde edilen ortalamalar ve standart sapmaları yakınlık göstermektedir. Mikrodalga ile hidroliz yöntemleri ve standart metod arasında yapılan t-test sonucuna göre sonuçlar arasındaki fark istatistikî açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Korelasyon katsayıları 1'e yakındır.

Sonuç olarak; mikrodalga hidroliz yöntemiyle (basınç kontrollü veya sıcaklık kontrollü) NMKL-AOAC standart hidroliz metodu (Anonim 1990)

arasında yakın ve tutarlı sonuçlar elde edilmekle beraber, mikrodalga hidroliz yönteminin kısa zamanda tamamlanması ve düşük hacimlerde çalışılmasından dolayı çalışma kolaylığı sağlamaktadır.

Basınç kontrollü hidroliz programı, sıcaklık kontrollü hidroliz programından daha kısa sürede gerçekleşmektedir. İlerde yapılacak olan çalışmalarda et ve et ürünlerinde gelişmiş mikrodalga protein hidroliz sistemlerinin araştırılması, et ve et ürünlerinde hidroksiprolin miktarının spektrometrik ve kromatografik olarak daha hızlı ve basit yöntemlerle belirlenmesine katkı sağlayacaktır.

4. Kaynaklar

Anonim,1990. Hydroxyproline in Meat and Meat Products Colorimetric Method First Action NMKL-AOAC Method, Genel Yayın No: 990.26

Chen, ST, Chiou SH, Chu YH and Wang KT., 1987. Rapid Hydrolysis of Proteins and Peptides by Means of Microwave Technology and Its Application to Amino Acid Analysis. *Int J Pept Protein Res* 30: 572-576.

Engelhart, G.W., 1990. Microwave Hydrolysis of Peptides and Proteins for Aminoacid Analysis. *Am Biotechnol Lab.*:8(15): 30-34.

Gilman, L.B. and Woodward C., 1989. An Evaluation of Microwave Heating for the Vapor Phase Hydrolysis of Proteins: I Comparison to Vapor Phase Hydrolysis for 24 hours. The Protein Society. Third Symposium, July 31. Seattle, WA, USA, Poster Paper M 197.

Kolar, K. and Berg H., 1990. Microwave Hydrolysis for Rapid Determination of Hydroxyproline in Meat and Meat Products. <http://www.cem.de/documents/pdf/publikation/protheinhydrolyse/RH018.PDF> İnternet Erişimi. 01.10.2019.

Laakkonen, E., Wellington G. H. and Sherbon J. N., 1970. Low-Temperature, Long-Time Heating of Bovine Muscle 1. Changes in Tenderness, Water-Binding Capacity, pH and amount of Water-Soluble Components. *J. Food Sci.* 35:175-177. doi: 10.1111/j.1365-2621.1970.tb12131.x.

Marconi, E., Panfili, G., Bruschi, L., Vivanti, V. and Pizzoferrato, L., 1995. Comparative Study on Microwave and Conventional Methods for Protein Hydrolysis in Food. *Amino Acids*, 8: 201-208.

Messia, M.C., Falco T. Di, Panfili G. and Marconi E., 2008. Rapid Determination of Collagen in Meat-Based Foods by Microwave Hydrolysis of Proteins and HPAEC-PAD Analysis of 4-hydroxyproline. *Meat Science* 80: 401-409.

Moore S., Spackman D.H. and Stein W.H., 1958. Chromotography of Amino Acids on Sulphonated Polystyrene Resin. An Improved System. *Anal. Chem.* 30: 1190-1196.

Young, V.R. and Pellett P.L., 1984 Background Paper 5: Amino Acid Composition in Relation to Protein Nutritional Quality of Meat and Poultry Products 1'2. *The American Journal of Clinical Nutrition.*:40 September: 737-742.

Zarkadas, C.G., Meighen, E.A., Zarkadas, G.C., Karatzas, C.N., Khalili, A.D. and Rochemont, J.A. 1988. Determination of the Myofibrillar and Connective Tissue Proteins in the Bovine Diaphragm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(6): 1095-1109.



Kaba Yem Kalitelerinin Belirlenmesinde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Yöntemlerin Karşılaştırılması

Comparison of Some Commonly Used Methods in Roughage Quality Determination

Yasemin VURARAK¹, Mustafa AVCI², Murat Reis AKKAYA³

¹ Dr. Zir. Yük. Müh., Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, ADANA, TÜRKİYE-ORCID ID 0000-0003-1048-788X

² Prof. Dr., Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Bitkisel Üretim Bölümü, NİĞDE, TÜRKİYE-ORCID ID 0000-0001-6704-8947

³ Dr. Öğretim Üyesi, Alparslan Türkeş Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, ADANA, TÜRKİYE-ORCID ID 0000-0002-2087-7681

Geliş Tarihi : 23.07.2019

Kabul Tarihi : 27.11.2019

Öz

Amaç: Kaba yemlerin kalitesinin belirlenmesi, alıcılar için çoğu zaman sorun oluşturur. Fiziksel analizler, basit olsa da yeterince güvenilir değil, kimyasal analizler ise zaman alıcı ve maliyetlidir. Çalışmanın amacı, kalite belirlemede kullanılan bazı yöntemlere ait sonuçların karşılaştırılarak, aralarındaki sapmaların belirlenmesidir.

Materyal ve Yöntem: Bu çalışmada, 2 farklı baklagil+buğdaygil karışımı (fiğ+tritikale ve italyan çimi+iskenderiye üçgülü) ve 3 farklı kaba yem muhafaza yöntemi (Haylaj1, Haylaj2, Silaj0) uygulanarak farklı kaba yemler oluşturulmuştur. Bu yemlerin üretimi ve kalite değerlendirmeleri 3 yıl süre ile tarla ve laboratuvar ortamında sürdürülmüştür. Çalışmada elde edilen yem örnekleri Fleig Puanı (FP), DLG puanı, Nispi Yem Değeri (NYD) ve Nispi Yem Kalitesi (NYK) olmak üzere 4 farklı yöntemle değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Sonuç: Çalışma sonunda, tüm konular Fleig Puanına göre “1.sınıf”, DLG Puanına göre “iyi” sınıfında yer almışlardır. Nispi Yem Kalitesine göre tüm konular “orta ve kötü” sınıf, Nispi Yem Değerine göre ise Haylaj2 konusu “2.sınıf”, Haylaj1 ve Silaj0 konusu “3.sınıf” olarak sınıflandırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kaba Yem, Fleig Puanı (FP), DLG, Nispi Yem Değeri (NYD), Nispi Yem Kalitesi (NYK)

Abstract

Objective: The determination of the quality of roughage is often a problem for buyers. Physical analysis is simple but not reliable enough, chemical analysis is time consuming and costly. The aim of the study is to compare the results of some methods used in quality determination and to determine the deviations between them.

Materials and Methods: In this research, two different legumes + grass mixture (vetch + triticale and italian grass + berseem clover) and 3 different roughage preservation methods (Haylaj1, Haylaj2, Silage0) were applied. Production and quality evaluations of these feeds were carried out in field and laboratory condition for 3 years. The feed samples obtained from the study were evaluated with 4 different methods as Fleig Score (FS), DLG Score, Relative Feed Value (FFV) and Relative Feed Quality (RFQ).

Results and Conclusion: At the end of the study, all subjects were classified as “1st class according to Fleig Score and “good” according to DLG Score.

In terms of Relative Feed Quality, all subjects are “medium and poor” class, and Relative Feed Value is based on Haylaj2 “2ndclass”, Haylaj1 and Silage0 subjects “3rdclass”.

Keywords: Roughage, Fleig Score (FS), DLG, Relative Feed Value (RFV), Relative Feed Quality (RFQ)

1.Giriş

Ruminant hayvan beslemede kuru ot ve saman genel olarak, yem tüketimini kısıtlayan, düşük kaliteli, yüksek hacimli ve yüksek düzeyde metan gazı oluşumuna sebep olan kaba yemler olarak tanımlanırlar (Osuji ve ark. 1995). Bu nedenle rasyonda yeşil kaba yemlerin kullanımı hayvan sağlığı açısından olduğu gibi sürdürülebilir çevre yönetimi açısından da son derece önemlidir. Özsü bakımından zengin yeşil yem ihtiyacı, yılın belli dönemlerinde çayır meralardan otlatılarak karşılanır. Bu dönemlerin dışında kalan zamanlarda hayvanların yeşil yem ihtiyacını karşılamak için silaj, soldurulmuş ot silajı (haylaç) gibi yeşil kaba yemlere gereksinim vardır. Ruminant hayvan beslemede yemler, hayvan sağlığı ve elde edilen ürünlerin niteliği bakımından işletmelerin en önemli girdisidir. Genel bir değerlendirme ile yem maliyeti toplam girdilerin %60-70 ini oluşturduğu bilinmektedir (Wanapat ve ark. 2017). Bu durum kaliteli yemin önemini daha da artırmaktadır. Hayvan performansını korumak ve yoğun yem takviyesini azaltmak için kaliteli farklı kaba yem kaynaklarına ihtiyaç olduğu pek çok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (Yang ve ark. 2007, Chase ve ark. 2013).

Kaba yemin kalitesi, rumen fermantasyonu ve depoda yemin bozulma hızını etkileyen önemli bir faktördür (Yammeun-art ve ark. 2017). Kalite; uygulanan tarımsal faaliyetler, hasat, depolama gibi pek çok işlemle etkilenir (Hancock 2011). Kaba yem kalitesinin bilinmesi satıcı için fiyat belirlemede, alıcı için ise rasyona ilave edeceği kaba yem miktarını hesaplamada son derece önemlidir. Satın alım sırasında yemin kalitesinden emin olmak isteyen alıcılar, farklı analizler yaptırarak ya da yaparak kalite hakkında sonuçlar alabilirler. Bu analizler genel olarak fiziksel ve kimyasal analizler olmak üzere sınıflandırılırlar ve her birinden elde edilen sonuçları değerlendirmeye yarayan skala cetvelleri bulunmaktadır. Fiziksel analizler, duyu organları ile yapılır ve yemin rengi, kokusu, strüktürü değerlendirilir. Analizi yapan kişiye göre değişiklik gösterebilir. Bu analizlerde, Alman Tarım Örgütü (DLG) tarafından belirlenmiş skala cetvelleri kullanılarak yemin kalite sınıfı belirlenir (Ergül 1988). Kimyasal analizlere göre daha ucuz, zaman almayan, basit uygulamalar olmasına rağmen yanılma olasılığı yüksektir.

Kimyasal analizler, fiziksel analizlere göre karmaşık olmasına rağmen güvenilirlikleri daha yüksektir. Kimyasal analizlerin yapılabilmesi için iyi bir laboratuvar ve personel alt yapısının gerekli olması en önemli dezavantajdır. Bu analizlerden biri Fleig Puanı (FP) olarak adlandırılan ve kısıtlı parametreler (yemin kuru madde içeriği ve pH) kullanılarak hesaplanan analiz yöntemidir. FP, kuru madde (KM) ile doğru, pH ile ters orantılı olarak değişim gösterir. Puan

arttıkça, yemin kalite sınıfı da artar. Bu yöntem için geliştirilmiş bir skala cetveli de bulunmaktadır (Nauman ve Bassler 1993). Ancak, DLG yönteminde olduğu gibi yemin kalitesi hakkında yeteri kadar bilgi içermez.

Yem kalitesi, enerji ve sindirilebilir besin maddelerinin miktarına bağlıdır ve çoğunlukla *in vivo* yöntemlerle belirlenmesi arzu edilir. Ancak bu yöntem, zaman alıcı ve pahalı olduğu için araştırmacılar genel olarak *in vitro* yöntemlere yönelmişlerdir. *In vitro* yöntem, yemlerin fermantasyonu sonucu ortaya çıkan gazların ölçümüne dayalı bir yöntemdir (Blümmel ve Qrskov 1993).

Temelde kimyasal analizler, yonca bitkisinde kalite kontrolü için geliştirilen NYD'e göre belirlenir ve bütün bitkiler için kullanılabilir (Ball ve ark. 1996, Richardson 2001, Moore ve Undersander 2002). Özellikle süt verimi yüksek hayvanlara verilecek yemlerin kalitelerinin belirlenmesinde kimyasal analizlerin kullanılması tavsiye edilmektedir (Rivera ve Parish 2010). Kimyasal analizlerde hedef, öncelikli olarak NYD'e göre kaba yemin kalitesini belirlemektir. Bu değeri belirlerken önce Sindirilebilir Kuru Madde (SKM) ve Kuru Madde Tüketimi (KMT) hesaplanır. Hesaplamalarda Asit Deterjan Lif (ADF) ve Nötr Deterjan Lif (NDF) değerleri kullanılır (Boman 2003). NYD'e göre yemin kalite sınıfını belirlemek amacıyla buğdaygil, baklagil ve buğdaygil+baklagil karışımlarında kullanılmak üzere Rohweder ve ark. (1978) tarafından geliştirilmiş skala kullanılır.

Yem kalitesini belirlemede kullanılan bir diğer kimyasal analiz yöntemi de Nispi Yem Kalitesi (NYK) değeridir. Bu parametrenin hesaplanmasında ADF ve NDF değeri kullanılmakta ve alınan sonuçlar bir skala cetveli ile belirlenmektedir (NRC 2001).

Kimyasal analizlerde daha çok ADF ve NDF değerleri kullanılır. NDF, bitki hücre duvarı yapısında bulunan hemiselüloz, selüloz, lignin, kütin ve çözünmeyen protein miktarını ifade eder. Bu değer bir hayvanın 24 saat içinde ne kadar yem tüketebileceğinin göstergesidir. Ruminat bir hayvanın sağlığı için alınması gereken NDF miktarının %75'inin kaba yemlerden temin edilmesi gereklidir (Budak ve Budak 2014). NDF değeri düştükçe, hayvanın yem tüketimi artar ve rumenlerde hayvan sağlığının korunmasında önemli bir yere sahiptir (Van Soest ve ark. 1991, Van Soest 1994, Tekce ve Gül 2014). Bu değer kullanılarak, hayvanın tüketebileceği yem miktarı ve hayvanın canlı ağırlığına bağlı olarak KMT hesaplanır (Van Dyke ve Anderson 2000). ADF, bitki hücre duvarı yapısında selüloz, lignin ve çözünmeyen protein miktarını ifade eder. Bir yemde ADF arttıkça sindirim oranı düşer (Van Soest ve ark. 1991, Van Soest 1994). Bir yemin SKM oranı ise, ADF değeri kullanılarak hesaplanır (Van Dyke ve Anderson 2000). ADF ve NDF tükürük salgısının artmasını

teşvik ederek rumen pH değerinin uygun sınırlar içinde kalmasını sağlar (Tekçe ve Gül 2014).

Bu çalışmanın amacı, aynı örneklere ait fiziksel ve kimyasal yöntemlerle belirlenen kalite analiz sonuçlarının karşılaştırılarak, elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkları belirlemektir. Böylece alıcıların kaliteli kaba yem satın almada ve rasyona ilave edilecek kaba yem miktarını belirlemede, analizlere göre karar verme süreçlerini gözden geçirmeleri sağlanabilir. Bu amaçla çalışma, üç yıl süresince iki farklı yem karışımında, üç farklı kaba yem muhafaza yöntemi kullanılarak yürütülmüştür.

2. Materyal ve Metot

Araştırma, Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ait deneme arazilerinde 2013-14, 2014-15, 2015-16 üretim dönemi içinde toplam 3 yıl süre ile yürütülmüştür. Deneme alanı toprakları hafif alkali, kireçli, organik madde yönünden orta sınıfta yer almaktadır. Araştırmada bitki materyali olarak fiğ+tritikale (*Vicia sativa* + *Triticosecale Wittmac*) ve italyan çimi+iskenderiye üçgülü (*Lolium multiflorum*+*Trifolium alexandrinum*) kullanılmıştır. Karışımlarda, oransal olarak 70:30 fiğ, tritikale ve 50:50 İtalyan çimi, İskenderiye üçgülü kullanılmıştır. Denemede üç yıl süre ile iki karışımda üç farklı kaba yem yapım yöntemi kullanılarak kalite analizleri sonuçları arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Tarla denemeleri "Tesadüf Bloklarında Bölünmüş Parseller Deneme Deseni" tertibine göre üç tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, ana parselleri karışımlar (Karışım 1: italyan çimi+iskenderiye üçgülü ve Karışım 2: fiğ+tritikale), alt parselleri ise kaba yem yapım yöntemleri (Haylaj1, Haylaj2 ve Silaj0) oluşturmuştur. Haylaj1 konusunda, tamburlu ot biçme makinası ile biçilen karışımlar rulo balya makinası ile balyalandıktan hemen sonra streçle sarılmıştır. Haylaj2 konusunda, ezme ünitesi diskli

çayır biçme makinası ile biçilen karışımlar rulo balya makinası ile balyalandıktan sonra streçle sarılmıştır. Silaj0 konusunda ise ot silaj makinası kullanılarak geleneksel silaj yapılmıştır. Haylaj konularında hasattan sonra karışımların KM içeriğinin tavsiye edilen %40-60 oranına düşmesi için bir müddet (yaklaşık 18 saat) soldurma işlemi yapılmıştır. Soldurma işleminden sonra hiçbir parçalama işlemi yapılmadan balya haline getirilmiştir. Sarım işlemi 0,025 mm kalınlığında ve 25 cm eninde beyaz polietilen malzeme kullanılarak 4 katlı sarım yapılmıştır. Haylaj balyaları ortalama olarak 40-50 kg ağırlığında olup küçük tip balya şeklindedir. Geleneksel silajlarda ise karışımlar %25-30 kuru madde içeriğinde hasat edilmiş, parçalanmış ve silaj depolama kanalında sıkıştırılıp üstü siyah kaplama malzemesi ile kapatılmıştır. Uygulamalarda herhangi bir katkı maddesi kullanılmamıştır. Tüm kaba yemler 60 gün fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyon tamamlandıktan sonra, KM, pH, ADF, NDF analizleri için örnekler alınmış ve aşağıda verilen fiziksel, kimyasal analizler yapılmıştır.

DLG Yöntemi: Silo yemlerinin yem değerinin fiziksel yöntemlerle tespit edilmesinde Alman Yem Birliğince kullanılan "DLG" standartları kullanılmıştır (Ergül 1988, Acar ve Bostan 2016). Çizelge 1'de, kullanılan skala cetveli verilmiş olup, konu, renk, strüktür için konu uzmanı tarafından değerlendirme yapılmıştır.

Fleig Puanı Yöntemi (FP): Puanlamalar, Uygur (2015)'a sınıflandırmalar ise Çizelge 2'de verilen skalya göre yapılmıştır. Örneklere ait KM (%) tayini Kutlu (2008) tarafından belirtilen yöntemle, pH değeri ise Chen ve ark. (1997) tarafından bildirildiği gibi pH metre ile ölçülmüştür. Hesaplamalarda kullanılan eşitlikte, Fleig Puanı (FP), KM (%): Kuru madde, pH: Asitlik durumu olarak alınmıştır.

$$FP = 205 + [(2 \times \% KM) - (40 \times pH)]$$

Çizelge 1. Silo yemlerinin fiziksel özellikleri ve değerlendirilmesi (DLG puanlaması)

Koku	Puan	Strüktür	Puan
Tereyağ asitsiz/hafif asidik	14	Yaprak ve sap strüktürü normal	4
Çok az tereyağ asidi, kuvvetli asit/ hafif küf kokusu	8	Yaprak strüktürü biraz bozulmuş	2
Orta derecede tereyağ asit/ kuvvetli küf kokusu	4	Yaprak/sap strüktürü belirgin bozulmuş, kirli/küflü	1
Kuvvetli tereyağ asidi/ amonyak kokusu	2	Yaprak/sap kızarmış, fazla kirli/küflü	0
Pis/ kuvvetli küf kokusu	0	Karar	
Renk		Çok iyi	18-20
Yeşil yem renginde	2	İyi	14-17
Renk sarı ve Kahverengi	1	Orta	10-13
Rengini kaybetmiş, açık sarı veya koyu	0	Düşük	5-9
		Bozulmuş	0-4

Çizelge 2. Fleig Puanlamaya göre kaba yemlerin kalite sınıfı

FP Puanı	Sınıf	Kalite
81-100	I	Pekiyi
61-80	II	İyi
41-60	III	Memnuniyet verici
21-40	IV	Orta
20-0	V	Kötü

Nispi Yem Değeri Yöntemi (NYD): NDF ve ADF değerleri Van Soest ve ark. (1991), NYD değeri ise Yavuz ve ark. (2009) ile Mayouf ve Arbounche (2014) tarafından bildirilen yöntemlere göre yapılmıştır. NYD hesaplanmasında kullanılan eşitlikte SKM (%): Sindirilebilir Kuru Madde, KMT (%): Kuru Madde Tüketimi, NYD: Nispi Yem Değeri olarak alınmıştır

$$SKM(\%)=(88.9-(0.779 \times \%ADF))$$

$$KMT(\%)=(120/\%NDF)$$

$$NYD=(\%SKM \times \%KMT)/1.29$$

Çizelge 3'de, Rohweder ve ark. (1978) tarafından geliştirilen, Mayouf ve Arbouche (2014) ile Russell ve Johnson (2014) tarafından da kullanılan kalite standartları cetveli kullanılarak NYD bakımından kalite sınıfı belirlenmiştir.

Çizelge 3. Buğdaygil ve baklagil yem bitkileri için % KM üzerinden kalite standartları

Kalite Sınıfı	NYD*	HP*	ADF*	NDF*
En kaliteli	>151	<19	<31	<40
1	151-125	17-19	31-35	40-46
2	124-103	14-16	36-40	47-53
3	102-87	11-13	41-42	54-60
4	86-75	8-10	43-45	61-65
5	<75	8<	>45	>65

* NYD: Nispi yem değeri (%), HP: Ham protein (%), ADF: Asit deterjan lif (%), NDF: Nötr Deterjan lif (%)

Nispi Yem Kalitesi (NYK): Veriler, Marten ve ark. (1988) ve NRC (2001) tarafından bildirilen eşitlik ve skala kullanılarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4). Kullanılan eşitlikte, NYK: Nispi Yem Kalitesi, KMT(%): Kuru Madde Tüketimi, TSB(%): Toplam Sindirilebilir Besin olarak alınmıştır.

$$TSB(\%)=(96.35-(\%ADF \times 1.15))$$

$$NYK=(\%KMT \times \%TSB)/1.23$$

Araştırma sonunda yem kaliteleri, hem fiziksel analiz sonuçları hem de kimyasal analiz

sonuçlarına göre iki aşamada değerlendirilmiştir. Fiziksel analizlere göre yapılan değerlendirmede bazı parametrelere göre geliştirilmiş skala değerleri kullanılarak kalite sınıfları belirlenmiştir. Kimyasal analiz sonuçları ise hem skala hem de istatistik analizlere göre değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler bir istatistik paket programı kullanılarak yapılmış ve görülen farklılıkların önem seviyesinin belirlenmesinde LSD (Least Significant Difference) Karşılaştırma Testi kullanılmıştır.

Çizelge 4. Yem bitkilerinde nispi yem kalitesi standartları

NYK	Kalite standartları
>140	Çok iyi
110-139	İyi
90-109	Orta
<75	Kötü

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. DLG Puanına Göre Kalite Sınıfı

Üç yıllık ortalama verilere göre, her iki karışımdan elde edilen yemler “İYİ” kategorisinde yer almıştır.

Kaba yem yapma yöntemlerine göre değerlendirildiğinde ise iki haylaj konusu “İYİ” (16,8-18,8) kategorisinde yer alırken, geleneksel silaj olan Silaj0 konusu “ORTA” (13,5) sınıf kalitede olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Karışımlara göre kaba yemlere ait ortalama DLG puanı değerlendirmesi ve kalite sınıfları

Parametreler	1. yıl				2. yıl				3. yıl				Karar	
	K	S	R	T	K	S	R	T	K	S	R	T		
Karışım														
Karışım 1	12	3,5	1	16,5	14	4	1,6	19,6	10	4	1,6	15,6	17,2	İYİ
Karışım 2	12	3,5	1,6	17,1	8	3,3	1,6	12,9	12	3,3	2	17,3	15,7	İYİ
Yöntem														
Haylaj 1	11	4	1,5	16,5	11	4	2	17	11	4	2	17	16,8	İYİ
Haylaj 2	14	4	1,5	19,5	11	4	2	17	14	4	2	20	18,8	İYİ
Silaj 0	11	2	1	14	11	2	1	14	8	3	1,5	12,5	13,5	ORTA

K: konu, S: strüktür, R: Renk, T: Toplam puan; Haylaj1: Tamburlu ot biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Haylaj2: Ezme üniteli diskli çayır biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Silaj0: Ot silaj makinası; Karışım1: italyan çimi+iskenderiye üçgülü; Karışım2: fiğ+tritikale

Benzer konuda yapılan çalışmalarda, Kavut ve Soya (2012) DLG sistemine göre yapılan puanlamalarda mısır silajı kalitesinin çeşit ve lokasyonlardan etkilenmediğini bildirmişlerdir. Saruhan ve Aykan (2018) çalışmalarında farklı oranlarda yem bezelyesi+arpa karışımından yapılmış olan silajları DLG sistemine göre değerlendirmişler ve toplam puanın 17-19 arasında değiştiğini ancak aralarında

istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığını belirlemişlerdir.

3.2. Fleig Puanına Göre Kalite Sınıfı

Üç yıllık birleşik varyans analiz sonuçlarına göre, KM, FP ve pH değerinin yıllar, karışımlar ve hazırlama yöntemlerinden istatistiksel olarak önemli derecede ($p < 0,01$) etkilendiği belirlenmiştir. (Çizelge 6).

Çizelge 6. Karışım ve kaba yem hazırlama yöntemlerine göre KM, pH ve FP varyans analizi ve kalite sınıfları

Parametreler	KM (%)				pH				FP					
	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	Sınıf	
Karışım (K)														
Karışım1	36,77 ^a	41,37	48,66 ^b	42,27 ^a	5,21	4,80	4,61	4,90	69,97 ^b	92,64	117,75 ^b	93,45 ^b	I-PEKİYİ	
Karışım2	47,33 ^a	42,26	50,55 ^a	46,71 ^a	5,23	4,80	4,47	4,85	90,46 ^a	94,41	127,31 ^a	104,06 ^a	I-PEKİYİ	
LSD _{.05}	2,08	-	1,64	1,15	-	-	-	-	10,12	-	-	6,37		
Yöntem (Y)														
Haylaj1	48,66 ^a	48,33 ^a	56,50 ^b	51,16 ^a	5,98 ^a	5,16 ^a	4,67	5,27 ^a	63,13 ^b	95,01 ^a	131,2 ^a	96,44 ^b	I-PEKİYİ	
Haylaj2	48,50 ^a	50,22 ^a	58,33 ^a	52,35 ^a	5,41 ^b	5,01 ^a	4,58	5,00 ^a	85,40 ^a	104,78 ^a	138,33 ^a	109,50 ^a	I-PEKİYİ	
Silaj0	29,0 ^b	26,89 ^b	34,00 ^b	29,96 ^b	4,27 ^c	4,45 ^b	4,37	4,36 ^c	92,13 ^b	80,79 ^b	98,06 ^b	90,32 ^c	I-PEKİYİ	
LSD _{.05}	2,57	3,08	2,02	1,45	0,31	0,22	-	0,13	12,40	10,81	11,18	6,06		
CV(%)	4,7	5,7	3,1	4,7	4,7	3,6	4,8	4,1	12,1	9,0	7,1	8,9		
P değeri														
Yıl	-	-	-	<,0001 ^{**}	-	-	-	0,001 ^{**}	-	-	-	-	<,0001 ^{**}	
K	<,0001 ^{**}	0,4536 ^{cd}	0,0302 ^d	<,0001 ^{**}	0,8977 ^{cd}	1,000 ^{cd}	0,1949 ^{cd}	0,5900 ^{cd}	0,0012 ^{**}	0,6601 ^{cd}	0,0429 ^d	0,0066 ^{**}		
Y	<,0001 ^{**}	<,0001 ^{**}	<,0001 ^{**}	<,0001 ^{**}	<,0001 ^{**}	0,0001 ^{**}	0,1035 ^{cd}	<,0001 ^{**}	0,0010 ^{**}	0,0021 ^{**}	<,0001 ^{**}	<,0001 ^{**}		
KxY	<,0001 ^{**}	0,0535	0,2744 ^{cd}	0,0568 ^{cd}	0,1833 ^{cd}	0,0014 ^{**}	0,0419 ^d	0,0024 ^{**}	0,0574 ^{cd}	0,0006 ^{**}	0,0270 ^d	0,0624 ^{**}		

KM: Kurur madde(%); pH: Asidik derecesi; Haylaj1: Tamburlu ot biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Haylaj2: Ezme üniteli diskli çayır biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Silaj0: Ot silaj makinası ile geleneksel; Karışım1: italyan çimi+iskenderiye üçgülü; Karışım2: fiğ+tritikale

FP değerleri dikkate alındığında üç yıllık ortalamalar bakımından fiğ+tritikale karışımına ait kaba yemlerin italyan çimi+iskenderiye üçgülü kaba yemlerine göre daha kaliteli olduğu, ancak FP skalasına göre her iki karışımında “PEKİYİ” sınıfında değerlendirildiği belirlenmiştir.

Haylaj2 konusunun istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p < 0,01$) diğer konulardan üstün olduğu belirlenmiş olsa da, FP skalasına göre diğer konularla aynı sınıfta yer aldığı tespit edilmiştir. En düşük pH

değeri geleneksel silaj konusu olan Silaj0 konusu ile elde edilen kaba yem örneklerinde saptanmıştır. pH değerinin iyi vasıflı kaba yemlerde 3,7-4,1 (Kılıç 2010) arasında olması istenir. Ancak haylaj yapımında KM içeriği yüksek olduğu için pH değerinin 6,5 değerine kadar çıktığı bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Huhnkle ve ark. 1997). İleri ve ark. (2018) mısır silajı üzerine yaptıkları bir çalışmada, farklı mısır çeşitlerinin FP değerlerinin farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Yanti ve ark. (2019), çalışmalarında farklı tarımsal atıklara farklı katkı

maddeleri ekleyerek silaj elde etmişler ve bunların sindirilebilirlik özelliklerini incelemişlerdir. Tüm silajlarda, FP'ye göre silaj kalitelerinin iyi olmasına rağmen istatistiki olarak farklı gruplarda yer aldıklarını bildirmişlerdir. Benzer durum, bu çalışmada da elde edilmiştir.

3.3.Nispi Yem Değerine Göre Kalite Sınıfı

ADF, NDF ve NYD ile ilgili analiz sonuçları Çizelge 7'de verilmiştir. Üç yıllık birleşik varyans analizine göre, karışım türünün istatistiki olarak ADF, NDF ve NYD üzerinde ve önemli düzeyde bir etkisinin olmadığı, ancak kaba yem yapma yöntemlerinin

belirtilen özellikler üzerinde önemli düzeyde ($p<0,01$) etkili olduğu belirlenmiştir. Karışımlar, istatistiki olarak NYD bakımından farklı bulunmuşlar ve her iki karışımda NYD skalasına göre "3.SINIF" kalitede kaba yemler olarak sınıflandırılmışlardır. Kaba yem hazırlama yöntemleri bakımından ise, istatistiki olarak Haylaj1 ve Haylaj2 konuları aynı grupta yer almışlar ve Silaj0 konusuna göre daha iyi kalitede kaba yemler oldukları belirlenmiştir. Ancak, NYD skalasına göre yapılan değerlendirmelerde Haylaj1 konusu "3. SINIF", Haylaj2 konusu ise "2. SINIF" kalitede kaba yem olarak sınıflandırılmışlardır (Çizelge 7).

Çizelge 7. Karışım ve kaba yem hazırlama yöntemlerine göre TSB ve NYK varyans analizleri ve kalite sınıfları

Parametre	ADF (%)				NDF (%)				NYD				Sınıf
	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	
Karışım (K)													
Karışım1	34,80	43,25 ^b	42,27	40,11	49,00	57,39 ^b	57,44	54,61	118,11	90,17 ^a	91,58	99,95	3
Karışım2	34,15	46,90 ^a	42,48	40,18	51,01	60,37 ^a	57,36	56,25	115,42	81,39 ^b	92,49	96,44	3
LSD ₀₅	-	1,73	-	-	-	2,40	-	-	-	4,97	-	-	
Yöntem (Y)													
Haylaj1	31,91 ^b	45,37 ^b	42,10 ^a	39,79 ^c	48,35	56,09 ^b	55,18 ^b	53,21 ^b	123,51 ^a	89,14 ^a	94,79 ^b	102,48 ^a	3
Haylaj2	33,10 ^b	41,14 ^c	40,43 ^b	38,22 ^c	50,94	55,89 ^b	51,23 ^c	52,69 ^b	115,60 ^b	94,83 ^a	104,40 ^a	104,93 ^a	2
Silaj0	38,42 ^a	48,72 ^a	44,61 ^a	43,92 ^a	50,73	64,67 ^a	65,80 ^a	60,40 ^a	111,19 ^c	73,38 ^b	76,92 ^c	87,16 ^b	3
LSD ₀₅	2,75	2,13	3,59	1,54	-	2,94	3,19	1,51	7,52	5,92	7,63	3,45	
CV(%)	6,2	3,6	6,6	5,5	4,4	3,8	4,3	3,9	5,0	5,3	6,4	5,11	
P değeri													
Yıl				<,0001**				0,0002**				<,0001**	
K	0,5360 ^{bd}	0,0009**	0,8760 ^{bd}	0,1409 ^{bd}	0,0819 ^{bd}	0,0204*	0,9486 ^{bd}	0,0759 ^{bd}	0,3558*	0,0024**	0,7534 ^{bd}	0,1239 ^{bd}	
Y	0,0008**	<,0001**	0,0767*	<,0001**	0,1265 ^{bd}	<,0001**	<,0001**	<,0001**	0,0139*	<,0001**	<,0001**	<,0001**	
KxY	0,0063**	0,0943*	0,7578 ^{bd}	0,6156 ^{bd}	<,0001**	0,9893 ^{bd}	0,0148*	<,0001**	<,0001**	0,4116 ^{bd}	0,2549 ^{bd}	<,0001**	

ADF(%): Asit deterjan lif; NDF (%): Nötr deterjan lif; NYD: Nidpi yem değeri; Haylaj1: Tamburlu ot biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Haylaj2: Ezme üniteli diskli çayır biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Silaj0: Ot silaj makinası ile geleneksel; Karışım1: italyan çimi+iskenderiye üçgülü; Karışım2: fiğ+tritikale

Başbağ ve ark. (2018) çalışmalarında farklı buğdaygil yem bitkiden elde edilen kaba yemlerin NYD ile ot kalite derecelerini karşılaştırmışlardır ve NYD bakımından en yüksek değeri alan (143,1) İngiliz çiminin daha düşük (130,6) NYD'ne sahip olan makarnalık buğday kaba yemi ile aynı kategoride yer aldığını belirlemişlerdir. Benzer sonuçlar bu çalışmada da elde edilmiş olup, istatistiksel olarak aynı sınıfta yer alan Haylaj1 ve Haylaj2 konuları, kalite sınıfı bakımından aynı sınıfta yer almamışlardır.

3.4.Nispi Yem Kalitesine (NYK) Göre Kalite Sınıfı

NYK değeri, toplam sindirilebilir besin (TSB) miktarı belirlenerek hesaplanmıştır. Üç yıllık birleşik varyans analizine göre, karışımların TSB ve NYK üzerinde istatistiki olarak önemli bir etkisinin olmadığı, ancak kaba yem yapma yöntemlerinin TSB ve NYK üzerinde ve önemli düzeyde ($p<0,01$) etkisinin olduğu belirlenmiştir. NYK bakımından, yapılan karışımların NYD sonuçlarına benzerlik gösterdiği ve karışımların birbirinden istatistiki olarak farklı olmadıkları, kaba yem hazırlama yöntemleri konularından ise Silaj0 konusunun diğer haylaj konularından kalite olarak düşük değerler aldığı, Haylaj1 ve Haylaj2 konularının ise aynı grupta yer aldıkları belirlenmiştir (Çizelge 8).

Değerlendirmeler, NYK skalasına göre yapıldığında ise, karışımlardan fiğ+tritikale karışımının "KÖTÜ",

italyan çimi+iskenderiye üçgülü karışımının ise "ORTA", kaba yem hazırlama yöntemlerinden Haylaj1 ve Haylaj2 konularının "ORTA", Silaj0 konusunun ise "KÖTÜ" kalite sınıfında yer aldıkları belirlenmiştir. Gülümser ve Acar (2017) çalışmalarında farklı oranlarda fiğ+tahıl karışımlarının NYD ve NYK değerleri skala değerleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Çalışmada NYD bakımından fiğ+ buğday tüm, tritikale ile 70:30 oranındaki karışımın yalın fiğ ile aynı sınıfta yer aldığı, NYK bakımından ise yalın tahılın "kötü", karışımların "orta", yalın fiğin ise "iyi" sınıfta yer aldığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada olduğu gibi NYD ile NYK'nın birbiriyle tam olarak örtüşmediği belirlenmiştir. Acar ve Bostan (2016) çalışmalarında farklı şekillerde hazırlanan silajları NYD, NYK, FP, DLG puanı ve diğer bazı kalite parametreleri bakımından karşılaştırmışlar ve puanlamaların birbiriyle örtüşmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar NYD bakımından, tüm silajların aynı sınıfta yer aldığını, TSB ve NYK'ya göre yapılan değerlendirmelerde uygulamalara göre kalite sınıfı bakımından farklı sonuçlar alındığını bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar bu çalışmada da tespit edilmiş olup, NYK bakımından "orta" sınıfta yer alan Haylaj2 konusu, NYD bakımından "2. sınıf" yani üstün özelliklere yakın bir yem olarak belirlenmiştir.

Çizelge 8. Karışım ve kaba yem hazırlama yöntemlerine göre TSB ve NYK varyans analizleri ve kalite sınıfları

Parametre	TSB (%)				NYK				
	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	1.yıl	2.yıl	3.yıl	Ort.	Sınıf
Karışım (K)									
Karışım1	56,32	46,60 ^a	47,73	50,21	112,87	80,03 ^a	82,06	91,65	ORTA
Karışım2	57,06	42,40 ^b	47,48	48,98	111,29	69,25 ^b	82,72	87,75	KÖTÜ
LSD _{.05}	-	1,99	-	-	-	5,21	-	-	
Yöntem (Y)									
Haylaj1	59,64 ^a	44,16 ^b	47,93 ^{ab}	50,58 ^b	120,69 ^a	77,15 ^b	84,93 ^b	94,25 ^a	ORTA
Haylaj2	58,28 ^a	49,03 ^a	49,85 ^a	52,39 ^a	112,03 ^{ab}	88,85 ^a	95,08 ^a	98,65 ^a	ORTA
Silaj0	52,12 ^b	40,31 ^c	45,04 ^b	45,83 ^c	103,62 ^b	60,93 ^c	67,15 ^c	77,23 ^b	KÖTÜ
LSD _{.05}	0,31	2,44	4,12	1,77	8,63	6,39	9,20	4,03	
CV(%)	4,3	4,2	6,7	5,2	6,0	6,6	8,7	6,5	
P değeri									
Yıl				<,0001**				<,0001**	
K	0,5360 ^{öd}	0,0009**	0,8768 ^{öd}	0,1409 ^{öd}	0,6306 ^{öd}	0,0010**	0,8516 ^{öd}	0,1320 ^{öd}	
Y	0,0008**	<,0001**	0,0767*	<,0001**	0,0046**	<,0001**	0,0002**	<,0001**	
KxY	0,0069**	0,0943*	0,7578 ^{öd}	0,6156 ^{öd}	<,0001**	0,2059 ^{öd}	0,5729 ^{öd}	<,0001**	

TSB(%): Toplam sindirilebilir besin; NYK: Nispi yem kalitesi; Haylaj1: Tamburlu ot biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Haylaj2: Ezme ünitesi diskli çayır biçme makinası+Rulo balya makinası+Balya sarma makinası, Silaj0: Ot silaj makinası ile geleneksel; Karışım1: italyan çimi+iskenderiye üçgüülü; Karışım2: fiğ+ tritikale

4.Sonuç

Yapılan üç yıllık çalışma ile analiz materyali olarak kullanılan her iki karışımın kalite değerleri DLG, FP, NYD bakımından kendi skala değerlerine göre sırasıyla “İYİ”, “PEKİYİ” ve “3. SINIF” olarak nitelenmiş, NYK bakımından ise italyan çimi+iskenderiye üçgüülü karışımı “ORTA”, fiğ+tritikale karışımı ise “KÖTÜ” sınıfında yer almıştır. Ancak istatistiksel sonuçlar dikkate alınarak yapılan kalite değerlendirilmesinde, karışımlardan italyan çimi+iskenderiye üçgüülü DLG puanlaması ve NYK değerine göre fiğ+tritikale karışımından daha iyi bir kaba yem olarak değer alırken, FP ve NYD’ye göre ise tam tersi bir durum oluşmuştur. Kaba yem yapma konuları bakımından istatistiksel bir değerlendirme yapıldığında, DLG ve FP değerine göre Haylaj2 konusu en iyi, NYD ve NYK’ya göre Haylaj1 ve Haylaj2 aynı grupta yer almışlardır.

Sonuç olarak, kaba yem satın alımı ya da rasyona ilave edilecek kaba yem miktarını hesaplamada seçilen kalite belirleme yöntemine göre verilen kararların değişiklik göstereceğini söylemek

mümkündür. Bu çalışmada, elde edilen sonuçlara göre DLG yöntemi kullanıldığında Haylaj1, Haylaj2 konusuna ait yemlerin, FP yöntemi kullanıldığında Haylaj1, Haylaj2 ve Silaj0 konularına ait yemlerin, NYD yöntemi kullanıldığında yalnızca Haylaj2 konusuna ait yemin alıcı tarafından seçilmesi gerektiği belirlenmiştir. Ancak, NYK yöntemine göre bir değerlendirme yapılması gerektiğinde ise hiçbir yemin alıcı tarafından seçilmemesi gerektiği tespit edilmiştir. Kaba yem kalitesinin belirlenmesinde yaygın yöntemlerden farklı ve daha pratik yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Bu bakımdan, öncelikle yaygın olarak kullanılan yem bitkisi materyalleri ya da karışımlar için hızlı karar vermeyi sağlayacak matematiksel modelleme çalışmalarının desteklenmesi gerekmektedir. Bu modelleme çalışmalarında, özellikle renk düzleminden faydalanarak yem örneklerine ait L*(parlaklık), a*(Kırmızı-yeşil), b*(sarı-mavi) ve y1*(sarılık indeksi) değerleri ile pH, NYD ve benzeri kalite parametreleri arasındaki doğrusal olan ya da olmayan ilişkileri tespit etmeyi hızlandıran dijital göstergeler geliştirebilmek mümkün görülmektedir.

5. Kaynaklar

Acar, Z., and Bostan, M., 2016. The Effects of Some Natural Additives on Quality of Alfalfa Silage. Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 31 (2016). ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online). doi: 10.7161/omuanajas.269998

Ball, D.M., Hoveland, C.S. and Lacefield, G.D., 1996. Forage Quality in Southern Forages. Potash&Phosphate Institute. Norcross, Georgia, 124-132s.

Başbağ, M., Çağan, E. ve Sayar, M.S., 2018. Bazı Buğdaygil Bitki Türlerinin Yem Kalite Değerlerinin Belirlenmesi ve Biplot Analiz Yöntemi ile Özellikler Arası İlişkilerin Değerlendirilmesi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 2018, 27 (2): 92–101

Boman R.L., 2003. New Forage Analysis: Increased Feed Efficiency Potential. USU Dairy Newsletter, 26, 3.

- Blümmel, M. and Qskov, E.R., 1993. Compararion of *in vitro* Gas Production and Nylon Bag Degradability of Roughages in Predicing of Food İntage in Cattle. *Animal feed Scince and Technology* 40: 109-119
- Budak, F. ve Budak, F., 2014. Yem Bitkilerinde Kalite ve Yem Bitkileri Kalitesini Etkileyen Faktörler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* ISSN: 1308-0040, E-2146-0132, 7(1): 01-06.
- Chase L.E. and Grant R.J., 2013. High forage rations - What do we know?. *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference*; Syracuse, NY, USA. 2013.
- Chen, V., Stoker, M.R. and Wallance, C.R., 1997. Effect of Enzyme-Inoculant Sistsems on Preservation and Nutritive Value of Haycrop and Corn Silage. *J.Dairly* (77): 501-507.
- Ergül, M., 1988. Yemler Bilgisi ve Teknolojisi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları II. Basım, Yayın No: 487, Bornova, İzmir
- Gülümser, E. ve Acar, Z., 2017. Biçim Zamanı ve Tohum Oranlarının Macar Fiği Tahıl Karışımlarının Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. *Selcuk J. Agr. Food Sci.*, ISSN: 2458-8377, 31 (2), 14-21. DOI: 10.15316/SJAFS.2017.14
- Hancock D.W., 2011. Using Relative Forage Quality to Categorize Hay. *Departmental Factsheet CSS-F048*. UGA Extension.
- Huhnkle, R.L., Muck, R.E. and Payton, M.E. 1997. Round Bale Silage Storage Losses of Rye Grass and legume – Grass Forages, *Appl. Eng.Agric.*, 13, 451-457
- İleri, O., Budaklı Carpıcı, E., Erbeyi, B., Avcı, S. and Koc, A., 2018. Effect of Sowing Methods on Silage Yield and Quality of some Corn Cultivars Grown in Second Crop Season Under Irrigated Condition of Central Anatolia, Turkey. *Turk J Field Crops* 2018, 23(1), 72-79 DOI: 10.17557/tjfc.424379
- Kavut, Y.T. and Soya, H., 2012. An investigation on the Silage Quality Characteristics of some Maize (*Zea mays* L.) Cultivars under Aegean Region Conditions. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2012, 49 (3): 223-227 ISSN 1018–8851
- Kılıç, A., 2010. Silo Yemi (Öğretim-Öğrenim ve Uygulama Örnekleri) El Kitabı. Hasad Yayıncılık, İstanbul, sf: 263
- Kutlu, H.R., 2008. Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Ders notları, Adana
- Marten, G.C., Buxton, D.R. and Barnes, R.F., 1988. Feeding value (forage quality). p. 463-492. In Hanson et al. (eds.) *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. Agronomy Monograph no. 29. ASA-CSSA-SSSA, Madison, Wisconsin, USA, p: 463-492.
- Mayouf, R. and Arbouche, F., 2014. Chemical Composition and Relative Feed Value of Three Mediterranean Fodder Shrubs. *African Journal of Agricultural Research*. vol 9 (8): 746-749.
- Moore, J.E. and Undersander, D.J., 2002. Relative Forage Quality: Alternative to Relative Feed Value and Quality Index. *Proceedings 13th annual Florida Ruminant Nutrition Symposium*, p:16-32
- Nauman, C. and Bassler R., 1993. Die Chemische Untersunhung von Futtermitein. *Methodenbuch, Band III*. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th edn. NAS-NRC, Washington.
- Osuji, P.O., Fernández-Rivera S. and Odenyo, A., 1995. Improving Fibre Utilisation and Protein Supply in Animals fed Poor Quality Roughages. In: Wallace RJ, Lahlou-Kassi A, editors. *Rumen Ecology Research Planning; Proceedings of a Workshop Held at ILRI*; 1995 March 13–18; Addis Ababa, Ethiopia. pp. 9–30.
- Richardson, C., 2001. Relative Feding Value (RFV), an Indicator of Hay Quality. *OSO Extension Fact F2117*. <http://clay.agr.okstate.edu/alfalfa/webnews/quality3.htm>
- Rivera D. and Parish J., 2010. *Interpreting Forage and Feed Analysis Report*. 2620, Mississippi State University.
- Rohweder, D.A., Barnes, R. and Jorgensen, N., 1978. Proposed Hay Grading Standart Based on Laboratory Analyses for Evaluating Quality. *Journal of Animal Science*. 47: 747- 759.
- Russell, M.A. and Johnson, K.D., 2014. Selecting Quality Hay for Horses. www.agry.purdue.edu/ext/forages/publications/id-190.htm, Erişim: 11.12.2014.
- Saruhan, V. and Aykan Y., 2018. Determination of Silage Quality Features of Field Pea (*Pisum sativum* L.) and Barley (*Hordeum vulgare* L.) Mixtures Ensiling at Different Rates. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, ISSN 1307-9972, e-ISSN:1308-0679; dergipark.org.tr/download/article-file/625850; pp:64-70
- Tekce, E. ve Gül, M., 2014. Ruminant Beslemede NDF ve ADF'nin Önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9(1): 63-73.
- Uygur, M., 2015. Silaj Kalitesinin Fiziksel ve Kimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi. *Çiftçi Broşürü*. Broşür no: 127. Erişim: 23.10.2015. www.arastirma.tarim.gov.tr/etae/Belgeler
- Van Soest, P.J., 1994. *Fiber and Physicochemical Properties of Feed in: Nutritional Ecology of The Ruminant*. Second Edition. Cornell University Press. 140-155.

- Van Soest, P.J., Robertson, J.D. and Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fibre, Neutral Detergent Fibre and Non-Starch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
- Van Dyke, N.J. and Anderson, P.M., 2000. Interpreting a Forage Analysis. Alabama Cooperative Extension. Circular ANR-890.
- Yammeun-art, S., Somrak, P. and Phatsara, C., 2017. Effect of the Ratio of Maize Cob and Husk to Napier Pakchong 1 Silage on Nutritive Value and *in vitro* Gas Production of Rumen Fluid of Thai Native Cattle. *Anim Prod Sci*. 2017;57:1603–6.
- Yang, W.Z. and Beauchemin, K.A., 2007. Altering Physically Effective Fiber Intake Through Forage Proportion and Particle Length: Chewing and Ruminal pH. *J Dairy Sci*. 2007;90:2826–38.
- Yanti, Y., Kawai, S. and Yayota, M., 2019. Tropical Animal Health Production, 51: 1141. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01798-1>
- Yavuz, M., İpsaş, S., Ayhan, V. ve Karadağ, Y., 2009. Yembitkilerinde Kalite Tayini ve Kullanım Alanları. Yembitkileri Kitabı. Genel Bölüm. Cilt 1. Bölüm (5): 163-172. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü Yayınları, İzmir
- Wanapat, M, Foiklang S. and Phesatcha K, 2017. On-Farm Feeding Interventions to Increase Milk Production in Lactating Dairy Cows. *Trop Anim Health Prod*. 49:829–33



LC-MS/MS ile Enerji İçeceklerinde Taurin, İnositol ve Glukoronolaktonun Belirlenmesinde Metot Validasyon Çalışmaları

Method Validation for Determination of Taurine, Inositol and Glucuronolactone in Energy Drinks by LC-MS/MS

Pınar MANARGA BİRLİK¹, Ayşe Binnur KARATAŞ², İbrahim Emre TOKAT³

¹ Gıda Yük. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA-TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0001-8902-1796

² Gıda Yük. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA-TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0001-7750-5427

³ Veteriner Hekim, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA-TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0003-1975-9706

Geliş Tarihi : 17.10.2019

Kabul Tarihi : 07.01.2020

Öz

Amaç: Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de özellikle gençler arasında enerji içeceği tüketimi son yıllarda giderek artmaktadır. Zihinsel uyanıklık sağladığı, dayanıklılığı ve enerjiyi arttırdığı, yorgunluk hissini azalttığı bildirilen enerji içeceklerinin temel bileşimini kafein ile birlikte taurin, inositol ve glukoronolakton oluşturmaktadır. Bu çalışma ile enerji içeceklerinde yasal mevzuat ile sınırlandırma getirilen taurin, inositol ve glukoronolakton analizlerinin LC-MS/MS kullanılarak optimize edilmesi ve metot validasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem: Çalışmada materyal olarak enerji içeceği kullanılmıştır. Taurin, inositol ve glukoronolakton analizlerinin ekstraksiyon aşamaları aynı olup cihaz şartları farklılık göstermektedir. Uygun dilüsyon ile C18 kartuştan geçirilen örnekler cihaza enjekte edilmiştir. Optimize edilen metodun doğrusalılık, tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik, tespit limiti (LoD), ölçüm limiti (LoQ) ve geri kazanım parametreleri kullanılarak validasyonu yapılmış ve ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır.

Bulgular: Tüm analitler için doğrusalılık $r^2 \geq 0,99$ olarak saptanmıştır. Taurin, inositol ve glukoronolakton için LoQ değerleri sırasıyla 23,91; 6,27; 2,47 mg/L iken, LoD değerleri 100; 21 ve 8,22 mg/L olarak belirlenmiştir. Geri kazanım oranları ise taurin için %99,1, inositol için %98,4 ve glukoronolakton için ise %100 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç: Enerji içeceğinde taurin, inositol ve glukoronolakton analizlerinin LC-MS/MS kullanılarak yapılabilir olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Enerji İçeceği, Taurin, İnositol, Glukoronolakton, LC-MS/MS

Abstract

Objective: As in all over the world, consumption of energy drinks has increased in recent years especially among young people in our country. Caffeine, taurine, inositol and glucuronolactone are the main components of energy drinks that are reported to provide mental alertness, increase endurance and energy, reduce fatigue but usage of these components is limited by legal regulations. In this study, it is aimed to optimize taurine, inositol and glucuronolactone analyzes and validate the method by LC-MS/MS.

Material and Method: In this study energy drinks were used as material. Extraction steps of taurine, inositol and glucuronolactone were the same but instrument conditions were different. Samples passed through the C18 cartridge with the appropriate dilution were injected into instrument. The optimized method was validated using linearity, repeatability, reproducibility, limit of detection (LoD), limit of quantification (LoQ) and recovery, measurement uncertainty was calculated.

Results: The linearity of calibration curves (r^2) were determined $\geq 0,99$ for all analytes. LoQ values for taurine, inositol and glucuronolactone were 23,91, 6,27 and 2,47 mg/L; LoD values were 100, 21, 8,22 mg/L, respectively. Recovery rates were calculated as 99,1% for taurine, 98,4% for inositol and 100% for glucuronolactone.

Conclusion: It was found that taurine, inositol and glucuronolactone analyzes in energy drinks were feasible using LC-MS/MS system.

Keywords: Energy Drinks, Taurine, Inositol, Glucuronolactone, LC-MS/MS.

1.Giriş

Enerji içecekleri gençler tarafından tercih edilen, tüm dünyada yaygın olarak kullanılan, ülkemizde de son yıllarda kullanımı giderek artan performans artırıcı ürünlerdir (Varım ve ark. 2015). Dünya genelinde 1980’li yıllarda kullanımı yaygınlaşmaya başlayan enerji içecekleri, Türkiye’de piyasaya 1990’lı yıllarda girmiştir (Nakilcioğlu-Taş ve ark. 2019). Genel olarak tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de enerji içeceği pazarının büyüme hızı, diğer içecek grupları ile kıyaslandığında 2-3 kat daha fazladır (Sipahi ve ark. 2014).

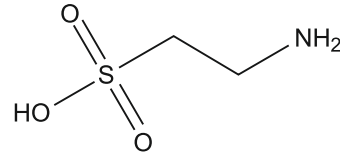
Türk Gıda Kodeksi (TGK)-Enerji İçecekleri Tebliği’ne göre enerji içeceği; kafein içeren, taurin, glukoronolakton, inositol, karbonhidrat, aminoasitler, vitaminler, mineraller ve diğer gıda ve bileşenlerini içerebilen, aromalandırılmış alkolsüz içecek olarak tanımlanmaktadır. Aynı tebliğ ile enerji içeceklerinde bulunan kafein miktarı 150 mg/L, inositol miktarı 100 mg/L, glukoronolakton miktarı 20 mg/L ve taurin miktarı ise 800 mg/L olarak sınırlandırılmıştır (Anonim 2017).

Enerji içeceklerinin asıl etken maddesi kafein olmakla birlikte söz konusu içecekler taurin, inositol ve glukoronolaktonun yanı sıra riboflavin, niasin, pantotenik asit, pridoksin ve siyanokobalamin gibi B grubu vitaminleri, C vitamini, şeker ve tatlandırıcılar, magnezyum ve potasyum gibi mineral maddeler, ginseng, guarana, yerbamate ve ginkgobiloba gibi doğal kafein içeren bitki ekstraktları, doğal ve/veya yapay aroma vericiler de içerebilmektedir (Görgülü ve ark. 2014, Malinauskas ve ark. 2007, İşçioğlu ve ark. 2010, Hıdırhoğlu ve ark. 2013).

Bazı çalışmalarda enerji içecekleri ile ilgili olarak kafein, taurin ve glukoronolakton kombinasyonunun performansa direkt etki eden kombinasyon olduğu düşünülmektedir. Bu kombinasyonun vücut üzerine etkileri ile ilgili uzun süreli bir çalışma yoktur. Söz konusu içecekler ile ilgili en önemli etki ve yan etkinin kaynağı olarak ise kafein kabul edilmektedir (Pennay ve Lubman 2012). Ancak bu durumun aksine farklı araştırmalarda enerji içeceği bileşenleri arasında sinerjik bir etkileşim olduğu; enerji içeceğinin sağlamış olduğu performansın kafein içeriğinin tek başına sağlayabileceğinden daha fazla olduğu öne sürülmüştür (Marczinski ve ark. 2011, Scholey ve Kennedy 2004).

1.1.Taurin Kimyasal Yapısı ve Metabolizması

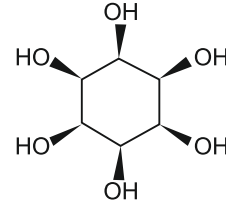
Taurin (2-aminoetansülfonik asit) (Şekil 1), karaciğerde magnezyum katalizörlüğünde metiyoninin homosisteine dönüşümünden sonra bir dizi biyokimyasal reaksiyon sonucu meydana gelen sisteinden sentezlenen, merkezi sinir sistemi için gerekli, sülfonlu bir β-amino asittir.



Şekil 1.Taurin kimyasal formülü

Çalışmalar, taurinin dopamin üretimini artırarak lokomotor aktiviteyi artırdığını, alkolün neden olduğu hafıza kaybı ve karaciğer üzerindeki toksik etkisini azalttığını göstermiştir. Ayrıca; antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi olan, kan basıncının düzenlenmesinde rol alan taurinin koroner kalp hastalığına karşı koruyucu etkisi olabileceği de düşünülmektedir. Taurinin, beyinde en önemli inhibitör nörotransmitter olan gamma-amino bütirik asidi etkileyerek anti-anksiyete ajanı olma gibi bir özelliği de bilinmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından genel olarak güvenli kabul edilen taurin 1980 yılından bu yana bebek mamalarına da eklenmektedir (Eppler ve ark. 1999, Heneman ve Zidenberg 2007, Wójcik ve ark. 2010, Arpacı ve Ersoy 2011).

1.2.İnositol Kimyasal Yapısı ve Metabolizması



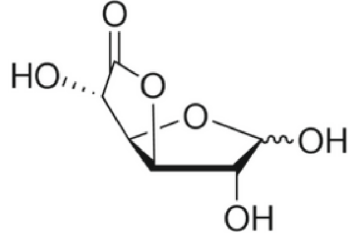
Şekil 2. İnositol kimyasal formülü

İnositol (sikloheksan-1,2,3,4,5,6-heksol) (Şekil 2), bitkisel ve hayvansal dokularda yaygın olarak bulunan bir glikoz izomeridir. Gıdalarda yüksek kepek içeren tahıllarda (karabuğday), fındık, fasulye ve meyvede bulunmaktadır (Schlemmer ve ark. 2009). İnositolün biyolojik olarak en önemli izomeri olan myo-inositol; inositol fosfatlar (fitik asit), fosfatidilinositol ve fosfatidilinositol fosfat lipidler dahil olmak üzere ökaryotik hücrelerde çok sayıda ikincil habercinin yapısal temeli olarak önemli rol oynar (Irvine ve Schell 2001).

İnositol insan vücudu tarafından sentezlendiği için vitamin olarak kabul edilmezken diğer taraftan myo-inositol, B vitamini kompleksi (genellikle B8 vitamini olarak adlandırılır) üyesi olarak sınıflandırılır. İnositol tıp bilimi açısından da önem taşır. Klinik depresyon şikayeti olan hastalar genellikle beyin omurilik sıvısında inositol seviyelerinde azalma gösterir. Yüksek dozlu myo-inositol takviyeleri üzerine yapılan çalışmaların bazı ön sonuçları; vücutta serotonin etkisini artırarak, epilepsi, panik bozukluk, obsesif/kompulsif bozukluk ve unipolar/bipolar depresyondan muzdarip insanlar için ümit verici sonuçlar sergilemektedir (Solomon ve ark. 2010, Ontiveros ve ark. 2009).

İnositol, glikoz metabolizmasının ürünü olarak üretilmesine rağmen vücutta çok az miktarda bulunmakta ve yüksek miktarlarda kafein alımı vücuttaki miktarını azaltmaktadır (Iovieno ve ark. 2011, Varım ve ark. 2015).

1.3. Glukoronolakton Kimyasal Yapısı ve Metabolizması



Şekil 3. Glukoronolakton kimyasal formülü

Glukoronolakton (D-(+)-Glucurono-6,3-lactone) (Şekil 3), karaciğerde glikozun metabolize olması

sonrasında oluşan doğal bir maddedir. Ancak enerji içeceklerinde bulunan glukuronolakton, sentetik olup insan vücudunda bulunan miktardan çok daha fazlasını içermektedir (Wolk ve ark. 2012).

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Validasyon çalışması kapsamında orijinal ambalajında piyasaya sunulan sıvı formda enerji içeceği kör örnek olarak kullanılmıştır. Enerji içeceği satın alma yoluyla temin edilmiş ve 6 tekrarlı ön çalışma yapılmıştır. Numuneler analize alınana kadar orijinal ambalajında muhafaza edilmiştir.

2.2. Kimyasallar

Kullanılan kimyasallar Çizelge 1'de belirtilmiştir. Tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Çizelge 1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri

Kimyasal Adı	CAS No	Kimyasal Maddelerin Saflıkları (%)
Glukoronolakton standart maddesi	32449-92-6	≥99
Myo-İnositol standart maddesi	87-89-8	≥99
Taurin standart maddesi	107-35-7	≥99
Metanol	67-56-1	
Sodyum hidroksit	1310-73-2	
Amonyak	7664-41-7	
Sodyum hidrojen fosfat monohidrat	10049-21-5	
Tetra-n-butilamonyum hidrojen sulfat (TBA)	32503-27-8	
Asetonitril	75-05-8	
Amonyum format	540-69-2	≥99
Formik asit	64-18-6	98-100

2.3. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada; ultrasonik banyo (Elma S300 H, Almanya), çoklu çalkalayıcı (Heidoph Unimax 1010, Almanya), vorteks (LVM-202, LabTech), azot jeneratörü (Peak Scientific Genius 1050, UK), ikili pompa (Shimadzu AD-30, Japonya), oto örnekleyici (Shimadzu Nexera X2 SIL-30AC, Japonya), kolon fırını (Shimadzu CTO-20AC, Japonya), kütle dedektörü (Shimadzu 8040 MSMS triple quadrapole, Japonya), inositol ve glukuronolakton için HILIC kolon (2.1x100 mm, 3.5 µm, 100A, Merck), taurin için ise ultra saf silika kolon (150 x 3 mm, 3µm, GL Sciences Inertsil SIL100A) kullanılmıştır.

2.4. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Taurin, inositol ve glukuronolakton stok çözeltileri söz konusu standartların herbirinden 100 mg tartılıp 100 ml su ile ayrı ayrı çözülerek elde edilmiş; ağız kapalı amber renkli balon joje içerisinde +4°C'de 7 gün süresince saklanmıştır. Çalışma çözeltileri için günlük olarak stok çözelti, kör enerji içeceği ile seyreltilmiş ve Çizelge 2'de belirtilen konsantrasyonlarda her bir analit için ayrı ayrı hazırlanmıştır. Hazırlanan çalışma çözeltileri ile her çalışma öncesinde matriks uyumlu kalibrasyon çizilmiştir.

Çizelge 2. Taurin, inositol ve glukoronolakton için kalibrasyon noktaları

Kalibrasyon Noktaları (mg/L)	
İnositol	4, 10, 20 ve 40
Glukoronolakton	0.5, 1, 2, 4 ve 8
Taurin	10, 20, 40, 80 ve 160

2.5. Ekstraksiyon

Taurin, inositol ve glukoronolakton analizlerinin ekstraksiyon aşamaları aynı olup cihaz şartları farklılık göstermektedir. Ultrasonik banyoda degas edilerek su ile dilue edilen (1:10, v/v) numuneden 5 ml alınarak, önce 2 ml metanol daha sonra 5 ml TBA(II) geçirilerek aktif hale dönüştürülen C₁₈

kartuştan damla damla geçirilir. Süzütünün ilk 2 ml'lik kısmı atılırken geri kalan süzöntü 0,2 µm gözenek büyüklüğü olan politetrafluoroetilen (PTFE) filtreden geçirilerek viallenir ve cihaza enjekte edilir (Ricciutelli ve ark. 2014, Leung ve ark. 2011, Anonim 1989). Metodun ekstraksiyon aşamasında kullanılan çözeltilerin hazırlanma şekilleri Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Ekstraksiyon aşamasında kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

TBA (I)	3,40 g TBA ve 1,38 g sodyum hidrojen fosfat monohidrat 450 ml ultra saf suda çözünür. 2M NaOH çözeltisi ile pH 6,5'e ayarlanır ve 500 ml'e ultra saf su ile tamamlanır.
TBA (II)	TBA (I) ile ultra saf suyun 1:3, v/v oranında karıştırılmasıyla elde edilir.

2.6. Cihaz Parametreleri

2.6.1. Taurin Tespiti için Kullanılan Cihaz Şartları

Sıvı Kromatografi (LC) Parametreleri: Mobil Faz A 40 mM amonyum format ve %2 formik asitli su,

Mobil Faz B ise %2 formik asit içeren asetonitrilden oluşmaktadır. Akış hızı 0,4 ml/dk ve gradient olarak Çizelge 4'de belirtildiği şekilde kullanılmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30°C'ye ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µl'dir.

Çizelge 4. Taurin analizi için gradiyent olarak uygulanan mobil faz şartları

Süre (dak.)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0,5	10	90
4	65	35
6	65	35
8	10	90
10	10	90

Kütle Spektrometresi (MS) Parametreleri: Taurin tespiti için elektrosprey iyonizasyon pozitif mod (ESI+) ve tanımlama için çoklu iyon izleme (MRM)

modu kullanılmıştır. MRM modda kullanılan LC-MS/MS parametreleri Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Taurin analizi için MRM modda kullanılan LC-MS/MS parametreleri

Analiz Süresi (dak)	Ana İyon (m/z)	Ürün İyon (m/z)	Çarpışma Enerjisi	Alkonma Süresi (dak)	Polarite
10	125,9	44,15 ^a	20	4,7	Pozitif
		30,15 ^b	16		

^a: kantitatif ölçüm için kullanılan iyon

^b: doğrulama amaçlı kullanılan iyon

Metot optimizasyonu ile taurinin [M+H]⁺ iyonlaştığı görülmüş bu durum literatür ile doğrulanmıştır (Ricciutelli ve ark. 2014, Anonim 2016b).

2.6.2. Glukoronolakton Tespiti için Kullanılan Cihaz Şartları

LC Parametreleri: Mobil Faz A 10 mM Amonyum format ve %0,1 Amonyak içeren su, Mobil Faz B ise

asetonitrilden oluşmaktadır. Akış hızı 0,3 ml/dk ve gradient olarak Çizelge 6'da belirtildiği şekilde kullanılmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30°C'a ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µl'dir.

Çizelge 6. Glukoronolakton analizi için gradient olarak uygulanan mobil faz şartları

Süre (dak.)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
1	10	90
6	63	37
8	63	37
10	10	90
12	10	90

MS Parametreleri: Glukoronolakton tespiti için elektrosprey iyonizasyon negatif mod (ESI-) ve tanımlama için MRM mod kullanılmıştır. MRM

modda kullanılan LC-MS/MS parametreleri Çizelge 7'de verilmiştir.

Çizelge 7. Glukoronolakton analizi için MRM modda kullanılan LC-MS/MS parametreleri

Analiz Süresi (dak)	Ana İyon (m/z)	Ürün İyon (m/z)	Çarpışma Enerjisi	Alınma Süresi (dak)	Polarite
12	175,3	113,2 ^a	4	2,99	Negatif
		85,2 ^b	12		

^a: kantitatif ölçüm için kullanılan iyon

^b: doğrulama amaçlı kullanılan iyon

Metot optimizasyonu ile glukoronolaktonun [M+H]⁺ iyonlaştığı görülmüş bu durum literatür ile doğrulanmıştır (Ricciutelli ve ark. 2014).

2.6.3. İnositol Tespiti için Kullanılan Cihaz Şartları

LC Parametreleri: Mobil Faz A % 0,1 amonyak içeren

su, Mobil Faz B ise asetonitrilden oluşmaktadır. Akış hızı 0,3 ml/dk ve gradient olarak Çizelge 8'de belirtildiği şekilde kullanılmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30°C'ye ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µl'dir

Çizelge 8. İnositol analizi için gradient olarak uygulanan mobil faz şartları

Süre (dak.)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
2,0	50	50
2,5	10	90
3,5	10	90
4,0	70	30
6,0	70	30

MS Parametreleri: İnositol tespiti için elektrosprey iyonizasyon negatif mod (ESI-) ve tanımlama için çoklu iyon izleme (MRM) modu kullanılmıştır. MRM

modda kullanılan LC-MS/MS parametreleri Çizelge 9'da verilmiştir

Çizelge 9. İnositol analizi için MRM modda kullanılan LC-MS/MS parametreleri

Analiz Süresi (dak)	Ana İyon (m/z)	Ürün İyon (m/z)	Çarpışma Enerjisi	Alıkonma Süresi (dak)	Polarite
6	179,3	87,10 ^a	18	1,24	Negatif
		99,20 ^b	18		

^a: kantitatif ölçüm için kullanılan iyon

^b: doğrulama amaçlı kullanılan iyon

Metot optimizasyonu ile inositolun [M-H] iyonlaştığı görülmüş bu durum literatür ile doğrulanmıştır (Leung ve ark. 2011).

3. Bulgular

3.1. Metot Validasyonu

3.1.1. Kalibrasyon ve Doğrusallık

Doğrusallık çalışması için Çizelge 2’de belirtilen konsantrasyonlarda standartlar hazırlanmış ve matriks uyumlu kalibrasyon çizilmiştir. Çalışma aralığı için en az 3 farklı konsantrasyon seviyesi belirlenmiş ve en az 2 tekrarlı çalışma yapılmıştır (Anonim 2002).

Konsantrasyon ve cihaz sinyali arasındaki ilişki incelenerek doğrusallık, korelasyon katsayısı (r^2) ile gösterilmiştir. Her bir analit için yüksek korelasyon katsayısı ($r^2 > 0,99$) sağlanmıştır.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

s: Standart sapma

x: Ölçüm sonuçlarının ortalaması

x_i: Her bir ölçüm sonucu

N: Yapılan çalışma sayısı

3.1.2. Tespit (Dedeksiyon) Limiti (LoD), Ölçüm (Kantitasyon) Limiti (LoQ)

Ölçüm limiti çalışmasında; Çizelge 10’da belirtilen konsantrasyon seviyelerinde, içerisinde tespit edilebilir düzeyde analit bulunmayan kör örneklere ayrı ayrı kirletme işlemi uygulanmış ve her bir analit için 10 adet bağımsız çalışma yapılmıştır. Konsantrasyon seviyelerinin belirlenmesinde, LoD ve LoQ hesaplamalarında seyreltme faktörü kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda bulunan değerlerin standart sapma (s) değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Hesaplanan standart sapmaların 3 katı LoD (LoD=3xS), 10 katı ise LoQ (LoQ=10xS) olarak belirlenmiştir (Anonim 2018a).

Çizelge 10. LoD ve LoQ çalışma sonuçları

Analit	Konsantrasyon Seviyesi* (mg/L)	Sonuç	
		LoD (mg/L)	LoQ (mg/L)
Taurin	200	23,91	100
İnositol	50	6,27	21
Glukoronolakton	10	2,47	8,22

*: Konsantrasyon seviyelerinin belirlenmesinde seyreltme faktörü (1/10) göz önünde bulundurulmuştur.

3.1.3 Kesinlik (Tekrarlanabilirlik ve Tekrar Üretilirlik)

Tekrarlanabilirlik, bir metodun aynı laboratuvarda, aynı cihaz/metotla, aynı uygulama koşulları altında, aynı kişi tarafından kısa zaman aralığında, aynı veya benzer matrikslerde elde edilen ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür ve % rölatif standart sapma (%RSDr) ile ifade edilir (Anonim 2018a). Analistlerin farklı konsantrasyon seviyelerindeki kesinlik değerleri arasında fark olup olmadığı Anova Testi ile kontrol edilmiştir. Tekrarlanabilirlik çalışması kapsamında örnekler her bir analist için 3 farklı konsantrasyonda 6 paralel olacak şekilde numune hazırlama prosedürüne göre ekstrakte edilmiş ve cihaza verilmiştir.

Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik ise, bir metodun aynı laboratuvarda aynı/farklı cihazlarla, farklı kişiler tarafından, geniş zaman aralığında, aynı veya eş değer matrikslerde yaptığı ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Her bir analit için seçilen konsantrasyon seviyelerinde, elde edilen verilerin standart sapması hesaplanarak tekrar üretilebilirlik için sR ve %RSDR hesaplanır (Anonim 2018a). Tekrar üretilebilirlik çalışması için örnekler 3 farklı konsantrasyonda, 3 farklı günde 10 paralel çalışma olacak şekilde numune hazırlama prosedürüne göre ekstrakte edilmiş ve cihaza verilmiştir.

Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik çalışmaları kapsamında; glukoronolakton için 10, 25, 50 mg/L; inositol için 50, 100, 200 mg/L; taurin için ise 200,

800, 1200 mg/L konsantrasyon seviyelerinde çalışmalar yapılmıştır. Tekrarlanabilirlik (%RSD_r) ve tekrar üretilebilirlik (%RSD_R) değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen %RSD'ler ve değerlendirme kriterleri Çizelge 11'de verilmiştir. %RSD değerlerinin uygunluk değerlendirmesi

“Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/ Verifikasyonu Rehberi”nde yer alan kriterlere göre yapılmıştır. Tüm tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik sonuçları ilgili kriterlere göre uygun bulunmuştur (Anonim 2018a).

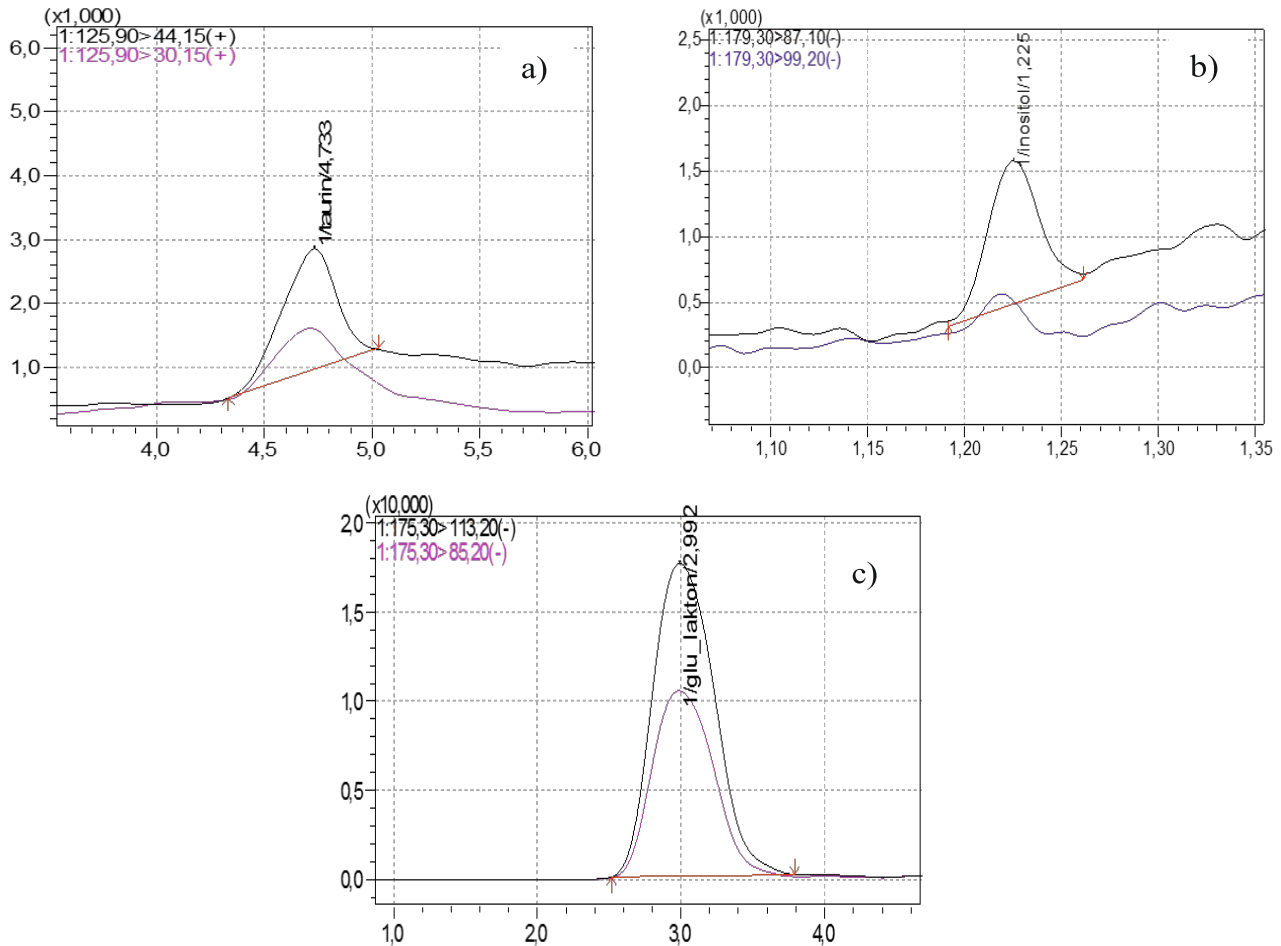
Çizelge 11. Tekrarlanabilirlik (%RSD_r) ve tekrar üretilebilirlik (%RSD_R) değerleri

Analit	Tekrarlanabilirlik (%RSD _r)	Değerlendirme Kriteri (%RSD _r)	Tekrar Üretilebilirlik (%RSD _R)	Değerlendirme Kriteri (%RSD _R)
Taurin	1,69	2,7	2,10	4
İnositol	2,33	3,7	3,27	6
Glukoronolakton	2,88	5,3	6,13	8

3.1.4. Geri Kazanım

Geri kazanım çalışması dahilinde kirletilmiş materyal kullanılmıştır. Orijinal matriks aranan analit ile zenginleştirilmiş, kör ve zenginleştirilmiş örnekler birlikte çalışılmıştır. Geri kazanım oranı için örnekler; 2 analist tarafından 3 farklı konsantrasyonda ve 3 farklı günde, her bir konsantrasyon seviyesinde toplam 10 bağımsız çalışma olacak şekilde numune hazırlama prosedürüne göre ekstrakte edilmiş ve analize alınmıştır. Taurin, inositol ve glukuronolakton

için geri kazanım değerleri sırasıyla %99,1, %98,4 ve %100 olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya ait örnek kromatogramlar Şekil 4'te verilmiştir. Geri kazanım oranlarının uygunluk değerlendirmesi “Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi”nde yer alan kriterlere (taurin için %97-103, inositol için %95-105, glukuronolakton için ise %90-107) göre yapılmıştır (Anonim 2018a).



Şekil 4. LC-MS/MS kromatogramları a) Blank içerisine 200 mg/L düzeyinde taurin spike yapılarak elde edilen kromatogram, b) Blank içerisine 50 mg/L düzeyinde inositol spike yapılarak elde edilen kromatogram c) Blank içerisine 10 mg/L düzeyinde glukuronolakton spike yapılarak elde edilen kromatogram

$$\% \text{ GK} = \frac{\bar{X}' - \bar{X}}{X_{\text{kirletilmiş}}} \times 100$$

% GK: Geri kazanım oranı

x : Kirletilmemiş örneklerle yapılan analiz sonuçları ortalaması

x' : Kirletilmiş örneklerle yapılan analiz sonuçları ortalaması

$x_{\text{kirletilmiş}}$: Kirletmek için kullanılan analit miktarı (eklenen konsantrasyon)

3.1.5. Ölçüm Belirsizliği

Ölçüm belirsizliği, ölçüm sonucunda elde edilen değerleri mantıklı kılabilen dağılımları karakterize eden ve ölçümün sonucuyla bağlantılı olan parametrelerdir. Ölçüm sonucunun kalitesinin bir göstergesidir ve ölçüm sonuçlarından istatistiksel olarak hesaplama ile elde edilir (Anonim 2018b). Doğrusallık, tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik,

geri kazanım gibi validasyon parametrelerinden hesaplanan belirsizlikler bu grup altında toplanır (Anonim 2013a). Yapılan çalışmalar sonucunda hesaplanan ölçüm belirsizlikleri için kullanılan formüller Çizelge 12'de, taurin, inositol ve glukoronolaktan için belirlenen ölçüm belirsizlikleri ise Çizelge 13'de verilmiştir.

Çizelge 12: Ölçüm belirsizliği hesaplamaları için kullanılan formüller

Formül	Açıklama	
Kalibrasyon eğrisi ölçüm belirsizliği $U(c_0)$	$U(c_0) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{xx}}}$	S: Residual Standart Sapma B ₁ : Eğim p: Örnek ölçümü için okuma sayısı n: Kalibrasyon için yapılan ölçüm sayısı c ₀ : Tayin edilen çözelti derişimi S _{xx} : Aşağıdaki formüle göre hesaplanır \bar{c} : Farklı kalibrasyon standartlarının ortalaması
Tekrar üretilebilirlik ölçüm belirsizliği $U(\text{RSDr})$	$RSD_{\text{pool}} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \times RSD_1^2 + (n_2 - 1) \times RSD_2^2 + \dots}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots}}$	RSD _{pool} : Genişletilmiş Bağlı Standart sapma n: Yapılan ölçüm sayısı RSD: Bağlı Standart sapma
Tekrarlanabilirlik ölçüm belirsizliği $U(\text{RSDr})$	$RSD_{\text{pool}} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \times RSD_1^2 + (n_2 - 1) \times RSD_2^2 + \dots}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots}}$	RSD _{pool} : Genişletilmiş Bağlı Standart sapma n: Yapılan ölçüm sayısı RSD: Bağlı Standart sapma
Geri kazanım ölçüm belirsizliği $U(\text{GK})$	$U(gk) = \frac{s}{\sqrt{n}}$	s: Standart Sapma n: Yapılan ölçüm sayısı
Rölatif Bileşik Belirsizlik $U(x)$	$U(x) = \sqrt{\frac{U(c_0)}{c_0} + \frac{U(\text{RSDr})^2}{\text{RSDr}} + \frac{U(\text{RSDr})^2}{\text{RSDr}} + \frac{U(gk)^2}{gk}}$	U(x): Birleştirilmiş belirsizlik U(c ₀): Kalibrasyon eğrisinin belirsizliği U(RSDr): Kesinlik – Tekrar üretilebilirlik belirsizliği U(RSDr): Kesinlik – Tekrar üretilebilirlik belirsizliği U(gk): Geri Kazanım belirsizliği

Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği = Rölatif Birleşik Belirsizlik x 2 (%95 güven aralığında, k=2)

Çizelge 13. Taurin, inositol ve glukoronolakton için hesaplanan ölçüm belirsizlikleri

Analit	Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği (%) (%95 güven aralığında, k=2)
Taurin	7,46
İnositol	8,51
Glukoronolakton	14

4. Tartışma ve Sonuç

Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi kapsamında yapılan çalışma sonucunda elde edilen verilerin (tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik ve geri kazanım) uygunluk kontrolü AOAC Official Methods of Analysis (Anonim 2016a), Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F) doğrultusunda yapılmış ve uygun olduğu tespit edilmiştir.

Tüm analitler için doğrusalılık $r^2 \geq 0,99$ olarak saptanmıştır. Taurin, inositol ve glukoronolakton için LoQ değerleri sırasıyla 23,91; 6,27; 2,47 mg/L iken, LoD değerleri 100; 21 ve 8,22 mg/L olarak

belirlenmiştir. Geri kazanım oranları ise taurin için %99,1, inositol için %98,4 ve glukoronolakton için ise %100 olarak hesaplanmıştır.

Enerji içeceğinde taurin, inositol ve glukoronolakton analizlerinin LC-MS/MS kullanılarak uygulanabilir olduğu görülmüş olmasına rağmen konu ile ilgili ulusal ve uluslararası literatür incelendiğinde araştırmaların genel olarak enerji içeceklerinin insan sağlığı üzerindeki etkileri veya enerji içeceği tüketimindeki sosyo-ekonomik faktörler ile ilgili olduğu; analiz yöntemleri ile ilgili yapılan çalışmaların çok kısıtlı olduğu görülmüştür. Bu nedenle analiz yöntemleri ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu belirlenmiştir.

5. Kaynaklar

Anonim, 1989. NMKL, Nordic Committee on Food Analysis: Colours, synthetic water soluble, liquid chromatographic determination in foods. UDC 667.28:543.544 130.

Anonim, 2002. TS ISO 11095, Referans Malzemeler Kullanarak Doğrusal Kalibrasyon, Ankara.

Anonim, 2013a. EA-4/02 Kalibrasyonda Ölçüm Belirsizliğinin Değerlendirilmesi. <http://www.turkak.org.tr/TURKAKSITE/docs/EA402.pdf> (Erişim: 07.10.2019)

Anonim, 2016a. AOAC Official Methods of Analysis. Guidelines for Standart Method Performance Requirements, Appendix F, p.9.

Anonim, 2016b. Ant Teknik Uygulama Notu. LC/MSMS ile enerji içeceklerinde taurin analizi, M024.

Anonim, 2018a. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/G%C4%B1da%20ve%20Yem%20Hizmetleri/gıda_kontrol/ımyasal_Fiziksel_Val_Ver_Rehber.pdf (Erişim: 07.10.2019)

Anonim, 2018b. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Ölçüm Belirsizliği Rehberi https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/G%C4%B1da%20ve%20Yem%20Hizmetleri/gıda_kontrol/Kimyasal_Fiziksel_OB_Rehberi.pdf (Erişim: 07.10.2019)

Arpacı, N. ve Ersoy, G., 2011. Enerji içeceklerinin gücü nedir? Uluslararası İnsan Bilimleri

Eppler, B., Patterson, T.A., Zhou, W., Millard, WJ. and Dawson, R., 1999. Kainic Acid (KA)-Induced Seizures in Sprague-Dawley Rats and the Effect of Dietary Taurine (TAU) Supplementation or Deficiency. *Amino Acids*, 16(2):133-47.

Görgülü, Y., Taşdelen Ö., Sönmez M.B. ve Çınar R.K., 2014. Enerji İçeceği Tüketimi Sonrası Gelişen bir Akut Psikoz Olgusu. *Nöropsikiyatri Arşivi*, 51: 79-81.

Heneman, K. and S. Zidenberg-Cherr, 2007. "Nutrition and Health Info Sheet: Energy Drinks", Davis, CA: University of California, <http://nutrition.ucdavis.edu/InfoSheets/ANR/EnergyDrinkFact.pdf> (Erişim: 27.10.2015).

Hıdırlıoğlu, S., Tanrıöver, Ö., Ünalı, S., Sülün, S. and Karavus, M., 2013. A Survey of Energy-Drink Consumption Among Medical Students. *Journal Pakistan Medical Association*, 63: 842-845.

- Iovieno, N., Dalton, E.D., Fava, M. and Mischoulon, D., 2011. Second-Tiernatural Antidepressants: Review and Critique. *Journal of Affective Disorders*, 130(3):343-57.
- Irvine, R.F. and Schell, M.J., 2001. Back in the Water: there Turn of the Inositol Phosphates. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2(5), 327–338.
- İşçioğlu, F., Ova, G., Duyar, Y. ve Köksal, M., 2010. Üniversite Öğrencileri Arasındaki Enerji İçeceği Tüketimi ve Bilinci Araştırması. *Akademik Gıda*, 8: 6-11.
- Leung, K., Mills, K., Burren, K.A., Copp, A.J. and Green, N.D.E., 2011, Quantitative Analysis of Myo-inositol in Urine, Blood and Nutritional Supplements by High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 879:2759-2763.
- Malinauskas, B.M., Aeby, V.G., Overton, R.F., Carpenter-Aeby, T. and Barber-Heidal, K., 2007. A Survey of Energy Drink Consumption Patterns Among College Students. *Nutrition Journal*, 6: 1-7.
- Marczinski, C. A., Fillmore, M. T., Bardgett, M. E. and Howard, M. A., 2011. Effect of Energy Drinks Mixed with Alcohol on Behavioral Control. Risks for College Students Consuming Trendy Cocktails. *Alcohol Clinical and Experimental Research*, 35(7), 1282–1292.
- Nakilcioğlu-Taş, E.; Hacıhasanoğlu, F.E. ve Ötleş, S., 2019. 18 Yaş Altı ile 18 Yaş ve Üstü Bireylerin Enerji İçeceği Tüketimi Eğilimlerinin Belirlenmesi: İzmir İli Örneği. *ÖHÜ Müh. Bilim. Dergisi*, Cilt:8, Sayı:1, 111-120.
- Ontiveros, J. A.; Trevino, E. and Gil, A., 2012. *Biol. Psychiatry*, 71, 197S–198S.
- Pennay, A. E. and Lubman, D.I., 2012. Energy Drinks: Health Risks and Toxicity. *Medical Journal of Australia*, 196(7):442-7.
- Ricciutelli, M., Caprioli, G., Cortese, M., Lombardozi, A., Strano, M., Vittori, S. and Sagratini, G., 2014. Simultaneous Determination of Taurine, Glucuronolactone and Glucuronic Acid in Energy Drinks by Ultra High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (Triple Quadrupole). *Journal of Chromatography A*, 1364:303-307.
- Schlemmer, U., Frolich, W., Prieto, R. M. and Grases, F., 2009. Phytate in Foods and Significance for Humans: Food Sources, Intake, Processing, Bioavailability, Protective Role and Analysis. *Mol. Nutr. Food Res.*, 53, S330–S375.
- Scholey, A.B. and Kennedy, D.O., 2004, Cognitive and Physiological Effects of an “Energy Drink”. An Evaluation of the Whole Drink and of Glucose, Caffeine and herbal Flavouring Fractions. *Psychopharmacology (Berl)*, 176, 320–330.
- Sipahi, H., Sönmez, İ. ve Aydın, A., 2014. Enerji İçecekleri ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Pharm Sci.*, 3(1): 39-46.
- Solomonias, R.; Mikautadze, E.; Nozadze, M.; Kuchashvili, N.; Lepsveridze, E. and Kiguradze, T., 2010. Myo-Inositol Treatment Prevents Biochemical Change Striggered by Kainate-İnduced Status Epilepticus. *Neurosci. Lett.*, 468, 277–281.
- Varım, C., Varım, P., Atılğan Acar, B., Vatan, M.B., Kaya T., Acar, T. ve Tamer, A., 2015. Enerji İçecekleri Ruhu Kanatlandırıyor ya Bedeni. *J Hum Rhytim*, 1(3);79-82.
- Wójcik, O.P., Koenig, K.L., Zeleniuch-Jacquotte, A., Costa, M. and Chen, Y., 2010. The Potential Protective Effects of Taurine on Coronary Heart Disease. *Atherosclerosis*, 208: 19–25.
- Wolk, B.J., Ganetsky, M. and Babu, K.M., 2012. Toxicity of Energy Drinks. *Current Opinion in Pediatrics*, 24(2): 243-51.

GENEL İLKELER ve YAZIM KURALLARI
GIDA VE YEM BİLİMİ-TEKNOLOJİSİ DERGİSİ
GIDA VE YEM KONTROL VE MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
BURSA

MAKALENİN HAZIRLANMASI

Dergiye başvuru sırasında gönderilecek makale, Microsoft Word yazılımıyla, A4 boyutundaki kağıdın tek yüzüne Times New Roman yazı tipi, 12 punto ve 1 satır aralıkla iki yana yaslanmış olarak yazılmalı; kenar boşlukları, her bir kenardan sağ, üst ve alt 2 cm sol 2,5 cm olmalıdır. Sayfada gölgelendirme ve çerçeve vb. uygulamalar yapılmamalıdır. Makale içeriği dil bilgisi kurallarına özen gösterilerek akıcı ve anlaşılır bir şekilde yazılmalıdır. Araştırma ve derleme makaleleri, çizelge ve şekiller dâhil toplam 10 sayfayı geçmemelidir. Editör ve yayın kurulu, makalenin kısaltılmasını isteyebilir. Metin içinde belirli bir sayfa numarasına atıf olmamalıdır.

Makale; Başlık, İngilizce Başlık, Yazar İsimleri ve Adresleri, Özet, Türkçe Anahtar Kelimeler, Abstract, KeyWords, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç), Teşekkür (gerekliyse) ve Kaynaklar ana başlıkları altında hazırlanmalıdır. Kısaltmalar metin içerisinde tanımlanmalıdır. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır. İngilizce hazırlanacak makalelerde ana metin kısımları aynı başlıklardan oluşmalıdır.

Başlık: Makale başlığı metne uygun kısa ve açık, İngilizce ve Türkçe, sadece ilk harfi büyük, 12 punto, koyu ve sayfaya ortalanmış ve 1.5 satır aralıkla yazılmış olmalıdır. Diğer başlıklarda makale başlığı ile aynı özellikte olup sola dayalı olarak yazılmalıdır.

Diğer başlıklardan sonra 6nk boşluk bırakılır.

Yazar İsimleri: Eserin yazar ya da yazarlarının adı ve soyadı başlığın hemen altında bir satır boşluktan sonra, unvan belirtilmeden, 10 punto, yazarın isim ve soyadı baş harfleri büyük ve kelime koyu yazılmalıdır. Ünvan ve bağlı oldukları kurumlar yazar isimlerinin altında italik ve 8 punto olarak yazılmalıdır.

Özet ve Abstract: 150 kelimeyi geçmeyecek şekilde Türkçe ve İngilizce yazılmalıdır.

Anahtar Kelimeler / KeyWords: Özetlerin altına eser metnini ifade edebilecek en az 2 en çok 7 adet anahtar kelime belirtilmelidir.

Metin: Giriş, Materyal ve Yöntem, Tartışma ve Sonuç kısımlarından oluşur.

Çizelgeler ve Şekiller: Yazı içinde geçen tablolar, “çizelge”; grafik, resim, fotoğraf, harita ve akım şemaları ise “şekil” olarak isimlendirilmeli ve 11 puntodan düşük punto kullanılmasından olabildiğince kaçınılmalıdır.

Çizelge başlıkları çizelgenin üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve sırayla numaralandırılmalıdır. Kullanılan çizelge ve şekillere metin içinde atıf mutlaka yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler çizelge ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Çizelge ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa şekiller) *.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır. Çizelge ve şekillerde verilecek dipnotlar çizelge ve şekillerin altına 8 punto ve italik olarak yazılmalıdır. Tercihe bağlı olarak Türkçe araştırma makalelerinde çizelge/şekil başlığı ve varsa tüm dipnotlar çizelgede/şekilde yer alan Türkçe kelimelerin İngilizcesi de italik olarak yazılmalıdır.

Kaynaklar:**a. Kaynak listesi:**

Yararlanılan kaynaklar sıra numarası verilmeksizin yazarın soyadı dikkate alınarak alfabetik sıraya göre yazılmalıdır. Aynı yazara ait fazla sayıdaki eserler kronolojik olarak sıralanmalıdır.

Kitap:

Anonymous, 1983. Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri. TOKB Köy Hiz. Gen. Müd. Yayınları, Genel Yayın No: 65, 796 s, Ankara.

Kitap bölümü:

Öztan, A., 2003. Et Bilimi ve Teknolojisi. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, Yayın No: 1 Genişletilmiş Baskı, s. 200-400, Ankara.

Rhoades, J.D., 1982. Cation Exchange Capacity. Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties, 2nd ed., Ed: A.L. Page. Soil Sci. Soc. of Amer. Inc., Madison, Wisconsin, pp. 149-157.

Kongre bildiri veya poster:

Parsons, C.M., 1994. Amino acid availability for poultry. 9th European Poultry Conference, World's Poultry Science Association, Book of proceedings, Glasgow, UK, Vol: 2, 356-359.

Makale:

Karakaya, M., Sarıçoban, C. ve Aksoğan, M., 2003. Tavşan etinin prerigor ve postrigor aşamalarında bazı teknolojik özelliklerinin tespiti. Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, 3: 15-19.

İnternet Kaynağı:

Warrence, N.J., Bauder, J.W. and Pearson, K.E., 2004. Basics of salinity and sodicity effects on soil physical properties. Land Resources and Environmental Sciences Department, Montana State University, <http://waterquality.montana.edu/docs/methane/basics.pdf> (Accessed 15.12.2004).

b. Metin içinde kullanılan kaynaklar:

Kaynaklar metin içerisinde yazarın soyadı ve eserin yayın yılı esas alınarak verilmelidir.

Örneğin; metin içindeki kaynaklara yapılan atıflarda, (Kantar 1998), (Ekşi ve Karadeniz 1993), (Altan ve ark. 1984); yazarlara yapılan atıflarda, “Kantar (1998)’e göre, Ekşi ve Karadeniz (1993), Altan ve ark. (1998); aynı yazarın birden fazla yayınına atıfta bulunuluyorsa, (Kantar 1998a, 1998b) örneklerinde olduğu gibi yazılmalıdır.



ANAHTAR TESLİM MOLEKÜLER MİKROBİYOLOJİ VE GDO ANALİZ LABORATUVAR KURULUMU



EUROFINS GENESCAN GDO & ET TÜR TAYİN KİTLERİ

- GDO TARAMA
- GDO KANTİTASYON
 - Hazır kit ve CRL metoduna uygun verifikasyon ve kantitasyon uygulamaları
- GDO TİPLENDİRME
- ET TÜR TAYİN KİTLERİ
- İZOLASYON KİTLERİ

GIDA VE PATOJEN TESTLERİNDE İLERİ MOLEKÜLER MİKROBİYOLOJİK KİT VE SİSTEMLER

- RT-PCR Temelli Hızlı Gıda Patojen test ve kitleri
- BAX Q7 RT-PCR Cihazı
- Tam Otomatik Bakteri Tiplendirme ve Karakterizasyon sistemi
- RIBOPRINTER Ribotiplendirme sistemi

KROMO-GEN Biyoteknoloji San. ve Tic. Ltd. Şti.

Yıldırım-BURSA / TÜRKİYE

Kurtoğlu Mh. Gökdere Bul. Aloy Apt. No:16/6

Tel: +90 (224) 211 5712

Fax: +90 (224) 211 5713

Batı Ataşehir-İstanbul / TÜRKİYE

Deluxia Palace Barboros Mh. Mor Sümül Sk.
No:5 D:479

www.kromogen.com
info@kromogen.com

Gıdalarda Enzimatik Analizler

- Referans Metodlar - Roche "Yellow Line"
- Enzytec™ Liquid - kullanıma hazır reaktifler ile hızlı uygulama
- RIDA®CUBE SCAN - tek pipetleme ile sonuç
- Yoğun laboratuvarlar için otomasyon seçeneği

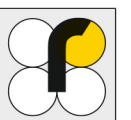


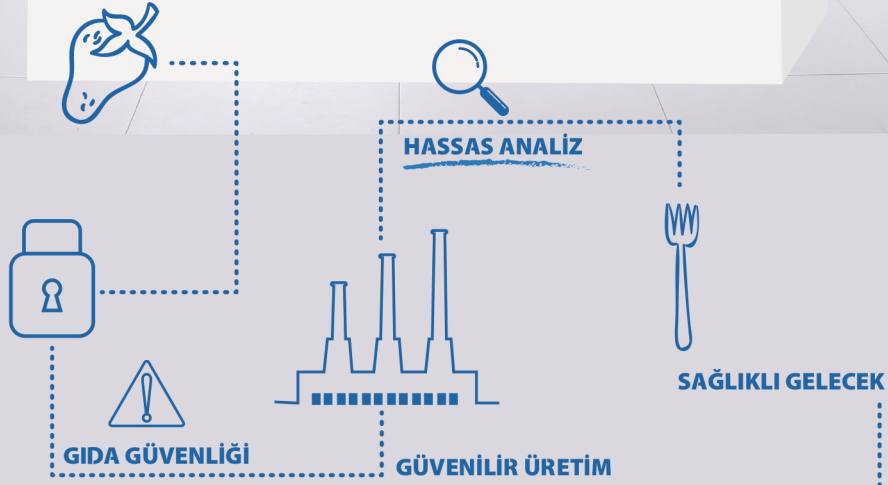
- **Organik Asitler** Asetic, Ascorbic, Citric, Formic, Gluconic, Glutamic, D-3-Hydroxybutyric, D-Isocitric, D/L-Lactic, L-Lactic, D-Malic, L-Malic, Oxalic, Succinic, Tartaric
- **Şekerler** β -Glucan, D-Glucose, D-Glucose/D-Fructose, D-Glucose/D-Fructose, Lactose/D-Galactose, Lactose/D-Glucose, Maltose/Sucrose/D-Glucose, Raffinose, Starch, Sucrose/D-Glucose, Sucrose/D-Glucose/D-Fructose
- **Diğerleri** Acetaldehyde, Ammonia, Urea/Ammonia, Cholesterol, Copper, Ethanol, Glycerol, Iron, Nitrate, D-Sorbitol/Xylitol, Free Sulfite, Total Sulfite

sincer

Sincer Biyoteknoloji Ticaret ve Sanayi AŞ
Ziya Gökalp Bulvarı 17/5 Alsancak, İzmir 35220
Tel. +90(232)464-8006 Fax. +90(232)464-8007
bilgi@sincer.com.tr www.sincer.com.tr

r-biopharm





Farklı ihtiyaçlara yenilikçi çözümler

Deneyimli kadromuz, teknolojik olanaklarımız, üstün hizmet anlayışımız ve geniş kapsamlı analitik ve laboratuvar çözümlerimizle gıda laboratuvarlarınıza doğru analiz ve güvenilir üretim olanakları sunuyoruz.

Shimadzu ve diğer iş ortaklarımızın uzmanlığı ve teknolojisi ile gıdalarda vitamin ve aminoasit analizleri, gıda katkılarının, mikotoksinlerin, biyotoksinlerin, veteriner ilaç ve pestisit kalıntılarının miktar tayinleri, migrasyon testleri ve daha birçok uygulama alanında ihtiyaç ve beklentileri karşılıyor.

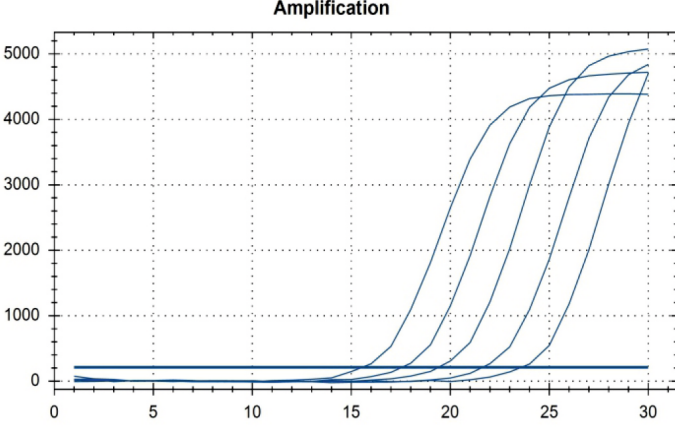


-  ► Analitik Cihazlar
-  ► Endüstriyel Cihazlar
-  ► Sarf Malzeme ve Aksesuarlar
| Spektroskopi | - | Kromatografi |

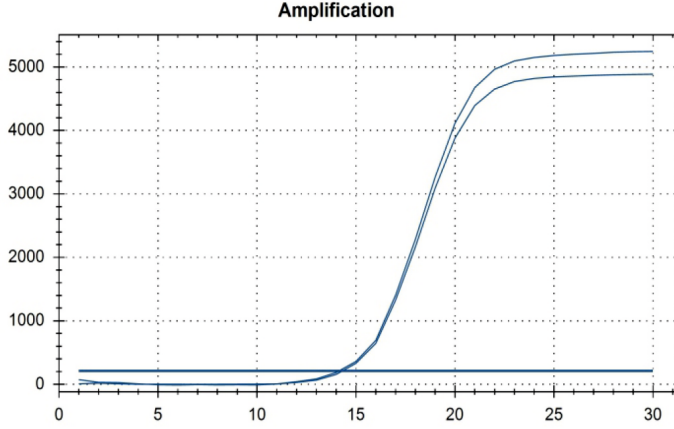
THINK BIG, SEE BEYOND
| antteknik.com |

©ANT Teknik, 2019 All rights reserved.

TÜR TAYİN REAL TIME PCR KİTİ



4 Kat Seri Dilüsyona Dayalı Standart Eğri



At Pozitif Örnek

Tür Tayin Kiti, kolay, hızlı ve tekrar edilebilir özelliğe sahiptir.

Kullanıma hazır master miksten oluşmaktadır. Master Miks içerisine DNA konması yeterlidir.

Kullanımı kolay olduğu için eğitilmiş eleman gerektirmemektedir.

Reaksiyon öncesi DNA ölçümüne gerek yoktur.

Yaklaşık 70 dakika içinde 96 örneğe sonuç verilebilir.

FAM ve HEX okuyabilen tüm Real-Time PCR cihazları ile çalışılabilir.

Spesifite ve sensitivitesi % 100 dür.

Et Tür Tayin Kitleri

At	Soya
Eşek	Mısır
Domuz	Tavuk
Keçi	Sığır
Koyun	Manda
Hindi	Martı
Ördek	

Süt Tür Tayin Kitleri

Koyun
Manda
Keçi
İnek

Balık Tür Tayin Kitleri

Alabalık
Hamsi
Çipura
Levrek
Palamut
Somon



AFG Bioscience

Now Available on 
Thomas
Scientific



Genport

GENPORT LABORATUVAR ÜRÜNLERİ SAN. ve TİC. LTD. ŞTİ.
Güzelyurt Mah. Mustafa Kemal Cad. No: 3 Delta Luxury
Kat: 2 / 52 Esenyurt - İSTANBUL
Tel: +90 212 852 12 21 - Fax: +90 212 852 12 28
Email: info@genport.net

www.genport.net

ALL
FOR
LAB

ISOLAB

glasswares ✓
consumables ✓
equipments ✓
instruments ✓
chemicals ✓

Committed to

 *Quality*

Eschau - Germany

www.isolab.de



- ROTARY EVAPORATÖR (LABORATUVAR TİPİ)
- ROTARY EVAPORATÖR (ENDÜSTRİYEL TİP)
- SPRAY DRYER ve ENKAPSÜLATÖR
- ERİME ve KAYNAMA NOKTASI
- PARALEL EVAPORASYON
- FREEZE DRYER (LİYOFİLİZATÖR)
- FLASH ve PREPERATİF KROMOTOGRAFİ
- KJELDAHL - AZOT/PROTEİN
- EKSTRAKSİYON
- NIR
- NIR-ONLINE



SİSTEMLERİ
SATIŞ ve SATIŞ SONRASI
HİZMETLERİ
GÜNEY MARMARA BÖLGESİNDE

ARIF MALYER
LIMITED ŞİRKETİ

TECRÜBESİYLE ...



7.5 Dakikada Sonuç Alın



- Besinlerdeki mikotoksin seviyelerini, oldukça basit bir numune hazırlığı ve eş zamanlı (multi-analit) LC-MS/MS analiziyle tespit edebilmeniz analitik çözümlerimizle mümkün.
- Besinlerdeki serbest ve toplam amino asit seviyelerinin belirlenmesine yönelik, 7.5 dakikada sonuca ulaştığınız 44 amino asit içeren LC-MS/MS analitik panelimizle hizmetinizdeyiz.
- Enerji içeceklerinin olmazsa olmazı taurin bileşiğinin bu türden içeceklerdeki düzeyini, tek adım numune hazırlığıyla ve 7.5 dakikalık LC-MS/MS yöntemimizle öğrenebilirsiniz.
- Besinlerdeki bozulmanın göstergelerinden biri olan histamin bileşiğinin süt ürünlerinde, fermente gıdalarda, alkollü içeceklerde, balıklarda ve işlenmiş etlerdeki seviyelerini tespit etmek hızlı bir numune hazırlığı ve 7.5 dakikalık LC-MS/MS metodumuzla oldukça kolay.
- Besinlerdeki antibiyotik kalıntılarını kantitatif tayin etmek istiyorsanız, sizi yormayacak numune ön işlemini ve multi-antibiyotik LC-MS/MS metodumuzu sunmaktan memnuniyet duyarız.