

# GIDA VE YEM BİLİMİ - TEKNOLOJİSİ

JOURNAL OF FOOD AND FEED SCIENCE - TECHNOLOGY

Yıl/Year : 17

Sayı/Number: 24

2020/2

**Kırmızı Et Tüketimi, Kolesterol ve Beslenme**  
*Meat Consumption, Cholesterol and Nutrition*  
**İkbal Ayça SEVİNÇ, Hüdayi ERCOŞKUN**

**Hayvansal Gıdalarda Antibiyotik Kalıntıları**  
*Antibiotic Residues in Food of Animal Origin*  
**Arzu YAVUZ, İsmail AZAR, Ali ÖZCAN, Vesile ÇETİN**

**Karabuğday'ın (*Fagopyrum esculentum* Moench) Önemi ve Kullanım Alanları**  
*The Importance and Usage Areas of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)*  
**Remziye ALKAY, Kağan KÖKTEN**

**Mavi-Yeşil Alg *Spirulina Platensis*'in Buğday Ekmeğinde Kimyasal, Duyusal ve Üntifungal Etkisi**  
*Chemical, Sensory and Antifungal Effect of the Blue-Green Algae *Spirulina platensis* on the Wheat Bread*  
**Elif İLHAN, Ayşe Nur BÜYÜKİZGİ, Ertan ERMiŞ**

**Glüten Analizinde HPLC, LC-MS/MS Yöntemlerinin ELISA ile Karşılaştırılması**  
*Comparison of HPLC, LC-MS / MS Methods with ELISA in Gluten Analysis*  
**Ali ÖZCAN, İsmail AZAR, Arzu YAVUZ, Hakan YAVAŞ, Emre TOKAT, Vesile ÇETİN**

**Gemlik ve Memecik Çeşitlerinden Zeytinyağı Üretiminde Kullanılan Farklı Malaksasyon Parametrelerinin Biofenol Miktarı ve Duyusal Profili Üzerine Etkisi**  
*The Effects of Different Malaxation Parameters Used in The Production of Olive Oil from Gemlik and Memecik Varieties on the Amount of Biophenol and Sensory Profile*  
**Müge NEBİOĞLU**

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

Yıldıray 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 BOYNUEYRİ

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. Belgin İZGİ**  
Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,  
Kimya Bölümü, Türkiye

**Prof. Dr. Betül GÜROY**  
Yalova Üniversitesi, Merkez Araştırma Laboratuvarı, Türkiye

**Prof. Dr. Hülya GÜL**  
Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

**Prof. Dr. Hüseyin ESECELİ**  
Bandırma On yedi Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi,  
Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye

**Prof. Dr. Murat TAŞAN**  
Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

**Prof. Dr. Oya IŞIK**  
Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,  
Temel Bilimler Bölümü, Türkiye

**Prof. Dr. Ramazan GÖKÇE**  
Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

**Prof. Dr. Saliha SAHİN**  
Bursa Uludağ Üniversitesi,  
Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye

**Prof. Dr. Serkan SELLİ**  
Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

**Doç. Dr. Emine BUDAKLI ÇARPICI**  
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,  
Tarla Bitkileri Bölümü, Türkiye

**Doç. Dr. Harun DIRAMAN**  
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

**Dr. Öğr. Üyesi Sümeyra Sultan TİSKE İNAN**  
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye

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

\* 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: 24

2020/2

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) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Türkiye)

**Dr.Vesile ÇETİN**, Yardımcı Yazı İşleri Müdürü (Assistant Editor) (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Türkiye)

**Prof.Dr.Abdulkadir ÇILTAŞ** (Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Ali GÜNDOĞDU** (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Alper ÇİFTÇİ** (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Prof.Dr.Belgin İZGİ** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Belgin SIRIKEN** (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Prof.Dr.Betül GÜROY** (Yalova Üniversitesi, Merkez Araştırma Laboratuvarı, Türkiye)

**Prof.Dr.Bilgen OSMAN** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Canan Ece TAMER** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Esra ÇAPANOĞLU** (İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Faruk BALCI** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

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

**Prof.Dr.Filiz ÖZÇELİK** (Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Gürbüz GÜNEŞ** (İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Hale ŞAMLI** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Prof.Dr.Hasan YALÇIN** (Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Hülya GÜL** (Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Hüseyin ESECELİ** (Bandırma On yedi Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.İbrahim AK** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Kağan KÖKTEN** (Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.M. Haluk TÜRKDEMİR** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Mehmet YÜCEER** (İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Mihriban KORUKLUOĞLU** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Muhammet ARICI** (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Murat TAŞAN** (Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Nurcan DEĞİRMENCİOĞLU** (Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi, Bandırma Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

**Prof.Dr.Nurgül ÖZBAY** (Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya ve Süreç Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Osman KOLA** (Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Osman TIRYAKI** (Çanakkale Onsekiz Mart, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Oya IŞIK** (Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Ozan GÜRBÜZ** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Ömer Utku ÇOPUR** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Özkan ÖZDEN** (İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Özlem TURGAY** (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

## YAYIN KURULU \* (Editorial Board)

**Prof.Dr.Ramazan GÖKÇE** (Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Saliha ŞAHİN** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Seran TEMELLİ** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Prof.Dr.SERKAN SELLİ** (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Ş. Şule CENGİZ** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Prof. Dr. Tanay BİLAL** (İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Prof.Dr.Tuba YILDIRIM** (Amasya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Tülay ÖZCAN** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Ufuk KARADAVUT** (Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Uğur GÜNŞEN** (Bandırma Onyedil Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Ümit GEÇGEL** (Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA** (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Ahmet Levent İNANÇ** (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Arzu AKPINAR BAYİZİT** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Aycan TOSUNOĞLU** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Ayşegül KUMRAL** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Cemalettin BALTACI** (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Derya YEŞİLBAĞ** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

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

**Doç.Dr.Emine BUDAKLI ÇARPICI** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Fatih TÖRNÜK** (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Assoc.Professor Gabriela IORDACHESCU** (Dunarea de Jos University, Faculty of Food Science and Engineering, Sensory Analysis and Consumers' Science Dept., ROMANIA)

**Doç.Dr.Halef DİZLEK** (Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Harun DIRAMAN** (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Assoc.Professor Liliana MIHALCEA** (Universitatea Dunarea de Jos Galati, Department of Food Science, Food Engineering and Applied Biotechnology, Romania)

**Doç.Dr.Lütfiye YILMAZ-ERSAN** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Associate Lecturer Dr.Mustafa Zafer ÖZEL** (Green Chemistry, Department of Chemistry, University of York, UK)

**Doç.Dr.Oktay YERLİKAYA** (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr. Osman ÜÇÜNCÜ** (Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Rasim Alper ORAL** (Bursa Teknik Üniversitesi; Doğa Bilimleri, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi; Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Remziye YILMAZ** (Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Salih KARASU** (Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Sine ÖZMEN TOĞAY** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Şebnem PAMUK** (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Doç.Dr.Şule TURHAN** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Türkiye)

## YAYIN KURULU \* (Editorial Board)

**Doç.Dr.Yasemin ŞAHAN** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Doç.Dr.Zeki GÜRLER** (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Aşkın BİRGÜL** (Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Ayşe Neslihan DÜNDAR** (Bursa Teknik Üniversitesi; Doğa Bilimleri, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi; Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Bayram ÇETİN** (Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Gamze TOYDEMİR ŞEN** (Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Rafet Kayış Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Gökhan İNAT** (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Gözde TÜRKÖZ BAKIRCI** (Dokuz Eylül Üniversitesi, Seferihisar Fevziye Hepkon Uygulamalı Bilimler Yüksek Okulu, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Harun HURMA** (Namık kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ekonomi Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Hasan CANKURT** (Kayseri Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Hatice Ahu ERDEM KAHRAMAN** (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi İnci ÇINAR** (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi İncilay GÖKBULUT** (İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Mahmut GENÇ** (Beykoz Üniversitesi, Sanat ve Tasarım Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Perihan YOLCI ÖMEROĞLU** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Sümeyra Sultan TİSKE İNAN** (Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Türkiye)

**Dr.Öğr.Üyesi Tuba ŞANLI** (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Türkiye)

**Öğr.Gör.Dr.Cumhur BERBEROĞLU** Bursa Uludağ Üniversitesi, Karacabey Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Türkiye)

**Öğr.Gör.Dr.Engin YILMAZ** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

**Öğr.Gör.Dr.Hüseyin Can ALPSOY** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Yenişehir İbrahim Orhan Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

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

**Öğr.Gör.Dr.Mesut Ertan GÜNEŞ** (Bursa Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Türkiye)

**Dr.Arzu ÜRŞEN AŞYEMEZ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Ayşegül AYDIN ŞAHİNOĞLU** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Banu AKGÜN** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Banu Bilge OVALI** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Emine ALKIN** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Fatma GÜNGÖR BOYNUYRİ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Figen KÜTÜKOĞLU** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Gülnur BİRİCİK** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Gülşen SÖYLEMEZ** (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Hacer EKŞİ KARAAĞAÇ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.H. Özgül UÇURUM** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Entitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.İlkem DEMİRKESEN MERT** (Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye)

## YAYIN KURULU \* (Editorial Board)

**Dr.İlkem DEMİRKESEN MERT** (Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Nurşen ÇİL** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Dr.Şafak ANDİÇ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Ahmet BUDAKLIER** (Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye)

**Ahmet KILINÇ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Ali ÖZCAN** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Arzu YAVUZ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Ayşe Binnur KARATAŞ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Ayşegül ASAN** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Ekrem KATMER** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Erhan YEDİKARDAŞ** (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü, Türkiye)

**Filiz ÇAVUŞ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Habil UMUR** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Hakan TOSUNOĞLU** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Hakan YAVAŞ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Hakime Gül YAVUZ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Halil Rıza AVCI** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Hatice AYKIR** (Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü, Türkiye)

**İbrahim Emre TOKAT** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**İmran KAYA** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**İsmail AZAR** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Mehmet SAĞLAM** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Meral KAYGISIZ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Müge NEBİOĞLU** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Nağihan UĞUR** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Neslihan ALTUN** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Nesrin KURTAR BOZBIYIK** (Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye)

**Nurcan AYŞAR GÜZELSOY** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Nurdan AKBAŞ** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Orhan EREN** (Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Özlem ASLAN** (Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Özlem IŞIK** (Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Pervin UZUN** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Pınar MANARGA BİRLİK** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Redife Aslıhan UÇAR** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Sema DEMİR** (Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Serhat KOÇER** (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Sibel PARSEKER YÖNEL** (Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye)

**Şeref TEPE** (Ankara Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Türkiye)





# İÇİNDEKİLER

Sayfa

## Derleme/Review

**Kırmızı Et Tüketimi, Kolesterol ve Beslenme**  
*Meat Consumption, Cholesterol and Nutrition*  
İkbal Ayça SEVİNÇ, Hüdayi ERÇOŞKUN

1

**Hayvansal Gıdalarda Antibiyotik Kalıntıları**  
*Antibiotic Residues in Food of Animal Origin*  
Arzu YAVUZ, İsmail AZAR, Ali ÖZCAN, Vesile ÇETİN

8

**Karabuğday'ın (*Fagopyrum esculentum* Moench) Önemi ve Kullanım Alanları**  
*The Importance and Usage Areas of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)*  
Remziye ALKAY, Kağan KÖKTEN

16

## Özgün Araştırma/Original Article

**Mavi-Yeşil Alg *Spirulina Platensis*'in Buğday Ekmeğinde Kimyasal, Duyusal ve Üntifungal Etkisi**  
*Chemical, Sensory and Antifungal Effect of the Blue-Green Algae *Spirulina platensis* on the Wheat Bread*  
Elif İLHAN, Ayşe Nur BÜYÜKİZGİ, Ertan ERMİŞ

22

**Glüten Analizinde HPLC, LC-MS/MS Yöntemlerinin ELISA ile Karşılaştırılması**  
*Comparison of HPLC, LC-MS / MS Methods with ELISA in Gluten Analysis*  
Ali ÖZCAN, İsmail AZAR, Arzu YAVUZ, Hakan YAVAŞ, Emre TOKAT, Vesile ÇETİN

30

**Gemlik ve Memecik Çeşitlerinden Zeytinyağı Üretiminde Kullanılan Farklı Malaksasyon Parametrelerinin Biofenol Miktarı ve Duyusal Profili Üzerine Etkisi**  
*The Effects of Different Malaxation Parameters Used in The Production of Olive Oil from Gemlik and Memecik Varieties on the Amount of Biophenol and Sensory Profile*  
Müge NEBİOĞLU

55





Derleme / Review

**Kırmızı Et Tüketimi, Kolesterol ve Beslenme**  
**Meat Consumption, Cholesterol and Nutrition**

İkbal Ayça SEVİNÇ<sup>1\*</sup>, Hüdayi ERCOŞKUN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Yük. Lis. Öğr.Çankırı Karatekin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ÇANKIRI, TÜRKİYE  
ORCID ID-0000-0002-1277-5108

<sup>2</sup> Doç. Dr. Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA, TÜRKİYE  
ORCID ID 0000-0002-1788-8400

\*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author, aycaasvnc@gmail.com

Geliş Tarihi : 16.01.2020

Kabul Tarihi : 26.06.2020

**Öz**

**Amaç:** Son yıllarda insanlar beslenmelerine daha fazla dikkat etmekte, sağlıklı ve dengeli beslenmeye özen göstermektedir. Kan kolesterolünün ve serum lipitlerinin yükselmesi kalp-damar rahatsızlıkları gibi önemli sağlık sorunlarından biridir. Günümüzde hayvansal ürünlerin ve özellikle et ürünleri tüketiminin; kolesterolü yükselttiği hakkında yazılı ve görsel basında hatta bilimsel literatürde bilgiler bulunmaktadır. Kırmızı etler özellikle esansiyel yağ asitleri, demir, magnezyum, çinko gibi mineraller ve B<sub>12</sub> vitamini bakımından yeterli ve dengeli beslenmek için vazgeçilmez gıdalardır. Hipertansiyon, sigara ve alkol kullanımı, şeker hastalığı, ileri yaş, stres ve düzensiz yaşam, şişmanlık, fiziksel aktivite azlığı gibi birçok gıda dışı faktörün aslında kolesterolü artırıcı etkisi bulunmaktadır. Bu derlemede et ürünleri tüketiminin serum kolesterol düzeyi üzerine etkisi tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kolesterol, Kırmızı Et, Beslenme

**Abstract**

**Objective:** In recent years, people pay more attention to their nutrition and pay attention to a healthy and balanced diet. Elevated blood cholesterol and serum lipids are one of the major health problems such as cardiovascular disorders. Today, the consumption of animal products and especially meat products; There is information about increased cholesterol in written and visual media and even in scientific literature. Many non-food factors such as hypertension, smoking and alcohol use, diabetes, advanced age, stress and irregular life, obesity, and lack of physical activity actually have cholesterol-increasing effects. In this review, the effect of consumption of meat products on serum cholesterol levels was discussed.

**Keywords:** Cholesterol, Red Meat and Nutrition

**1.Giriş**

İnsanların sağlıklı bir şekilde yaşamlarını devam ettirebilmeleri için yeterli ve dengeli beslenmeleri gerekmektedir. Yeterli ve dengeli beslenmenin temel parametrelerinden biri hayvansal kaynaklı gıdaları tüketmektir. Kişilerin yeterli ve dengeli beslenme gereklerini yerine getirebilmeleri; fizyolojik köken, yaş, metabolizma, fiziksel aktivite gibi unsurlara bağlı olarak yön değiştirebilmektedir. Kişinin günlük alması gereken toplam protein miktarının yarısını bitkisel kaynaklı gıdalardan, diğer yarısını hayvansal kaynaklı gıdalardan temin etmesi, yeterli ve dengeli beslenmenin temellerini oluşturmaktadır (Baysal 2010, Baysal 2013, Baysal 2015).

Hayvansal gıda kaynaklı kolesterolün diyetle birlikte alınmasından daha çok kanda taşınmasının önemli

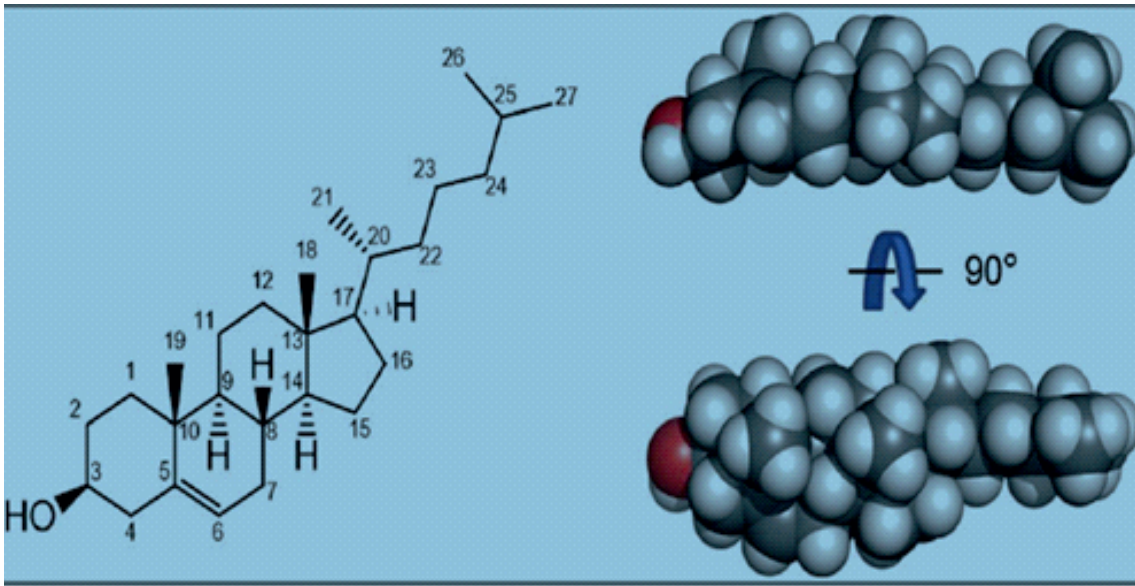
olduğu bilinmektedir. Kolesterolün biyolojik değeri ve beyin sağlığı üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmalar yağ ve kolesterol seviyelerinin yetersizliği ile hayat süresinin ters korelasyonunun olduğunu bildirmişlerdir (Bjorkhem ve Meaney 2004).

Kolesterolün insan sağlığı üzerindeki etkisi sadece beyin ile sınırlı değildir. Yağların sindirimi ve yağda çözünen vitaminlerin emilimini sağlayan ve safra kesesi tarafından salgılanan safra tuzları kolesterolden üretilir. Dolayısıyla kan kolesterol düzeyinin düşük olması yağların sindirilme kapasitesini azaltmaktadır. Neticede kolesterol insan vücudu için oldukça gereklidir (Xu ve ark. 2018, Gluba-Brzozka ve ark. 2019).

## 2. Kolesterol

Kolesterol insanlar için vazgeçilmez bir moleküldür. Çünkü hücre zarında akışkanlığın sağlanması, kararlılık, bütünlük ve geçirgenlik gibi yapısal fonksiyonları düzenlemektedir. Kolesterol bir sinyal molekülü olarak hücredeki fonksiyonel özelliği ile birlikte safra asitleri, steroid hormonları ve D vitamini gibi diğer önemli moleküllerin sentezlenmesi için oldukça gereklidir (Mendez-Acevedo ve ark. 2017). Bunun yanısıra kolesterol bağışıklık sisteminin düzenlenmesine de katkı sağlamaktadır (Andersen 2018). Örneğin insan lenfositlerinin sitotoksik işlevlerini yerine getirmesi için yeterli kolesterol seviyesine ihtiyaç vardır (Qraflı ve ark. 2014).

Tüm hücreler kolesterol homeostazını korumak için insan vücudundaki kolesterolü sentezleme, serbest bırakma ve kullanma yeteneğine sahiptir. Bununla birlikte hücrelerin bazıları sınırlı üretim kapasiteleri nedeniyle eksojen kolesterole ihtiyaç duyan diğer hücrelere kolesterolü üretmek için uzmanlaşmış durumdadır. Normal şartlar altında neredeyse kolesterolün %60'ı vücutta sentezlenirken (yaklaşık 700 mg/gün) geri kalanı vücuda diyetle birlikte alınır (Leoni ve Caccia 2015).



Şekil 1. Kolesterolün yapısı (Grouleff ve ark. 2015).

Şekil 1'de kolesterolün kimyasal yapısı görülmektedir. Gliserolün yağ asidi esterleri olan trigliseritler hayvanların yağ depolarını ve diyet yağının lipit bileşenini temsil eder. Trigliseritler lipit öncüllerinin depolama formu olarak işlev görürler (Tracey ve ark. 2018).

Lipoproteinler kolesterol ve lipitlerin taşınmasında önemli birer araçlardır. Ayrıca enflamatuar yanıtların düzenlenmesinde kritik role sahiptirler. Lipoproteinler; karaciğerden hücrelere ve hücrelerden karaciğere kan yoluyla taşınmaktadır (Jorissen ve ark. 2018; Weinstock-Guttman ve ark. 2011).

Plazma lipoproteinler beş ana sınıfa ayrılır. Bunlar;

1. Şilomikronlar,
2. Çok düşük yoğunluklu (VLDL),
3. Orta yoğunluklu (IDL),

4. Düşük yoğunluklu (LDL)

5. Yüksek yoğunluklu (HDL) lipoproteinlerdir (Harvey ve ark. 2014).

Şilomikronlar en büyük lipoprotein olup, bağırsak mukoza hücreleri tarafından üretilirler. Şilomikronlar, diyetle alınan besinsel trigliseritler, kolesterol ve kolesterol esterlerini periferik depo bölgelerine taşımakta ve kandan hızlı bir şekilde temizlenmektedirler (Xu ve ark. 2018, Gluba-Brzozka ve ark. 2019).

Çok düşük yoğunluklu (VLDL) partikülleri, şilomikronlarla yapısal olarak benzemektedirler. VLDL karaciğerde üretilir ve trigliseritler vasıtasıyla kolesterolün kullanılacağı depo bölgelerine ulaştırılırlar (Xu ve ark. 2018, Gluba-Brzozka ve ark. 2019).

### 3. Kolesterol ve Sağlık

Kolesterol daha çok lipoproteinlerin kolesterolü taşıma biçimi ve kandaki kolesterol düzeyi ile yakından ilişkilidir. Kan kolesterol düzeylerinin yüksek oluşu ateroskleroz ve kalp hastalıkları başta olmak üzere çağımız insanının önemli sağlık problemlerinden biri haline gelmektedir. Bu nedenle kan kolesterol düzeyini belirli bir limite tutmak veya dengelemek birçok hastalığın ortaya çıkmasının önüne geçmektedir (Gürdöl ve Ademoğlu 2010).

Düşük yoğunluklu (LDL) partiküller, aterosklerozla doğrudan ilişkili olan bir lipoproteindir. LDL'ler kolesterolün esas taşıyıcılarıdır (kolesterolün yaklaşık %60-70'i). LDL'ler kolesterolün karaciğerden dokulara taşınmasında görev alırlar. LDL kolesterol, damarların yüzeyini kaplayarak besin maddelerinin ve oksijenin dokulara taşınmasına yardımcı olur ve ayrıca dokulardan atık maddelerin ve karbondioksitin atılmasına engel olmaktadır (Millar ve ark. 2017).

HDL düzeylerinin düşük oluşu kardiyovasküler riskin belirleyicisidir. Ateroskleroza yol açmadıkları gibi gelişimine karşı da koruyucu rol oynarlar. Kandaki kolesterolün %20-30'unun karaciğere taşınmasını

sağlarlar. Ayrıca damar tıkanıklığına ve kan dolaşımının yavaşlamasına neden olan kolesterolün vücuttan atılmasını gerçekleştirmektedirler (Durrington ve Sniderman 2000).

Kandaki kolesterol düzeyini etkileyen çok sayıda faktör vardır. Kalıtım, beslenme alışkanlıkları, besinler, şişmanlık, stres gibi faktörler total kolesterol ve LDL kolesterolü yükseltmektedir. Kolesterole duyarlı bazı insanlarda yüksek kolesterolü diyet, total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerini önemli derecede yükseltir. Aynı şekilde toplam yağ özellikle doymuş yağ asitleri kolesterol yükseltici etkiye sahiptir (Millar ve ark. 2017).

Beslenmede yer alan yağ türleri ve yağ asitleri bileşimi; kan lipit profilini kolesterol, HDL, LDL, trigliserit düzeylerini etkilemektedir. Doymuş yağ asitlerini yüksek oranda içeren diyetlerde; kan kolesterol düzeyi artarken tekli doymamış yağların kullanımında ise HDL kolesterol artmaktadır (Kayahan 2009).

Yirmi yaş üzeri yetişkinler için toplam kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit değerlerinin kandaki istenilen, sınır ve yüksek düzeyleri Çizelge 1'de görülmektedir.

**Çizelge 1.** Kandaki toplam kolesterol, LDL kolesterol ve trigliseritin değerlerinin istenilen sınır ve yüksek düzeyleri (mg/dL) (Yılmaz 2018)

	<b>Toplam kolesterol</b>	<b>LDL kolesterol</b>	<b>Trigliserit</b>
<b>İstenilen düzey</b>	<200	<130	<200
<b>Sınır</b>	200-239	130-159	200-400
<b>Yüksek</b>	>240	>160	400-1000

Kanda uzun süreli kolesterol yüksekliği kalp damar rahatsızlıklarına neden olabilmektedir. Kolesterol yüksekliğine bağlı sorunlar ortaya çıktığı zaman hasta geç kalmış olabilir; bu nedenle kolesterol yüksekliğini önlemek, yükselmişse düşürmek çok önemlidir. Kanda kolesterolün yükselmesinin başlıca nedenleri;

- Kan basıncı dengesizlikleri
- Lipit metabolizma bozukluğu
- Sigara ve alkol
- Şeker hastalığı
- Şişmanlık
- Fiziksel aktivite azlığı
- İleri yaş
- Ailenin genetik olarak öyküsü
- Östrojen eksikliği
- Fibrinojen yüksekliği

- Belirgin beyin, kalp böbrek, tiroid veya damar hastalığı
- Stres ve düzensiz hayat
- Beslenme olarak ifade edilebilir (Liu ve ark. 2019).

Yapılan araştırmalar plazmada yüksek dansiteli lipoprotein olan HDL'nin risk etmeni olmadığını göstermektedir. Düşük yoğunluklu LDL lipoproteininin ise plazma total kolesterolü arttırdığı ve kalp damar hastalıklarının görülmesinde esas etken olduğu bildirilmiştir (Kayahan 2009).

Küçük boyutlu LDL taneciklerinin, oksitlenmiş kolesterol içerdiği ve yüksek düzeyde olduğu hallerde, LDL damar çeperinde aterom adı verilen birikmelere sebep olmaktadır ve bu olaya ateroskleroz denilmektedir. Kanda yüksek miktarda bulunan LDL kolesterol kan damarlarında birikerek,

damarlarda sertleşmeye neden olur. Özellikle koroner arterlerde kolesterol ve kolesterolden zengin lipoproteinler arter duvarlarında birikerek aterosklerozların oluşumunu sağlamaktadır (Braunwald ve ark. 2014).

Kolesterol sadece kalp ve damar hastalıklarına neden olmamaktadır. Beyini besleyen boyun ve beyin damarlarında kolesterol birikimi felçlere, konuşma bozukluklarına, dengesiz yürümeye, bilinç kaybına, Alzheimer, Parkinson, kısmi ve genel felçlere ve beyin kanamalarına neden olmaktadır. Böbrek damarlarında kolesterol birikimi, yüksek tansiyon ve böbrek yetmezliğine neden olmaktadır. Yüksek kolesterol bağırsağı besleyen damarları tıkayarak bağırsak ölümüne, göz damarlarını tıkayarak körlüğe, bacak damarlarını tıkayarak kangrene yol açabilmektedir (Diehm ve ark. 2006).

Bu görülen hastalıkların yanı sıra yüksek yağlı diyetlerle uzun süre beslenmenin, kan kolesterol düzeylerinde lipid konsantrasyonunda yükselmeye ve testosteron hormonunda azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Diyet ile birlikte yağ alımının artması, fiziksel aktivitenin azalmasına ve obeziteye sebep olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından sağlığı bozacak ölçüde vücutta yağ birikmesi şişmanlık olarak tanımlanmıştır (Mensink ve ark. 2003).

#### 4. Beslenme ve Kolesterol

Yüksek kolesterol tedavisinde en çok üzerinde durulan konulardan biri beslenmedir. Kolesterol yalnızca hayvansal dokularda bulunmaktadır. Ancak eksik ve yanlış bilgiler nedeniyle hayvansal ürünlerin tüketimini önemli ölçüde etkilemektedir. Çünkü tüketicilerde ve yeterli bilgi sahibi olmayan kişilerde kolesterolün sadece hayvansal ürün tüketimiyle arttığı gibi temelsiz bir kanı oluşturulmaktadır. Gerçekte kan kolesterol düzeyini etkileyen belki de en etkisiz önlem kolesterolsüz beslenmedir. Aşırı enerji tüketimi sonucu gereğinden fazla alınan enerji yağa dönüştürülmektedir, oluşan yağın taşınması için kolesterol esterlerine ihtiyaç duyulmakta ve sonuç olarak LDL kolesterol ve toplam kolesterol seviyeleri artmaktadır (Yu ve ark. 2013).

Yüksek kolesterol hastalarında öncelikle diyet ve diyetle tüketilen kolesterol üzerinde durulmaktadır. Bu nedenlerle sağlık kuruluşları diyetle tüketilen yağın miktarının ve türünün kontrol altına alınmasını tavsiye etmektedir. Beslenme uzmanları toplam enerji ihtiyacının %15-30'unun yağlardan sağlanmasını, enerji ihtiyacının %0-10'unun doymuş yağ asitlerinden karşılanmasını ve alınan günlük kolesterol miktarının 300 mg'ı aşmamasını tavsiye etmektedirler. Koroner kalp hastalığının önlenmesinde; tüketicilere kırmızı etin yağsız kısımlarının seçilmesi, görünür yağların uzaklaştırılması, düşük yağlı pişirme yöntemlerinin kullanılması genellikle tavsiye edilmektedir (Anonim 2015).

Gıda ile birlikte alınan kolesterol bireyin sindirim sisteminin etkinliğine bağlı olarak plazma kolesterol yoğunluğunu %15'ten fazla artırmamaktadır. Vücuda gıda maddeleri yoluyla giren ve ince bağırsakta absorbe edilen kolesterolden çok daha fazlası aslında vücut tarafından ihtiyaca bağlı olarak sentezlenmektedir. Çünkü sağlıklı bir karaciğer ihtiyaca bağlı olarak günde 750-1500 mg kolesterol sentezlemektedir (Wood ve ark. 2003).

Genel olarak yağsız kırmızı ve beyaz etler 100gr'da ortalama 65-80 mg kolesterol içermektedir. Böylece 300 mg /gün kolesterol sınırına ulaşabilmek için 375-461g et tüketilebilir. Ancak yeterli ve dengeli beslenmek için yetişkin bir bireyin her kg vücut ağırlığı için 0,8 g ham protein tüketmesi ve bunun ortalama yarısının hayvansal kökenli olması gerekmektedir. 60-100kg olan yetişkin bir bireyin günlük tüketmesi gereken hayvansal ham protein miktarı 24-40 g'dır. Et ve et ürünlerinin yaklaşık %18-22 protein içerdiği göz önüne alınırsa 133,33-181,818 g /gün et tüketimi normaldir. Sağlıklı beslenme için gerekli olan bu miktarda et tüketimi ile 300 mg kolesterolü aşmak mümkün değildir. Bireyin ağırlığı dikkate alınmaksızın günlük 100-200 g et tüketimi sağlıklı beslenme için önerilmektedir (Bertelo ve Ma 2016, Schoenfield ve Aragon 2018).

#### 5. Kırmızı et ve Kolesterol

Kırmızı etin kolesterolle olan ilişkisi yıllardır birçok bilim insanı tarafından tartışma konusu olmuştur. Bir takım bilim insanları kırmızı etin tüketiciler tarafından kesinlikle tüketilmemesi gerektiğini savunurken, diğer bir grup bilim insanları ise kırmızı etin kolesterol üzerinde insan sağlığına zararlı herhangi bir etkisinin bulunmadığı görüşünü savunmaktadırlar (Liu ve ark. 2019).

Çizelge 2'de de görüldüğü üzere su ürünleri ve kanatlı etleri az miktarda kolesterol içermekte, kırmızı etler ise fazla miktarda kolesterol içermektedir. Gerçekte et ürünlerinin içerdiği kolesterol miktarı aynı tür içerisinde birbirine oldukça yakındır. Ancak su ürünleri ve az da olsa kanatlı etlerinin içerdiği çoklu doymamış yağ asitleri kan kolesterol seviyesini düşürücü etki göstermektedir. Bununla birlikte kırmızı etlerde bulunan doymuş yağ asitlerinin az bir kısmı kolesterolü artırıcı etkiler göstermektedir (Samur 2008).

Kırmızı et ve diğer et çeşitlerinin içerdiği kolesterol miktarı Çizelge 2'den de görülebileceği gibi ürünün içerdiği yağ miktarı ile aynı tür içerisinde doğru orantılı olarak değişim göstermektedir. Bu nedenle herhangi bir et ürününün içerdiği kolesterolü bir başka et ürünü ile yağ içeriğini dikkate almadan kıyaslamak oldukça yanlıştır.

**Çizelge 2.** Kırmızı etler, kanatlı eti ve su ürünlerinin içerdiği kolesterol miktarları, toplam yağ miktarları ve enerji değerleri (Anonim 2008a).

Et Türü	Yağ Toplam (g)	Kolesterol (mg)	Enerji (k cal)
Sığır but eti	4,63	62	123
Sığır kol eti	5,07	63	131
Sığır bonfile eti	6,27	67	136
Dana but eti	4,59	48	125
Dana pırzola eti	6,53	60	139
Koyun bel eti	6,64	67	142
Koyun but eti	7,20	72	137
Hindi but eti	4,45	61	123
Alabalık	5,12	55	121

Bileşen değeri gıdanın yenilebilir 100 g içindir.

Plazmada LDL kolesterol düzeyi üzerinde etkili diyet faktörlerinden biri olan yağ asitlerinden pek çok araştırmada bahsedilmektedir. Genel olarak doymuş yağ asitlerinin kolesterol miktarını arttırdığı gibi tamamen yanlış bir kanı vardır. Ancak gerçekte sadece 12-16 karbon atomlu doymuş yağ asidi tüketimi serum LDL kolesterol içeriğini artırmaktadır. Bu yağ asitlerinin tüketimi kolesterol konsantrasyonunu %25 kadar arttırabilmektedir. Bunlar arasında kolesterol seviyesini en fazla arttıran miristik (C<sub>14:0</sub>) asittir. Etlerde baskın doymuş yağ asidi stearik (C<sub>18:0</sub>) ve palmitik (C<sub>16:0</sub>) asitlerdir (Anonim 2015). Stearik asit kolesterol seviyesini etkilemezken palmitik asit çok az miktarda artırmaktadır. Etin büyük bir kısmını oleik asit ve stearik asit oluşturmaktadır. Oleik asitin (C<sub>18:1</sub>) doymamış yağ asidi olmasından dolayı kolesterolü artırıcı etkisi bulunmamaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin

LDL kolesterol konsantrasyonunu ve serum trigliserit konsantrasyonunu düşürdüğü bildirilmiştir (Köknaoğlu 2007).

Çizelge 3’de kırmızı etler, kanatlı eti ve su ürünlerinin içerdiği yağ asidi dağılımı görülmektedir. Çizelgede de görüldüğü üzere miristik ve palmitik asit bakımından hayvansal yağlar oldukça zengindir. Bu nedenle hayvansal ürünlerin tüketiminde serum kolesterol seviyesini etkilememek için et yağlarının tüketilmemesi önerilmektedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalar aşırı yağlı diyetlerin toplam kan kolesterol konsantrasyonunu yükselttiğini göstermiştir. Ancak tüketilen yağın içeriğinden bağımsız olarak diyetin içerdiği enerjinin kan kolesterol konsantrasyonu ile doğru ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ekmekçioğlu ve ark. 2018).

**Çizelge 3.** Kırmızı etler, kanatlı eti ve su ürünlerinin içerdiği yağ asidi dağılımı (g) (Anonim 2008b)

YAĞ ASİDİ		Sığır eti bonfile	Sığır eti but	Sığır eti pırzola	Dana eti bonfile	Dana eti but	Dana eti pırzola	Koyun eti bel	Koyun eti kol	Hindi eti but	Alabalık
C <sub>14:0</sub> Miristik asit	Min.	0.105	0,089	0,000	0,093	0.033	0,077	0,079	0,087	0,036	0,091
	Mak.	0.345	0,229	0,349	0,373	0.248	0,352	0,293	0,365	0,098	0,191
C <sub>16:0</sub> Palmitik asit	Min.	1,298	0,876	0,000	0,999	0,411	0,872	0,808	0,849	0,708	0,434
	Mak.	2,864	1,885	3,303	3,074	2,412	2,791	2,546	2,248	1,413	0,912
C <sub>18:0</sub> Stearik asit	Min.	0.771	0,421	0,000	0,655	0,213	0,654	0,664	0,529	0,231	0,117
	Mak.	2.088	1,257	2,432	2,360	1,589	2,113	2,499	1,583	0,414	0,250
C <sub>18:1</sub> Oleik asit	Min.	1,500	0,606	0,000	1,319	0,700	0,598	0,859	1,097	1,079	0,904
	Mak.	3,157	2,364	3,293	3,508	2,668	4,792	3,827	3,207	1,924	1,942
C <sub>18:2</sub> Linoleik asit	Min.	0,000	0,011	0,000	0,047	0,009	0,000	0,000	0,018	0,838	0,451
	Mak.	0,194	0,153	0,194	0,157	0,121	0,244	0,267	0,198	1,395	1,097

## 6. Sonuç ve Öneriler

Yeterli ve dengeli beslenen bir bireyin; günlük tüketmesi gereken et miktarı bireyin yaşı, cinsiyeti, fiziksel aktivite durumu, genetik öyküsü, hamilelik emziklilik, yaşlılık, hastalık vb. birçok husus göz önünde bulundurulmalıdır. Kırmızı ve beyaz etin yağsız kısımları baz alınarak 100 g'da ortalama 65-80 mg kolesterol olduğu bilinmektedir. Kolesterol sınırı ise günlük 300 mg olarak belirlenmiş olup bu miktara ulaşabilmek için kişinin günlük 375-461 g et tüketmesi gerekmektedir. Elde edilen bu sonuç sağlıklı bir kişinin beslenmesinde ideal olarak tüketmesi gereken miktarın yaklaşık iki katına tekabül etmektedir. Bu bağlamda dengeli bir beslenme için günlük 100-200 g arası olarak önerilen et tüketimi miktarı kolesterol sınırını aşmamakta ve dolayısıyla kişilerin sağlığına olumsuz bir etkisi olmamaktadır (Liu ve ark. 2019).

Kişilerin günlük beslenmesindeki et tüketimiyle kolesterolün fizyolojik olarak zarar vermesi pek mümkün değildir. Elbette üst sınır olarak çizilmiş

kolesterol miktarının fazlası insan sağlığında olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bunların başında kardiyovasküler hastalıklar gelmekle birlikte Alzheimer ve Parkinson gibi nörolojik hastalıkların sebeplerinden biri de kolesteroldür. Ayrıca normalden fazla biriktiği organların hücrel yetisini kayba uğratarak o organın hayati fonksiyonlarını yitirmesine sebep olmaktadır. Birçok olumsuz semptomların başında gelen kolesterol miktarındaki bu artış eğilimini, sadece beslenmeye bağlamak ise yüzeysel bir yaklaşımdır. Hâlbuki sadece kolesterolü artıran değil sağlığımızı tehlikeye atan unsurların başında alkol ve sigara tüketimi, hareketsiz yaşam, kontrol edilemeyen stres faktörü gelmektedir. Sağlık bu parçaların birbiriyle bütünleşmesiyle meydana gelen bir olgudur. Bu yüzden bütüncül bir perspektiften bakılacak olursa elbette sağlıklı beslenmeyle birlikte yetersiz yaşam koşullarını da iyileştirdiğimiz takdirde kolesterolümüzü kontrol altına almış oluruz. (Millar ve ark. 2017, Schoenfield ve Aragon 2018, Gluba-Brzozka ve ark. 2019, Liu ve ark. 2019).

## 5. Kaynaklar

Andersen, C.J., 2018. Impact of Dietary Cholesterol on the Pathophysiology of Infectious and Autoimmune Disease. *Nutrients*, 10(6):764-789.

Anonim, 2008a. <http://www.turkomp.gov.tr/database> (Erişim Tarihi: 29.03.2020).

Anonim, 2008b. <http://www.turkomp.gov.tr/database> (Erişim Tarihi: 29.03.2020).

Anonim, 2015. World Health Organization (WHO), World health statistics 2015, Part II. Global Health Indicators. Table 2. Cause-Specific Mortality and Morbidity: 68. Erişim Adresi: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/170250/1/9789240694439\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/170250/1/9789240694439_eng.pdf). Erişim Tarihi: 22.09.2016.

Baysal A, 2010. Diyet El Kitabı, 6. Baskı, Hatiboğlu Basım ve Yayım, Ankara,

Baysal A, 2013. Genel Beslenme, 15. Baskı, Hatiboğlu Basım ve Yayım, Ankara,

Baysal A, 2015. Beslenme, 16. Baskı Hatiboğlu Basım ve Yayım, Ankara

Bertelo, R.F. and Ma, D.W.L., 2016. Advances in Protein Nutrition Across the Lifespan. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(5): 563, <https://doi.org/10.1139/apnm-2016-0104>.

Bjorkhem, I. and Meaney S., 2004. Brain Cholesterol: Long Secret Life Behind a Barrier. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24:806-815.

Braunwald, E., Chait, A., Fuster, V. and Newman, M., 2014. Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). [www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/current/cholesterol](http://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/current/cholesterol)

Diehm, C., Lange, S. and Darius, H., 2006. Association of Low Ankle Brachial Index with High Mortality in Primary Care. *European Heart Journal*, 27:1743-1749.

Durrington, P. and Sniderman, A., 2000. Fast Facts. *Hyperlipidaemia*. Eds. Oxford, Health Press, 1-17.

Ekmekçiöglü, C., Wallnera, P., Kundi, M., Weisz, U. and Hutter, H., 2018. Red Meat, Diseases, and Healthy Alternatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(2):247-261.

Gluba-Brzozka, A., Franczyk, B. and Rysz, J., 2019. Cholesterol Disturbances and the Role of Proper Nutrition in CKD Patients. *Nutrients*, 11, 2820.

Grouleff, J., Irudaym, S.J., Skeby, K.K. and Schiott, B., 2015. The Influence of Cholesterol on Membrane Protein Structure, Function, and Dynamics Studied by Molecular Dynamics Simulations. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1848(9):1783-1795. [guidelines/index.htm.](https://doi.org/10.1016/j.bba.2015.04.010), Erişim Tarihi: 30.04.2020.

Gürdöl, F. ve Ademoğlu, E., 2010. *Biyokimya Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul 2*. Baskı, 43-76, 191-292.



- Harvey, A.R., Champe, P.C., Ferrier, D.R. ve Ulukaya E, 2014. Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul 5.Baskı, 321-328.
- Jorissen, W., Vanmierlo, T., Wens, I., Somers, V., Wijmeersch, B.V. and Hendriks, J.J., 2018. Twelve Weeks of Medium-Intensity Exercise Therapy Affects the Lipoprotein Profile of Multiple Sclerosis Patients. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1):193-203.
- Kayahan, M., 2009. Sağlıklı Beslenme Açısından Trans Yağ Asitleri. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu. 27-29 Mayıs 2009, Van, 7-11.
- Köknaoğlu, H., 2007. Beslenmenin Sığır Eti Konjuge Linoleik Asit Miktarına Etkisi. *Hayvansal Üretim (J. Anim. Prod.)*, 48(1): 1-7.
- Leoni, V. and Caccia, C., 2015. The Impairment of Cholesterol Metabolism in Huntington Disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1851, 1095-1105.
- Liu, Y., Poon, S., Seeman, E., Hare, D., Bui, M. and Iuliano, S., 2019. Fat from dairy foods and ‘meat’ consumed within recommended levels is associated with favourable serum cholesterol levels in institutionalised older adults. *Journal of Nutritional Science*, 8, E10. doi:10.1017/jns.2019.5
- Mendez-Acevedo, K.M., Valdes, V.J., Asanov, A. and Vaca, L., 2017. A Novel Family of Mammalian Transmembrane Proteins Involved in Cholesterol Transport. *Nature*, 7:7450-7461.
- Mensink, R.P., Zock, P.L., Kester, A.D. and Katan, M.B., 2003. "Effects of Dietary Fatty Acids and Carbohydrates on the Ratio of Serum Total to HDL Cholesterol and on Serum Lipids and Apolipoproteins: a Meta-Analysis of 60 Controlled Trials." *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(5): 1146-1155.
- Millar, C.L., Duclos, Q. and Blesso, C.N., 2017. Effects of Dietary Flavonoids on Reverse Cholesterol Transport, HDL Metabolism, and HDL function, *Advances in Nutrition*, Volume 8, Issue 2, March 2017, Pages 226 – 239, <https://doi.org/10.3945/an.116.014050>
- Qraflı, M., Amar, Y., Bourkadi, J., Amor, J.B., Iraki, G. and Sadki, K., 2014. The CYP7A1 Gene rs3808607 Variant is Associated with Susceptibility of Tuberculosis in Moroccan Population. *Pan African Medical Journal*, 18, 1-6.
- Samur G., 2008. Kalp Damar Hastalıklarında Beslenme. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Beslenme ve Fiziksel Aktiviteler Daire Başkanlığı. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 728. Klasmat Matbaacılık. .
- Schoenfeld, B.J. and Aragon, A.A., 2018. How much Protein can the Body Use in a Single Meal for Muscle-Building? Implications for Daily Protein Distribution. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* volume 15, Article number: 10 (2018)
- Tracey, T.J., Steyn, F.J., Wolvetang, E.J. and Ngo, S.T., 2018. Neuronal Lipid Metabolism: Multiple Pathways Driving Functional Outcomes in Health and Disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 1-25.
- Weinstock-Guttman, B., Zivadinov, R. and Ramanathan, M., 2011. Inter-dependence of Vitamin D Levels with Serum Lipid Profiles in Multiple Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 311, 86-91.
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, R. and Enser, M., 2003. Effects of Fattyacids on Meatquality: A review. *Meat Sci*, 66(1):21-32.
- Xu, Z., McClure, S.T. and Appel, L.J., 2018. Dietary Cholesterol Intake and Sources among U.S Adults: Results from National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES), 2001–2014. *Nutrients* 2018, 10, 771.
- Yılmaz, H., 2018. Hiperlipidemi ve Beslenme. *Türkiye Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi*, 1(2):73.
- Yu, D., Shu, X.O., Li, H., Xiang, Y.B., Yang, G., Gao, Y.T., Zheng, W. and Zhang, X., 2013. “Dietary Carbohydrates, Refined Grains, Glycemic Load and Risk of Coronary Heart Disease in Chinese Adults“, *Am J Epidemiol*, 178(10):1542-1549.



Derleme / Review

**Hayvansal Gıdalarda Antibiyotik Kalıntıları**  
**Antibiotic Residues in Food of Animal Origin**

Arzu YAVUZ<sup>1\*</sup>, İsmail AZAR<sup>2</sup>, Ali ÖZCAN<sup>3</sup>, Vesile ÇETİN<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Gıda Yük. Müh., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-2526-4761

<sup>2</sup> Ziraat Yük. Müh., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0003-4424-208X

<sup>3</sup> Vet.Hek., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-1338-7852

<sup>4</sup> Dr. Ziraat Yük. Müh., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-6962-8440

\*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author, arzu.yavuzylmaz@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi :30.04.2020

Kabul Tarihi :05.08.2020

**Öz**

**Amaç:** Hayvansal proteinlerin dengeli ve yeterli beslenmedeki rolü son derece önemlidir. Hayvancılıkta antibiyotiklerin yasal olmayan şekilde kontrolsüz kullanılmaları güvenli hayvansal gıda üretimi için önemli bir risk oluşturmaktadır. Avrupa Birliği ülkelerinde, Türkiye’de ve diğer birçok ülkede hayvancılıkta antibiyotiklerin kullanımına kısıtlamalar getirilmiş, kullanımı belli şartlara bağlanmıştır. Kontrolsüz koşullarda kullanıldığında antibiyotikler, hayvanların dokularında ve organlarında birikim yapmakta ve hayvansal gıdalarda kalıntılara yol açabilmektedir. Antibiyotik kalıntılarını içeren gıdaların tüketilmesi başta antibiyotik direnci olmak üzere halk sağlığı açısından pek çok risk oluşturmaktadır. Bu riskler hayvansal gıdaların antibiyotik kalıntıları yönünden izlenmesinin önemini ortaya çıkarmaktadır. Hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının tespiti için pek çok yöntem kullanılabilir olsa da bunlardan en güvenilir olanı kromatografik ayırım ile spektrometrik tespit kombinasyonundan oluşan yöntemlerdir. Bu çalışmanın amacı hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının zararları, analiz yöntemleri, ilgili mevzuat ve yayınlanan güncel metotlar hakkında bilgileri derlemektir.

**Sonuç:** Halk sağlığının korunması açısından hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının izlenmesi zorunludur. Kalıntıların tespitine yönelik hızlı, ekonomik, pratik, kolay ve güvenilir çoklu kalıntı analiz yöntemlerinin geliştirilmesi, kalıntı izleme çalışmalarının etkinliğini arttıracaktır.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik, Hayvansal Gıda, Kalıntı, Mevzuat

**Abstract**

**Objective:** The role of animal proteins in balanced and adequate nutrition is extremely important. Illegal and uncontrolled use of antibiotics in animal husbandry poses a significant risk for safe of food of animal origin. In European Union countries, Turkey and many other countries, has brought restrictions on the use of antibiotics in livestock, their use is restricted to certain conditions. When not used under controlled conditions, these drugs accumulate in the organs of animals and can cause to residues in food of animal origin. Consumption of foods containing antibiotic residues poses many risks for public health, especially antibiotic resistance. These risks reveal the importance of monitoring food of animal origin in terms of antibiotic residues. Although many methods can be used to detect antibiotic residues in food of animal origin, the safest of them are methods based on the combination of chromatographic separation and spectrometric detection. The aim of this study is to review information about the risks posed by antibiotic residues in food of animal origin, analysis methods, related legislation and current methods published.

**Results:** In order to protect public health, monitoring of antibiotic residues in food of animal origin is mandatory. The development of rapid, economic, practical, easy and reliable multi residue analysis methods for the detection of residues will increase the effectiveness of residue monitoring studies.

**Key words:** Antibiotic, Food of Animal Origin, Residue, Legislation

## 1.Giriş

Artan dünya nüfusuna bağlı olarak yeterli ve dengeli beslenme insanoğlunun en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. Hayvansal gıdalar besin değerleri bakımından vazgeçilemez ve diğer gıdalar ile kıyaslanamaz bir konumdadır. Günlük protein alımının en az 1/3'ünün (%33) hayvansal kaynaklı olması gerektiği bilinmektedir (Özcan ve Baysal 2016). Artan dünya nüfusunun dengeli beslenebilmesi ve yeterince hayvansal proteine ulaşabilmesi için hayvansal üretimin artırılması gerekmektedir (Aynagöz 1993). Üretilen ürünlerin kaliteli ve güvenli olarak tüketiciye sunulması ise son derece önemli ve gereklidir. Hayvancılıkta antibiyotiklerin gelişmeyi teşvik etmek amacıyla verim artırıcı olarak kullanılmaları; insan sağlığı üzerinde risk oluşturması nedeniyle Avrupa Birliği ülkelerinde ve Türkiye'de 2006 yılından itibaren yasaklanmıştır (Anonim 2005, Anonim 2006). Ancak entansif hayvancılık uygulamalarında hayvan refahına yeterli özenin gösterilmemesi hayvan hastalıklarının sıkça görülmesine neden olmaktadır (Duru ve Şahin 2004). Bu durum hayvan hastalıklarının tedavisinde antibiyotiklerin kullanımını gerektirmektedir. Antibiyotiklerin kullanımına yönelik alternatif yöntemler araştırılmakta, farklı uygulamalar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır ancak bu alternatif yöntemlerin etkileri ve güvenliği hususunda çok daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Adıyaman ve Ayhan 2010, İpçak ve ark. 2017, Taçbaş ve Baydan 2018, Tuncer 2007).

1928'de Alexander Fleming'in penisilini keşfinden bu yana, yüzlerce değişik antibiyotik piyasaya çıkmış ve insanlardaki kullanımın yanı sıra hayvanlarda da hastalıkların tedavisi için, büyüme geliştiricileri olarak ve yem verimliliğini arttırmak için kullanılmışlardır (Addison 1984). Büyümeyi arttırmak için antimikrobiallerin hayvan yemine katılması çok uzun yıllardır yaygın bir uygulamadır ve dünya çapında toplam antimikrobiyal kullanımının yarısından fazlasının bu amaç için olduğu tahmin edilmektedir (Wegener ve ark. 1999). Gıda üretiminde kullanılan hayvanların yaklaşık %80'ine, yaşamlarının belli bir kısmında veya birçok zamanında ilaç uygulanmaktadır (Lee ve ark. 2001).

Hayvancılıkta antibiyotik kullanımı, insanlar için kullanım miktarlarını fazlasıyla aşmaktadır. Bazı bölgelerde antibiyotik kullanımı ile ilgili veriler düzgün bir şekilde kayıt altına alınmış olmasa da, 2013 yılında küresel olarak hayvanlar için antibiyotik tüketiminin 131.000 ton civarında olduğu tahmin edilmektedir (Boeckel ve ark. 2017). Göreceli olarak, hayvancılıkta ve insanlarda antibiyotik kullanımı benzer ve kg başına ortalama yaklaşık olarak aynı olsa da toplam hayvan biyokütlesinin insan biyokütlesinden fazla olmasından dolayı, insanlarda

toplam antibiyotik kullanımının 2013 yılında hayvancılıktaki kullanıma göre çok daha düşük olduğu (yaklaşık 40.000 ton), toplam tüketimin %20-30'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir (Ritchie 2017).

Antibiyotikler hayvanların kas, karaciğer, böbrek gibi organlarında birikim yapmakta ve süt, yumurta ve bal gibi hayvansal ürünlere de geçebilmektedir (Cordle 1988, Parks 1989, Furusawa 2001, Gustavson ve ark. 2002, Bertini ve ark. 2003, O' Keeffe ve ark. 2004, Tittlemier ve ark. 2007, Lee ve ark. 2007, Pavlov ve ark. 2008, Hammel ve ark. 2008, Chico ve ark. 2008, Chung ve ark. 2009, Ergin Kaya ve Filazi 2010). Antibiyotik kullanımının bilinçsizce yapılması, suya veya yeme ilave edilerek kontrolsüz bir şekilde kullanılmaları, tedavi ve koruyucu amaçlarla antibiyotik verilmesini takiben yasal bekleme sürelerine uyulmadan hayvanların kesime alınması gibi uygulama hataları hayvansal kaynaklı gıdalarda antibiyotik kalıntılarının neden olmakta ve buna bağlı olarak halk sağlığı açısından önemli sakıncalara yol açabilmektedir.

## 2. Antibiyotik Kalıntılarının Zararları

Tüketilen gıdalar yoluyla alınan düşük dozda antibiyotik kalıntıları bakterilerde direnç oluşumuna yol açmaktadır (Butaye ve ark. 2001). Bakterilerde oluşan bu direnç ile insanlarda kullanılan ilaçların etkisi azalmakta, bu durum ise enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli problemlere yol açmaktadır. Antimikrobiyal direnç insan ve hayvan sağlığı için bir tehdit oluşturmaktadır ve ciddiye alınması gereken bir durumdur (Aarestrup 2005). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), insanlarda ve hayvanlarda antibiyotiklerin yanlış kullanımının antibiyotik direncini arttırdığını belirtmiş ve antibiyotik direncini küresel sağlık, gıda güvenliği ve kalkınmaya yönelik en büyük tehditlerden biri olarak tanımlamıştır (Anonim 2018a). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) antimikrobiyal dirençli enfeksiyonlardan her yıl 700.000 insanın öldüğünü ve antimikrobiyal kullanımının 2030'a kadar iki katından fazla oranda artmasının beklendiğini açıklamıştır (Anonim 2017a).

Gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının tüketiminin insan sağlığı üzerindeki diğer bir olumsuz etkisi ise insan fizyolojisinin temel bir bileşenini oluşturan ve gastrointestinal sistemin patojenik bakteriler tarafından kolonize edilmesine karşı bir bariyer görevi gören doğal bağırsak mikroflorası üzerindeki potansiyel zararlı etkileridir (Vollard ve Clasener 1994, Cerniglia ve Kotarski 1999).

Gıda endüstrisi açısından bakıldığında da antibiyotik kalıntıları teknolojik ve ekonomik açıdan kayıplara neden olabilmektedir. Örneğin; sütte bulunabilecek antibiyotik kalıntıları yoğurt, peynir gibi fermente süt ürünlerinde kullanılan starter bakterilerin çalışmalarını yavaşlatıcı ve hatta durdurucu etki

yaratmakta ve istenen düzeyde asit oluşumunun gerçekleşmemesi sonucu bu ürünlerin tat ve yapısal özellikleri olumsuz yönde etkilenmektedir (Metin 1999, Ardıç ve Durmaz 2006).

Toksik etki açısından baktığımızda, gıdalarda bulunabilecek antibiyotik kalıntısı konsantrasyonu genellikle herhangi bir toksik etkiye yol açmayacak kadar düşüktür. Antibiyotiklerin direkt toksisitesi oldukça sınırlıdır ve kloramfenikol dışında başka bir antibiyotikle direkt zehirlenmeye rastlanılmamıştır (Filazi 2012). Gıdalarla alınan antibiyotiklerin alerjik reaksiyonlara neden olması ise çok nadir görülen bir durumdur (Dayan 1993).

Antibiyotik kalıntıları, DNA ve RNA gibi hücresel elementlerle etkileşerek potansiyel karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkilere de neden olabilmektedir (El-Makawy ve ark. 2006, Beyene 2016).

Çevreye yayılan antibiyotik kalıntıları ise ekosistemdeki ve biyolojik arıtma sistemlerindeki organizmalara zarar vererek ekolojik dengeyi bozmaktadır (Saygı ve ark. 2012).

Bu nedenlerle halk sağlığının veteriner ilaç kalıntılarının olası zararlı etkilerine karşı korunması çok önemli bir sorundur (Pavlov ve ark. 2008).

### 3. Mevzuat

Avrupa Birliği (AB)'nde yetiştiricilikte uygulanan ilaçların ve hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntılarının kontrolüne dair olarak Council Directive 96/23/EC yönetmeliği mevcuttur (Anonim 1996). Antibiyotiklerin Maksimum Kalıntı Limitleri (MRL), yani insanların zararlı düzeylerde kalıntılara maruz kalmalarını engellemek için insanda herhangi bir sağlık problemine neden olmayan ilaç ve metabolitlerinin miktarları ise 37/2010/EC sayılı Komisyon Tüzüğü (Commission Regulation (EU) No 37/2010) ile belirlenmiştir (Anonim 2010).

Ülkemizde ise bu limitler AB ile uyumlu olarak "Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği" ile belirlenmiştir (Anonim 2017b). Ayrıca koksidiyostatların ve histomonostatların hayvansal gıdalarda bulunabilecek maksimum miktarları 124/2009/EC nolu komisyon tüzüğüne paralel olarak "Türk Gıda Kodeksi Hedef Dışı Yemlere Taşınması Önlenebilen Koksidiyostatların ve Histomonostatların Hayvansal Gıdalardaki Maksimum Miktarları Hakkında Yönetmelik" ile belirlenmiştir (Anonim 2009 ve Anonim 2015). Bu yönetmeliklerde kalıntı limiti belirlenmemiş olan yasaklı maddeler için ise AB Referans Laboratuvarları (EURLs) tavsiye limitlerini yani MRPL (Minimum Required Performance Limit: Minimum Gerekli Performans Limiti) değerlerini CRL (Community Reference Laboratories) Guidance Paper-2007 ile belirlemiştir (Anonim 2007).

Bu düzenlemelerde antibiyotiklerin analiz edilecek doku ya da gıdadaki belirleyici kalıntıları (Marker Residues) da belirtilmektedir. Belirleyici kalıntı; ürünlerdeki veteriner ilaç kalıntısı hakkında bilgi veren ve organizmada farmakodinamiği bilinen, toplam kalıntıya paralel olarak azalan farmakolojik aktif madde ve/veya bu maddelerin metabolitlerini belirtir (Anonim 2017b). İlgili analitlerin analizinin yapılabilmesi için metot ve validasyon çalışmalarının mutlaka bu belirleyici kalıntı veya kalıntıların dikkate alınarak gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

AB ülkelerinde hayvansal ürünlerde gerçekleştirilen kalıntı analizleri (veteriner ilaçları, pestisit, mineral vb.) 2002/657/EC Komisyon Kararı gerekliliklerine uygun olarak yapılmaktadır (Anonim 2002). Bu düzenlemede bir yöntemin tarama veya doğrulama metodu olarak uygulanabilmesi için sağlaması gereken performans kriterleri, prosedürler ve gereklilikler ayrıntılı bir şekilde yer almaktadır. Bu ortak standartlar sayesinde resmi olarak kalıntı izleme kontrolünde görevli laboratuvarların analitik sonuçlarının kalite güvencesinin sağlanması hedeflenmektedir.

Türkiye genelinde hayvansal ürünlerde veteriner ilaç kalıntı analizi yapan laboratuvarlarda ELISA ve Charm II kısıtlı bazı analitler için tarama metodu olarak kullanılsa da, tarama ve doğrulayıcı yöntem olarak kütle spektrometrik yöntemler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kütle spektrometrik yöntemler kullanan laboratuvarların, validasyon çalışmalarındaki farklılıkların ortadan kaldırılması ve validasyon parametrelerinde ve hesaplamalarında birlikteliğin sağlanması amacıyla AB'nin 2002/657/EC Komisyon Kararı'nın asgari gerekliliklerini açıklayan "Hayvansal Ürünlerde Kütle Spektrometrik Yöntemler İle Veteriner İlaç Kalıntılarının Analizleri İçin Metot Validasyonu Rehberi" Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yayınlanmıştır (Anonim 2018b).

Bu rehberde göre; antibiyotik kalıntılarının belirlenmesi için yapılacak analizlerin metot validasyon çalışmalarına başlamadan önce ilgili mevzuatın analiz yapılacağı matriksler, analitler ve belirleyici kalıntılar yönünden detaylı bir şekilde incelenmesi ve buna göre bir analitin MRL veya MRPL değeri belirlenmiş ise 2002/657 EC direktifindeki esaslar göz önüne alınarak validasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bir analit için herhangi bir limit belirlenmemiş ise çalışmayı yapacak laboratuvarın performans limiti (ILPL), MRPL değeri gibi kabul edilerek çalışmalar gerçekleştirilmelidir.

### 4. Antibiyotik Kalıntıların Tespiti için Yöntemler

Mikrobiyolojik yöntemler antibiyotik kalıntılarının tespitinde kullanılan en eski yöntemler olmakla birlikte 2002/657/EC gerekliliklerine çok uygun değildir (Pikkemaat 2009). Ancak yine de AB üyesi

bazı devletlerde mikrobiyolojik testler (inhibitör testleri) kullanan spesifik kontrol programlarının bulunduğu ve bazı durumlarda, numune sonucunu olumsuz değerlendirmek için fiziko-kimyasal bir yöntemle hiçbir onay yapılmadan yani ilgili madde kesin bir şekilde tanımlanmadan mikrobiyolojik testlerdeki pozitif bir sonucun yeterli olduğu durumların olduğu bilinmektedir (Anonim 2019).

Antikor ve antijen arasındaki spesifik reaksiyon sonucuna dayanan immünojenik yöntemler, hızlı ve kolay sonuç alınabilme özelliğine sahip biyosensörler antibiyotik kalıntılarının tespitinde kullanılabilen tarama yöntemlerindedir. Farklı özelliklerde biyosensörlerin geliştirilmesiyle ilgili çalışmalar yapılmakta ve gelecekte hayvansal gıdalarda bunların antibiyotik tarama analizlerinde yaygın olarak kullanılacağı belirtilmektedir (Gaudin 2017). Ancak hayvansal gıdalarda antibiyotik varlığının tanımlanması ve doğrulanmasında en verimli ve

güvenilir yöntemler kromatografik ayırım ve spektroskopik dedeksiyonun kombinasyonuna dayanan yöntemlerdir. Bu yöntemlerin yüksek ekipman maliyeti ve tecrübeli personele ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları olsa da bu yöntemler çok sayıda analitin tek bir metot ile analizine imkan sunmaktadır. Gıdalardaki çok düşük konsantrasyonlardaki kalıntıların analizindeki çoğu gelişme, sıvı kromatografisi - kütle spektrometrisinin (LC-MS) uygulanmasından kaynaklanmaktadır. Mümkün olduğunca çok sayıda bileşiği içerebilen daha hızlı ve daha verimli bir analiz elde etmek için çoğunlukla basit numune hazırlama prosedürleri bu teknikle birleştirilmiştir (Masiá ve ark. 2016). Yüksek seçicilik ve hassasiyet özelliğine sahip LC-MS/MS, günümüzde veteriner ilaç kalıntılarının tespiti ve miktarının belirlenmesinde kullanılan en yaygın tekniktir (Moretti ve ark. 2017, Dasenaki ve Thomaidis 2015).

**Çizelge 1.** 2002/657/EC gerekliliklerine göre valide edilen doğrulama metotları

Matriks	Grup	Ekstraksiyon	CC $\alpha$ * ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (Yasaklı Maddeler için)	Cihaz	Kaynak
Tavuk Kası	5 gruptan (tetrasiklinler, kinolonlar, penisilinler, sülfonamidler ve makrolidler) 39 analit	0.1M EDTA Metanol (MeOH):H <sub>2</sub> O (70:30,v/v)	4.3-9.9	LC-MS/MS	(Chico ve ark. 2008).
Yumurta	7 gruptan (sülfonamidler, diaminopiridin türevleri, kinolonlar, tetrasiklinler, makrolidler, penisilinler ve linkosamidler) 41 analit	0.1M EDTA Asetonitril (ACN): Süksinik Asit (1:1, v/v)	0.5-3.8	UHPLC-MS/MS	(Jiménez V. ve ark. 2011)
Sığır, tavuk ve domuz kası	10 farklı gruptan (amfenikoller, beta-laktamlar, diaminopirimidin, linkozamidler, makrolidler, plöromutilinler, kinolonlar, rifamisinler, sülfonamidler ve tetrasiklinler) 62 analit	0.1M EDTA ACN:H <sub>2</sub> O (80:20,v/v)	1-33	UHPLC-MS/MS	(Moretti ve ark. 2016)
Bal	3 farklı gruptan (sülfonamidler, nitroimidazol ve kinolonlar) 27 analit	Asit Hidrolizi (HCL) Yağ alma (Hekzan)+ SPE	0.45-1.7	LC-MS/MS	(Galarini ve ark. 2015)
Bal	5 farklı gruptan (sülfonamidler, makrolidler, tetrasiklinler linkozamidler ve aminoglikozitler) 21 analit	H <sub>2</sub> O Asitlenmiş MeOH (HCl, 2 mol l-1) Na <sub>4</sub> EDTA PSA	6-9	LC-MS/MS	(El Hawari ve ark. 2016)

\* Karar Limiti: a hata olasılığı ile bir numunenin uygun olmadığı değerlendirilebileceği sınır ve üstü

\*Decision limit: the limit at and above which it can be concluded with an error probability of a that a sample is non-compliant.

Kromatografik teknikler kullanılarak sulfanamidler, tetrasiklinler, makrolidler, kinolonlar, penisilinler vb. gibi bir antibiyotik grubunu tespit etmeye yönelik çok sayıda çoklu kalıntı metodu geliştirilmiştir. Ancak günümüzdeki son çalışmalar farklı gruplardan çok sayıda antibiyotiğin tek bir metotla tespit edildiği çoklu kalıntı metotlarının oluşturulması şeklindedir. Burada amaç mümkün olduğunca pratik ve ekonomik ekstraksiyon ve analitik ayırma yöntemleriyle çok sayıda ilaç kalıntısını aynı anda tespit edebilmektir. Ancak bu metotların resmi kalıntıların kontrolünde kullanılabilmesi için performans ve validasyon şartlarının 2002/657/EC gerekliliklerini sağlıyor olması gerekmektedir.

Çizelge 1’de sıvı kromatografi ve kütle spektrometrisi tekniği kullanılarak, hayvansal gıdalarda çoklu grup (multi-class) ve çoklu kalıntı (multi-residue) antibiyotik analizi olarak optimize edilen ve 2002/657/EC gerekliliklerine göre valide edilen doğrulama metotları yer almaktadır.

Sıvı kromatografi ve kütle spektrometrisi tekniği kullanılarak hayvansal gıdalarda çoklu grup ve çoklu kalıntı antibiyotik analizi olarak optimize edilmiş tarama metotları da kullanılabilir. Tarama metotlarının validasyonunda daha az sayıda çalışma ile 2002/657/EC gereklilikleri sağlanabilmektedir. Ancak tarama metodunda uygun olmayan şüpheli bir sonuç olması durumunda, bu sonuç doğrulayıcı bir yöntemle teyit edilmelidir (Anonim 2002).

Freitas ve ark. (2014) tarafından sığır kasında 7 farklı antibiyotik grubundan (Sülfonamidler, trimetoprim, tetrasiklinler, makrolidler, kinolonlar, penisilinler ve kloramfenikol) 41 tane analitin UHPLC-MS/MS ile tespitine ve miktarlandırılmasına olanak veren tarama metodu geliştirmek için üç farklı organik çözücü (ACN, MeOH ve etil asetat) ile on iki farklı ekstraksiyon prosedürü denenmiş ve yapılan denemeler sonucu 0,1 M EDTA içeren ACN ile ekstrakte etme ve hekzan ile yağ alma aşamalarını içeren prosedür ile en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Geliştirilen metodun validasyon çalışmaları 2002/657/EC gerekliliklerine uygun olarak yapılmıştır.

Peters ve ark. (2009) et, balık ve yumurta olmak üzere üç matrisinde farklı gruplardan yaklaşık 100 veteriner ilacı için HPLC-TOF-MS ile ACN/su (6:4,v/v) ekstraksiyonu ve SPE ile temizleme aşamalarını içeren bir tarama metodu geliştirmiş, yapılan validasyon sonuçları yöntemin çalışılan bileşiklerin ette %90’ından fazlasında, balıkta %80’inden fazlasında ve yumurtada %70’inden fazlasında 2002/657/EC’de belirlenmiş olan tarama metotları için gerekli performans kriterlerini karşıladığını görmüşlerdir.

Dubreil ve ark. (2017) tarafından ette ve su ürünlerinde farklı gruplardan 75 antibiyotik için ekstraksiyonda ACN kullanılarak hızlı, basit bir metot LC-MS/MS’de geliştirmiş ve 2002/657/EC’nin tarama metotları için gereklilerine uygun olarak yapılan validasyon sonucu 73 antibiyotik için gerekli performans değerleri sağlanmıştır.

Jank ve ark. (2017) tarafından LC-MS/MS ve LC-QTOF-MS kullanılarak süt ve ette farklı gruplara ait 46 antibiyotiğin analizi için metot oluşturulmuştur. Yapılan çalışmada örnekler %0,1 formik asit içeren ACN ile ekstrakte edilmiş, temizleme işlemi için C<sub>18</sub> ve -18°C’de dondurma işlemine tabi tutulmuştur. Her iki cihazda da oluşturulan metodun tarama metodu olarak validasyon çalışması gerçekleştirilmiş ve 2002/657/EC gerekliliklerine uygun sonuçlar elde edilmiştir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalara bakıldığında çok daha fazla sayıda bileşeni analiz edebilmeye yönelik olarak antibiyotik kalıntılarının yanında, hormonların, pestisit kalıntılarının, mikotoksinlerin ya da farmasötik maddelerin birlikte tespit edilebildiği metot geliştirmeye yönelik çalışmaların da yapıldığı görülmektedir (Jadhav ve ark. 2019, Xie ve ark. 2015, Nebot ve ark. 2012, Gómez-Pérez ve ark. 2012, Dasenaki ve Thomaidis 2015).

## 5. Sonuç

Hayvansal gıdalar yeterli ve dengeli beslenme söz konusu olduğunda vazgeçilemez konumdadır. Ancak antibiyotikler kontrolsüz koşullarda kullanıldıklarında hayvansal gıdalarda kalıntılara neden olmakta ve halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle gıda güvenliği açısından hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntılarının izlemenin zorunlu olduğu açıktır. Bu izleme Türkiye’de “Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi İçin Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik” şartları doğrultusunda Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yıllık olarak hazırlanan “Ulusal Kalıntı İzleme Planları” ile gerçekleştirilmektedir (Anonim 2011).

Hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntısı tespitine yönelik hızlı, ekonomik, pratik, kolay ve güvenilir çoklu kalıntı analiz yöntemlerinin geliştirilmesi, daha kısa zamanda ve daha az maliyetle çok daha fazla sayıda numunenin analiz edilebilmesine olanak sağlayacaktır. Ayrıca alınacak her bir örnekte çok daha fazla sayıda antibiyotik kalıntısı analiz edilebilecektir. Bu durumun kalıntı izleme çalışmalarının genişletilmesine ve etkinliğinin artırılmasına imkan sağlayacağı düşünülmektedir.

## 6. Kaynaklar

Aarestrup F.M., 2005. Veterinary Drug Usage and Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology 96, 271–281

Addison, J.B., 1984. Antibiotics in Sediments and Run-off Waters from Feedlots. Residue Rev. 92, 1–24.

Adıyaman, E. ve Ayhan, V., 2010. Etlik Piliçlerin Beslenmesinde Aromatik Bitkilerin Kullanımı. Hayvansal Üretim, 51(1)

Anonim, 1996. Council Directive 96/23/EC

Anonim, 2002. Commission Decision 2002/657/EC.

Anonim, 2005. Ban on Antibiotics as Growth Promoters in Animal Feed Enters into Effect. [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP\\_05\\_1687](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP_05_1687) Erişim Tarihi:25.05.2020

Anonim, 2006. Yem Katkıları ve Premikslerin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ (Tebliğ No: 2006/1) (RG:21.01.2006 Sayı:2656

Anonim, 2007. CRL Guidance Paper-2007Crls View On State Of The Art Analytical Methods For National Residue Control Plans. 7/12/2017

Anonim, 2009. Commission Regulation (EC) No 124/2009

Anonim, 2010. Commission Regulation (EU) No 37/2010

Anonim, 2011. Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi için Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik” (RG: 17.12.2011, No.28145)

Anonim, 2015. Türk Gıda Kodeksi Hedef Dışı Yemlere Taşınması Önlenemeyen Koksidiyostatların ve Histomonostatların Hayvansal Gıdalardaki Maksimum Miktarları Hakkında Yönetmelik 8/2/2015 tarih ve 29261 sayılı.

Anonim, 2017a. Antimicrobial Resistance–What You Need to Know <http://www.fao.org/zhc/detail-events/en/c/451065/>. Erişim Tarihi: 02.04.2020.

Anonim, 2017b. Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği. 7/3/2017 tarih ve 30000 sayılı

Anonim, 2018a. Antibiotic Resistance <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> (Erişim Tarihi 05.04.2020)

Anonim, 2018b. Hayvansal Ürünlerde Kütle Spektrometrik Yöntemler ile Veteriner İlaç Kalıntılarının Analizleri için Metot Validasyonu Rehberi

Anonim, 2019. Technical Report for 2018 on the Results from the Monitoring of Veterinary Medicinal Product Residues and other Substances in Live Animals and Animal Products. European Food Safety Authority (EFSA) [https://ec.europa.eu/food/safety/chemical\\_safety/vet\\_med\\_residues\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/vet_med_residues_en) (Erişim Tarihi: 10.05.2020)

Ardıç, M. ve Durmaz H., 2006. Peynirde Starter Kültür Gelişimini Etkileyen Faktörler. Atatürk Univ Vet Bil Derg 2006;1(3-4):69-73.

Aynagöz, Z., 1993. Hormon ve Benzeri Maddelerin Hayvan Beslemede Kullanılması, Doktora Semineri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Bertini, S., Fierrero, S. and Berny, P., 2003. A New Improved High Performance thin Layer Chromatography (HPTLC) Method for Detection of Ionophore Antibiotics in Feed and Animal Tissues. J. Liq. Chrom. Relat. Tech., 26, 147- 156

Beyene, T., 2016. Veterinary Drug Residues in Food-Animal Products: its Risk Factors and potential Effects on Public Health. J Vet Sci Technol 7(1):1–7

Butaye, P., Devriese, L.A. and Haesebrouck, F., 2001. Differences in Antibiotic Resistance Patterns of Enterococcus Faecalis and Enterococcus Faecium Strains Isolated from Farm and pet Animals. Antimicrobial Agents and Chemotherapy,

Cerniglia, C.E. and Kotarski, S., 1999. Evaluation of Veterinary Drug Residues in Food for their Potential to Affect Human Intestinal Microflora. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 29, 238–261.

Chico, J., Rúbies, A., Centrich, F., Companyó, R., Prat, M.D, and Granados M., 2008. High-Throughput Multiclass Method for Antibiotic Residue Analysis by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Journal of Chromatography A, 1213 189–199.

Chung, H.H., Lee J.B., Chung, Y.H. and Lee K.G., 2009. Analysis of Sulfonamide and Quinolone Antibiotic Residues in Korean Milk Using Microbial Assays and High Performance Liquid Chromatography. Food Chem., 113, 297-301.

Cordle, M.K., 1988. USDA Regulation of Residues in Meat and Poultry Products. J. Anim. Sci., 66, 413-433

Dasenaki, M.E. and Thomaidis, N.S., 2015. Multi-Residue Determination of 115 Veterinary Drugs and Pharmaceutical Residues in Milk Powder, Butter, Fish Tissue and Eggs Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. Analytica Chimica Acta 880 103–121.

Dayan, A.D., 1993. Allergy to Antimicrobial Residues in food: Assessment of the Risk to Man. Veterinary Microbiology Volume 35, Issues 3–4, Pages 213-226.

- Dubreil, E., Gautier, S., Fourmond, M.P., Bessiral, M., Gaugain, M., Verdon, E. and Pessel, D., 2017. Validation Approach for a Fast and Simple Targeted Screening Method for 75 Antibiotics in Meat and Aquaculture Products using LC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(4), 453-468
- Duru, M. ve Şahin, A., 2004. Türkiye'de Sağlıklı ve Güvenli Hayvansal Üretim Gerekliliği. *Hayvansal Üretim* 45(1): 36-41.
- El Hawari K., Mokh S., Doumyati S., Al Iskandarani M. and Verdon E., 2016. Development and Validation of a Multiclass Method for the Determination of Antibiotic Residues in honey Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 34(4).
- El-Makawy, A., Radwan, H.A., Ghaly, I.S. and El-Raouf, A.A., 2006. Genotoxic, Teratological and Biochemical Effects of anthelmintic Drug Oxfendazole Maximum Residue Limit (MRL) in Male and Female Mice. *ReprodNutrDev* 46: 139-156
- Ergin Kaya, S. ve Filazi, A., 2010. Determination of Antibiotic Residues in Milk Samples. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 16:31-35.
- Filazi, A., 2012. Hayvansal Gıdalardaki Antibiyotik Kalıntıları ve Risklerinin Değerlendirilmesi
- Freitas, A., Barbosa, J. and Ramos, F., 2014. Multi-Residue and Multi-Class Method for the Determination of Antibiotics in Bovine Muscle by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Meat Science* Volume 98, Issue 1, September 2014, Pages 58-64.
- Furusawa, N., 2001. Transference of Dietary Veterinary Drugs into Eggs. *Vet Res Commun* 25:651-62
- Galarini, R., Saluti, G., Giusepponi, D., Rossi, R. and Moretti, S., 2015. Multiclass Determination of 27 Antibiotics in Honey. *Food Control* Volume 48, Pages 12-24
- Gaudin, V., 2017. Advances in Biosensor Development for the Screening of Antibiotic Residues in Food Products of Animal Origin – A Comprehensive Review. *Biosensors and Bioelectronics* 90, 363–377
- Gómez-Pérez, M.L., Plaza-Bolanos, P., Romero-González, R., Martínez-Vidal, J.L. and Garrido-Frencha, A., 2012. Comprehensive Qualitative and Quantitative Determination of Pesticides and Veterinary Drugs in Honey Using Liquid Chromatography–Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1248 130–138
- Gustavson, E., Bjurling, P., Deglean, J. and Strensjo, A., 2002. Analysis of Lactam Antibiotics Using a Microbial Receptor Protein Based Biosensor Assay. *FoodAgr. Immunol.*, 14, 121-131
- Hammel, Y.A., Mohamed, R., Gremaud, E., LeBreton, M.H. and Guy, P.A., 2008. Multi-Screening Approach to Monitor and Quantify 42 Antibiotic Residues in Honey by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* Volume 1177, Issue 1, 4 January 2008, Pages 58-76
- İpçak, H.H., Özüretmen, S., Özelçam, H. ve Ünlü, H.B., 2017. Hayvan Beslemede Antibiyotiklere Alternatif Olarak Organik Asit, Esansiyel Yağ ve Bakteriyosinlerin Kullanımı. *Hayvansal Üretim*, 58(1), 57-65
- Jadhav, M.R., Pudale, A., Raut, P., Utture, S., Shabeer, T.P.A. and Banerjee, K., 2019. A Unified Approach For High-Throughput Quantitative Analysis of the Residues of Multi-Class Veterinary Drugs and Pesticides in Bovine Milk Using LC-MS/MS and GC–MS/MS. *Food Chemistry* Volume 272, 30 January 2019, Pages 292-305.
- Jank, L., Martins, M.T., Arsand, J.B., Motta, T.M.C., Feijó, T.C., dos Santos Castilhos, T. and Pizzolato, T.M., 2017. Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Multiclass Method for 46 Antibiotics Residues in Milk and Meat: Development and Validation. *Food Analytical Methods*, 10(7), 2152-2164.
- Jiménez, V., Rubies, A., Centrich, F., Companyó, R. And Guiteras J., 2011. Development and Validation of a Multiclass Method for the Analysis of Antibiotic Residues in Eggs by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr A*. 2011 Mar 18;1218(11):1443-51
- Lee, H.J., Lee, M.H. and Ruy, P.D., 2001. Public Health Risks: Chemical and Antibiotic Residues. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 14, 402-413, 2001.
- Lee, J.B., Chung, H.H., Chung, Y.H. and Lee, K.G., 2007. Development of an Analytical Protocol for Detecting Antibiotic Residues in Various Foods. *Food Chem.*, 105, 1726-1731.
- Masiá, A., Suarez-Varela, M.M., Llopis-Gonzalez, A., and Picó, Y., 2016. Determination of Pesticides and Veterinary Drug Residues in Food by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: A Review. *Analytica Chimica Acta*, 936, 40-61.
- Metin, M., 1999. Süt Teknolojisi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları no:33. Bornova, İzmir.
- Moretti, S., Dusi, G., Giusepponi, D., Pellicciotti, S., Rossi, R., Saluti, G., Cruciani, G. and Galarini, R., 2016. Screening and Confirmatory Method for Multiclass Determination of 62 Antibiotics in Meat *Journal of Chromatography A*, 1429, 175–188
- Moretti, S., Saluti, G. and Galarini, R., 2017. Residue Determination in Honey. In: *Honey Analysis*, De Toledo V.A. (eds.), IntechOpen p. 325-365.



- Nebot, C., Iglesias, A., Regal, P., Miranda, J., Cepeda, A. and Fente, C., 2012. Development of a Multi-Class Method for the Identification and Quantification of Residues of Antibiotics, Coccidiostats and Corticosteroids in Milk by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry, *Int. Dairy J.* 22, 78–85
- O'Keefe, M., Conneely, A., Cooper, K.M., Kennedy, D.G., Kovacsics, L., Fodor, A., Mulder, P.P.J., Van Rhijn, J.A. and Trigueros, G., 2004. Nitrofurant Antibiotic Residues in Pork: The FoodBRAND retail Survey. *Analytica Chimica Acta* Volume 520, Issues 1–2, Pages 125-131
- Özcan, T. ve Baysal S., 2016. Vegeteryan Beslenme ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 30, Sayı 2, 101-116
- Parks, O.W., 1989. Liquid Chromatographic Electrochemical Detection Screening Procedure for Six Nitro-Containing Drugs in Chicken Tissues at Low ppm Level. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63, 4-7.
- Pavlov, A., Lashev, L., Vachin, I. and Rusev, V., 2008. Residues of Antimicrobial Drugs in Chicken Meat and Offals. *Trakia J. Sci.*, 6, 23-25.
- Peters, R.J.B., Bolck, Y.J.C., Rutgers, P., Stolker, A.A.M. and Nielen, M.W.F., 2009. Multi-residue Screening of Veterinary Drugs in Egg, Fish and Meat Using High-Resolution Liquid Chromatography Accurate Mass Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(46), 8206-8216.
- Pikkemaat, M.G., 2009. Microbial Screening Methods for Detection of Antibiotic Residues in Slaughter Animals. *Anal Bioanal Chem* 395:893–905 DOI 10.1007/s00216-009-2841-6
- Ritchie H., 2017. <https://ourworldindata.org/antibiotic-resistance-from-livestock> How Do We Reduce Antibiotic Resistance from Livestock? (Erişim Tarihi 05.04.2020)
- Saygı, Ş., Battal, D. ve Şahin N.Ö., 2012. Çevre ve İnsan Sağlığı Yönünden İlaç Atıklarının Önemi, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 82-90.
- Taçbaşı, E. ve Baydan, E., 2018. Organik Hayvan Yetiştiriciliğinde Hastalıkların Sağaltımında Kullanılabilecek Maddeler. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 58 (2) 117-122
- Tittlemier, S.A., Riet, J.V.D., Burns, G., Potter, R., Murphy, C., Rourke, W., Pearce, H. and Dufresne, G., 2007. Analysis of Veterinary Drug Residues in Fish and Shrimp Composites Collected During the Canadian Total Diet Study, 1993-2004. *Food Addit. Cont.*, 24, 14-20.
- Tuncer, H.İ., 2007. Karma Yemlerde Kullanımı Yasaklanan Hormon, Antibiyotik, Antikoksidiyal ve İlaçlar. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 47 (1) 29-37.
- Van Boeckel, T.P., Glennon, E.E., Chen, D., Gilbert, M., Robinson, T. P., Grenfell, B.T., Levin S.A., Bonhoeffer, S. and Laxminarayan, R., 2017. Reducing Antimicrobial Use in Food Animals. *Science*, 357(6358), 1350-1352
- Vollard, E.J., and Clasener, H.A.L., 1994. Colonization Resistance. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 38, 409–414.
- Wegener, H.C., Aarestrup F.M., Lars Bogø Jensen, L.B., Hammerum, A.M. and Bager, F., 1999. Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and Enterococcus faecium Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe *Emerg Infect Dis.* May-Jun;5(3):329-35
- Xie, J., Peng, T., Zhu, A., He, J., Chang, Q., Hu, X., Chen, H., Fan, C., Jiang, W., Chen, M., Li, J., Ding, S. and Jiang, H., 2015. Multi-Residue Analysis of Veterinary Drugs, Pesticides and Mycotoxins in Dairy Products by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry using Low-Temperature Cleanup and Solid Phase Extraction. *Journal of Chromatography B* Volume 1002, Pages 19-29.



## Derleme / Review

# Karabuğday'ın (*Fagopyrum esculentum* Moench) Önemi ve Kullanım Alanları The Importance and Usage Areas of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)

Remziye ALKAY<sup>1\*</sup>, Kağan KÖKTEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ziraat Yük. Müh., Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, BİNGÖL, TÜRKİYE - ORCID ID: 0000-0002-0714-7633

<sup>2</sup> Prof. Dr., Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, BİNGÖL, TÜRKİYE - ORCID ID: 0000-0001-5403-5629

\*: Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author; remziyealkay21@hotmail.com

Geliş Tarihi : 06.06.2020

Kabul Tarihi : 12.08.2020

## Öz

**Amaç:** Karabuğday (*Fagopyrum esculentum*), hızla artan dünya nüfusunun ve hayvan varlığının beslenme ihtiyacını karşılamasının yanı sıra sanayi üretiminde de önem arz etmektedir. Gluten içermeyen taneleri, çölyak hastalarının (gluten alerjisi) tedavisinde olumlu etkiler sağlamaktadır. Karabuğday tohumları, kümes hayvanları tarafından; sap, samanı ve silajı geviş getirenler tarafından iştahla tüketilmektedir. Yapısında yüksek oranda protein, vitamin, fenolik bileşikler, antioksidanlar, mineraller, doymamış yağlar bulunur ve tıbbi alanların kullanımında önemli bir yere sahiptir. Karabuğday; toprağı, organik madde bakımından zenginleştirmek, fiziksel yapısını düzeltmek, toprak nemini korumak, yeşil gübre ve erozyon kontrolünde kullanılabilir ender bitkilerden biridir.

**Anahtar kelimeler:** Karabuğday, Gıda, Alerjik Reaksiyonlar, Fenolik Bileşikler, Silaj.

## Abstract

**Objective:** Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) not only meets the nutritional needs of the rapidly increasing world population and animal assets, it is also important in industrial production. Gluten free grains provide positive effects in the treatment of celiac patients (gluten allergy). Seeds of buckwheat are consumed by poultry; while straw and silage of it are consumed with appetite by ruminants. It contains high levels of protein, vitamins, phenolic compounds, antioxidants, minerals, unsaturated fats and has an important place in the use of medical fields. Buckwheat is one of the rare plants that can be used in enriching the soil in terms of organic matter, improving its physical structure, protecting excess soil moisture, as a green fertilizer, and in erosion control.

**Keywords:** Buckwheat, Food, Allergic Reactions, Phenolic Compounds, Silage.

## 1.Giriş

Karabuğday, dünyanın pek çok ülkesinde yetiştirilen ve uluslararası ticaretteki önemi gittikçe artan tahıl benzeri (pseudocereal) bir bitkidir (Yıldız ve Yalçın 2013). Polygonaceae familyasına ait *Fagopyrum* cinsi; Yaygın karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) ve Tatar karabuğdayı (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) olmak üzere iki önemli türü bulunmaktadır (Ekici ve ark. 2019). Ekonomik değeri yüksek olan ve aynı zamanda tüketimi her geçen gün artan çok yönlü kullanım alanına sahip bitkilerden biridir (Kan 2011). Gluten içermeyen karabuğday taneleri, çölyak hastalığı tedavisinde önemli yer edinmektedir. Ayrıca kümes hayvanlarının beslenmesinde sadece taneler yem olarak kullanılırken, sığır beslenmesinde hem taneler hem de

yeşil ve kuru ot olarak tüketilmektedir (Tahir ve Farooq 1988, Wijngaard ve Arendt 2006).

Karabuğday kısa büyüme periyoduna sahiptir ve coğrafi olarak birçok yerde yetiştirilebilir (Yavuz ve Kara 2018). Ekimden itibaren 3-5 gün içerisinde çimlenip, çıkış yapan karabuğday bitkisi; gelişme periyodunun kısa olması (10-12 hafta) ve gelişme döneminde sıcaklık isteğinin yüksek olmamasından dolayı yüksek rakımlarda da yetişebilmektedir. Hem ilkbahar hem de sonbahar aylarındaki soğuklar (<5°C) ve don olayı bitkide ani ölüme neden olmaktadır. Ayrıca çiçeklenme dönemindeki yüksek sıcaklık ve kuru hava çiçeklenmeyi olumsuz etkileyerek tohum oluşumunu engellemektedir. Minimum çimlenme sıcaklığı 7°C'nin üstünde

olmalıdır, ayrıca 40°C'ye kadar sıcaklıklarda çimlenme görülmektedir. Karabuğday tohumları birkaç yıl canlılığını sürdürmektedir ve bitkisel üretim için bir yıldan daha eski tohumlar kullanılmamalıdır (Yavuz ve ark. 2016). 2-5 cm arasında değişen geniş yapraklı ve 60-150 cm yüksekliğe ulaşan etli bir gövdeye sahip serin iklimden hoşlanan tek yıllık bir bitkidir. İnfertil ve

asidik topraklar (pH 4-6) dahil olmak üzere çok çeşitli toprak türlerinde yetişen yoğun lifli bir kök sistemine sahiptir (Valenzuela ve Smith 2002). Bal arılarının nektar toplaması için kırmızı, pembe veya beyaz renkli, kokulu, cazip çiçeklere sahiptir. Karabuğday bitkisinden üretilen koyu renkli bal, güçlü bir tat ihtiva eder (Dizlek ve ark. 2009).



Şekil 1. Karabuğday tohumları (Alkay 2019)

Karabuğday tür ve çeşidine göre tohum rengi, şekli, büyüklüğü bakımından farklılık göstermektedir. Tohum şekli, 3 kenarlı keskin hatları olan üçgen biçimindedir. Tohum kabuğu ise parlak, siyah, mat kahverengi veya gri rengini alabilir. Kabuğu alınmış karabuğday tanesine “groat” denilmektedir (Dizlek ve ark. 2009). Hayvansal proteinlere alternatif bir kaynak olarak öne sürülen tahıl taneleri, hem ucuz, hem de uzun süre depolanabilir özelliindedir (Kılınçer ve Demir 2019).

## 2. Karabuğday Kökeni

Karabuğday, M.Ö. 1000'li yıllardan beri Çin'in Tibet Özerk Bölgesinde diğer mahsullerin yetiştirilmediği eğimli ve verimsiz arazilerde yetiştirilen Asya kökenli bir bitkidir (Li ve Zang 2001, Scheucher 2004). Himalaya bölgesinde özellikle yüksek rakımlarda (ortalama deniz seviyesinden 1600-4000 m yüksek) yetiştirilen Hindistan'ın eski bir ürünüdür (Gupta ve ark. 2004, Dutta 2004). Karabuğday, son zamanlarda Çekoslovakya, Avusturya, İsviçre, İtalya, Fransa, İngiltere ve Avustralya gibi ülkelerde yetiştirilmektedir. Ayrıca Japonya, Rusya, Ukrayna, Çin, Kore, Nepal, Hindistan, Pakistan, Afganistan, İran, Macaristan, Polonya, Yugoslavya, Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri'nde de üretimi yapılmaktadır (Gang ve ark. 2004). Yaygın

karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) tarım bitkileri arasında önemli bir yere sahiptir. Rusya'da 1901'den 1909 yılına kadar ilk tanınan karabuğday bitkisi Bogatyr çeşididir. Japon çeşitlerinden Hashigamiwase 1919'da, Botan Soba ise 1930'da piyasaya sürülmüştür (Irina Vyacheslavovna ve Efimovna. 2004, Campbell 2004). Dünya çapında yaygın olarak yetiştirilen karabuğday bitkisi, daha çok kuzey yarımkürede yoğunlaşmıştır. Kabuğu çıkarılmış karabuğday taneleri Slovenya, Polonya, Ukrayna ve Rusya'da çok yaygındır (Skrabanja ve ark. 2001).

### 2.1. Karabuğday Yapısında Bulunan Kimyasal Bileşenler

Karabuğdayın temel bileşimi; amino asitler, mineraller, vitaminler, yağ asitleri, fenolik maddeler ve antioksidanlar gibi ürünlerin kalitesini gösteren besin maddelerinden oluşmaktadır (Petr ve ark. 2004). Sağlık ve besin değeri bakımından alternatif diyet ürünleri arasında yer alır (Crista ve Soral-Smietana 2008) ve genellikle pirinç, sorgum, mısır, buğday ve diğer tahıllardan daha zengin mineral içeriğine sahiptir (Wijngaard ve Arendt 2006). Demir içeriği yönünden karabuğday, tüm tahıl ve baklagil bitkileri arasında en yüksek olanıdır ve bu da onu ideal bir gıda haline getirmektedir (Wang ve ark. 1995).

Karabuğday bitkisi, çoğunlukla flavonoidler ve antosiyaninler (rutin, quercetin, quercytinglucosegalaktosid, siyanür- glukozit, fenolkarbolaktitler) içermektedir. Flavonoidlerin değeri, çiçeklenme başlangıcında düşer. Ayrıca flavonoidler, tokoferol ve fenolik bileşenler gibi antioksidanları içeren karabuğday bitkisinin; tüketildikten sonra kalın bağırsaktaki Laktobasillerin ve *Bifidobacteria* aktivite gelişimini teşvik ettiği öne sürülmektedir (Irinavyacheslavovna ve ark. 2004, Fessas ve ark. 2008). Antioksidan maddeler; çoklu doymamış yağ asitlerini içeren karabuğdayı, oksidatif bozulmalara karşı korumaktadır (Watanabe ve ark. 1997). Karabuğday da bulunan oleik ve linoleik doymamış yağ asitleri, vitamin B<sub>1</sub>, vitamin B<sub>2</sub>, vitamin B<sub>6</sub> ve vitamin P içeriği oldukça yüksektir. Karabuğday tohumundaki toplam lipit miktarı, kuru madde üzerinden %2,48'dir (Gang ve ark. 2004, Schoenlechner ve ark. 2008). Proteinlerin besleyici kalitesini, düşük prolamin içeriği belirler. Karabuğday proteinleri, ekmeklik buğday proteinleri ile kıyaslandığında; glutamin ve prolamin amino asit oranının az, diğer amino asitlerin ise yüksek ya da benzer miktarda olduğu belirtilmektedir. Özellikle sınırlı miktarda bulunan lizin amino asidi ekmeklik buğday ununa göre 2,5 kat daha fazladır (Petr ve ark. 2004, Schoenlechner ve ark. 2008). Kabuğu çıkarılmış karabuğday tanesi, besin değeri ve dengeli sindirilebilir protein değeri bakımından farklılık gösterir (Anohina ve Luzhinskaya 2004).

Karabuğdayın endosperm kısmında düşük miktarda bulunan polifenoller, genellikle kepek kısmında yoğunlaşmıştır. Kepekte yüksek oranda tanen (sıvılaşmamış tanen 0,4 g/100 g ve sıvı tanen 1,7 g/100 g) bulunur (Yıldız ve Yalçın 2013). Kabuğu alınmış karabuğday tanesinde 1,64 mg/100 g Mn, 267 mg/100 g Mg, 2,92 mg/100 g Zn, 490 mg/100 g P, 3,03 mg/100 g Fe, 565 mg/100 K, 19,7 mg/ 100 g Ca bulunmaktadır (Steadman ve ark. 2001).

## 2.2. Karabuğdayın Kullanım Yerleri

### 2.2.1. Gıda Olarak Kullanımı

Karabuğday bitkisi, şarap, alkol, sirke, çay üretiminde önemli yere sahiptir (Gang ve ark. 2004). Dünyada; ekmek, erişte, makarna, kek, bisküvi, krep, pankek, kahvaltılık tahıl, dondurma külahlarında kullanılmaktadır (Atalay ve ark. 2013). Çimlenmiş tane olarak en fazla; brokoli, yonca, soya, bezelye, nohut, fasulye, buğday arpa, yulaf, karabuğday, çeltik ve lupin tüketilmektedir (Kılınçer ve Demir 2019). Karabuğday, kanser ile mücadele ilaçlarında, keton sıva, merhem, kapsül, diş macunu ve sakız üretiminde kullanılmaktadır (Gang ve ark. 2004). Kabuğu çıkarılmış karabuğday taneleri pilav ve sulu yemek çeşitlerinde kullanılmaktadır (Campbell 1997).

Kabuğu çıkarılmış karabuğday tanesinde toplam besinsel lif miktarında farklılıklar gözlenmektedir. Öğütülmüş karabuğday tanesinin kepek fonksiyonu

besinsel lif miktarı (%13-16) yüksek seviyedeysen, karabuğday unundaki lif miktarı (%1,7-8,5) düşük seviyededir (Steadman ve ark. 2001). Glutensiz diyetlerin başında karabuğday unu gelmektedir (Winjgaard ve Arent 2006). %25 oranında kullanılan karabuğday ununda, vital gluten, peynir altı suyunun katılması ile kaliteli ekmeklerin ortaya çıkacağı belirtilmiştir (Haber 1980). %15, 30 ve 45 oranlarında hazırlanan karabuğday ununa, buğday unu ilave edilerek örnek ekmekler hazırlanmıştır. %30 oranında karabuğday unu ile hazırlanan ekmeklerin lezzet ve renk açısından en iyi olduğu vurgulanmıştır (Choi ve Chung 2007). Karabuğday içermeyen bisküvilerin rengi açık sarıdır ve kekler gevreklerdir. %25 oranında karabuğday içeren bisküvilerin rengi; açık yeşil, berrak, gevrek ve kekler biraz acı ama iştah açıcıdır. %50 oranında karabuğday bisküvisi sarı ve yeşil, gevrek, acı ve kekler biraz kabarık. %75 oranındaki karabuğday bisküvi sarı, yeşil ve acı, %100 karabuğday bisküvi ise koyu yeşil, sert, çok acı kabarık değildir (Rufeng ve ark. 1995).

### 2.2.2. Yeşil Gübre Olarak Kullanımı

Mineral gübrelerin kullanımını azaltmak için yeşil gübrelerin alternatif olarak kullanılması iyi bir tarımsal uygulama olarak kabul edilir. Bununla birlikte, her yeşil gübrenin toprak özellikleri ve mahsul verimi üzerindeki etkisi, kimyasal bileşimine bağlıdır. Tüm yeşil gübreler, toprağın biyolojik özellikleri, bitki beslenmesi ve mahsul verim parametreleri üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Topraklara uygulanan yeşil gübrelerin farklı kimyasal bileşiminin ve toprak C/N oranı ile kontrol edilen mineralizasyonunun bir sonucu olabilir (Tejada ve ark. 2008).

Tahıl ürünü olan karabuğday, yeşil gübre veya işlevsel düzenleyici bitki olarak kullanılabilir. Ayrıca karabuğday bitkisi genellikle yabancı otları bastırmak için de toprağa ekilmektedir. Bu nedenle ekolojik tarım bünyelerinde sık görülen münavebe ürünü olarak yer almaktadır (Edwardson 1996, Kalinova 2007).

### 2.2.3. Silaj Olarak Kullanımı

Karabuğday'ın; güçlü köklenme ve yoğun çiçeklenme özelliğiyle mahsul rotasyonlarında ve genel tarımsal ekolojide yüksek değere sahip olduğu belirtilmektedir. Karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench); in vitro ruminal fermantasyon ve süt ineklerinin performansı üzerine etkilerini saptamak amacıyla yapılan araştırma sonucunda; karabuğday yemlerinin, in vitro ruminal bozunabilirlik ve kısa zincirli yağ asidi konsantrasyonları bileşimi üzerinde etkisi olmadığı saptanmıştır. Taze karabuğday kullanımı, ruminal amonyak konsantrasyonlarını azaltmakta ve tahmini mikrobiyal büyüme verimliliğini artırmaktadır. Karabuğday, bol kaliteye sahip olması nedeniyle ruminant hayvanların beslenmesinde uygun olduğu belirtilmiştir (Amelchanka ve ark. 2010).

Karabuğday ve hindiba içeren silajın, çavdar silajından daha düşük bir besleme değerine sahip olmasına rağmen, süt ineklerinin yem beslenmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Kalber ve ark. 2012). Taze karabuğday ve hindiba (*Cichorium intybus*) süt ineklerine yem olarak verildiğinde, süt kalitesi özelliklerini iyileştirme potansiyeline sahip olduğu vurgulanmıştır. Karabuğday silajının, yoğunlaştırılmış tanenler bakımından zengin olduğu belirtilmiştir. Özellikle karabuğday silajının, yağ asitlerinin yemden süte transferini değiştirmesi ve peynir yapım özelliklerine katkıda bulunması için belirli bir potansiyele sahip olduğu saptanmıştır (Kalber ve ark. 2013).

Yapılan bir çalışmada; kuzuların beslenmesine dahil edilen karabuğday silajı ile mısır silajının et kalitesi üzerine etkisi kıyaslanmıştır. Karabuğday silajının; besin içeriği, lezzetliliği ve sindirilebilirliği orta derecede olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca performans ve et kalitesi üzerine etkisi olumsuz olmadığı belirtilmiştir. Karabuğday silajının ruminant diyetine dahil edilmesi, etin biyoaktif fenolik bileşik içeriğini artırdığı vurgulanmıştır. Karabuğday silajının; performans, karkas ve et kalitesi üzerinde olumsuz etki oluşturmadığı saptanmıştır (Keleş ve ark. 2018).

#### 2.2.4. Karabuğdayın Yabancı Otlarla Mücadelesi

Karabuğday, kısa büyüme vejetasyonuna sahip ve birçok yabancı otlarla rekabet etme yeteneğine sahiptir. Toprak verimliliği için etkili bir örtü görevi gören karabuğday, böceklerin ve hastalıkların verdiği

hasara karşı direnç göstermektedir (Björkman ve Shail 2013). Karabuğday, hızlı büyüyen yapısı ile yabancı otların bastırılmasında faydalıdır. Topraktaki nemi ve besin maddelerini korumak için yabancı otları boğar. Karabuğday artıklarının ot çimlenmesi üzerinde allelopatik bir etkisi vardır. Allelopati; karabuğdayın, diğer bitkilerin büyümesini bastıran bileşikler içerdiği anlamına gelmektedir (Valenzuela ve Smith 2002).

#### 3. Sonuç

Kısa vejetasyon süresine sahip ve su tüketimi düşük olan Orta Asya kökenli karabuğday üretimi, dünyada geniş bir alana sahiptir. Ülkemizde üretimi arttırılırsa, sanayi açısından getirisi yüksek olan, ucuz ham madde ürünü olarak alternatif bitkiler arasında yer alacaktır. Tanelerinde glutenin bulunmaması, çölyak hastalarının beslenmesinde önemlilik arz etmektedir. Karabuğday taneleri hem kümes hayvanları hem de geviş getiren hayvanlar tarafından da iştahla tüketilmektedir. Ayrıca karabuğday bitkisinin sap, saman ve silajı, geviş getiren hayvanlar için önemli bir besin kaynağıdır. Hasat sonuna kadar açılan kokulu ve cezbedici renkli çiçekleri, bal arılarının ziyaret kaynağı olmaktadır. Son derece değerli, yüksek verimli ve kendine özgü bir tada sahip olan karabuğday balı nadir bulunmaktadır. Yabancı otları bastırması ve her yöne dağılan yan kökleri ile iyi bir toprak düzenleyicidir.

#### 4. Kaynaklar

Alkay, R., 2019. Bingöl Koşullarında Karabuğday için Uygun Ekim Zamanının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Bingöl Üniversitesi, s. 1-65, Bingöl.

Amelchanka, S.L., Kreuzer, M. and Leiber, F., 2010. Utility of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) as Feed: Effects of Forage and Grain on in vitro Ruminant Fermentation and Performance of Dairy Cows. *Animal Feed Science and Technology*, 155(2-4): 111-121.

Anohina, T.A. and Luzhinskaya, N.A., 2004. About Attributes Linking Described Crop Capacity and Buckwheat Plant Habitus. *Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat*, p: 313-316.

Atalay, M.H., Bilgiçli, N., Elgün A. and Demir, M.K., 2013. Effects of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Milling Products, Ransglutaminase and Sodium Stearoyl-2-Lactylate on Bread Properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(1): 1-9.

Björkman, T. and Shail, J.W., 2013. Using a Buckwheat Cover Crop for Maximum Weed Suppression after Early Vegetables. *American Society for Horticultural Technology*, 23(5): 575-580.

Campbell, C.G., 1997. Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops*. 19. International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy.

Campbell, C.G., 2004. Present State and Future Prospects for Buckwheat. *Proceeding of the 9th International Symposium on Buckwheat*, pp: 26-29.

Choi, S.N. and Chung, N.Y., 2007. The Quality Characteristics of Bread with Added Buckwheat Powder. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 23(5): 664-670.

Christa, K. and Soral-Smietana, M., 2008. Buckwheat Grains and Buckwheat Products—Nutritional and Prophylactic Value of Their Components—a Review. *Czech Journal of Food Science*, 26(3): 153-162.

- Dizlek, H., Özer, M.S., İnanç, E. ve Gül, H., 2009. Karabuğday'ın (*Fagopyrum esculentum* Moench) Bileşimi ve Gıda Sanayiinde Kullanım Olanakları. *The Journal of Food Science*, 34(5): 317-324.
- Dutta, M., 2004. Buckwheat Improvement in India: Current Status and Future Prospects. *Advances in Buckwheat Research. Proceeding of the 9th International Symposium on Buckwheat*, pp: 302-312.
- Edwardson, S. 1996. Buckwheat: Pseudocereal and Nutraceutical. p. 195-207. In: J. Janick (ed.), *Progress in New Crops*. ASHS Press, Alexandria, VA.
- Ekici, L., İnanır, C. ve Albayrak, S., 2019. Karabuğdayın Fitokimyası, Farmakolojisi ve Biyofonksiyonel Özellikleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16: 713-722.
- Fessas, D., Signorelli, M., Pagani, A., Mariotti, M., Iametti, S. and Schiraldi, A., 2008. Guidelines for Buckwheat Enriched Bread: Thermal Analysis Approach. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 91(1): 9-16.
- Gang, Z., Yu, T., Anhu, W. and Zhu, H., 2004. China's Buckwheat Resources and Their Medicinal Values. *Proceeding of the 9th International Symposium on Buckwheat*, pp: 630-632.
- Gupta, A., Gupta, H.S., Chaudhri, B. and Singh, D.D., 2004. Increasing Production and Productivity of Buckwheat in Uttaranchal. *Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat*, pp: 484-495
- Haber, T., 1980. *Anwendungsversuche von Buchweizenmehl für die Anreicherung von Brot*. *Przegl. Piekarski i Cukiern*, 28(6): 113-117.
- Irinavyacheslavovna, G. and Efimovna, P.N., 2004. Comparative Characteristic of Buckwheat Genotype on Ontogenesis Flavonols Accumulation. *Proceeding of the 9th International Symposium on Buckwheat*, pp: 710-713.
- Kalber, T., Kreuzer, M. and Leiber, F., 2012. Silages Containing Buckwheat and Chicory: Quality, Digestibility and Nitrogen Utilisation by Lactating Cows. *Archives of Animal Nutrition*, 66(1): 50-65.
- Kalber, T., Kreuzer, M. and Leiber, F., 2013. Effect of Feeding Buckwheat and Chicory Silages on Fatty Acid Profile and Cheese-Making Properties of Milk From Dairy Cows. *Journal of dairy research*, 80(1): 81-88.
- Kalinova, J., 2007. Allelopathic Effect of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). In *Proceedings of the 10th International Symposium on Buckwheat*, Yangling, Shaanxi, China pp. 233-237.
- Kan, A., 2011. Konya Ekolojik Koşullarında Yetiştirilen Karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench) Bazı Kalite Özelliklerinin Araştırılması. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(4): 67-71.
- Keleş, G., Kocaman, V., Üstündağ, A.O., Zungur, A. and Özdoğan, M., 2018. Growth Rate, Carcass Characteristics and Meat Quality of Growing Lambs Fed Buckwheat or Maize Silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(4): 522.
- Kılınçer, F.N. ve Demir, M.K., 2019. Çimlendirilmiş Bazı Tahıl ve Baklagillerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri. *Gıda/The Journal of Food*, 44(3).
- Li, S.Q. and Zhang, Q.H., 2001. Advances in the Development of Functional Foods from Buckwheat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(6): 451-464.
- Petr, J., Kalinova, J., Moudry, J. and Michalova, A., 2004. Historical and Current Status of Buckwheat Culture and Use in the Czech Republic. *Proceeding of the 9th International Symposium on Buckwheat*, pp: 30-34.
- Rufeng, N., Enqi, L., Chuangji, C. and Jiangping, Z., 1995. A Study of the Production of Healthy Biscuit Made With Tartary Buckwheat Grown in North China. *Current Advances in Buckwheat*, pp: 861-865.
- Scheucher, S., 2004. Buckwheat in Tibet (TAR). *Proceeding of the 9th International Symposium on Buckwheat*, pp: 295-298.
- Schoenlechner, R., Siebenhandl, S. and Berghofer, E., 2008. Pseudocereals in Gluten-Free Cereal Products and Beverages. *Academic Press*, pp. 149-VI.
- Skrabanja, V., Liljeberg Elmstahl, H.G., Kreft, I. and Björck, I.M., 2001. Nutritional Properties of Starch in Buckwheat Products: Studies in vitro and in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1): 490-496.
- Steadman, K.J., Burgoon, M.S., Lewis, B.A., Edwardson, S.E. and Obendorf, R.L., 2001. Buckwheat Seed Milling Fractions: Description, Macronutrient Composition and Dietary Fibre. *Journal of Cereal Science*, 33(3): 271-278.
- Steadman, K.J., Burgoon, M.S., Lewis, B.A., Edwardson, S.E. and Obendorf, R.L., 2001. Minerals, Phytic Acid, Tannin and Rutin in Buckwheat Seed Milling Fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(11): 1094-1100.
- Tahir, I. and Farooq, S., 1988. Review Article on Buckwheat. *Fagopyrum*, 8: 33-35.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L., Garcia-Martinez, A. M. and Parrado, J., 2008. Effects of Different Green Manures on Soil Biological Properties and Maize Yield. *Bioresource Technology*, 99(6): 1758-1767.

Valenzuela, H. and Smith, J., 2002. Buckwheat. Sustainable Agriculture Green Manure Crops.

Wang, L., Fan, M.Y. and Wang, D., 1995. The Mineral Element Contents in Chinese Buckwheat. Current Advances in Buckwheat Research. Eds. T. Matano and A. Ujihara, Shinshu University, Nagano, Japan, Vol: 765-771.

Watanabe, M., Ohshita, Y. and Tsushida, T., 1997. Antioxidant Compounds From Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Hulls. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(4): 1039-1044.

Wijngaard, H. and Arendt, E.K., 2006. Buckwheat. Cereal Chemistry, 83(4): 391-401.

Yavuz, H., Yiğit, A. ve Erenkul, O., 2016. Farklı Ekim Sıklıklarının Karabuğday'da (*Fagopyrum esculentum* Moench.) Verim ve Bazı Tane Kalitesi Özelliklerine Etkisi. Journal of Adnan Menderes University, Agricultural Faculty, 13(2).

Yavuz, M. and Kara, B., 2018. Comparison of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Silage and hay. ISNOS-MED.

Yıldız, N. and Yalçın, E. 2013. Karabuğdayın (Buckwheat) Kimyasal, Besinsel ve Teknolojik Özellikleri. Gıda, 38(6): 383-390.



Özgün Araştırma / Original Article

**Mavi-Yeşil Alg *Spirulina platensis*'in Buğday Ekmeğinde  
Kimyasal, Duyusal ve Antifungal Etkisi**

**Chemical, Sensory and Antifungal Effect of the Blue-Green Algae  
*Spirulina platensis* on the Wheat Bread**

Elif İLHAN<sup>1\*</sup>, Ayşe Nur BÜYÜKİZGİ<sup>2</sup>, Ertan ERMİŞ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İSTANBUL, TÜRKİYE  
ORCID ID 0000-0001-7502-5884

<sup>2</sup> İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İSTANBUL, TÜRKİYE  
ORCID ID 0000-0003-2119-7116

<sup>3</sup> Dr. Öğr. Üyesi; İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İSTANBUL, TÜRKİYE  
ORCID ID 0000-0002-1461-7357

\*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author; elifhn34@gmail.com

Geliş Tarihi : 10.03.2020

Kabul Tarihi : 23.07.2020

**Öz**

**Amaç:** Bu çalışmada *Spirulina platensis* tozunun ekmekte kullanım potansiyeli araştırılmıştır.

**Materyal ve Yöntem:** Ekmek hamuruna değişen oranlarda (%0,1-0,5-1,0-3,0 ağırlıkça) *Spirulina platensis* tozu ilave edilerek elde edilen ekmeklerde çeşitli kimyasal, fizikokimyasal, duyusal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

**Bulgular ve Sonuç:** Duyusal analiz sonuçlarına göre %0,1 *Spirulina platensis* tozu katkılı ekmeğin kabul edilebilirliği daha yüksek bulunmuştur. *Spirulina platensis* tozu katkılı ekmek örneklerinde protein ve toplam fenolik madde miktarı ilave edilen *Spirulina platensis* tozu miktarı ile orantılı olarak artmıştır. Kontrol örneği ve değişen miktarlarda *Spirulina platensis* tozu katkılı ekmeğin protein miktarları %7,54-9,97 aralığında bulunmuştur. Ekmek örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarının 118,22-167,61 mmol GAE/g aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, ekmek formülasyonlarına değişen oranlarda ilave edilen *Spirulina platensis* tozunun küf gelişimini %29,17-50,52 oranlarında inhibe ettiği tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Spirulina platensis*, Ekmek, Antifungal Etki, Toplam Fenolik Madde

**Abstract**

**Objective:** In this study, the usage potential of *Spirulina platensis* powder in bread was investigated.

**Materials and Methods:** Various chemical, physicochemical, sensory and microbiological analyzes were carried out on bread obtained by adding *Spirulina platensis* powder in varying proportions (%0,1-0,5-1,0-3,0 by weight) to the dough.

**Result and Conclusion:** According to sensory analysis results, bread added 0,1% *Spirulina platensis* powder was found to be more acceptable. The amount of protein and total phenolic substance in bread samples with *Spirulina platensis* powder increased in proportion with the additional amounts of *Spirulina platensis* powder. The protein content of the control sample and breads with changing amounts of *Spirulina platensis* powder ranged from 7,54-9,97%. It has been determined that total phenolic amount of bread samples varies to bread formulations in varying proportions has been found to inhibit mold growth by 29,17-50,52%.

**Keywords:** *Spirulina platensis*, Bread, Antifungal Effect, Total Phenolic Substance



## 1.Giriş

Gün geçtikçe tüketicilerin sağlıklı bir yaşam sürmek için besleyici değeri yüksek ve fonksiyonel özellikte olan (zenginleştirilmiş) gıdalara olan talebi artmaktadır. Protein, insanların büyümesi, gelişmesi açısından çok önemlidir. Özellikle gelişmemiş olan ülkelerde protein eksikliği ve yetersiz beslenmeye dayalı çeşitli sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle gıdaların besleyici değerini artıran katkı maddelerinin (özellikle protein içeriği yüksek) kullanılması üzerine çalışmalara ihtiyaç vardır. Ülkemizde ekmek tüketimi kişi başına yıllık 121 kg'dır. Ekmek, karbonhidratça zengin olup protein içeriğinin büyük bir kısmı glüten yapısındadır. Ekmeğin ekonomik olması, doyurucu olması, kolay temin edilebilmesi ve lezzetinin de güzel olmasından dolayı sıklıkla tüketilen bir üründür. Ancak ekmeğin raf ömrünün kısa olması (küflenme ve bayatlama nedeni ile) %4,9 oranında israf edilmesine neden olmaktadır (Anonim 2018).

Ekmek eski çağlardan bu yana insanların çok fazla tükettiği ve temel besin maddelerini içeren bir üründür. Ekmek, buğday ununa; su, tuz ve maya (*Saccharomyces cerevisiae*) ilave edilip tekniğine uygun olarak; yoğrulması, şekillendirilmesi, fermantasyona bırakılması ve pişirilmesi ile yapılan üründür (Şen 2013). Ekmeğin karbonhidrat içeriğinin diğer bileşenlere göre daha fazla olması, tüketimine

bağlı olarak fazla kilo alımı ve obeziteye neden olabilmektedir. Ekmek hamuru yapısından dolayı çeşitli katkılar (tahıl, bakliyat, bitki ekstraktları vb.) katılarak zenginleştirilebilir özelliktedir (Anonim 2012).

*Spirulina platensis* yüksek protein içeriği ve vitamin, mineral gibi değerli bileşenleri içeren bir mikroalgdir (Vonshak ve Richmond 1988). *Spirulina*'nın yüksek protein, vitamin, mineral, yağ asitleri içermesi, uygun koşullar sağlandığında her yerde yetişebilen bir alg türü olması ve gıdalarda kullanıma uygun olması gıdalarda katkı maddesi olarak kullanımını uygun kılmaktadır (Duru 2014).

Bu çalışmada, özellikle ülkemizde severek tüketilen ekmek ürününe *Spirulina platensis* tozu ilave edilmesinin ekmeğin bazı özelliklerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu şekilde *Spirulina* tozunun ekmeklerde kullanılması ile ekmeklerin hem besleyici değerinin artırılması hem de bazı fonksiyonel özelliklerinin zenginleştirilmesi düşünülmüştür.

## 2.Materyal ve Yöntem

Ekmek yapımında *Spirulina platensis* tozu internet ortamında satış yapan bir firmadan temin edilmiştir (Şekil 1). Un, yaş maya ve tuz bölgesel bir marketten temin edilmiştir.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan *Spirulina platensis* tozu

## Ekmeğin üretimi

Ekmeğin formülasyonuna un esasına göre değişen oranlarda ağırlıkça (%0,1, 0,5, 1,0, 3,0) *Spirulina platensis* tozu eklenmiştir. Ekmeğin formülasyonu; un esasına göre %60 su (hacim/ağırlık), %1,5 tuz ve %2 yaş maya şeklinde belirlenmiştir (Yavuz 2019). Tüm bileşenler eklenerek hamur belirlenen kıvama gelene kadar 10 dakika boyunca yoğrulduktan sonra 100'er gram olacak şekilde parçalara ayrılarak hamurlara yuvarlak şekil verilmiştir. Daha sonra 25 dakika süre ile oda sıcaklığında, ön dinlendirme amacıyla üzeri nemli bir bez ile kapatılarak bekletilmiştir. Dinlendirilen hamurlar inkübatörde

30°C'de 50 dakika fermantasyona bırakılmıştır. Fermente edilen hamurlar 220°C'de 20 dakika pişirilmiştir (Gerçekaslan 2012). *Spirulina platensis* tozu ilave edilerek üretilen ekmeğin maliyeti *Spirulina platensis* tozu (%0,1-0,5-1,0-3,0) oranına göre sırasıyla 1,2 - 1,6 - 2,16 ve 4,48 TL, kontrol ekmeğinin maliyeti ise 1 TL'dir.

## Protein tayini

*Spirulina platensis* katkılı ekmek örneklerinin protein içeriği Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir (Anonim 2005).

### Toplam fenolik madde miktarı tayini

Toplam fenolik madde miktarı için ekmeğe örneklerine metanol ekstraksiyonu uygulanmıştır. Bu amaçla, örneklerden 3 gram alınarak 25 ml saf metanolle homojenizatörde 3 dakika homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnek +4°C'de 1 gece bekletilmiştir. Bir sonraki gün santrifüjde 10000 rpm de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki faz pipet ile alınarak ışık geçirmeyen şişelerde -20°C'de muhafaza edilmiştir (Erdoğan 2010).

Ekmeğe örneklerinde gallik asit denkliği (GAE) cinsinden toplam fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak analiz edilmiştir (Çakır ve Gülseren 2017). Gallik asit, referans bileşiği kullanılmıştır. Standart bir grafik hazırlamak için farklı gallik asit konsantrasyonları kullanılmıştır. 1 ml gallik asit çözeltisi veya numunesi 45 ml su ile karıştırılmış ve 1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi hemen bu karışıma eklenmiştir. Üç dakika sonra, 3 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi (%3) eklenmiş ve karışım 50 ml'ye tamamlanmıştır. Son karışımlar oda sıcaklığında karıştırılmış ve soğurma değerleri ölçülmüştür (720 nm, UV-1280 spektrofotometre, Shimadzu). Kalibrasyon eğrisine dayanarak, numunelerin gallik asit eşdeğeri (GAE) belirlenmiştir.

### Küf sporlarının izolasyonu

Buğday ekmeği belirli bir süre oda sıcaklığında bekletilerek küflendirilmiştir. Ekmeğe örneği yüzeyinde üreyen küflerden yeşil renkte olan bir koloniden PDA (patates dekstroza agar) besiyerine çizme yöntemi ile ekim yapılarak 25°C'de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. PDA besiyerinde oluşan küf sporları 50 g steril kum kullanılarak hasat edilmiştir. Kum üzerine tutunmuş küf sporları ile birlikte PBS (Fosfat tamponlu tuz) çözeltisine aktararak çalkalandıktan sonra santrifüj ile spor içeren sıvı kısım ayrılmış ve ekim yapılana kadar +4°C'de kapaklı tüp içerisinde muhafaza edilmiştir. PBS çözeltisindeki küf sporları Thoma lamında sayım yapılarak spor sayısı/ml olarak belirlenmiştir.

### *Spirulina platensis* tozunun antifungal etkisinin belirlenmesi

Steril edilerek soğutulmuş PDA (40°C) içerisine *Spirulina platensis* tozu belirlenen konsantrasyonlarda (%0,1-0,5-1,0-3,0) karıştırılmıştır. PDA 9 cm çaplı petri kaplarına (20 ml olacak şekilde) aktarılmıştır. Daha önce ekmeğe izole edilmiş olan küf sporları besiyeri yüzeyine yayma yöntemi ile ekim yapılarak 7 gün 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda gelişen koloniler sayılmış ve küf gelişim inhibisyon oranı belirlenmiştir (Özcan ve ark. 2013).

### Duyusal analiz

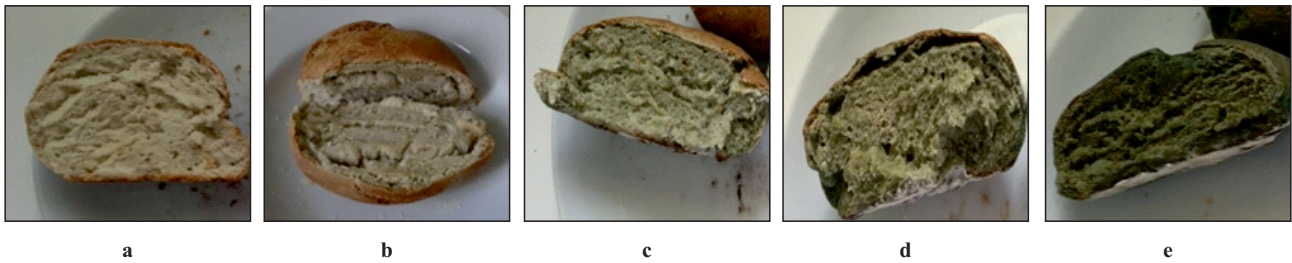
Ekmeğe örneklerinin duyusal analizi, İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü 4. Sınıf öğrencilerinden rastgele seçilen 10 kişilik panel tarafından iç renk, dış renk, gözenek yapısı, tekstürel özellik, koku, çiğnenebilirlik, lezzet ve genel beğeni açısından değerlendirilmiştir (Topkaya 2017). 1 ile 5 arasında (1-hiç beğenmedim, 2-beğenmedim, 3-normal, 4-beğendim, 5-çok beğendim) olacak şekilde puanlanmış ve elde edilen puanların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak örümcek ağı diyagramında raporlanmıştır (Bernat ve ark. 2015).

### İstatistiksel analizler

Analiz için denemeler 3 paralel 3 tekerrür olarak planlanmıştır. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için Minitab (Version 17, State College, PA, ABD) paket programı kullanılmıştır. Deneylemlerden elde edilen veriler tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutularak ortalama değerler arasındaki farkların istatistiksel olarak değerlendirilebilmesi için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (p<0,05).

### 3. Tartışma ve Sonuç

Kontrol ekmeğe ve *Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğelerin iç görünümü Şekil 2'de gösterilmektedir.



**Şekil 2.** Kontrol ekmeğe ve *Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğelerin iç görünümü (a:Kontrol ekmeğe, b:%0,1 SPT katkı ekmeğe, c:%0,5 SPT katkı ekmeğe, d: %1 SPT katkı ekmeğe, e: %3 SPT katkı ekmeğe) SPT: *Spirulina platensis* tozu

Kontrol ekmeğin iç yapısı *Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğe göre daha homojen bir yapıdadır. Kontrol ekme ve %0,1-0,5-1,0-3,0 oranlarında

*Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğin protein değerleri Çizelge 1’de gösterilmektedir.

**Çizelge 1.** Kontrol grubu ve *Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğlerde protein ve toplam fenolik madde miktarı (ekmeğ nem miktarı: %38)

Ekmeğ	Protein miktarı (%)	Toplam fenolik madde (mmol GAE /g)
Kontrol	7,54±0,57c	118,22±5,01b
%0.1 SPT katkı	8,53±0,08b	139,43±11,37ab
%0.5 SPT katkı	8,64±0,09b	152,15±10,77a
%1 SPT katkı	9,18±0,07b	162,76±12,87a
%3 SPT katkı	9,97±0,08a	167,61±16,02a

**SPT:** *Spirulina platensis* tozu. Aynı sütunda belirtilen farklı harfler anlamlı farklılıkları ifade etmektedir (p<0,05)

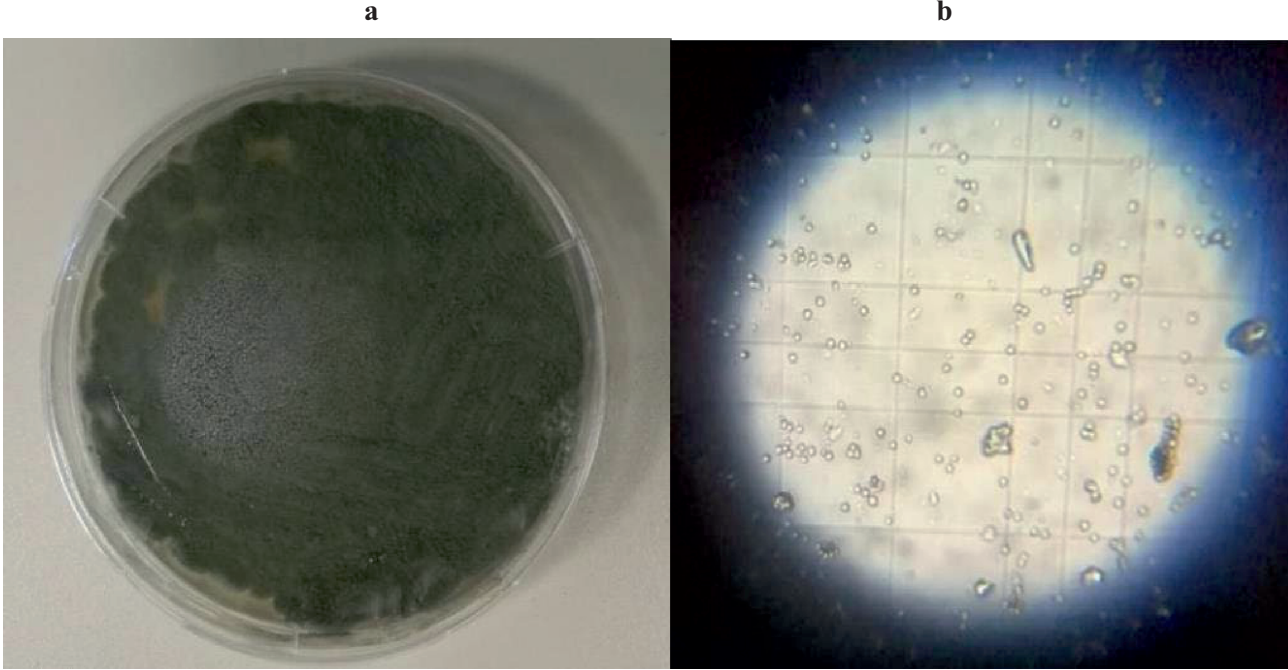
*Spirulina platensis* tozu %60 oranında protein içermektedir (Güroy 2019). Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda ekmeğin protein değerleri arasında eklenen *Spirulina platensis* tozu miktarına göre istatistiki olarak önemli değişimler tespit edilmiştir (Çizelge 1) (p<0,05). Çizelge 1’e göre en fazla protein miktarı %9,97 ile %3 *Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğe, en düşük protein miktarı ise %7,54 ile kontrol ekmeğinde bulunmuştur. Bunun nedeninin, *Spirulina* da bulunan yüksek protein içeriği olduğu söylenebilir. Karaağaoğlu ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada kontrol ekmeğlerinde protein miktarı %7,8-9,1 arasında bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise kontrol ekmeğinde %8,18, %1 *Spirulina* tozu katkı ekmeğe %8,53 ve %3 katkı ekmeğe ise %9,98 oranında protein tespit edilmiştir (Hafsa ve ark. 2014). Gün (2019) çalışmasında *Spirulina platensis* ilaveli fonksiyonel bisküvi ve kraker üretmeyi amaçlamıştır. Bisküviye %2,5 ve %4 oranlarında, krakere ise %2,5 ve %5 oranlarında *Spirulina platensis* tozu ilave edilmiştir. Kontrol örneğinde %5,85 oranında protein, *Spirulina plantesis* ilaveli bisküvide ise %9,18 protein artışı ve kontrol örneği ile arasında %56,92 oranında fark, krakerde ise kontrol örneğinde %11,34, *Spirulina plantesis* ilaveli krakerde %16,27 protein artışı ve kontrol örneği ile arasında %43,47 oranında fark görülmüştür. Kısa (2019) tarafından yapılan çalışmada ise %30 oranında *Spirulina* tozu ilave edilen eriştede protein içeriği %29 olarak bulunmuş ve kontrol örneğine göre %100 oranında artış görülmüştür. Elde edilen bu sonucun *Spirulina* tozunun (%66-70) protein oranının

yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yaptığımız çalışmada da literatürde yapılan çalışmalara benzer şekilde ekmeğ formülasyonuna katılan *Spirulina* tozu miktarının artması ile artan protein miktarı tespit edilmiştir. Dolayısıyla, *Spirulina platensis* katkı ekmeğlerin buğday unundan hazırlanmış ekmeğe göre protein miktarları daha yüksek olmuştur.

Kontrol ekmeğ ve %0,1- 0,5- 1,0- 3,0 oranlarında *Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğlerin toplam fenolik madde miktarı Çizelge 1’de gösterilmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda ekmeğ toplam fenolik madde miktarı değerleri arasında eklenen *Spirulina platensis* tozu miktarına göre istatistiki olarak önemli değişimler tespit edilmiştir (Çizelge 1) (p<0,05). Çizelge 1’e göre en az toplam fenolik madde miktarı 118,22 mmol GAE /g olarak kontrol ekmeğ, en fazla toplam fenolik madde miktarı 167,61 mmol GAE /g olarak %3 *Spirulina platensis* tozu katkı ekmeğe bulunmuştur. Aydemir (2019) tarafından yapılan çalışmada *Spirulina platensis* ile hazırlanan yoğurtların kontrol grubu yoğurtlara göre toplam fenolik madde miktarı daha yüksek bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise kontrol ve 5, 10, 20 g *Spirulina*/100 g un oranlarında *Spirulina* ilave edilmiş makarna formülasyonundaki toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 0,24, 0,55, 0,76, 1,05 mmol GAE /g olarak bulunmuştur. Makarna formülasyonuna ilave edilen *Spirulina* miktarının artması ile toplam fenolik bileşik madde miktarında arttığını belirtmişlerdir (Marco ve ark. 2014). Yaptığımız çalışmada da ekmeğ

formülasyonuna katılan *Spirulina platensis* tozu miktarı arttıkça *Spirulina platensis* tozu içerisinde bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklı ekmekteki toplam fenolik madde miktarı da artmıştır.

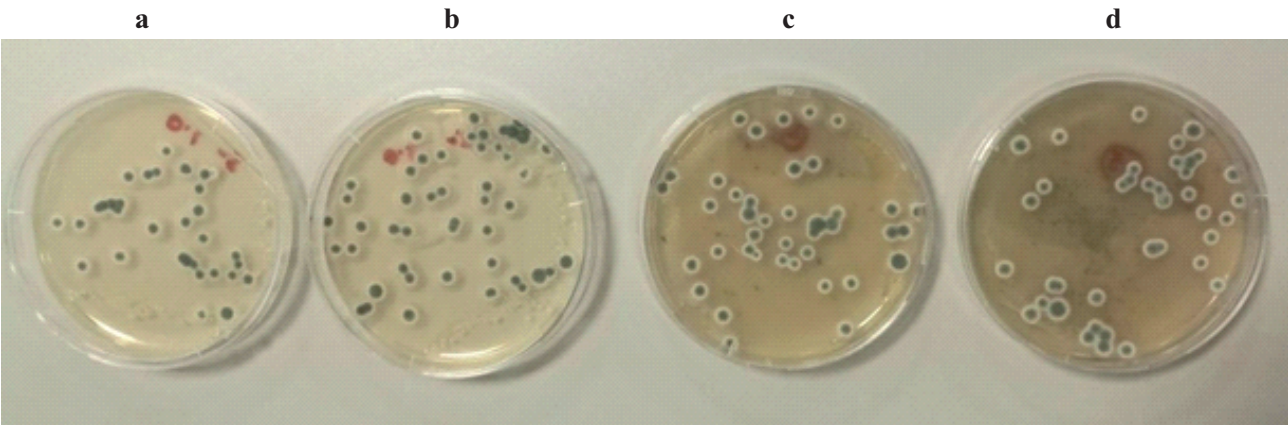
Tam buğday unlu ekmekten izole edilen küf türünün PDA besiyerinde görünümü ve sporlarının ışık mikroskopundaki görüntüsü Şekil 3'de gösterilmektedir.



**Şekil 3.** Tam buğday unlu ekmekten izole edilen küf türünün görüntüsü (a: PDA (patates dekstroz agar) besiyerindeki görünümü, b: İzole küf sporlarının ışık mikroskopundaki görünümü)

Thoma lamında yapılan sayım sonucunda tam buğday unlu ekmekteki küf sporu sayısı  $6,4 \times 10^7$  kob/ml olarak bulunmuştur (Şekil 3-b).  $10^{-5}$  oranında seyreltilmiş izole küf türünün spor sayıları %0,1 *Spirulina* tozu katkılı PDA besiyerinde  $1,8 \times 10^7$

kob/ml, %0,5 *Spirulina* tozu katkılı PDA besiyerinde  $2,5 \times 10^7$  kob/ml, %1,0 *Spirulina* tozu katkılı PDA besiyerinde  $2,7 \times 10^7$  kob/ml ve %3,0 *Spirulina* tozu katkılı PDA besiyerlerinde  $3,2 \times 10^7$  kob/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4).



**Şekil 4.**  $10^{-5}$  oranında seyreltilmiş izole küf sporlarının *Spirulina platensis* katkılı PDA (patates dekstroz agar) besiyerlerindeki görüntüsü (a:%0,1 SPT katkılı PDA besiyeri, b:%0,5 SPT katkılı PDA besiyeri, c: %1 SPT katkılı PDA besiyeri, d: %3 SPT katkılı PDA besiyeri)

SPT: *Spirulina platensis* tozu

Küf gelişimi inhibisyon oranları Çizelge 2'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda *Spirulina platensis* tozu katkılı PDA besiyerlerinde izole küf türünün gelişim inhibisyon oranları arasında istatistiki olarak önemli değişimler

tespit edilmiştir (Çizelge 2) ( $p < 0,05$ ). *Spirulina platensis* tozunun fikosiyenin verimi 575,12 mg/g iken fikosiyenin konsantrasyonu 2,35 mg/mL'dir (Güroy 2019). *Spirulina platensis* fenolik asitlerinin aktivitesi kimyasal yapıları ile ilgilidir; *Spirulina*

fenolik bileşiklerinin yapısal özelliklerine dayanarak, yaprak ekstraktları antifungal kapasiteler gösterebilir (Pagnussatt ve ark. 2014). Kontrol PDA besiyerindeki küf sporları sayısı ile farklı oranlarda *Spirulina platensis* tozu ilaveli PDA besiyerlerindeki küf sporları sayısı oranlanarak küf gelişim inhibisyon oranları bulunmuştur. %0,1 *Spirulina platensis* tozu katkılı PDA besiyerinde %29,17, %0,5 *Spirulina platensis* tozu katkılı PDA besiyerinde %40,11, %1,0 *Spirulina platensis* tozu katkılı PDA besiyerinde %42,19 ve %3,0 *Spirulina platensis* tozu katkılı PDA besiyerinde %50,52 oranında küf gelişimini inhibe ettiği bulunmuştur (Çizelge 2).

*Spirulina*'daki fenolik bileşiklerin antifungal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada küf inhibisyonu üzerinde etkili olan kalsiyum propionatdan *Spirulina*'daki fenolik bileşiklerin etkinliğinin 1,5 kat daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. *Spirulina platensis*'in içerdiği fenolik bileşiklerin, küf gelişimini %20,2 oranında inhibe ettiğini belirtmişlerdir (Christ-Ribeiro ve ark. 2019).

Ekmeklere eklenen mikroalg sayesinde ekmeğin su tutma kapasitesinin artmasıyla raf ömrünün uzadığı görülmüştür (Danesi ve ark. 2010).

Ak ve ark. (2016) tarafından *Spirulina* ilave edilerek zenginleştirilen ekmeğin besinsel ve fizikokimyasal niteliklerini araştırdıkları çalışma sonucunda, oda koşullarında depolanan *Spirulina* tozu katkılı ekmekte küf gelişimi olmamasına rağmen, kontrol grubundaki toplam küf sayımı  $2,74 \pm 0,06 \log \text{ kob} / \text{g}$  olarak bulunmuştur. Bu sonuç ise Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde tanımlanan ekmeğin için  $1,0 \times 10^2 \log \text{ kob} / \text{g}$  sınırından daha fazladır (Anonim 2011). %10 *Spirulina* ilavesinin ekmeğin raf ömrünü olumsuz etkilemeden beslenme kalitesini artırabileceğini belirlemişlerdir. *Spirulina* ilavesinin oda koşullarında saklanan ekmeğin küf gelişiminin engellenmesi üzerinde olumlu etkileri

olduğunu tespit etmişlerdir. Ekmeğe katılan *Spirulina platensis* tozu oranının artması ile küf gelişimi inhibisyon oranının arttığı tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise *Spirulina* tozu ilave edilmesi fonksiyonel ekmeklerin, ekmeğin kalite özelliklerini iyileştirmesi ve uzun süre depolanması amaçlanmıştır. Toplam bileşen miktarına üç farklı *Spirulina* tozu (%0,4- 0,8- 1,2) ilave edilmiş ve %0,4, %0,8 ve %1,2 *Spirulina* tozu ilave edilen ekmekler, sırasıyla 1 gün, 5 gün ve 7 gün süreyle saklandığını belirtmişlerdir (Ji-Yeon ve ark. 2011). Çalışmada ilave edilen *Spirulina* miktarı arttıkça raf ömrünün de arttığı görülmektedir. *Spirulina*'nın antifungal özellik gösterdiği yaptığımız çalışmada da görülmektedir. Zlateva ve Chochkov (2019) tarafından yapılan çalışmada *Spirulina platensis* içerdiği hidrokolloidlerin unlu mamüllerin depolanması sırasında nem kaybını azaltarak ekmeğin raf ömrünü uzattığı, hamur özelliklerini ve ekmeğin kıvrım dokusunu iyileştirdiğini belirtmişlerdir. Una ağırlıkça %2 ve %4 miktarında *Spirulina platensis*'in ilave edilmesinin, ekmeğin kıvrım dokusunu iyileştirmesi ve kontrol örneğinden daha uzun süre raf ömrüne sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da literatürde yapılan çalışmalara benzer şekilde ekmeğe ilave edilen *Spirulina platensis*'in içerdiği fikosiyaninlerden dolayı izole edilen küf türünün gelişimini belli oranlarda inhibe ettiği görülmektedir. *Spirulina platensis* tozu ilave edilen ekmeklerin fark edilebilirliğini ve kabul edilebilirliğini belirlemek için yapılan duyu analizi sonuçları panelistlerin duyu değerlendirme formunda tanımlanan iç ve dış renk, gözenek yapısı, tekstürel özellik, koku, çiğnenebilirlik, lezzet özellikleri ve genel beğeni gibi kelimelerin bulunduğu cetvelde verdikleri cevapların istatistiksel değerlendirmeleri sonucu belirlenmiştir (Çizelge 3).

**Çizelge 3.** Kontrol grubu ve *Spirulina platensis* tozu katkılı ekmeklerin duyu analiz sonuçları ortalaması ve standart sapması

	Kontrol	SPT 0,1%	SPT 0,5%	SPT 1%	SPT 3%
<b>İç Renk</b>	4,9±0,3a	4,3±0,9ab	3,5±1,1bc	3,4±1,1bc	2,4±1,3c
<b>Dış Renk</b>	4,7±0,7a	4,4±1,0a	3,8±1,4a	3,3±1,4ab	2,3±1,2b
<b>Gözenek Yapısı</b>	4,2±0,8a	4,3±0,7a	4,3±0,7a	3,6±0,5ab	2,8±1,2b
<b>Tekstürel Özellik</b>	4,3±0,5a	3,9±0,6ab	3,7±0,5ab	3,1±0,7b	3,0±1,2b
<b>Koku</b>	4,5±0,7a	4,1±0,9a	3,7±0,8ab	3,4±1,1ab	2,8±1,2b
<b>Çiğnenebilirlik</b>	4,6±1,0a	4,2±0,8ab	4,4±0,5abc	3,4±1,0bc	3,2±0,9c
<b>Lezzet</b>	4,6±0,5a	4,2±1,0a	3,9±1,4ab	3,3±1,2ab	2,8±0,9b
<b>Genel Beğeni</b>	4,5±0,5a	4,2±0,9ab	3,8±0,9ab	3,2±0,9bc	2,7±0,9c

SPT: *Spirulina platensis* tozu. Aynı satırda belirtilen farklı harfler anlamlı farklılıkları ifade etmektedir (p<0,05)

Çizelge 3’de görüldüğü üzere ekmek örneklerinin duyuşal özelliklerine ait sonuçları incelediğinde farklı miktarlarda *Spirulina platensis* tozu içeren ekmeklerin duyuşal özelliklerinde istatistiki olarak önemli değişimler olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Duyusal analiz sonuçlarına göre ekmek formülasyonuna katılacak kabul edilebilir *Spirulina platensis* tozu oranı %0,1-0,5 olarak belirlenmiştir. Ji-Yeon ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada duyuşal analiz sonuçların göre kontrol ve *Spirulina* tozu katkılı ekmekler (%0,4- 0,8- 1,2) arasından %0,8 *Spirulina* tozu ilave edilen ekmeğın daha çok tercih edildiği görülmüştür. Yaptığımız çalışmada kabul edilebilir *Spirulina platensis* tozu oranının daha düşük bulunması duyuşal analizlerin öğrenciler üzerinde yapılması ve toplumların yemek kültürlerinin farklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünölmektedir. Yaptığımız çalışmada uygulanan fermantasyon süresi ve sıcaklığı, Ak ve ark. (2016) tarafından ekmek üretiminde uygulananadan farklıdır. Dolayısıyla ekmeklerde fermantasyon sürecinde alkolömsü koku meydana gelmiştir. *Spirulina platensis* katkılı ekmeklerde oluşan kokudan dolayı da %0,1 katkılı ekmek panelistler tarafından daha çok tercih edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada *Spirulina platensis* tozu katkılı ekmeklerde fizikokimyasal, duyuşal analizler yapılmış ve raf ömrünü belirlemek için antifungal etki incelenmiştir. Ekmek formülasyonuna protein ve fenolik miktarı yüksek olan *Spirulina platensis* tozu ilave edilerek fonksiyonel bir ürün hale getirilmesi

hedeflenmiştir. Duyusal analiz sonucuna göre ekmeğe ilave edilecek kabul edilebilir *Spirulina platensis* tozu oranının belirlenmesi için daha fazla kiři ile duyuşal analiz yapılması gerekmektedir. *Spirulina platensis* tozunun ilave edileceğe ürüne ve ürünün tüketileceği topluma göre kabul edilebilir oranın deęišeceęi düşünölmektedir. *Spirulina platensis* tozu katkılı ekmeklerde protein ve toplam fenolik madde miktarı ilave edilen *Spirulina platensis* tozu miktarı ile orantılı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Ekmek formülasyonuna eklenen *Spirulina platensis* tozunun ekmekteki fungal gelişimi zayıflatması üzerinde olumlu bir etkisi olmuştur. Bu sonuca göre ekmeğın raf ömrü üzerinde olumlu bir etki görölmese beklenmektedir. *Spirulina platensis* tozunun ekmeklerde kullanımı ile ölkemizde yetiştiriciliği artacak ve ekonomik açıdan yeni bir kaynak oluşturabilecektir. *Spirulina platensis* içerdiği yüksek protein içeriği ile veganlar için alternatif bir protein kaynağı olacağı düşünölmektedir. Biyolojik değeri yüksek bileşenlerce zengin olan *Spirulina platensis* tozunun ölkemizde önemli miktarlarda tüketilen ekmeğe ilave edilmesiyle hem sağlığı olumlu yönde destekleyeceği hem de ekonomiye katkı sağlayacağı düşünölmektedir.

#### 4. Teşekkür

Çalışma kapsamında yapılan analizlerde yapmış oldukları yardımlardan dolayı Arş. Gör. Hatice Ebrar KIRTIL ve Arş. Gör. Muhammed ÖZGÖLET’e teşekkür ederiz.

#### 5. Kaynaklar

Ak, B., Avşaroğlu, E., Işık, O., Özyurt, G., Kafkas, E., Etyemez, M. and Uslu, L., 2016. Nutritional and Physicochemical Characteristics of Bread Enriched with Microalgae *Spirulina platensis*. Research Article, 6(12): 30-38.

Anonim, 2005. AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 18 ed. VCH Publishers, Inc., pp: 309. Gaithersburg, Maryland, USA, A.O.A.C International.

Anonim, 2011. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (Yönetmelik No: 2011/28157), <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm> (Görüntülenme tarihi: 10.05.2020).

Anonim, 2012. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği, (Tebliğ No: 2012/2), <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/01/20120104-6.htm> (Görüntülenme tarihi: 10.06.2019).

Anonim, 2018. Toprak Mahsulleri Ofisi. Ekmek İsrافی ve Tüketici Alışkanlıkları, 14 s. [http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/ekmek/tmo\\_brosuryeni2.pdf](http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/ekmek/tmo_brosuryeni2.pdf) (Görüntülenme Tarihi:tgk10.06.2019).

Aydemir, S., 2019. *Spirulina platensis* Katılarak Üretilmiş Yoğurtların Özellikleri. (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi) YÖK Ulusal Tez Merkezi Veri Tabanından Elde Edildi. (Tez no: 546355).

Bernat, N., Cháfer, M., Chiralt, A. and González-Martínez, C., 2015. Probiotic Fermented Almond “Milk” as an Alternative to Cow-Milk Yoghurt. International Journal of Food Studies, 4(2).

Christ-Ribeiro, A., Graça, S.C., Kupski, L., Badiale-Furlong, E. and Souza-Soares de, A.L., 2019. Cytotoxicity, Antifungal and Anti Mycotoxins Effects of Phenolic Compounds from Fermented Rice Bran and *Spirulina sp.* Process Biochemistry, 80: 190-196.

Çakır, B. and Gülseren, İ., 2017. Dissolution Kinetics of Polyphenol Bearing Calcium Pectate Hydrogels in Simulated Gastric or Intestinal Media and their Anti-Carcinogenic Capacities. *Food Hydrocolloids*, 70: 69-75.

Danesi, E.D.G., Navacchi, M.F.P., Katiuchia, K.P., Takeuchi, P., Frata, M.T. and Carvalho, J.C.M., 2010. Application of *Spirulina platensis* in Protein Enrichment of Manioc Based Bakery Products. *Journal of Biotechnology*. 150: 311.

Duru, M.D., 2014. Farklı Miktarlarda Yeme İlave Edilen *Spirulina platensis*'in Japon balığı'nın (*Carassius auratus*) renklenmesi ve Büyüme Performansı Üzerine Etkileri (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). YÖK Ulusal Tez Merkezi veri tabanından elde edildi. (Tez no: 374400).

Erdoğan, S.S., 2010. Elma Posası Tozunun Antioksidan Aktivitesi ile Fenolik Bileşenlerinin Belirlenerek Ekmek Yapımında Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Doktora tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 57-58.

Gerçekaslan, E.K., 2012. Vakfıkebir Ekmek Hamurundan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu-İdentifikasyonu ve Ekmek Üretiminde Kullanılabilirlik İmkânları. (Yayımlanmamış Doktora Tezi) YÖK Ulusal Tez Merkezi veri tabanından elde edildi. (Tez no: 301732).

Gün, D., 2019. *Spirulina platensis* İlavesi ile Fonksiyonel Bisküvi ve Kraker Geliştirilmesi. (Yayımlanmamış Doktora Tezi) YÖK Ulusal Tez Merkezi veri tabanından elde edildi. (Tez no: 596047).

Güroy, B., 2019. Determination of the Phycocyanin, Protein Content and Sensory Properties of Muffins Containing *Spirulina* Powder or Fresh *Spirulina*. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (23), 10-18.

Hafsa, Y.A., Amel, D., Saima, S. and Sidahmed, S., 2014. Evaluation of Nutritional and Sensory Properties of Bread Enriched with *Spirulina*. *Annals. Food Science and Technology*, Vol: 15, Issue 2.

Ji-Yeon, L., Sun-Hee, K., Mee-Ree, K., Ji-Yeon, L., Sun-Hee, K. And Mi-Ri, K., 2011. Changes in the Quality Characteristics and Antioxidant Activities of *Spirulina* Added Bread During Storage. *The Korean Society of Food Preservation*, 18: 111-118.

Karağaoğlu, N., Karabudak, E., Yavuz, S., Yüksek, O., Dinçer, D., Tosunbayraktar, G. ve Eren, F.H., 2008. Çeşitli Ekmeklerin Protein, Yağ, Nem, Kül, Karbonhidrat ve Enerji Değerleri. *Gıda/The Journal of Food*, 33(1): 19-25.

Kısa, H., 2019. Erişte Üretiminde Farklı Un Katkılarının (Balık Unu, Çekirge Unu, Un Kurdu Unu ve *Spirulina* Tozu) Kullanım İmkânlarının Araştırılması. (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi) YÖK Ulusal Tez Merkezi veri tabanından elde edildi. (Tez no: 564817).

Marco, R.E., Steffolani, E.M., Martínez, S.C. and León, E. A., 2014. Effects of *Spirulina* Biomass on the Technological and Nutritional Quality of Bread Wheat Pasta. *Food Science and Technology*, 58: 102-108.

Özcan, S., Yılar, M., Bergüzar, S. ve Önen, H., 2013. *Teucrium polium* L. Uçucu Yağının Herbisidal ve Antifungal Etkileri ile Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 5: 94-103.

Pagnussatt, A.F., Ponte, M.E., Garda-Buffon, J. and Badiale-Furlong, E., 2014. Inhibition of *Fusarium graminearum* Growth and Mycotoxin Production by Phenolic Extract from *Spirulina sp.* *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 108: 21-26.

Şen, H., 2013. Bazı Doğal Bitkisel Katkıların Ekmek Hamurunun Reolojik Özellikleri ile Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisi. (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi) YÖK Ulusal Tez Merkezi Veri Tabanından Elde Edildi. (Tez No: 341609).

Topkaya, C., 2017. Nar Kabuğu Tozu İlavesinin Keklerin Besinsel, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkisi. (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi) YÖK Ulusal Tez Merkezi Veri Tabanından Elde Edildi. (Tez No: 474189).

Vonshak, A. and Richmond, A., 1988. Mass Production of the Blue-green Alga *Spirulina*: An overview. *Biomass* 15(4): 233-247.

Yavuz, Z., 2019. Ekmeklik Unlara Diyet Lif Kaynağı Olarak İğde Tozu İlavesinin Hamur ve Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi) YÖK Ulusal Tez Merkezi Veri Tabanından Elde Edildi. (Tez No: 596854).

Zlateva, D. and Chochkov, R., 2019. Effect of *Spirulina platensis* on the Crumb Firming of Wheat Bread During Storage. *Ukrainian Food Journal*, Vol: 8, Issue 4.



Özgün Araştırma/Original Article

Glüten Analizinde HPLC, LC-MS/MS Yöntemlerinin ELISA ile Karşılaştırılması

Comparison of HPLC, LC-MS / MS Methods with ELISA in Gluten Analysis

Ali ÖZCAN<sup>1</sup>, İsmail AZAR<sup>2</sup>, Arzu YAVUZ<sup>3</sup>, Hakan YAVAŞ<sup>4</sup>, Emre TOKAT<sup>5</sup>, Vesile ÇETİN<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Vet.Hek. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-1338-7852

<sup>2</sup> Ziraat Yük. Müh. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0003-4424-208X

<sup>3</sup> Gıda Yük. Müh. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-2526-4761

<sup>4</sup> Ziraat Müh. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:000-0002-9670-9078

<sup>5</sup> Veteriner Hek. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID: 0000-0003-1975-9706

<sup>6</sup> Dr. Ziraat Yük. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-6962-8440

\*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author, ali.ozcan@tarimorman.gov.tr.

Geliş Tarihi : 07.04.2020

Kabul Tarihi : 13.08.2020

Öz

**Amaç:** Tahıl ve ürünleri içerdikleri Glüten nedeni ile bazı insanlarda rahatsızlıklara neden olabilmektedirler. Bu hastalıklardan biri olan çölyak, buğday, çavdar, arpa ve bazen de yulaf ürünlerinin tüketimi sonucu bağırsakta ortaya çıkan bir hastalıktır. Hastalığın nedenini oluşturan temel etken glüten proteininin gliadin adlı alt fraksiyonudur. Hastalığa sebep olan glüten fraksiyonları glütenin ve gliadinlerdir. Glütenin kendi içerisinde  $\omega$ 5, LMW ve HMW olmak üzere üç alt fraksiyona ayrılmaktadır. Gliadinler ise  $\alpha$ (Alfa),  $\omega$ (Omega),  $\beta$ (Beta) ve  $\gamma$ (Gamma) olmak üzere dört fraksiyondan oluşmaktadır.

**Materyal ve Yöntem:** Bu çalışmada çölyak hastalarına özel olarak üretilen gıdaların analizlerinde kullanılabilecek ve yasal limitler olan 0-20 mg/kg ile 20-80 mg/kg aralıklarında LOD değerine sahip kromatografik bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır.

**Bulgular ve Sonuç:** Yapılan HPLC çalışmalarında LOD değeri 31,94mg/kg, LOQ değeri ise 106,47mg/kg düzeylerinde metot performansları elde edilmiştir. LC MS/MS çalışmalarında elde edilen LOD değeri 19,24 mg/kg, LOQ değeri ise 64,13 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çölyak Hastalığı, ELISA, Glüten, HPLC, LC-MS/MS

Abstract

**Objective:** Cereals and products may cause disorder in some people due to the Gluten they contain. Celiac, one of these diseases, is a disease that occurs in the intestine as a result of consumption of wheat, rye, barley and sometimes oat products. The main cause of the disease is the sub-fraction of gluten protein called gliadin. The gluten fractions that cause disease are glüten and gliadins. Gluten is divided into three sub-fractions:  $\omega$ 5, LMW and HMW. Gliadins consist of four fractions:  $\alpha$  (Alpha),  $\omega$  (Omega),  $\beta$  (Beta) and  $\gamma$  (Gamma).

**Materials and Methods:** In this study, it was tried to develop a chromatographic method that can be used in the analysis of foods specially produced for celiac patients and has an LOD value between 0-20 mg / kg and 20-80 mg / kg, which are legal limits.

**Result and Conclusion:** In the HPLC studies, the method performances were obtained at the LOD value of 31,94 mg/kg and the LOQ value at 106,47 mg/kg. LOD value obtained in LC MS/MS studies was determined 19,24mg / kg and LOQ value 64,13mg / kg.

**Key words:** Deliac Disease, Gluten, HPLC, ELISA, LC-MS/MS



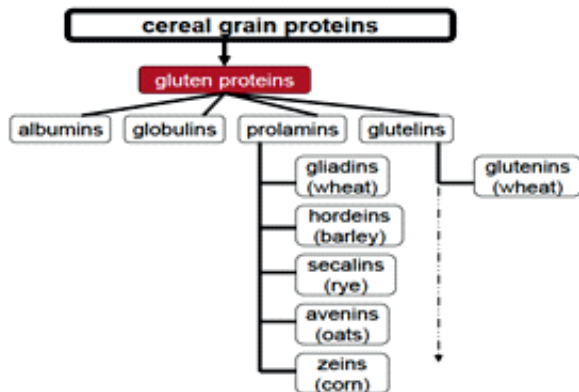
## 1. Giriş

Beslenmemizde önemli bir yer tutan tahıl ve ürünleri bazı insanlarda rahatsızlıklara neden olabilmektedir. Tahıl kaynaklı hastalıklardan biri olan çölyak, buğday, çavdar, arpa ve bazen de yulaf ürünlerinin tüketimi sonucu bağırsakta ortaya çıkan bir hastalıktır. Hastalığın nedenini oluşturan temel etken glüten proteininin gliadin adlı alt fraksiyon olup, risk grubunda yer alan çölyak hastalarının tükettikleri ürünlerde bu proteinlerin uygun limitler içerisinde olup olmadığı büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle glüten analizleri için hassas bir metoda ihtiyaç duyulmaktadır. ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) metodunun hassasiyeti ve ölçüm sonuçlarının salınım göstermesi gibi dezavantajları ortadan kaldıracak kromatografik bir yöntem arayışına girilmiş ve HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve LC MS/MS (Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi) metotları ile kıyaslaması ihtiyacı doğmuştur. Bu amaç için ELISA-HPLC ve LC-MS/MS metotlarının validasyonları tamamlanmış ve metotlar arası performans kıyaslamaları oluşturulan bu metotlar üzerinden yapılmıştır. Gerek HPLC gerekse de LC-MS/MS metotları için yapılan çalışmalardan sonra TGK 2012/04'e göre glüten içeriği yönünden sınırlandırılmış olan çok düşük glütenli ve glütensiz ürünlerin analizleri için numune hazırlama aşamasında iyileştirme yapılması gerekli görülmüştür.

## 2. Glüten Proteinini

### 2.1. Glüten Proteinini ve Toksikitesi

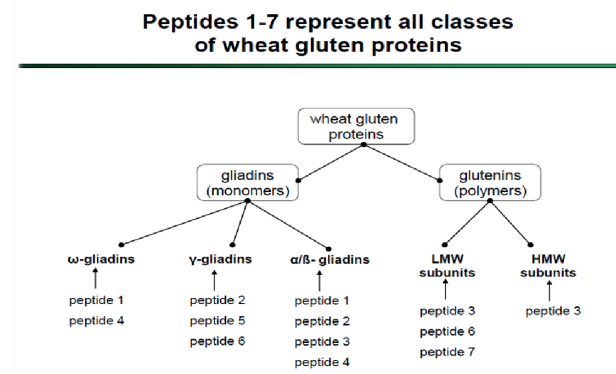
Tahıl depo proteinleri etanolde çözünebilir prolaminler ve polimerik glüteninler olmak üzere başlıca iki gruptan oluşmaktadır. Prolaminler buğdayda gliadinler, çavdarda sekalinler, arpada hordeinler, yulafta aveninler olarak adlandırılmaktadır. Mısırdaki ise bu fraksiyon zeinler olarak ifade edilmektedir ve çölyak hastaları için toksik değildir (Ciclitira ve ark. 2005). Ürünlere göre glüten proteini ve alt fraksiyonları Şekil 1'de yer almaktadır.



Şekil 1. Glüten proteini ve alt fraksiyonları (Sealey-Voysner ve ark. 2010, Niewinski 2008)

Buğdayda depo proteinlerinin büyük bir kısmını glüten proteinleri oluşturmaktadır (toplam proteinin %80–85'i). Glüten proteinleri ise tahıl tanesindeki depo proteinlerinin prolaminler alt sınıfına dahildir. Endospermde bulunan Glüten proteinleri nişasta granüllerinin etrafında sürekli bir matris oluşturur. Glüten proteinleri su veya tuzlu suda çözünmez nitelikte olup, monomerik gliadinler ve polimerik glüteninler olmak üzere iki fraksiyondan oluşmaktadır. Bu iki fraksiyon tanede hemen hemen eşit oranlarda bulunmaktadır (Goesaert ve ark. 2005). Ayrıca gliadinler;  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\omega$  olarak alt fraksiyonlara da ayrılmaktadır (Ciclitira ve ark. 2005).

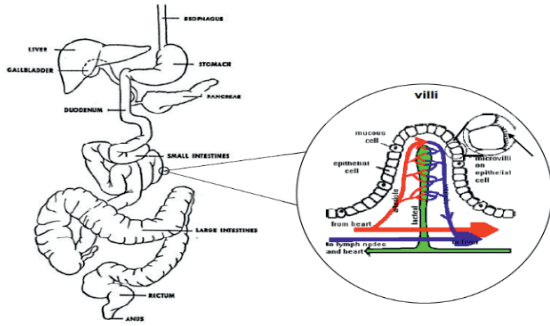
Yapılan çalışmalar sonucunda gliadin fraksiyonunun çölyak hastaları için toksik, Glütenin fraksiyonunun ise daha az toksik olduğu belirlenmiştir. Gliadinlerden de  $\alpha$ -gliadinler en toksik olanıdır.  $\beta$  ve  $\gamma$ -gliadinler biraz daha düşük toksisiteye sahip iken,  $\omega$ -gliadinler en düşük toksisiteye sahip gliadin fraksiyonudur (Özkaya 1999). Bu fraksiyonlar Şekil 2'de yer almaktadır.



Şekil 2. Buğday glütenini ve alt fraksiyonları (Sealey-Voysner ve ark. 2010, Niewinski 2008)

Her geçen gün değişen beslenme alışkanlıklarına rağmen tahıl ve ürünleri dünya nüfusunun beslenmesinde halen önemini korumaktadır. Beslenmemizde önemli bir yer tutan tahıl ve ürünleri bazı insanlarda rahatsızlıklara neden olabilmektedirler. Çölyak hastalığı; glüten ve diğer tahıllardaki benzer proteinlerin tüketilmesi sonucunda ortaya çıkan ve "glütene hassas bağırsak sistemi" olarak da bilinen bir gıda intoleransıdır (Özkaya 1999), (Sollid ve Jabri 2005). Buğday, çavdar, arpa ve bazen de yulaf ürünlerinin tüketimi sonucu bağırsakta ortaya çıkan bir hastalıktır. Hastalığın nedenini oluşturan temel etken glüten proteininin gliadin adlı alt fraksiyonu olup, glüten içeren gıdaların tüketilmesi sonucunda başta vitaminler ve mineraller olmak üzere vücudun gereksinim duyduğu çeşitli besin maddelerinin emilimi azalmaktadır (Özkaya 1999, Battais ve ark. 2005). Glütensiz diyet ile birlikte eksikliği olan vitamin B<sub>12</sub>, folat, demir, kalsiyum, D vitamini besinsel destek tedavisi olarak verilmelidir (Hopper ve ark. 2007). Ancak çölyak hastaları, gliadinlerin

homoloğu olan prolamini de içeren tritikale, çavdar ve arpa ürünlerinin tüketiminden de sakınmak zorundadır. Çölyak hastalarında Glütene etkisi ince bağırsak üzerinde olmaktadır. Şekil 3’de görüldüğü gibi absorpsiyonun yapıldığı yüzey azalıp besin alımı zorlaşmaktadır (Özkaya 1999).



Şekil 3. Sindirim sistemi diyagramı (Niewinski 2008)

Tek tedavi yöntemi ömür boyu sürdürülmesi gereken Glütensiz diyet uygulamasıdır. Bununla beraber çölyak hastalarının gıdalardaki Glütene hassasiyet düzeyleri de farklılık göstermektedir. Bazı hastalar iz miktardaki glütene tolere edemezken, diğerleri daha büyük miktarlarda Glütene tolere edebilmektedirler. Mısır ve pirinç ise toksik olmayıp diğerlerinin yerine kullanılabilir (Urgancı 2005, Ciclitira ve ark. 2005).

Önceleri nadir ve kuzey-batı Avrupa'nın hastalığı olduğu düşünülen çölyak hastalığının, yapılan çalışmalarla bugün bütün dünyada çok yaygın olduğu, farklı toplumlarda ortalama %0,3-1 civarında görüldüğü bilinmektedir (Maki ve Lohi 2004, Farrell ve Kelly 2002).

Çizelge 1. ELISA test kiti ile yapılan FAPAS analiz sonuçları

Materyal	Ürün Çeşidi	FAPAS Kodu	Kalitatif Sonuç (%)		Kantitatif sonuç (mg/kg)		
			Doğru	Yanlış	Ortalama	Aralık	Sapma (%)
Glüten negatif	Kek	T27109AQC	93	7	-	-	-
	Soya	T2792B	91	9	-	-	-
Glüten pozitif	Kek	T27109BQC	98	2	72,6	38,1-114,3	36
	Soya	T27106B	99	1	59	26,5-79,5	18

Kullanılan metotlardaki çalışmaların temeli glüten proteinini, fraksiyonları üzerinden karakterize etmektir. Bunun için kromatografik ve jel elektroforez gibi teknikler kullanılmaktadır. Bu çalışmada diğer ekstraksiyon yöntemlerinden farklı olarak protein ekstraksiyonunda enzim protein oranı ve enzim muamele süresi optimize edilmiştir. Literatürlerde belirtilen metotlar ile glüten fraksiyonlarının yapısal

## 2.2. Ticari Analiz Kitleri ve Yeterlilik Test Sonuçları:

Piyasada ticari olarak bulunan bir ELISA test kiti ile Fapas T27109AQC nolu negatif glüten test materyalinde yapılan analizde teste katılan laboratuvarların %93'ü doğru sonuç bulurken, %7'si yanlış sonuç bulmuştur. Yine Fapas T2792B nolu negatif glüten test materyalinde yapılan analizde teste katılan laboratuvarların %91'i doğru sonuç bulurken %9'u yanlış sonuç bulmuştur (Mowat 2003).

Aynı ELISA test kiti Fapas T27106B nolu pozitif glüten test materyalinde yapılan analizde, teste katılan laboratuvarların %99'u doğru sonuç bulurken %1'i yanlış sonuç elde etmiştir. 59 mg/kg olan test materyalinde laboratuvarlar 26,5-79,5 mg/kg aralığında değişen miktarlarda değerler elde etmişlerdir. Yine Fapas T27109BQC nolu pozitif glüten test materyalinde yapılan analizde, teste katılan laboratuvarların %98'i doğru sonuç bulurken %2'si yanlış sonuç elde etmiştir. 72,6 mg/kg olan test materyalinde laboratuvarlar 38,1-114,3 mg/kg aralığında değişen miktarlarda değerler elde etmişlerdir (Anonim 2012b).

Kullanılan ticari ELISA test kiti; negatif var/yok Fapas test materyalindeki analizlerde yaklaşık %8 yanlış sonuç vermiştir. Yine bu test kitinde yapılan miktar analizlerinde ürüne göre %18 ile %36 arasında bir sapma görülmektedir (Mowat 2003).

Bu sapma yüzdelerinin TGK 2012/04'e göre glüten içeriği yönünden sınırlandırılmış olan çok düşük glütenli ve glütensiz gıda numunelerinin değerlendirilmesinde yanlış yorumlara neden olabileceği göz ardı edilmemelidir. FAPAS testlerinden elde edilen sonuçların sapmalarına göre ELISA metodunun daha hassas bir metot ile doğrulanması gerekliliği öne çıkmaktadır. (Çizelge 1).

özellikleri, toplam glüten içerisindeki her bir fraksiyonun yüzdece oranı, bazı uygulamaların (ısı, emülsüfyer vb) etkileri gibi konular incelenmiştir. Çalışmada gliadin ve glütene alt fraksiyonları niceliksel olarak analizleri yapılarak toplam fraksiyon miktarından glüten miktarına ulaşılmıştır (Çizelge 2).

**Çizelge 2.** Glütten analizinde uygulanan yöntemler ve çalışma ile ilişkisi

Literatür	Kullanılan yöntem	Çalışmanın amacı	Çalışma ile ilişkisi
Van Eckert ve ark. 2006	RP-HPLC, SE-HPLC, RP-HPLC-ESI-MS, MALDI-TOF,	Farklı unlardaki glütten fraksiyonlarını farklı yöntemler ile inceleyerek çeşitler üzerine etkilerini belirlemek	Çalışmalarda glütten fraksiyonlarının tespitinde kullanılan metot, araştırmada seçilen metot ile paralellik göstermektedir.
Kieffer ve ark. 2012	RP-HPLC, SDS-PAGE	Farklı buğday unlarında basınç ve sıcaklık uygulamalarının glütten üzerine etkisi gözlemlenmek	
Gómez ve ark. 2012	RP-HPLC, SDS-PAGE	Farklı buğday unlarında emülsüfilyerlerle çözünebilir proteinlerini analiz etmek	

**3. Materyal ve Metot****3.1. Materyal**

Çalışmalarda kullanılmak üzere Biyomatik (<http://www.biomatik.com>) firmasından temin edilen Çizelge 3’de yer alan sentetik peptitler seçilmiştir.

Çizelge 4’te belirtilen limitler içerisindeki örnekleri analiz edebilecek şekilde metotlar valide edilmiştir.

**Çizelge 3.** Çalışmada kullanılacak sertifikalı referans maddeler (Sealey-Voyksner ve ark. 2010, Niewinski 2008).

Peptid	Dizilim	Lot numarası	Moleküler Formül	Safılık %	Moleküler ağırlık
P1	LQPQNPSQQQPQEQVPL	P160121-WF348380	C <sub>84</sub> H <sub>135</sub> N <sub>25</sub> O <sub>29</sub>	98.26	1959.16
P2	TQQPQQPFPQQPQQPFPQ	P160121-WF348381	C <sub>97</sub> H <sub>141</sub> N <sub>27</sub> O <sub>29</sub>	98.24	2149.37
P3	VPVQLQPQNPSQQQPQEQVPL	P160121-WF208016	C <sub>109</sub> H <sub>175</sub> N <sub>31</sub> O <sub>35</sub>	98.19	2479.80
P4	RPQQPYPQPQPQY	P160121-MX304197	C <sub>74</sub> H <sub>107</sub> N <sub>21</sub> O <sub>21</sub>	98.13	1626.81
P5	QPQQPFPQTQQPQQPFPQ	P160121-MX348382	C <sub>97</sub> H <sub>141</sub> N <sub>27</sub> O <sub>29</sub>	98.89	2149.37
P6	PQQSFP	P160121-MX493719	C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub>	98.87	702.77
P7	QPQQPLPQPQQPF	P160121-MX348384	C <sub>70</sub> H <sub>105</sub> N <sub>19</sub> O <sub>20</sub>	98.53	1532.73

**Çizelge 4.** TGK 2012/4 Tebliğinde belirtilen “çok düşük glüttenli” ve “glütensiz” ürünler için sınır değerler

Ana Ürün Gurubu	Sınır değer
Glütensiz	<20 mg/kg
Çok Düşük Glüttenli	20-80 mg/kg

**3.2. Metot****3.2.1. ELISA Metodu**

Çalışmada ELISA metodu için kullanılacak validasyon parametreleri ISO 5725 (Accuracy of Measurement Methods and Results Package) ve 21748 (Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation) standartları ile

Eurachem (2012) talimatlarına göre seçilmiştir. ELISA yönteminin validasyonunda test edilen parametreler Çizelge 5’de verilmiştir. Metot validasyonu çalışmaları aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 5.** ELISA yöntemi için metot validasyon parametreleri

ELISA Validasyon Parametreleri	Açıklama	
Limit Belirleme	Ölçüm Limiti (LOD)	3 x SD
	Tespit Limiti (LOQ)	10 x SD
Kesinlik	Tekrarlanabilirlik	12 çalışma
	Tekrarüretilebilirlik	3 gün 6’şar çalışma

### 3.2.1.1. Numunenin Hazırlanması ve Ekstraksiyon

Homojenize edilmiş örnekten 0,25 g tartılır, üzerine 2,5 mL ticari kit ekstraksiyon solüsyonu eklenir. Tüpün kapağı kapatılarak iyice karıştırılır. Tüm gıda örneklerinde ortak olarak ekstraksiyona aşağıdaki şekilde devam edilir: 60°C'deki su banyosunda 15 dk inkübe edilir. Örneklerin soğuması beklenir. %68'lik 2-propanolden 7,5 ml eklenir ve iyice karıştırılır. 60°C'deki su banyosunda 10 dk inkübe edilir. 2500 g-force'de 10 dk santrifüj edilir. Üstteki süpernatant alınarak başka bir vialle aktarılır. Bu süpernatant, başka bir kaba alınıp ağız sıkıca kapatıldıktan sonra 25°C'de karanlıkta 8 hafta boyunca saklanabilir. Örnek, 1:12,5 oranında (1+11,5/80 µl +920 µl) örnek dilüsyonu ile seyreltilir ve son seyreltme faktörü 500 olmaktadır. Hazırlanan son üründen her bir kuyucuk için 100'er µl kullanılır. Bu amaçla yapılacak olan metot validasyonunda test edilecek parametreler Çizelge 7'de verilmiştir.

### 3.2.1.2. ELISA Kit Prosedürü

#### 3.2.1.2.1. Örnek Dilüsyon Çözeltisinin Hazırlanması

Örnek dilüsyon çözeltisi konsantre olarak bulunmaktadır. Gerekli olduğu kadarıyla 1:5 (1+4) oranında distile su ile seyreltilir (örneğin, 3 mL konsantrat+12 mL distile su).

#### 3.2.1.2.2. Antikor Enzim Konjugatının Hazırlanması

Konsantrat olarak bulunmaktadır. Seyreltilmiş enzim konjugat çözeltisinin stabilitesinin düşük olması nedeniyle sadece ihtiyaç duyulan kadarı seyreltilmelidir. Pipetleme işleminden önce, konjugat konsantrasi dikkatli bir şekilde çalkalanmalıdır. Konjugat konsantratu distile su ile 1:11 (1+10) oranında seyreltilmelidir. Kullanılan suyun, gliadin ile kontamine olmadığından emin olunmalıdır.

#### 3.2.1.2.3. Yıkama Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

Kullanımdan önce, tampon, distile su ile 1:10 (1+9) oranında seyreltilir (örneğin, 100 mL tampon konsantratu + 900 mL distile su). Seyreltme öncesinde, tamponda oluşan kristaller 37°C'lik su banyosunda çözündürülür. Çözündürülmüş tampon, 2-8°C'de 4 hafta boyunca stabil olarak kalabilir.

#### 3.2.1.2.4. Test Prosedürü

Standartlar ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter kuyucuğu plakaya yerleştirilir (Standart ve örnek pozisyonları, bir kenara not edilmelidir). Belirlenmiş kuyucuklara her bir standart çözeltisinden veya hazırlanmış örnekten 100'er µl eklenir ve oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilir (20-25°C). Kuyucuk

içerisindeki sıvı dökülerek, absorban kağıdı kullanılarak, mikrokuyucuk plakası dikkatli bir biçimde ters düz edilir (her defasında 3 kez). Böylece, mikrokuyucuklar içerisinde sıvı kalmadığından emin olunur. Mikrokuyucukların tamamı 250 µl seyreltilmiş tampon çözeltisi ile doldurulur ve sıvı tekrar boşaltılır. Aynı işlem iki kez daha tekrarlanır. Her kuyuya 100 µl dilüe edilmiş (1:11=1+10) enzim konjugat konulur ve oda koşullarında 10 dk inkübe edilir (20-25°C). Kuyucuk içerisindeki sıvı dökülerek, absorban kağıdı kullanılarak, mikrokuyucuk plakası dikkatli bir biçimde ters düz edilir (her defasında 3 kez). Böylece, mikrokuyucuklar içerisinde sıvı kalmadığından emin olunur. Mikrokuyucukların tamamı 250 µl seyreltilmiş tampon çözeltisi ile doldurulur ve sıvı tekrar boşaltılır. Aynı işlem iki kez daha tekrarlanır. Her bir kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen eklenir. Plaka, dikkatli bir şekilde çalkalanarak, oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 10 dk boyunca inkübe edilir (20-25°C). Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu konularak iyice karıştırılır ve absorbansı 450 nm'de ölçülür. Bu işlem 30 dk içinde yapılmalıdır.

#### 3.2.1.2.5. Sonuç Hesaplama

Ticari ELISA kitine uygun yazılım kullanılarak hesaplanmaktadır. Kalibrasyon grafiğinden okunan gliadin konsantrasyonu µg/kg (ppb), 500 katsayısı ile çarpılır. Elde edilen sonuç gliadin değerini vermektedir. Glüten değerine geçmek için sonucun 2 ile çarpılmasıyla % olarak hesaplanır.

### 3.2.2. Kromatografik Yöntemler

Glütenin kromatografik yöntemler ile tespiti protein yapısının gastrik enzimler ile parçalanarak peptidlere ayrılması ve elde edilen peptidlerin tespiti ilkesine dayanmaktadır. Bu çalışmada buğdayda bulunan glütenin pepsin (P), tripsin (T) ve kimotripsin (C) enzimleri ile parçalanması sonucunda oluşan peptidlerin HPLC-DAD ve LC-MS/MS ile tanımlanması ve miktar tayini yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla kullanılan metot için cihaz şartları Çizelge 7'de verilmiştir.

Metot validasyonu çalışmaları aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada HPLC ve LC-MS/MS metodu için kullanılacak validasyon parametreleri ISO 5725 (Accuracy of Measurement Methods and Results Package) ve 21748 (Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation) standartları ile Eurachem (2012) talimatlarına göre seçilerek Çizelge 6'da belirtilmiştir (Anonim 2012a, Anonim 2017, Anonim 2019).

**Çizelge 6.** Validasyon parametreleri

HPLC ve LC-MS/MS Validasyon Parametreleri		Açıklama
Limit Belirleme	Ölçüm Limiti (LOD)	3 x SD
	Tespit Limiti (LOQ)	10 x SD
Doğrusallık	$R^2 > 0.99$	4 seviye standart
Kesinlik	Tekrarlanabilirlik	12 çalışma
	Tekrarüretilebilirlik	3 gün 6'şar çalışma
Gerçeklik Kontrolü	Geri Kazanım	12 çalışma

LC-MS/MS ve HPLC analizleri için numune hazırlarken için homojenize örnekten 1,5 mL tüplere 30 mg tartım yapıldı. pH 7,4 olan fosfat bufer (FB) içerisinde T:C oranı 50:50 olan 1000 ppm'lik enzim karışımından 1:10 enzim:protein oranlarına göre uygun miktarlarda eklendi. FB ile 1 ml'ye tamamlandı. 38°C'de 2 saat süresince çalkalamalı blok ısıtıcıda inkübasyona tabi tutuldu. 10 dk 3000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst fazdan yeterli miktarda alınarak LC-MS/MS'e 10µl, HPLC'ye 100µl enjeksiyonları gerçekleştirildi.

Hesaplama ve sonuç Çizelge 2'de belirtilen sertifikalı peptid standartları hassas terazide tartılıp 80:20 ACN:Su (%0,025 TFA içeren) içerisinde çözülerek yaklaşık 1000 ppm stok çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan stok standartlardan 100-10-1 ppm düzeylerinde çalışma miksleri oluşturuldu.

Miktarsal analizde kullanılacak kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için glüten içermeyen pirinç ununa her

bir peptid için 2-5-10-25-50-100ppm konsantrasyonlarında çalışma mikslerinden ilave yapılarak numune hazırlamadaki işlem basamakları aynen uygulanmıştır. Kalibrasyon standartlarının hazırlanmasında numune hazırlama işlem basamakları bire bir uygulandığından sonuç hesaplamada herhangi bir seyreltme faktörü kullanılmamıştır.

Elde edilen standart kromatogramlarında peptidlere ait piklerin oluşturdukları alanlar toplanarak ( $A_{toplam}$ ) o standart seviyesinin konsantrasyonuna ( $C_{toplam}$ ) karşılık gelen tek bir veri olarak değerlendirilmiştir. Analizde kullanılan 7 peptid için toplam konsantrasyon 14-35-70-175-350-700ppm olarak gerçekleşmiştir. Bir standarttaki peptidlerin toplam alanları alınarak o standardın mg/kg konsantrasyonuna ulaşılmıştır. Glüten hesaplama fraksiyonlarının toplamı, analiz edilen örnekteki glüten değerini vermiştir. Çizelge 7'de glüten hesaplanması özetlenmiştir.

**Çizelge 7.** HPLC glüten fraksiyonları üzerinden toplam glüten analizi

Fraksiyonlar	Fraksiyon Alanı	Toplam Fraksiyon Alan	Standartın Miktarı (mg/kg)
$\omega 5$	$a1$	$(A_{toplam})$ her bir seviye standarttaki glüten fraksiyonların toplam alanı	$(C_{toplam})$ her bir seviye standart için karşılık gelen konsantrasyon
$\omega 1,2$	$a2$		
$a$	$a3$		
$\gamma$	$a4$		
$\omega b$	$a5$		
$LMW$	$a6$		
$HMW$	$a7$		

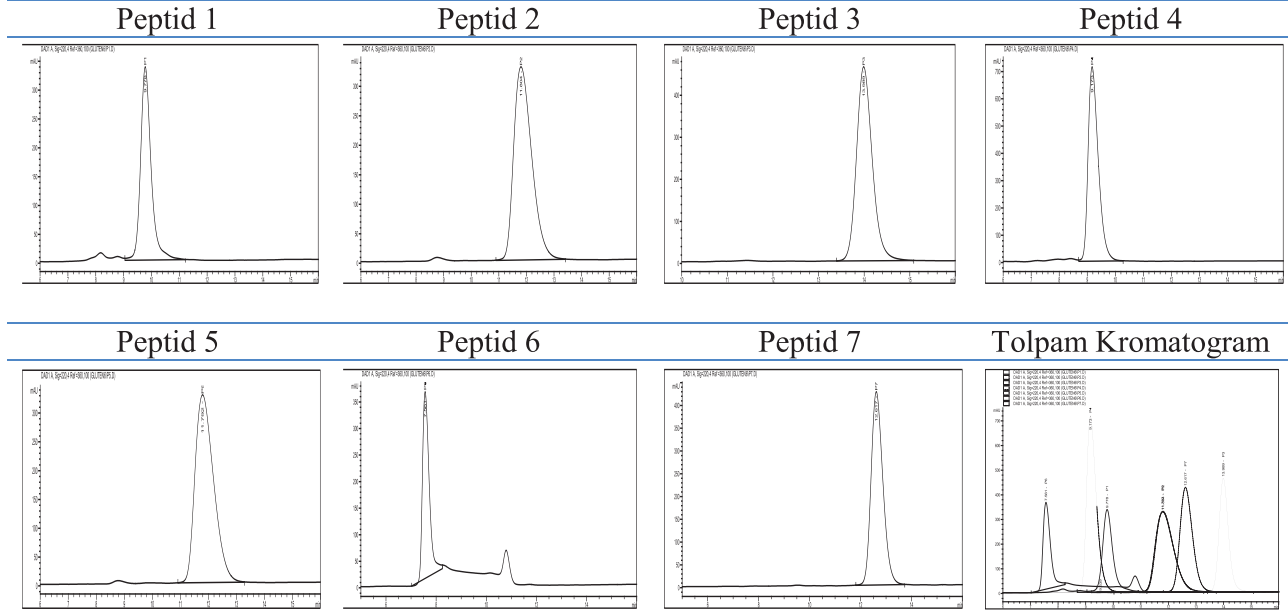
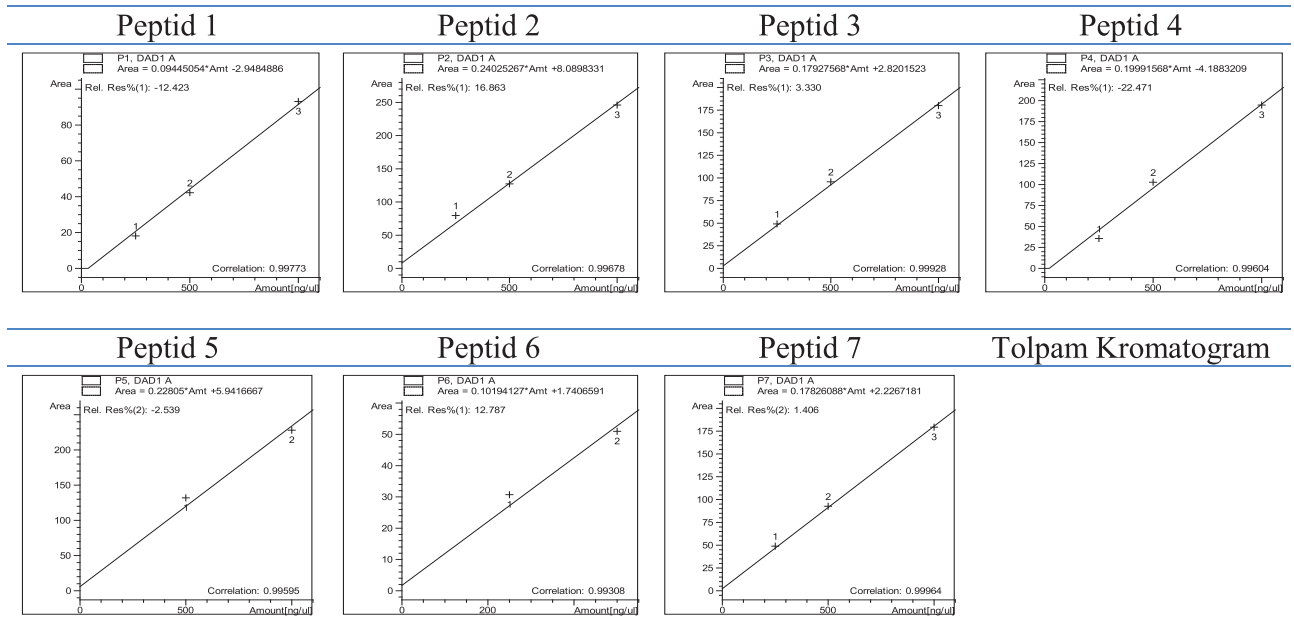
### 3.2.2.1. HPLC Yöntemi

HPLC yöntemi ile yapılan metot validasyonu ve analiz çalışmalarında (Kieffer ve ark. 2007) kullanılan cihaz parametreleri Çizelge 8'de, analiz

yapılacak olan peptidlerin kromatogramları Şekil 4'de, doğrusallığı gösteren kalibrasyon grafikleri Şekil 5'de, verilmiştir.

**Çizelge 8.** HPLC analizi için

<b>Cihaz marka/model</b>		<b>Agilent-HP1100</b>	
Kolon		ODS2 C18, 4.6x200 mm	
Dedektör/Dalga Boyu		DAD/220-360 nm	
Kolon Sıcaklığı		50 °C	
Enjeksiyon Hacmi		100 µL	
Kolon temizleme çözeltisi	Her enjeksiyon öncesi	500 µL %0,1'lik (v/v) trifluoroacetic acid (TFA)	
	Her enjeksiyon öncesi		
Mobil fazlar	A	Su (99.9%, v/v) + TFA(0.1%, v/v),	
	B	Acetonitrile (99.9%, v/v) + TFA (0.1%, v/v);	
Linear Gradient	Zaman	A%	D%
	0.00	85	15
	25.00	60	40
	25.01	0	100
	29.00	85	15
Akış hızı		1 mL/dk	

**Şekil 4:** HPLC cihazında elde edilen herbir peptid'e ait kromatogramların görüntüleri**Şekil 5.** HPLC cihazında yapılan doğrusallık çalışması sonrasında herbir peptid'e ait elde edilmiş doğrusallıkları.

### 3.2.2.2. LC-MS/MS

LC-MS/MS yöntemi ile yapılan metot validasyonu ve analiz çalışmalarında kullanılan cihaz parametreleri Çizelge 9'da verilmiştir. Peptidlerin kütle spektrometresi analiz parametreleri Çizelge 10'da verilmiştir. Çalışmadan kullanılacak olan sentetik

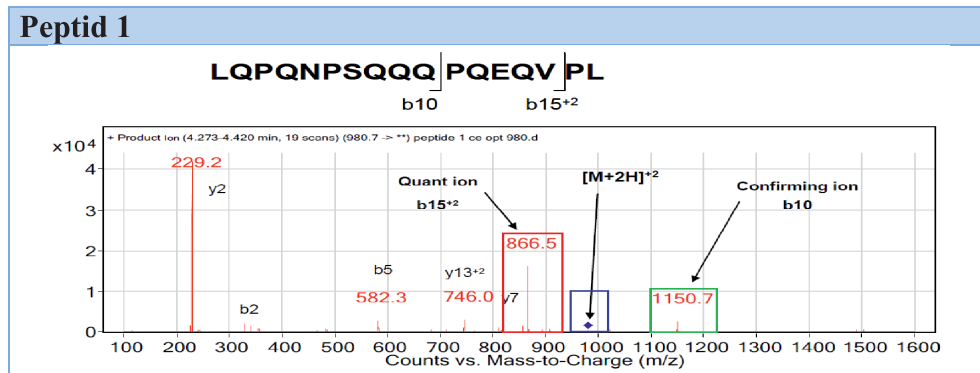
peptidlerin dizilimleri Şekil 6-7-8-9-10-11-12'de yer almaktadır. Bu çalışmada Sealey-Voyksner ve ark. (2010) ile Niewinski, M. ve ark. (2008) metotları kullanılmıştır.

Çizelge 9. Validasyon Parametreleri

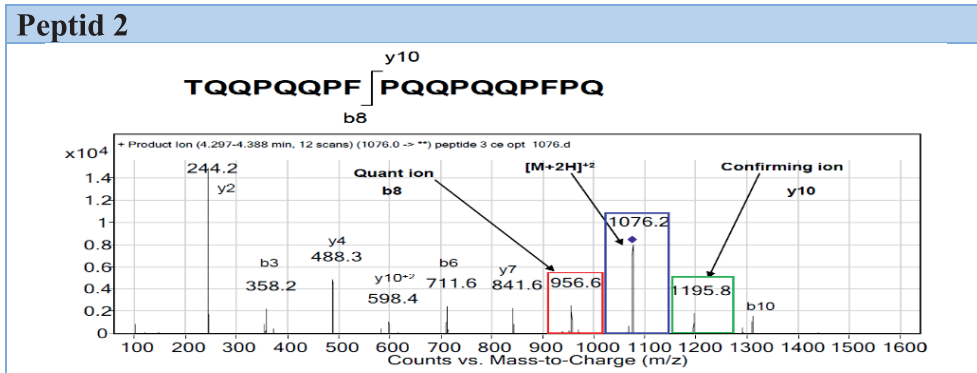
Cihaz marka/model		Waters TQD			
Mobil fazlar	A	Su %95 + ACN %5 (%0,025 TFA)			
	B	Su %5 + ACN %95 (%0,025 TFA)			
Gradient	Zaman(dk)	Akış(ml/dk)	% A	%B	
	0	0,8	95	5	
	2	0,8	95	5	
	4,5	0,8	50	50	
	6	0,8	10	90	
	7	0,8	10	90	
	7,1	0,8	95	5	
10	0,8	95	5		
Desolvation gas flow		1000 L/Hr			
Desolvation Temperature		600 °C			
Capillary Voltage (kW)		4			
Anatilik Kolon		Cortecs, C18, 2,7 µm-4,6x150mm			

Çizelge 10. Peptidlerin kütle spektrometresi analiz parametreleri

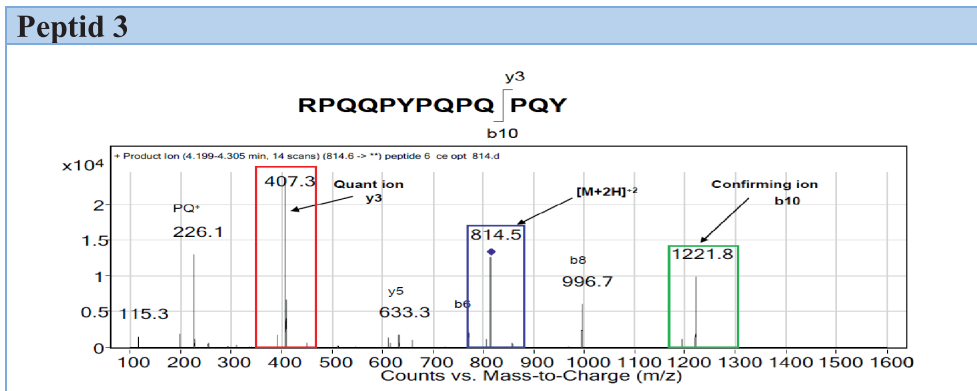
Peptide	Moleküler ağırlık	PI	DI	DwT ms	CV	CE
Peptide 1	1959.16	980,2 <sup>(+2)</sup>	866,3 <sup>(+2)</sup>	0,02	50	25
		980,2 <sup>(+2)</sup>	1150,4	0,02	50	35
Peptide 2	2149.37	1075,3 <sup>(+2)</sup>	956,5	0,02	50	30
		1075,3 <sup>(+2)</sup>	1195,4	0,02	50	30
Peptide 3	2479.80	1240,5 <sup>(+2)</sup>	1126,2 <sup>(+2)</sup>	0,02	50	33
		1240,5 <sup>(+2)</sup>	762,5	0,02	50	40
Peptide 4	1626.81	814 <sup>(+2)</sup>	407,4	0,02	50	30
		814 <sup>(+2)</sup>	1221	0,02	50	30
Peptide 5	2149.37	717,3 <sup>(+3)</sup>	244,2	0,02	50	25
		1075,5 <sup>(+2)</sup>	726,6	0,02	50	30
Peptide 6	702.77	703,3	441,2	0,02	50	25
		703,3	263,3	0,02	50	35
Peptide 7	1532.73	767,2 <sup>(+2)</sup>	918,1	0,02	50	20
		767,2 <sup>(+2)</sup>	579,9	0,02	50	20



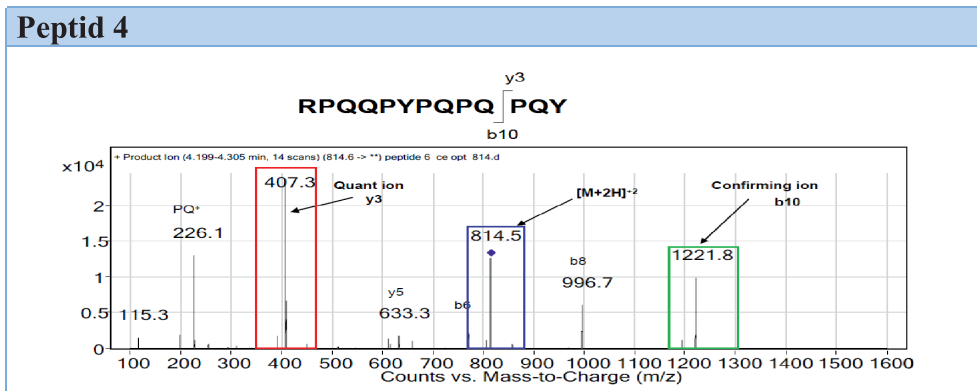
Şekil 6. Peptid 1 dizilim



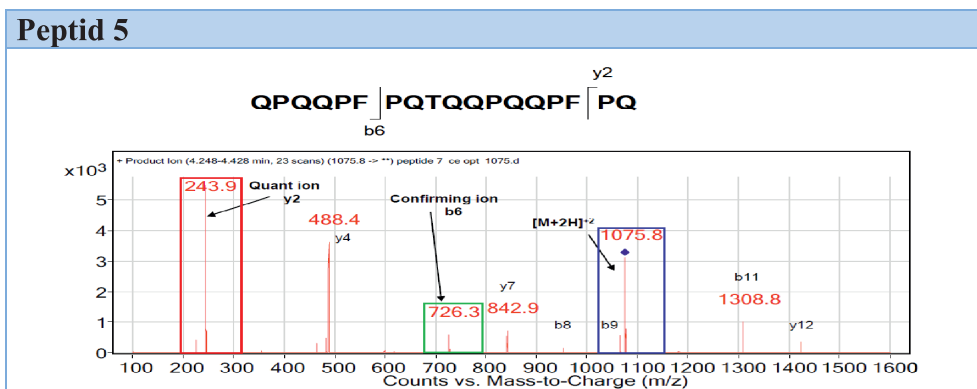
Şekil 7. Peptid 2 dizilim



Şekil 8. Peptid 3 dizilim

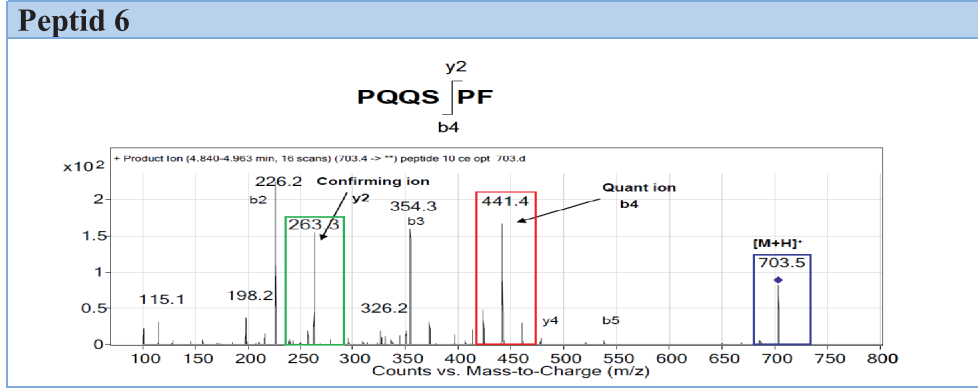


Şekil 9. Peptid 4 dizilim

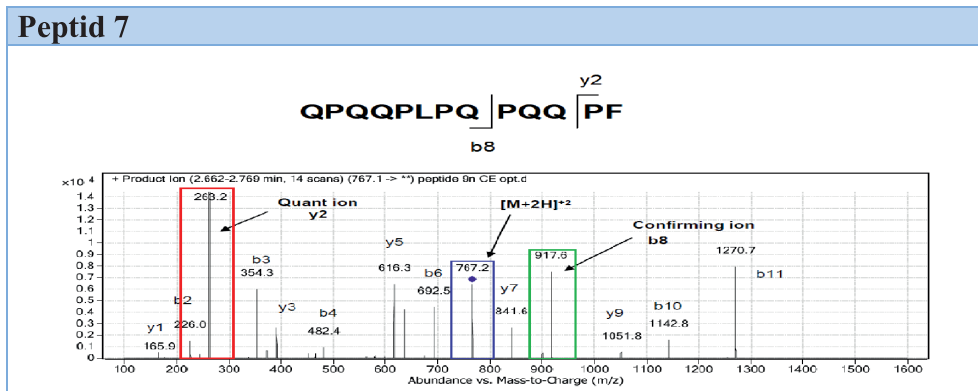


Şekil 10. Peptid 5 dizilim





Şekil 11. Peptid 6 dizilim

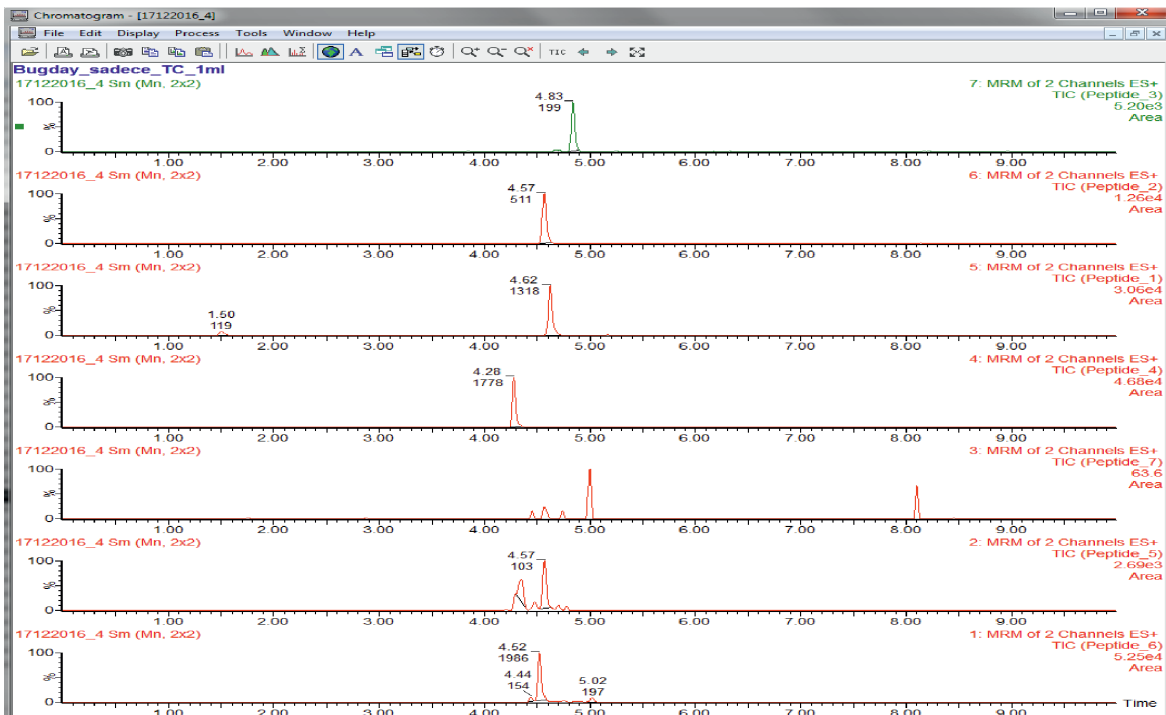


Şekil 12. Peptid 7 dizilim

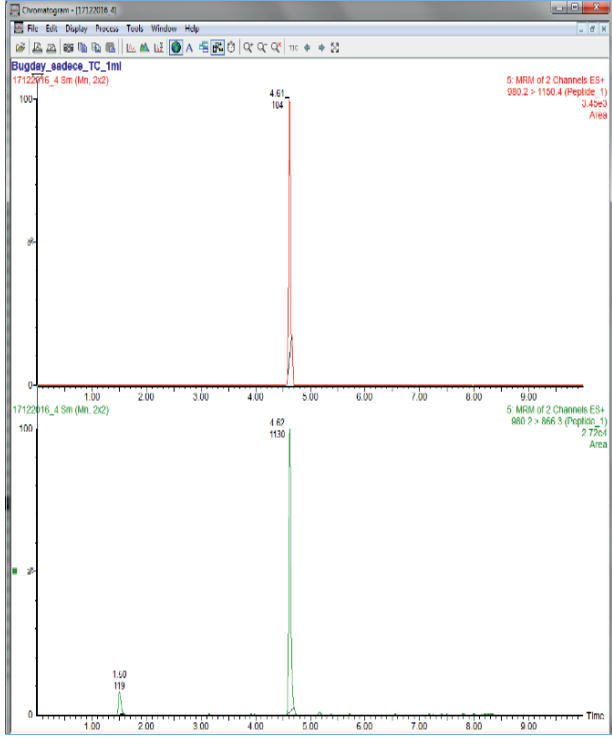
LC-MS/MS de analiz edilen peptidlerin TIC kromatogramları ve MRM (Multiple Reaction Monitoring) geçişleri Şekil 13'de verilmiştir.

Elde edilen bu peptidlerin MRM geçişleri ise Şekil 14-15-16-17-18-19-20'de verilmiştir.

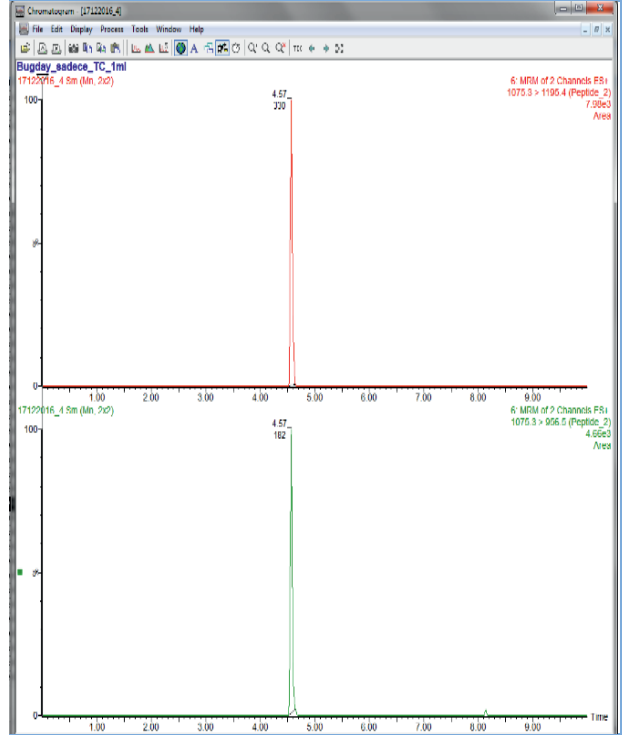
### Peptidlerin TIC (Toplam İyon Kromatografisi)



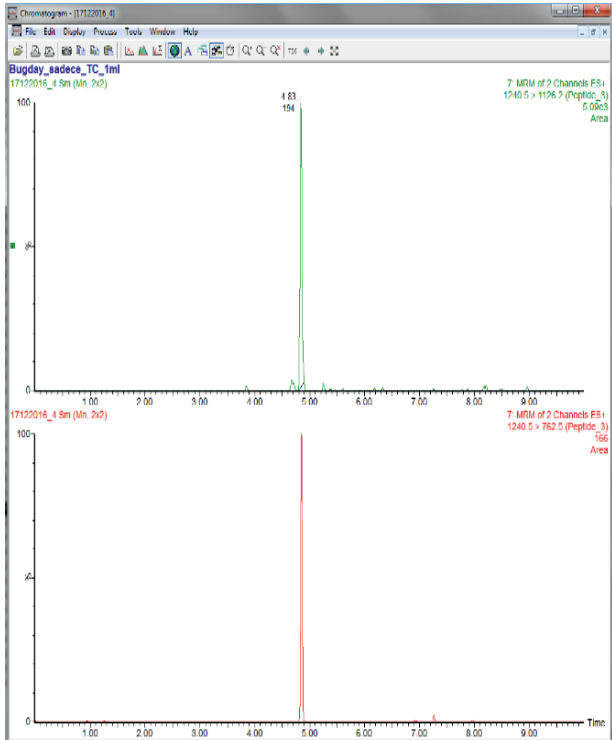
Şekil 13. TIC kromatogramları ve MRM geçişleri



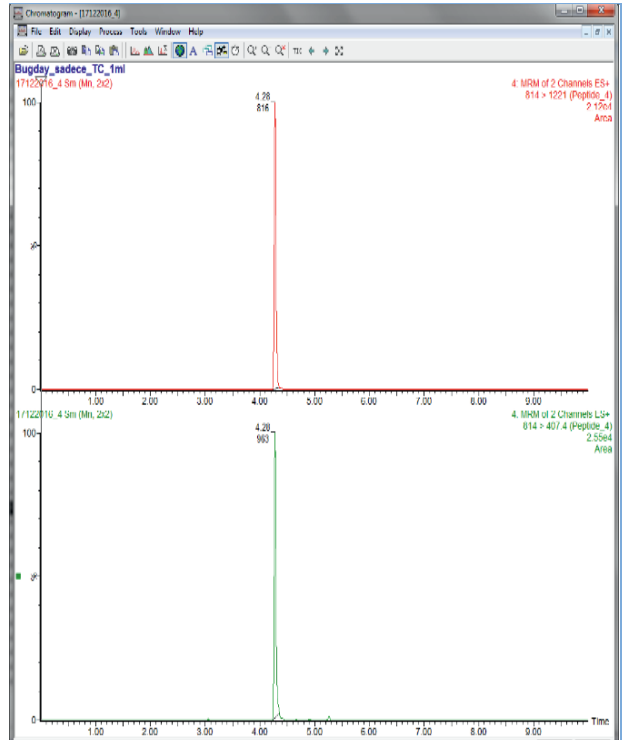
Şekil 14. Peptid 1 yavru iyon



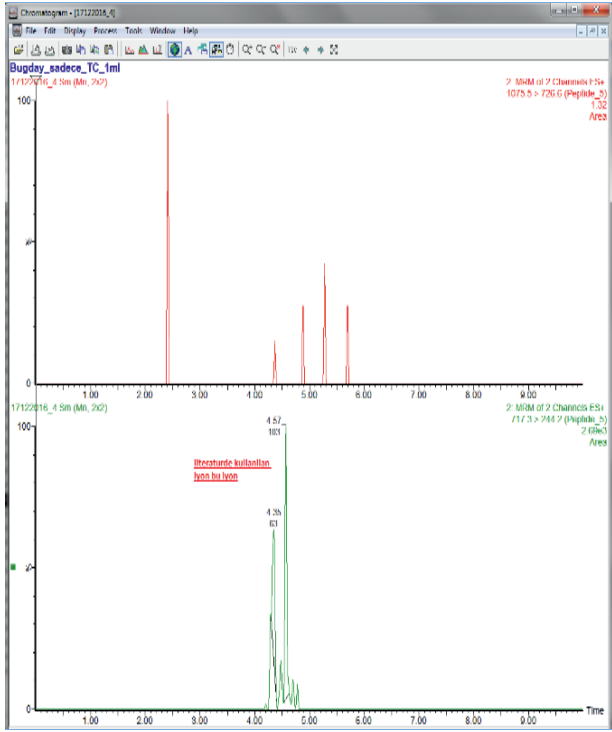
Şekil 15. Peptid 2 yavru iyon



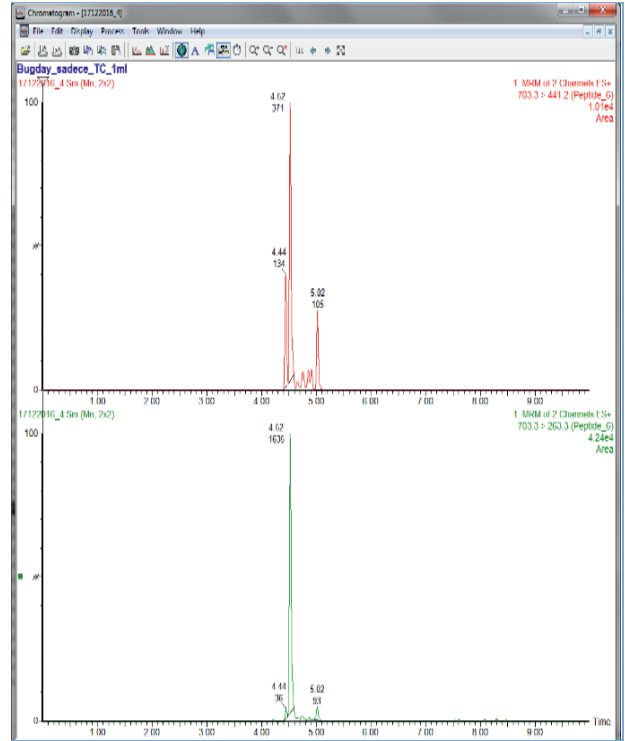
Şekil 16. Peptid 3 yavru iyon



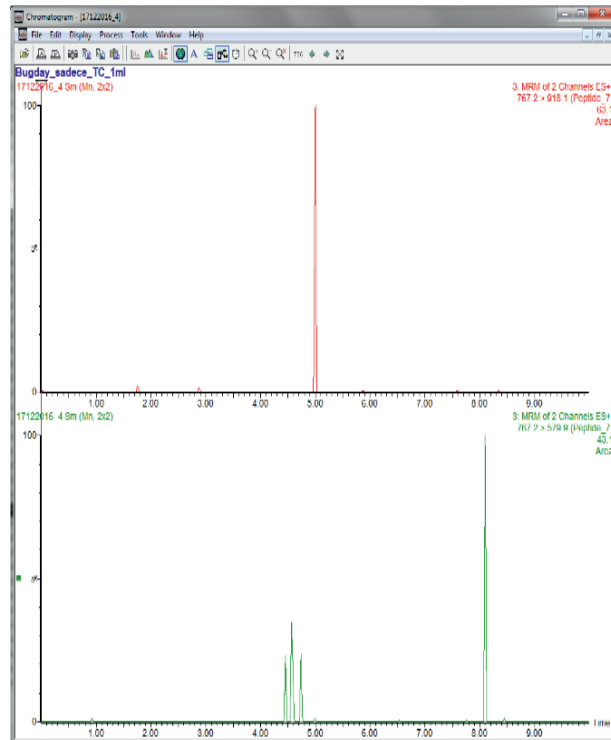
Şekil 17. Peptid 4 yavru iyon



Şekil 18. Peptid 5 yavru iyon



Şekil 19. Peptid 6 yavru iyon



Şekil 20. Peptid 7 yavru iyon

## 4. Bulgular ve Tartışma:

### 4.1. ELISA Bulguları

#### 4.1.1. LOD LOQ

En düşük konsantrasyondaki sertifikalı standart madde aynı gün içinde 12 defa analize alınarak elde edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı LOD,

10 katı LOQ olarak hesaplanmıştır. Çizelge 11'de LOD-LOQ sonuçları verilmiştir.

**Çizelge 11.** LOD-LOQ sonuçları

Analistler	Analist 1	Analist 2
15 ppm	16,16	15,52
	14,46	15,81
	16,73	15,09
	14,26	14,52
	17,19	14,81
	15,56	14,62
	14,72	14,21
	14,90	17,01
	14,21	15,33
	16,05	16,79
	15,93	15,15
	16,22	16,62
<b>SD</b>	<b>0,945345</b>	
<b>LOD</b>	<b>2,84</b>	
<b>LOQ</b>	<b>9,45</b>	

#### 4.1.2. Tekrarlanabilirlik

Glütensiz un numunesine 15 ppm düzeyinde ilave yapılan örnek aynı gün içinde 12 defa analize alınarak

elde edilen sonuçların % RSD hesaplanmıştır. Çizelge 12'de Tekrarlanabilirlik sonuçları verilmiştir.

**Çizelge 12.** Tekrarlanabilirlik sonuçları

Paralel	Analist 1	Analist 2
15 ppm	14,72	14,21
	14,90	17,01
	14,21	15,33
	16,05	16,79
	15,93	15,15
	16,22	16,62
<b>Ortalama</b>	<b>15,34</b>	<b>15,85</b>
<b>SD</b>	<b>0,834444</b>	<b>1,120007</b>
<b>RSD</b>	<b>0,054403</b>	<b>0,070656</b>
<b>n-1</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>RSD2</b>	<b>0,00296</b>	<b>0,004992</b>
<b>%RSDpool (kısa dönem)</b>		<b>6,31</b>

#### 4.1.3. Tekrarüretilebilirlik

Glütensiz un numunesine ilave yapılan örnek farklı günlerde (3 gün) içinde 6 defa analize alınarak elde

edilen sonuçlarından % RSD hesaplanmıştır. Çizelge 13'de Tekrarüretilebilirlik sonuçları verilmiştir.

**Çizelge 13.** Tekrarüretilebilirlik sonuçları

15 ppm	Analist 1	Analist 2
Gün 1	16,16	15,52
	14,46	15,81
Gün 2	16,73	15,09
	14,26	14,52
Gün 3	17,19	14,81
	15,56	14,62
<b>Ortalama</b>	<b>15,73</b>	<b>15,06</b>
<b>SD</b>	<b>1,1932421</b>	<b>0,51433128</b>
<b>RSD</b>	<b>0,0758738</b>	<b>0,03414836</b>
<b>n-1</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>RSD2</b>	<b>0,0057568</b>	<b>0,00116611</b>
<b>%RSDpool (uzun dönem)</b>		<b>5,88</b>

ELISA ile yapılan validasyon çalışmalarının sonuçları Çizelge 14’de özetlenmiştir.

**Çizelge 14.** ELISA Validasyon Çalışması Özeti

ELISA VALİDASYON SONUÇLARI	
PARAMETRELER	VERİLER
TEKRARLANABİLİRLİK VE TEKRAR ÜRETİLEBİLİRLİK(%RSDpool)	
Tekrarlanabilirlik (KISA DÖNEM)	6.31
Tekrarüretilebilirlik (UZUN DÖNEM)	5.88
LOD (SDX3)	2.84
LOQ (SDX10)	9.45

ELISA testi ile gerçekleştirilen analizlere ait numune ve sonuçları Çizelge 15-16’da verilmiştir.

**Çizelge 15.** ELISA yöntemi ile yapılan numuneler

ELISA yöntemi ile yapılan numuneler				
Ana Ürün Özelliği	Ürün	Paralel Sayısı	Tekerrür Sayısı	Toplam
Glütensiz	un	2	6	12

**Çizelge 16.** ELISA yöntemi ile yapılan numune analiz sonuçları

ELISA yöntemi ile yapılan numune analiz sonuçları			
Ekstraksiyon adeti	Paralel 1 (ppm)	Paralel 2(ppm)	Ortalama
1	<10	<10	<10
2	<10	<10	<10
3	<10	<10	<10
4	<10	<10	<10
5	<10	<10	<10
6	<10	<10	<10

## 4.2. HPLC Bulguları

### 4.2.1. LOD ve LOQ

Glütensiz un numunesine 500 mg/kg ilave yapılan örnek aynı gün içinde 12 defa analize alınarak elde

edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı LOD 10 katı LOQ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 17).

**Çizelge 17.** HPLC LOD ve LOQ Değerleri

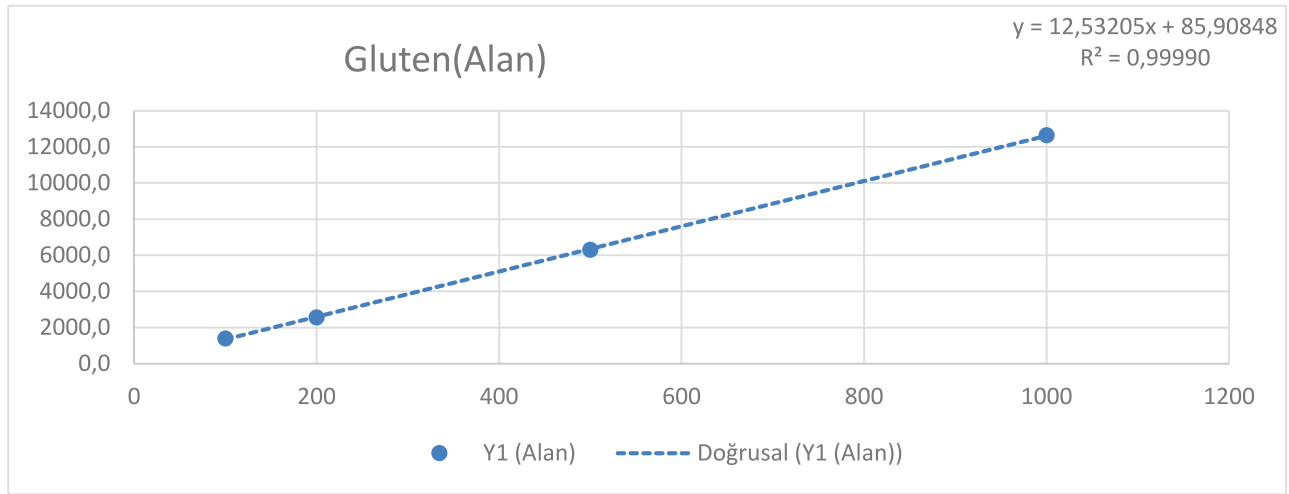
LOD & LOQ							
Tekrar Sayısı	İlavet Teorik (mg/kg)	1.paralel (mg/kg)	Geri Kazanım (%)	Uygunluk	2.paralel (mg/kg)	Geri Kazanım (%)	Uygunluk
1	500	467,45	93,49	Uygun	469,91	93,98	Uygun
2	500	488,82	97,76	Uygun	465,54	93,11	Uygun
3	500	486,65	97,33	Uygun	492,21	98,44	Uygun
4	500	491,27	98,25	Uygun	493,33	98,67	Uygun
5	500	471,71	94,34	Uygun	496,74	99,35	Uygun
6	500	466,69	93,34	Uygun	482,22	96,44	Uygun
7	500	468,82	93,76	Uygun	478,78	95,76	Uygun
8	500	492,22	98,44	Uygun	488,85	97,77	Uygun
9	500	491,71	98,34	Uygun	475,74	95,15	Uygun
10	500	477,74	95,55	Uygun	469,92	93,98	Uygun
11	500	469,99	94,00	Uygun	489,21	97,84	Uygun
12	500	488,84	97,77	Uygun	488,84	97,77	Uygun
<b>ORT</b>		480,16			482,61		
<b>SS</b>		10,65			10,46		
<b>RSDr</b>		0,02			0,02		
<b>% RSDr</b>		2,22			2,17		
<b>LOD (3ss)</b>		31,94			31,38		
<b>LOQ (10ss)</b>		106,47			104,61		

#### 4.2.2. Doğrusallık

Bu çalışmada sertifikalı referans maddeler kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şelik 21). Hesaplanan değerler Çizelge 18’de verilmiştir.

**Çizelge 18.** HPLC Doğrusallık değerleri

Kalibrasyon verileri			
Kalibrasyon ( $y=a+bx$ )			
(kons)	Y1 (Alan)	Y2 (Alan)	ORT
100	1398,7	1398,7	1398,7
100	1362,9	1362,9	1362,9
100	1437,4	1437,4	1437,4
200	2550,6	2550,6	2550,6
200	2546,9	2546,9	2546,9
200	2550,7	2550,7	2550,7
500	6363,9	6363,9	6363,9
500	6273,5	6273,5	6273,5
500	6296,9	6296,9	6296,9
1000	12455,7	12455,7	12455,7
1000	12714,3	12714,34	12714,3
1000	12752,0	12752,0	12752,0
a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)			85,90848
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)			12,53205
S (residuel standart sapma)			90,6
$r^2$ (her bir konsantrasyon için okuma sayısı)			0,9999



**Şekil 21.** HPLC Doğrusallık grafiği

#### 4.2.3. Tekrarlanabilirlik

Glütensiz un numunesine 1400 ve 3500 ppm (7 peptidin toplam konsantrasyonu) ilave yapılan örnek aynı gün içinde 12 defa analize alınarak elde

edilen sonuçların % RSD hesaplanmıştır ve Çizelge 19’da verilmiştir.

**Çizelge 19.** HPLC Tekrarlanabilirlik değerleri

Tekrarlanabilirlik			
Konsantrasyon:			
mg/kg	n	1400	3500
	1	1263,01	3329,62
	2	1283,93	3359
	3	1257,3	3375,25
	4	1280,06	3407,5
	5	1294,43	3363,98
	6	1299,03	3366,85
<b>Ortalama</b>		1279,63	3367,03
<b>Standart sapma</b>		16,67	25,21
<b>RSD</b>		0,013	0,007
<b>%RSD</b>		1,30	0,75

#### 4.2.4. Tekrarüretilebilirlik:

Glütensiz un numunesine 1400 ve 3500 ppm (7 peptidin toplam konsantrasyonu) ilave yapılan

örnek farklı günlerde analize alınarak elde edilen sonuçların % RSD hesaplanmıştır ve Çizelge 20'de verilmiştir.

**Çizelge 20. HPLC Tekrarüretilebilirlik değerleri**

Tekrarüretilebilirlik Birinci konsantrasyon:													
1400 ppm	Zaman dilimi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Paralel 1	1263,0	1283,9	1257,3	1280,1	1294,4	1299	1251	1270,3	1268,4	1251,6	1257,3	1293,4
	Paralel 2	1275,3	1295,2	1265,8	1275,3	1286,2	1288,3	1565,6	1282,6	1277,5	1260,3	1264,5	1286,8
	ort	1269,2	1289,6	1261,6	1277,7	1290,3	1293,7	1408,3	1276,4	1273,0	1256,0	1260,9	1290,1
	std sapma	8,7	8,0	6,0	3,4	5,8	7,6	222,5	8,7	6,4	6,1	5,0	4,7
	%RSD	0,7	0,6	0,5	0,3	0,5	0,6	15,8	0,7	0,5	0,5	0,4	0,4
Tekrarüretilebilirlik İkinci konsantrasyon:													
3500 ppm	Zaman dilimi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Paralel 1	3329,62	3359	3375,3	3407,5	3364	3366,9	3365,2	3420	3365,86	3359,97	3356,89	3350,41
	Paralel 2	3389,6	3375,6	3401,1	3427,9	3379,8	3369,4	3347,1	3455,8	3345,1	3381,2	3316,8	3362,7
	ort	3359,6	3367,3	3388,2	3417,7	3371,9	3368,1	3356,1	3437,9	3355,5	3370,6	3336,8	3356,6
	std sapma	42,4	11,7	18,3	14,4	11,2	1,8	12,8	25,3	14,7	15,0	28,3	8,7
	%RSD	1,3	0,3	0,5	0,4	0,3	0,1	0,4	0,7	0,4	0,4	0,8	0,3

#### 4.2.5. Geri Kazanım

Glütensiz un numunesine ilave yapılan örnek farklı günlerde 12 defa analize alınarak elde edilen

sonuçların geri kazanımı hesaplanmıştır ve Çizelge 21'de verilmiştir.

**Çizelge 21. HPLC Geri Kazanım değerleri**

GeriKazanım						
Birinci konsantrasyon:	n	1400	3500	% r 200 ppm	% r 500 ppm	AOAC %90-107 gerçeklik kontrolü
		200ppm	500 ppm			
Glüten	1	1263,01	3329,62	90,22	95,13	uygun
	2	1283,93	3359	91,71	95,97	uygun
	3	1257,3	3375,25	89,81	96,44	uygun
	4	1280,06	3407,5	91,43	97,36	uygun
	5	1294,43	3363,98	92,46	96,11	uygun
	6	1299,03	3366,85	92,79	96,20	uygun
	7	1250,98	3365,18	89,36	96,15	uygun
	8	1270,28	3419,99	90,73	97,71	uygun
	9	1268,47	3365,86	90,61	96,17	uygun
	10	1251,65	3359,97	89,40	96,00	uygun
	11	1257,38	3356,89	89,81	95,91	uygun
	12	1293,44	3350,41	92,39	95,73	uygun
% R- Ortalama				90,9	96,2	
% R- Standart sapma				1,23	0,69	

#### 4.2.6. Belirsizlik

Belirsizlik değerleri Çizelge 22’de verilmiştir.

Çizelge 22. Belirsizlik değerleri

TOPLAM BELİRSİZLİK				
Parametre		Değer (X)	u(X)	u(X)/X
Kalibrasyon		100,0	5,12	0,051
Geri kazanım		90,9	0,356	0,004
Tekrarlanabilirlik		1	0,011	0,011
Tekrarüretilebilirlik		1	0,044	0,044
Relatif birleşik belirsizlik				0,069
*Genişletilmiş relatif birleşik belirsizlik				0,137
Toplam birleşik belirsizlik=				Relatif birleşik belirsizlik * Ölçüm sonucu
*Genişletilmiş toplam birleşik belirsizlik				Genişletilmiş relatif birleşik belirsizlik*Ölçüm sonucu
Raporlama				X ± (Genişletilmiş relatif birleşik belirsizlik) *X
*%95 güven aralığı, k=2				
X :ölçüm sonucu (ppm)				
GLÜTEN				
Ölçüm sonucu (X):	100	ppm		
Raporlama:	100	±	13,75	mg/kg

#### 4.3. LC MS Bulgular

##### 4.3.1. LOD ve LOQ

En düşük konsantrasyondaki sertifikalı standart madde aynı gün içinde 12 defa analize alınarak elde edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı LOD.

10 katı LOQ olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler Çizelge 23’de verilmiştir.

Çizelge 23. LC MS/MS LOD-LOQ Değerleri

LOD-LOQ	
n	Konsantrasyon ppm
1	82,392
2	87,020
3	73,130
4	84,156
5	89,398
6	79,380
7	69,510
8	75,993
9	74,842
10	76,000
Ortalama	79,18
SD	6,41
LoD	19,24
LoQ	64,13



### 4.3.2. Doğrusallık

Bu çalışmada sertifikalı referans maddeler kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

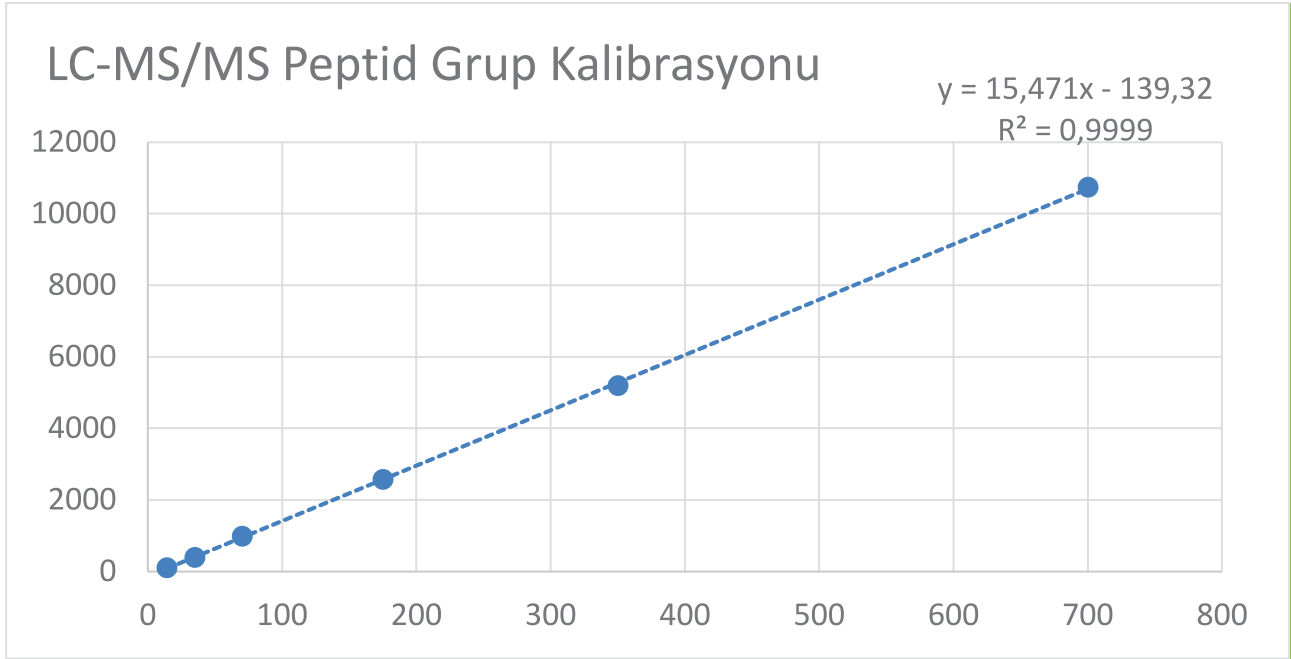
Hesaplanan değerler Çizelge 24'de ve Şekil 22'de verilmiştir.

Çizelge 24. LC MS Doğrusallık hesaplamaları

Kalibrasyon verileri	
X (kons)	Y1 (Alan) ORT
14	15,1
35	34,2
70	72,8
175	174,7
350	344,5
700	702,5
<b>a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)</b>	<b>15,471</b>
<b>b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)</b>	<b>-139,32</b>
<b>S (residuel standart sapma)</b>	<b>36,9</b>

$r^2$  (her bir konsantrasyon için okuma sayısı)

0,9999



Şekil 22. LS MS Doğrusallık grafiği

### 4.3.3. Tekrarlanabilirlik

Glütensiz un numunesine ilave yapılan örnek aynı gün içinde 12 defa analize alınarak elde edilen

sonuçların % RSD hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler Çizelge 25’de verilmiştir.

**Çizelge 25.** LC MS/MS Tekrarlanabilirlik verileri

Tekrarlanabilirlik					Tekrarlanabilirlik				
I.Analist					II.Analist				
Birinci konsantrasyon:		10		ppm	Birinci konsantrasyon:		10		ppm
I.Konsantrasyon	n	Enj.1	Enj. 2	ort	I.Konsantrasyon	n	Enj.1	Enj. 2	ort
	1	101,95	82,39	92,17		1	89,16	79,38	84,27
	2	103,46	87,02	95,24		2	92,47	68,00	80,24
	3	86,66	73,13	79,90		3	84,33	69,51	76,92
	4	104,10	84,16	94,13		4	84,24	75,99	80,12
	5	108,32	89,40	98,86		5	100,03	74,84	87,44
	6	124,33	77,01	100,67		6	116,02	76,00	96,01
Ortalama					Ortalama				84,17
Standart sapma					Standart sapma				6,86
RSD					RSD				0,08
I.Analist					II.Analist				
İkinci konsantrasyon:		50		ppm	İkinci konsantrasyon:		50		ppm
II.Konsantrasyon	n	Enj.1	Enj. 2	ort	II.Konsantrasyon	n	Enj.1	Enj. 2	ort
	1	313,69	227,73	270,71		1	313,61	234,29	273,95
	2	349,86	274,31	312,08		2	349,67	272,24	310,96
	3	292,59	241,49	267,04		3	312,47	234,62	273,55
	4	385,42	272,81	329,12		4	366,46	263,73	315,10
	5	327,75	245,21	286,48		5	311,03	234,83	272,93
	6	364,91	270,73	317,82		6	334,37	248,98	291,68
Ortalama					Ortalama				289,69
Standart sapma					Standart sapma				19,45
RSD					RSD				0,07
I.Analist - %RSDpool					I.Analist -% RSDpool				7,5

### 4.3.4. Tekrarüretilebilirlik

Glütensiz un numunesine ilave yapılan örnek farklı günlerde (6 gün) içinde 6 defa analize alınarak elde

edilen sonuçlardan % RSD hesaplandı. Çizelge 26’da tekrarüretilebilirlik verileri yer almaktadır.

**Çizelge 26.** LC MS/MS Tekrarüretilebilirlik verileri

Tekrarüretilebilirlik										
Birinci konsantrasyon:		10		ppm		GÜNLER ARASI				
Zaman	1. zaman	2. zaman	3. zaman	4. zaman	5. zaman	6. zaman	ort	std sapma	%RSD	
I.Analist	92,1	95,2	79,9	94,1	98,8	100,6	93,49	7,35	7,9	
II.Analist	84,2	80,2	76,9	80,1	87,4	96,0	84,17	6,86	8,2	
KİŞİLER ARASI	ort	88,2	87,7	78,4	87,1	93,1	98,3			
	std sapma	5,59	10,61	2,10	9,91	8,08	3,30			
	RSD	0,063	0,121	0,027	0,114	0,087	0,034			
İkinci konsantrasyon:		50		ppm		GÜNLER ARASI				
Zaman dilimi	1. zaman	2. zaman	3.z aman	4. zaman	5. zaman	6. zaman	ort	std sapma	RSD	
I.Analist	270,7	312,0	267,0	329,1	286,4	317,8	297,21	26,04	8,8	
II.Analist	273,9	310,9	273,5	315,1	272,9	291,6	289,69	19,45	6,7	
KİŞİLER ARASI	ort	272,3	311,5	270,3	322,1	279,7	304,7			
	std sapma	2,290	0,798	4,600	9,911	9,584	18,485			
	%RSD	0,008	0,003	0,017	0,031	0,034	0,061			

### 4.3.5. Geri Kazanım

Glüten içermeyen pirinç ununa 7 adet peptidin herbirinden 10 ve 50 mg/kg konsantrasyondaki

sentetik peptidlerden ilave yapıldı. Elde edilen sonuçların uygunluk değerlendirmesi Çizelge 27’de yer almaktadır.

**Çizelge 27.** LC MS/MS Geri Kazanım Uygunluk Değerlendirilmesi

GeriKazanım					
Birinci konsantrasyon:		70	ppm		
	n	enjeksiyoı	enjeksiyoı	ort	% R
	1	82,39	79,38	80,89	115,6
	2	87,02	68,00	77,51	110,7
	3	73,13	69,51	71,32	101,9
	4	84,16	75,99	80,07	114,4
	5	89,40	74,84	82,12	117,3
	6	77,01	76,00	76,51	109,3
İkinci konsantrasyon:		350	ppm		
	n	Enj. 1	Enj. 2	ort	% R
	7	313,69	313,61	313,65	89,6
	8	349,86	349,67	349,77	99,9
	9	292,59	312,47	302,53	86,4
	10	385,42	366,46	375,94	107,4
	11	327,75	311,03	319,39	91,3
	12	364,91	334,37	349,64	99,9
% R- Ortalama					
% R- Standart sapma					

### 4.3.6. Belirsizlik

Belirsizlik değerleri Çizelge 28’de verilmiştir.

**Çizelge 28.** LC MS Belirsizlik Değerleri

TOPLAM BELİRSİZLİK				
Parametre		Değer (X)	u(X)	u(X)/X
Kalibrasyon		35,0	2,00	0,057
Geri kazanım		103,6	3,037	0,029
Tekrarlanabilirlik		1	0,083	0,083
Tekrarüretilebilirlik		1	0,087	0,087
Relatif birleşik belirsizlik				0,137
*Genişletilmiş relatif birleşik belirsizlik				0,273
Toplam birleşik belirsizlik=				Relatif birleşik belirsizlik * Ölçüm sonucu
*Genişletilmiş toplam birleşik belirsizlik =				Genişletilmiş relatif birleşik belirsizlik*Ölçüm sonucu
Raporlama				X ± (Genişletilmiş relatif birleşik belirsizlik) *X
*%95 güven aralığı, k=2				
X :ölçüm sonucu (ppm)				
Toplam Peptid				
Ölçüm sonucu (X):	35	ppb		
Raporlama:	35	±	9,56851	µg/kg
	0,035	±	0,00957	mg/kg

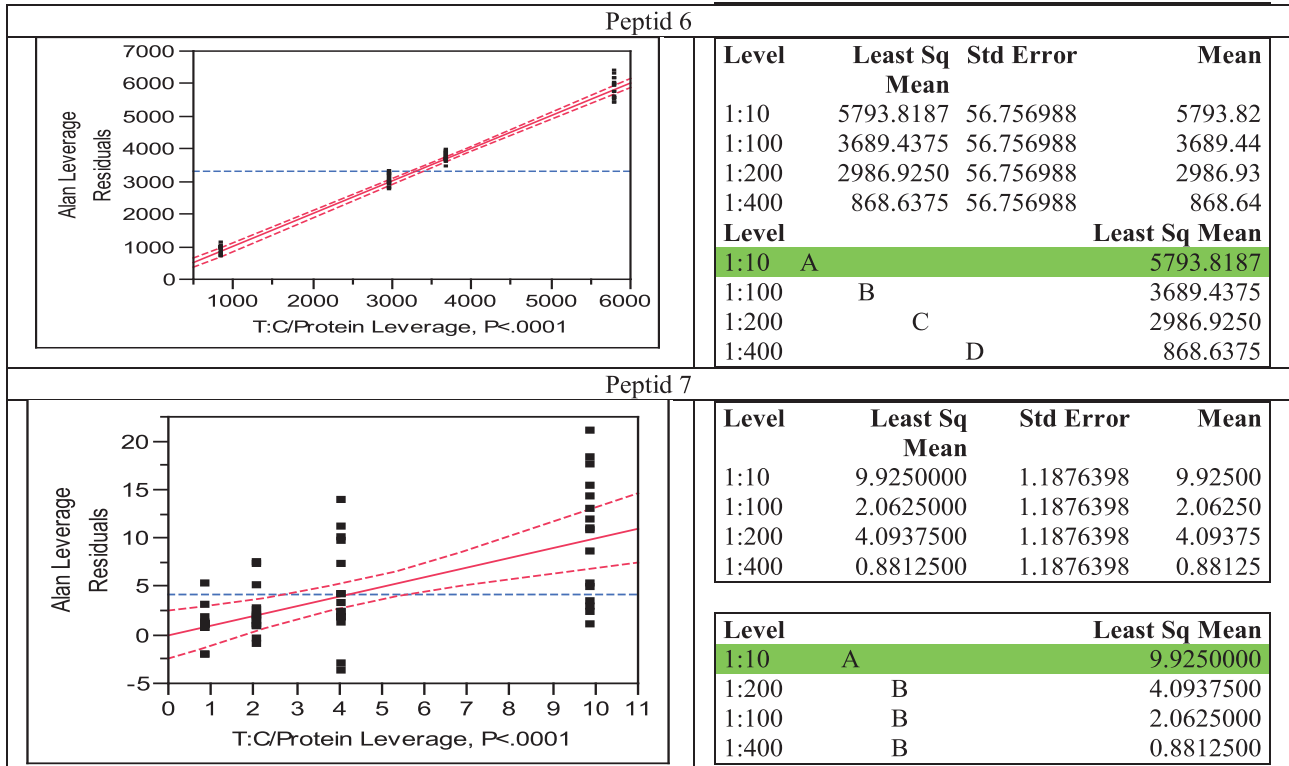
### 4.3.7. Numune hazırlama optimizasyonu

Glüten proteininden beklenen numune hazırlama sonrasında belirlenmiş olan peptidlerin en fazla düzeyde elde edilmesine yönelik olarak protein enzim oranının belirlenmesi, enzim reaksiyon süresi ve ultrasonik uygulaması çeşitli ölçütlerde denenmiştir.

#### 4.3.7.1. Protein/Enzim oranının denemesi

Proteinin parçalanarak en fazla miktarda peptid oluşumunun sağlanmasına yönelik uygun enzim:protein oranının belirlenmesi için farklı düzeylerde (1:10, 1:100, 1:200, 1:400) çalışma yapılmış ve istatistiksel olarak değerlendirme yapılmıştır. İstatistiksel olarak elde edilen değerlendirmeler Çizelge:23’de verilmiş olup en iyi enzim:protein performansın genel olarak tüm peptidler için 1:10 olduğu görülmüştür.

T:C/Protein Oranı																																									
Peptid 1																																									
<p>Alan Leverage Residuals</p> <p>T:C/Protein Leverage, P&lt;.0001</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Level</th> <th>Least Sq Mean</th> <th>Std Error</th> <th>Mean</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1:10</td> <td>5617.3625</td> <td>56.257181</td> <td>5617.36</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>3676.7313</td> <td>56.257181</td> <td>3676.73</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>2982.9813</td> <td>56.257181</td> <td>2982.98</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>868.2375</td> <td>56.257181</td> <td>868.24</td> </tr> <tr> <th>Level</th> <th colspan="3">Least Sq Mean</th> </tr> <tr> <td>1:10</td> <td>A</td> <td></td> <td>5617.3625</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>B</td> <td></td> <td>3676.7313</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>C</td> <td></td> <td>2982.9813</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>D</td> <td></td> <td>868.2375</td> </tr> </tbody> </table>	Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean	1:10	5617.3625	56.257181	5617.36	1:100	3676.7313	56.257181	3676.73	1:200	2982.9813	56.257181	2982.98	1:400	868.2375	56.257181	868.24	Level	Least Sq Mean			1:10	A		5617.3625	1:100	B		3676.7313	1:200	C		2982.9813	1:400	D		868.2375
Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean																																						
1:10	5617.3625	56.257181	5617.36																																						
1:100	3676.7313	56.257181	3676.73																																						
1:200	2982.9813	56.257181	2982.98																																						
1:400	868.2375	56.257181	868.24																																						
Level	Least Sq Mean																																								
1:10	A		5617.3625																																						
1:100	B		3676.7313																																						
1:200	C		2982.9813																																						
1:400	D		868.2375																																						
Peptid 2																																									
<p>Alan Leverage Residuals</p> <p>T:C/Protein Leverage, P&lt;.0001</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Level</th> <th>Least Sq Mean</th> <th>Std Error</th> <th>Mean</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1:10</td> <td>1094.7563</td> <td>11.583340</td> <td>1094.76</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>68.2063</td> <td>11.583340</td> <td>68.21</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>1.5938</td> <td>11.583340</td> <td>1.59</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>0.3437</td> <td>11.583340</td> <td>0.34</td> </tr> <tr> <th>Level</th> <th colspan="3">Least Sq Mean</th> </tr> <tr> <td>1:10</td> <td>A</td> <td></td> <td>1094.7563</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>B</td> <td></td> <td>68.2063</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>C</td> <td></td> <td>1.5938</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>C</td> <td></td> <td>0.3437</td> </tr> </tbody> </table>	Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean	1:10	1094.7563	11.583340	1094.76	1:100	68.2063	11.583340	68.21	1:200	1.5938	11.583340	1.59	1:400	0.3437	11.583340	0.34	Level	Least Sq Mean			1:10	A		1094.7563	1:100	B		68.2063	1:200	C		1.5938	1:400	C		0.3437
Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean																																						
1:10	1094.7563	11.583340	1094.76																																						
1:100	68.2063	11.583340	68.21																																						
1:200	1.5938	11.583340	1.59																																						
1:400	0.3437	11.583340	0.34																																						
Level	Least Sq Mean																																								
1:10	A		1094.7563																																						
1:100	B		68.2063																																						
1:200	C		1.5938																																						
1:400	C		0.3437																																						
Peptid 3																																									
<p>Alan Leverage Residuals</p> <p>T:C/Protein Leverage, P&lt;.0001</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Level</th> <th>Least Sq Mean</th> <th>Std Error</th> <th>Mean</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1:10</td> <td>1216.2125</td> <td>86.187745</td> <td>1216.21</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>4113.3375</td> <td>86.187745</td> <td>4113.34</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>2905.3625</td> <td>86.187745</td> <td>2905.36</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>436.5500</td> <td>86.187745</td> <td>436.55</td> </tr> <tr> <th>Level</th> <th colspan="3">Least Sq Mean</th> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>A</td> <td></td> <td>4113.3375</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>B</td> <td></td> <td>2905.3625</td> </tr> <tr> <td>1:10</td> <td>C</td> <td></td> <td>1216.2125</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>D</td> <td></td> <td>436.5500</td> </tr> </tbody> </table>	Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean	1:10	1216.2125	86.187745	1216.21	1:100	4113.3375	86.187745	4113.34	1:200	2905.3625	86.187745	2905.36	1:400	436.5500	86.187745	436.55	Level	Least Sq Mean			1:100	A		4113.3375	1:200	B		2905.3625	1:10	C		1216.2125	1:400	D		436.5500
Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean																																						
1:10	1216.2125	86.187745	1216.21																																						
1:100	4113.3375	86.187745	4113.34																																						
1:200	2905.3625	86.187745	2905.36																																						
1:400	436.5500	86.187745	436.55																																						
Level	Least Sq Mean																																								
1:100	A		4113.3375																																						
1:200	B		2905.3625																																						
1:10	C		1216.2125																																						
1:400	D		436.5500																																						
Peptid 4																																									
<p>Alan Leverage Residuals</p> <p>T:C/Protein Leverage, P&lt;.0001</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Level</th> <th>Least Sq Mean</th> <th>Std Error</th> <th>Mean</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1:10</td> <td>3779.7563</td> <td>62.466930</td> <td>3779.76</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>4571.8063</td> <td>62.466930</td> <td>4571.81</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>1747.2250</td> <td>62.466930</td> <td>1747.22</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>67.6500</td> <td>62.466930</td> <td>67.65</td> </tr> <tr> <th>Level</th> <th colspan="3">Least Sq Mean</th> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>A</td> <td></td> <td>4571.8063</td> </tr> <tr> <td>1:10</td> <td>B</td> <td></td> <td>3779.7563</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>C</td> <td></td> <td>1747.2250</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>D</td> <td></td> <td>67.6500</td> </tr> </tbody> </table>	Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean	1:10	3779.7563	62.466930	3779.76	1:100	4571.8063	62.466930	4571.81	1:200	1747.2250	62.466930	1747.22	1:400	67.6500	62.466930	67.65	Level	Least Sq Mean			1:100	A		4571.8063	1:10	B		3779.7563	1:200	C		1747.2250	1:400	D		67.6500
Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean																																						
1:10	3779.7563	62.466930	3779.76																																						
1:100	4571.8063	62.466930	4571.81																																						
1:200	1747.2250	62.466930	1747.22																																						
1:400	67.6500	62.466930	67.65																																						
Level	Least Sq Mean																																								
1:100	A		4571.8063																																						
1:10	B		3779.7563																																						
1:200	C		1747.2250																																						
1:400	D		67.6500																																						
Peptid 5																																									
<p>Alan Leverage Residuals</p> <p>T:C/Protein Leverage, P&lt;.0001</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Level</th> <th>Least Sq Mean</th> <th>Std Error</th> <th>Mean</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1:10</td> <td>834.78750</td> <td>24.280435</td> <td>834.788</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>131.30625</td> <td>24.280435</td> <td>131.306</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>15.70000</td> <td>24.280435</td> <td>15.700</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>1.13750</td> <td>24.280435</td> <td>1.138</td> </tr> <tr> <th>Level</th> <th colspan="3">Least Sq Mean</th> </tr> <tr> <td>1:10</td> <td>A</td> <td></td> <td>834.78750</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>B</td> <td></td> <td>131.30625</td> </tr> <tr> <td>1:200</td> <td>C</td> <td></td> <td>15.70000</td> </tr> <tr> <td>1:400</td> <td>C</td> <td></td> <td>1.13750</td> </tr> </tbody> </table>	Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean	1:10	834.78750	24.280435	834.788	1:100	131.30625	24.280435	131.306	1:200	15.70000	24.280435	15.700	1:400	1.13750	24.280435	1.138	Level	Least Sq Mean			1:10	A		834.78750	1:100	B		131.30625	1:200	C		15.70000	1:400	C		1.13750
Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean																																						
1:10	834.78750	24.280435	834.788																																						
1:100	131.30625	24.280435	131.306																																						
1:200	15.70000	24.280435	15.700																																						
1:400	1.13750	24.280435	1.138																																						
Level	Least Sq Mean																																								
1:10	A		834.78750																																						
1:100	B		131.30625																																						
1:200	C		15.70000																																						
1:400	C		1.13750																																						

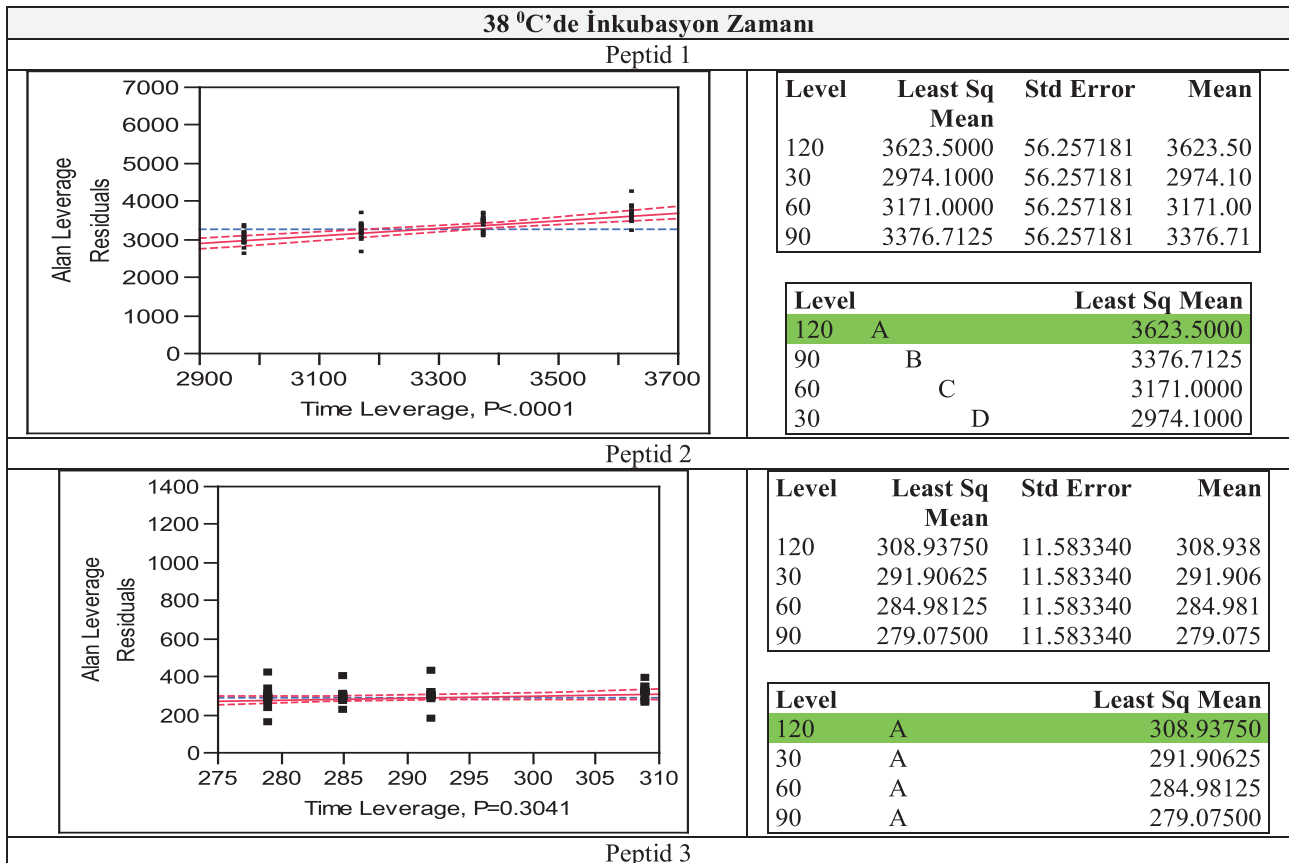


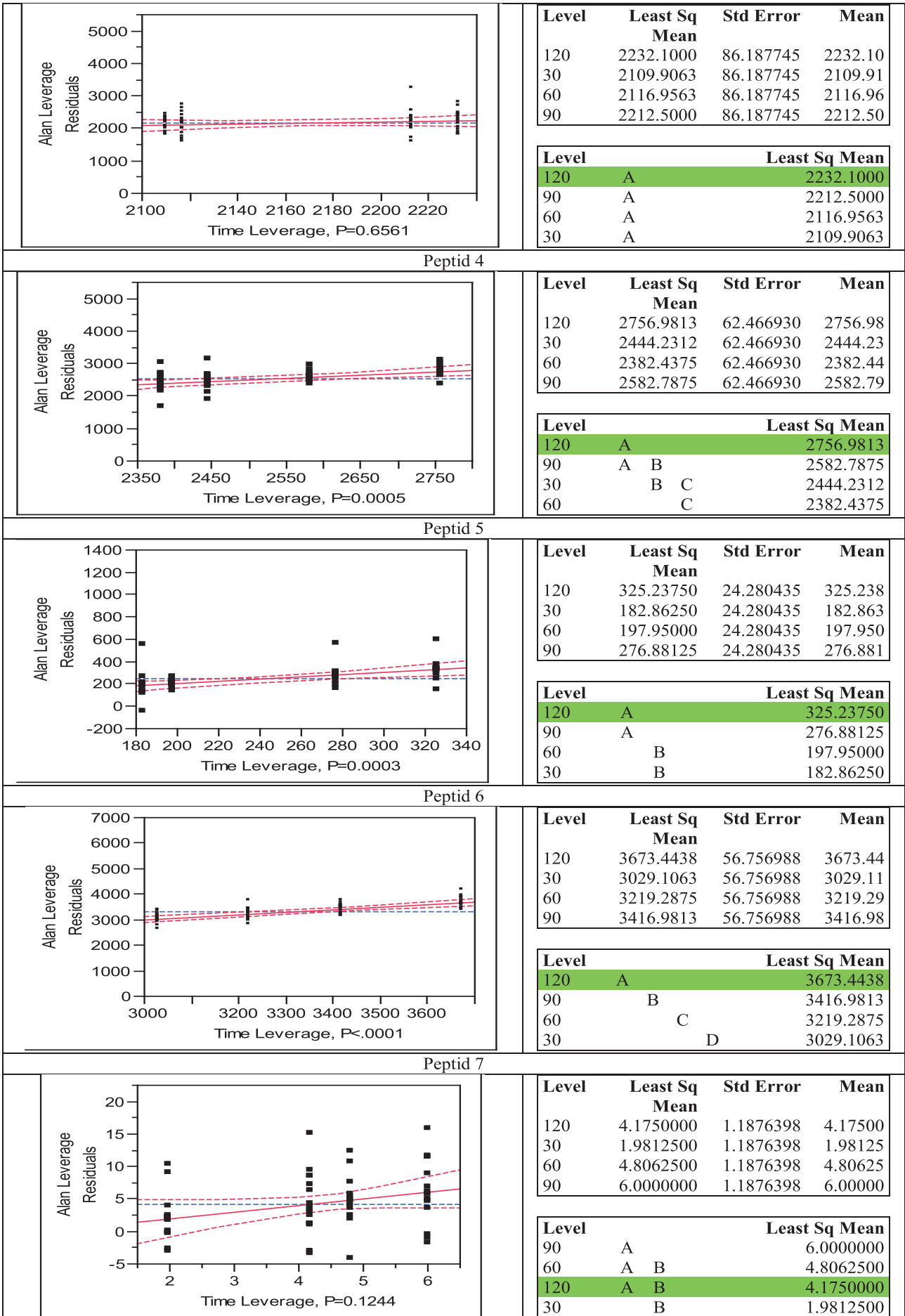
Şekil 23. T:C/Protein oranı istatistiksel değerlendirmesi

#### 4.3.7.2. Enzim Reaksiyon Süresi Denemesi

Numune hazırlama aşamasında test edilen bir diğer değişken ise en etkin enzim ile muamele süresidir. Bu amaca yönelik olarak 30-60-90 ve 120dk 38°C'de inkübasyona tabi tutuldu. Elde edilen sonuçların

istatistiksel olarak değerlendirmeleri Çizelge:24'de verilmiş olup en iyi inkübasyon süresinin 120dk olduğu belirlenmiştir.





Şekil 24. 38°C’de İnkubasyon zamanı istatistiksel değerlendirmesi

## 5. Sonuç

ELISA ve kromatografik yöntemler olan HPLC ve LC-MS/MS yöntemine ait validasyon performansları Çizelge 29'da özetlenmiştir.

Bu çalışmada LOD değerleri ve belirsizlik değerleri göz önünde bulundurulduğunda hem glutensiz hem de çok düşük glutenli gıdaların analizinde ELISA kit yönteminin başarılı olduğu görülmüştür.

**Çizelge 29.** Çalışmada yer alan üç yöntemin özet validasyon verileri

	LOD	LOQ	R <sup>2</sup> >0.99	Tekrarlanabilirlik %RSD	Tekrarüretilebilirlik %RSD	Belirsizlik ppm
ELISA	2,84	9,45	-	6,31	5,88	-
HPLC	31,94	106,47	0,9999	1,30	15,8	100±13,75
LC-MS/MS	19,24	63,13	0,9999	8,3	8,8	0,035±0,009

TGK 2012/04'e göre gluten içeriği yönünden sınırlandırılmış olan çok düşük glutenli ve glutensiz gıdalarda bulunması gereken limitler 0-20, 20-100 ppm aralığında olduğu belirtilmiştir. HPLC DAD analiz metodu çalışmalarında bu limitleri karşılamak için analiz edilmesi gereken peptidler cihazda görülmüştür. Yapılan HPLC çalışmalarında LOD değeri 31,94mg/kg, LOQ değeri ise 106,47mg/kg düzeylerinde metod performansları elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre HPLC metodunun çok düşük glutenli ve glutensiz gıdaların analizi için uygun olmadığı görülmüştür.

LC-MS/MS ile yapılan çalışmamızda ise literatürde yer alan peptidlerin ana iyonları, hesaplama ve doğrulamada kullanılacak olan yavru iyonları cihaza tanıtılması başarı ile gerçekleştirilmiştir. Validasyon çalışmalarımızda her bir peptid için yasal limitleri karşılayacak LOD ve LOQ değerlerine ayrı ayrı ulaşılmıştır. Ancak gluten için yapılan hesaplama modeline göre tüm bu peptidler kullanılarak grup kalibrasyonları yapılmıştır. Bu durumda gerçekleşen

LOD değeri 19,24mg/kg, LOQ değeri ise 64,13mg/kg olarak gerçekleşmiştir. Sealey-Voyksner ve ark. (2010)'nın yapmış oldukları çalışmada yer alan grup kalibrasyon hesaplama yöntemine göre her bir peptid için ayrı ayrı hesaplanmış toplam LODt değeri 88,5 mg/kg, toplam LOQt değeri ise 350 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Literatürde yer alan çalışmaya göre ihtiyaç duyulan 0-20 mg/kg ve 20-100 mg/kg bandındaki ürünlerin analizlerin her iki grubu için kullanılabilir bir metoda ulaşamadığı görülmüştür. Çalışmamız sonucunda geliştirilen LC-MS/MS yöntemi ile 20-100 mg/kg bandındaki ürünlerin analizleri yapılabirliği ortaya konulmuştur.

Ayrıca geliştirilen LC-MS/MS yöntemi sonucunda ulaşılmış olduğumuz 19,24mg/kg toplam LODt değeri. Sealey-Voyksner ve ark. (2010)'nın yapmış oldukları çalışmada buldukları toplam LODt değeri olan 88,5 mg/kg'a göre 4,6 kat, toplam LOQt değeri olan 350 mg/kg'a göre 3,9 kat düşük seviyeler de olduğundan literatürdeki metotlara oranla daha hassas bir metod oluşturulmuştur.

## 6. Kaynaklar

- Anonim, 2012a. EURACHEM / CITAC Guide CG 4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, QUAM:2012.P1
- Anonim, 2012b. FAPAS, (27/12/2012). Available Quality Control Materials <<http://www.fapas.com/quality-control-materials/Available-quality-control-materials.cfm>>
- Anonim, 2017. ISO 21748:2017 Guidance for the Use of Repeatability, Reproducibility and Trueness Estimates in Measurement Uncertainty Evaluation
- Anonim, 2019. ISO 5725-2:2019 Accuracy (Trueness and Precision) of Measurement Methods and Results—Part 2: Basic Method for the Determination of Repeatability and Reproducibility of a Standard Measurement Method
- Battais, F., Courcoux, P., Popineau, Y., Kanny, G., Moneret-Vautrin, D. A. and Denery-Papini, S., 2005. Food Allergy to Wheat: Differences in Immunoglobulin E-Binding Proteins as a Function of Age or Symptoms. *Journal of Cereal Science*, 42(1), 109-117.
- Ciclitira, P. J., Ellis, H. J. and Lundin, K. E., 2005. Gluten-Free Diet—What is Toxic?. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 19(3), 359-371.
- Farrell, R. J. and Kelly, C.P., 2002. Celiac Sprue. *New England Journal of Medicine*, 346(3), 180-188.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W.S., Courtin, C.M., Gebruers, K. and Delcour, J.A., 2005. Wheat Flour Constituents: How They Impact Bread Quality, and How to Impact Their Functionality. *Trends in food science & technology*, 16(1-3), 12-30.
- Gómez, A.V., Ferrer, E., Añón, M.C. and Puppo, M.C., 2012. Analysis of Soluble Proteins/Aggregates Derived From Gluten-Emulsifiers Systems. *Food Research International*, 46(1), 62-68.
- Hopper, A., Hadjivassiliou, M., Butt, S. and Sanders Ds., 2007. Adult Coeliac Disease. *BMJ*; 335: 558-562. L5-29
- Kieffer, R., Schurer, F., Köhler, P. and Wieser, H., 2007. Effect of Hydrostatic Pressure and Temperature on the chemical and Functional Properties of wheat Glüten: Studies on Glüten, Gliadin and Glütenin. *Journal of Cereal Science*, 45(3), 285-292.
- Maki, M, and Lohi, O., 2004. Celiac Disease. In: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, Shneider BL, Sanderson IR (eds). *Pediatric Gastrointestinal Disease*. 4th ed. Ontario: B.C. Decker,: 932-43.
- Mowat, A.M., 2003. Coeliac Disease – a Meeting Point for Genetics, Immunology and Protein Chemistry. *The Lancet*; 361:1290-1292
- Niewinski, M.M., 2008. Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 108(4), 661-672.
- Özkaya, B., 1999. Tahılların Neden Olduğu Alerjiler Ve Önemi-2. *Food Hi-Tech*, Mar. 82-88.
- Sealey-Voyksner, J. A., Khosla, C., Voyksner, R.D. and Jorgenson, J.W., 2010. Novel Aspects of Quantitation of Immunogenic Wheat Gluten Peptides by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(25), 4167-4183.
- Sollid, L.M. and Jabri, B., 2005. Is Celiac Disease an Autoimmune Disorder?. *Current opinion in immunology*, 17(6), 595-600.
- Urgancı, N., 2005. Çölyak Hastalarına Ekmek Zehir Oluyor. [http://212.174.46.149/w/dergi/basinpdf/kasim2004/18\\_19\\_20.pdf](http://212.174.46.149/w/dergi/basinpdf/kasim2004/18_19_20.pdf).
- Van Eckert, R., Berghofer, E., Ciclitira, P.J., Chirido, F., Denery-Papini, S., Ellis, H. J. and Mendez, E., 2006. Towards a New Gliadin Reference Material—Isolation and Characterisation. *Journal of cereal science*, 43(3), 331-341.





Özgün Araştırma/Original Article

**Gemlik ve Memecik Çeşitlerinden Zeytinyağı Üretiminde Kullanılan Farklı Malaksasyon Parametrelerinin Biofenol Miktarı ve Duyusal Profili Üzerine Etkisi**  
**The Effects of Different Malaxation Parameters Used in the Production of Olive Oil from Gemlik and Memecik Varieties on the Amount of Biophenol and Sensory Profile**

Müge NEBİOĞLU<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Gıda Yük. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-9731-4043

\*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding Author, muge.nebioglu@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi : 12.05.2020

Kabul Tarihi : 15.08.2020

**Öz**

**Amaç:** : Sızma zeytinyağı diğer bitkisel yağlara kıyasla oldukça uzun raf ömrüne sahiptir. Zeytinyağının güçlü antioksidan özelliği yağ asidi profili ve özellikle biofenol miktarından kaynaklanmaktadır. Naturel sızma zeytinyağının beslenme ve duyusal karakteri bu yağı Akdeniz diyetinin başlıca ve en önemli besin maddesi haline getirmiştir. Bu önem, biofenollerin koroner kalp rahatsızlıkları, bazı kanser türleri ve bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkisinden, antikarsinojenik özelliklerinden, antimikrobiyel ve antioksidatif özelliklerinden ve zeytinyağının kendine has buruk ve acı tadı vermesinden kaynaklanmaktadır. Yağın duyusal özellikleri ve biofenol miktarı depolama koşullarına ve süresine göre değişiklik göstermektedir.

**Materyal ve Yöntem:** Bu çalışmada farklı bölgelerden ülkemizde en çok üretilen yağlık zeytin çeşitlerinden Gemlik ve Memecik çeşidinin farklı sıcaklık koşullarında ve farklı sürelerde malaksasyona tabi tutularak elde edilen zeytinyağlarının biofenol miktarları ve duyusal özellikleri incelenmiştir.

**Bulgular ve Sonuç:** Bu çalışma sonucunda naturel sızma zeytinyağları için en yüksek biofenol miktarını ve en iyi duyusal özellikleri veren en uygun üretim koşulları ile ilgili veri elde edilirken bu koşulların çeşide bağlı olarak farklılık gösterip göstermediğine dair de bilgi edinilmiştir. Çeşitler ve uygulamalar arasında fark olduğu, acılık ve yakıcılığın biofenollerden geldiği bilinmektedir. Bu kapsamda Memecik çeşidi yakıcılık değerlerinin yüksek olduğu, Gemlik çeşidinin acılık ve yakıcılığının diğer çeşitlere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Zeytinyağı, Biofenol, Duyusal Özellikler, Gemlik, Memecik

**Abstract**

**Objective:** Extra virgin olive oil is the basic and unique nutrient of Mediterneandiet. Extra virgin olive oil has a long storage time more than other vegetable oils. Antioxidation structure of Extra virgin olive oil is because of its fatty asit composition profile and amount of biophenol. Biophenols have possitive effect on coroner heart disease, some kind of cancer's and immun system. Extra virgin olive oil's sensorial characteristics and amount of biophenol are about to its storage time and storage temperature.

**Materiel and Methods:** In this study; Extra virgin olive oil's from Gemlik and Memecik variety; its amount of biophenol, sensorial characteristics are examined which samples are produced by using different tempratures and different malaxation time.

**Results and Conslusion:** As a result of this study, information was obtained on the conditions of the production of olive oil containing the highest amount of biophenoland the best sensory properties for natural extra virgin olive oils, and whether these conditions differ depending on the type. It is known that there is a difference between varieties and applications, bitterness and causticity come from biophenols In this context, it has been determined that Memecik variety has high pungency values, Gemlik variety has lower bitterness and pungency if it is compared to other varieties.

**KeyWords:** Oliveoil, Biophenols, Sensorial Character, Gemlik Variety, Memecik Variety

## 1.Giriş

Bitkisel yağlar içinde zeytinyağı içerdiği bileşenler, beslenme değeri ve duyuşsal karakteristiği ile Akdeniz diyetinin temel öğesidir. “*Olea europea L.*” meyvesinden fiziksel yöntemler kullanılarak elde edilen sızma zeytinyağı Akdeniz ülkelerinde en yaygın olarak kullanılan yemeklik yağdır. Zeytinyağını diğer bitkisel yağ türlerinden ayıran kısmı hem fiziksel şekilde üretilmesi hem de duyuşsal özellikler ve besleyici özellikleridir. Yağ, yağ asidi bileşimi ve antioksidan bileşimi, özellikle güçlü doğal antioksidanlar olan polifenoller ve secoiridoidler gibi biyolojik kriterlerle karakterize edilir. Fenol türleri ve konsantrasyonları zeytinyağları arasında büyük farklılık gösterir. Genel olarak, zeytin yağı elde edilen çeşitler, olgunlaşma ölçeği, mevsimsel değişim ve hafif iklim gibi birçok faktör fenolik içeriği etkiler (Nakbi ve ark 2010).

Zeytinyağının önemi çoklu doymamış yağ asit miktarı ile dengeli yüksek oleik asit içeriği ve insan sağlığı açısından koruyucu özellik taşıyan doğal antioksidan olan polifenol içeriğinin fazla olmasındandır. Kimyasal özellikler minor ve major bileşikler içermektedir. Major bileşikler toplam yağın %98’ini oluşturan gliserollerdir. Minor bileşikler, yağın %2’lik kısmını oluşturmaktadır. Minör bileşikler 230’dan fazla kimyasal bileşen içeren alifatik ve triterpenik alkoller, steroller, hidrokarbonlar, uçucu bileşenler, antioksidanlardır. Zeytinyağının kimyasal bileşimi polifenoller olarak incelendiğinde bu yağın duyuşsal özelliklerine ve insan sağlığı üzerine diğer tüm bitkisel yağlara oranla büyük etkisi olduğu görülmektedir. Bu polar fenolik bileşenler; fenolik asitler, fenil etil alkoller, hidroksizokromanlar, flavanoidler, lignan ve secoiridoidler gibi çeşitli sınıflara ayrılmaktadır. Secoiridoidler, fenolik fraksiyonların ana bileşenleri olup sadece *Oleaceae* familyasına aittir. Bazı tarımsal ve teknolojik faktörler zeytinyağındaki biofenol miktarı üzerine etki edebilmektedir. Zeytinyağının raf ömrü hidroksitirozol ve ikincil türevleri gibi fenolik moleküller nedeni ile diğer bitkisel yağlardan fazladır. Zeytinyağının duyuşsal özellikleri örneğin acılık, yakıcılık bu secoiridoidlerden oluşmaktadır (Bendini ve Cerretani 2007). Secoiridoidler, kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı koruyucu özellik göstermektedirler (Servili ve ark 2004, Fito ve ark 2007). Acılık ve keskinlik, tat reseptörlerinin ve kimyasal uyaranlara duyarlı trigeminal sinir uçlarının aktivasyonu nedeniyle gıdalardaki yaygın hislerdir. Sızma zeytinyağında, hidrofilik fenollerin ortaya çıkardığı bu tür duyumlar, uyarının çıkarılmasından sonra oldukça uzun süre devam eder ve zamanla güçlü bir şekilde değişebilen net bir sonraki etki gösterir (Sinesio ve ark 2005).

Biofenol miktarı zeytin içinde büyük oranda suda çözülebilir halde bulunmaktadır. Bunlardan dikkate

değer olanı oleuropein, acı glikozittir. Enzimatik olaylarla glikozidler daha küçük moleküllere dönüşerek hem suda hem de yağda çözünür hale gelirler.

Biofenol miktarı zeytinin çeşidine, olgunluğuna ve hazırlanışına göre %0,1-%0,3 oranında bulunmaktadır. Bu bileşenler; zeytinyağına acılığı, yakıcılığı, burukluğu veren maddelerdir.

Zeytin ve zeytinyağı oleuropein, hidroksitirozol, tirozol, kafeik asit, vanilic asit, kumarik asit gibi biofenollerini içerir.

Zeytinyağının elde edilmesinde farklı zeytin işleme aşamaları kullanılmaktadır. Bu teknikler yağ kalitesini ve bileşimini etkilemektedir. Oksidasyon stabilitesine en fazla katkıda bulunan fenolik bileşenler de değişime uğramaktadır. Famiano ve ark. 2020 yılında yaptıkları çalışmada zeytinin toplanma yöntemlerinin ve zamanının toplam polifenoller ve secoiridoidlerin meyve hasarı derecesi ile değiştiğini göstermişlerdir. Uçucu bileşikler (aldehitler, alkoller, esterler ve ketonlar) hem hasat sisteminden hem de zeytin çeşidinden güçlü bir şekilde etkilenmiştir. Servili ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada biofenol miktarının sağlık ve zeytinyağlarının duyuşsal özellikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada, zeytinyağlarındaki hidrofilik fenollerin ekstraksiyon koşullarından özellikle de kırma ve malaksasyon aşamalarında değişiklik gösterdiğini bildirilmiştir. Araştırma da zeytinin kırılması, zeytin hamurunun malaksasyonu, azot gazı altında hamurun malaksasyonu sırasında fenoller incelenmiş ve istatistiki açıdan önemli farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Malaksasyon sırasında polifenol oksidaz ve peroksidazların inhibasyonu ve oksijenin kontrol altında tutulması sonucu biofenollerin optimizasyonu sağlanmıştır. Malaksasyon sırasında ikincil agliconların ve fenolik alkollerin konsantrasyonları prosesin zamanının ve sıcaklığın artışına göre azalma eğiliminde bulunmuştur. Yeni teknolojinin kullanılması; örneğin hamurun mekanik ekstraksiyonu gibi, fenolik bileşim konsantrasyonunun proses aşamalarının hepsinde oksidatif reaksiyon kontrol altına alındığında gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ekstraksiyon sistemi (basınç ve santrifüj) yağın fenolik bileşen kompozisyonunda önemli bir rol oynamaktadır (Servili ve ark. 2004).

Kırma metotlarının fenol içeriklerine etkisi vardır. Bu durum zeytin etinin tamamen kırılması, zeytin etinin farklı hücresel dokularına bağlı fenolik bileşenlerinin yüksek oranlarda salınması ile açıklanmaktadır (Taticchi ve ark. 2013). Yoğurma, zeytin hamurunun sürekli ve yavaş bir şekilde işlendiği aşamadır ve böylece serbest yağların yüzdesinde artış meydana gelmesine ve hücrelerin büyük damlalara dönüşmesine neden olmaktadır. Yağ emülsiyonunun kırılması, azaltılması ve serbest yağların oluşumu

malaksasyon işleminde gerçekleştiğinden sıcaklık ve süre önemli rol oynamaktadır. Sızma zeytinyağlarının işleme aşamalarının oksidasyon stabilitesi ve fenoller üzerine etkisi incelendiğinde oksidasyon stabilitesinin oldukça iyi olduğu tespit edilmiştir. Bu stabiliteyi minör bileşikler sağlamaktadır ve bu minör bileşikler işleme teknolojisine ve koşullarına göre değişiklik göstermektedir. Sızma zeytinyağı işlenmesinde meyve kalitesi yüksek olmalıdır. Yoğurma işleminde sürenin mümkün olduğunca uzatılmaması gerekmektedir. Yoğurma işleminin süresi ve sıcaklığı çok iyi ayarlanmalıdır.

İtalya'da yapılan bir çalışmada zeytinyağının duyuşal özellikleri; 8 kişilik bir panel oluşturularak incelenmiştir. Zeytinyağı örnekleri panelistlere 15 g olarak renkli duyuşal analiz bardaklarında verilmiştir. Panelistler zeytinyağını; meyvemsi, taze çimen, enginar, yeşil elma, çiçeğimsi, domates, badem ve yağsı olarak incelemiştir. Her panelist profil kağıtlarını doldurmuştur. Çalışmada fenolik bileşenler ve uçucu bileşenlerinin duyuşal özellikleri ile ilişkisi ve biofenol miktarı ile uçucu bileşenlerinin optimizasyonu incelenmiştir (Servili ve ark. 2004). Zeytinyağının biofenol miktarı duyuşal özelliklerini arttırmaktadır. Antioksidan özelliklerini bu bileşenler oluşturmaktadır. Fenol bileşikler bu antioksidan aktiviteleri nedeni ile insan sağlığı açısından büyük öneme sahiptir (Bendini ve Cerretani 2007). Biofenol miktarı biyoaktiviteleri; supramolekül formundan gelmektedir. Hayvan ve insanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalarda zeytinyağının bazı kanser türleri üzerine az da olsa etkisi olduğu belirlenmiştir. Fenolik bileşenlerden biri olan hidroksitirosolün, koroner kalp rahatsızlıklarına ve atheroscelosize karşı tek başına etkisi olduğu belirtilmiştir. Oleuropein ise insan karaciğeri üzerine olumlu etkilerde bulunmaktadır. Hidroksitirosol ve oleuropeinin ikisi de bakterilere karşı antimikrobiyel etkide bulunmaktadır (Tuck ve Hayball 2002).

## 2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılmak üzere Gemlik ve Memecik zeytinleri belirlenmiştir. Gemlik çeşidi Manisa/Akhisar'dan, Memecik çeşidi Söke/Aydın'dan toplanmıştır. Zeytinler 20'şer kiloluk plastik kasalarda toplanarak işletmeye getirilmiştir. Zeytinler olgunluk indeksi yaklaşık 3 ile 4 arasında olacak şekilde toplanmıştır. Toplanan zeytinler kasa ile işletmeye getirilmiş ve hiç bekletilmeden sıkım işlemine başlanmıştır. Balıkesir Üniversitesi Edremit Zeytincilik Meslek Yüksekokulu pilot tesisinde bulunan özel yapım kontinü sistem (HAUS) kullanılarak yağ elde edilmiştir.

### Yağ elde edim aşamaları

Zeytinler 20 kg'lık plastik kasalara elle toplanmıştır. Seleye karışmış olan yaprak ve dal parçaları gibi

doğal ortamından kaynaklanan yabancı maddeler hem zeytinyağı kalitesine olumsuz etkileyeceği için hem de kullanılan ekipmana zarar verebileceği için temizlenmiş ve zeytinler temiz su ile yıkanmıştır. Zeytinler temizlenip yıkandıktan sonra çelik kırıcılar kullanılarak yağ içeren bitkisel hücreler parçalanmıştır. Çelik kırıcılardan çıkan zeytin hamuru malaksöre geçerek yoğurma işlemine başlanmıştır. Yoğurma işleminde üç farklı sıcaklık (30°C/45°C/50°C) ve üç farklı süre (30dk/40dk/60dk) uygulanmıştır. Sıcaklık ceket sıcaklığı olarak ölçülmüştür. Hamur iki fazlı sistemde dekantöre alınmış ve çıkan yağ 5000 rpm dönüş hızı ile santrifüjlenerek uygun saklama kaplarına doldurulmuştur. Yağlar filtre edilmemiştir. Tüm numuneler analize alınıncaya kadar +4°C de karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.

### Analiz Prosedürü

**Biofenol miktarı:** Ekstraksiyon ve HPLC analizi Agilent 1260 Infinity cihazında DAD detektör 280nm dalga boyunda, C18 ters fazlı 4.6 mm x 25 cm kolon kullanılarak COI/T.20/Doc. No 29 metoduna göre yapılmıştır.

**Referans materyaller:** Syringic acid (ChromaDex), Tyrosol (ChromaDex), Hydroxytyrosol (ChromaDex), vanilic acid (ChromaDex), 2-cumic acid (ChromaDex), apigenin (ChromaDex), luteolin (ChromaDex), oleuropein (ChromaDex), ferrulic acid (ChromaDex).

**Kullanılan kimyasallar:** Ortofosforik asit (%85), kromotografik saflıkta metanol, kromotografik saflıkta asetonitril, kromotografik saflıkta su, Tyrosol>%98, Syringic acid>%97.

**Mobil fazlar:** A: %0,2'lik ortofosforik asitli su, B: Metanol, C: Asetonitril.

**Ekstarksiyon solusyonu:** Metanol:su (80:20).

**Eksternal standart solusyonu:** 0,03 g tyrosol ve 0,015 Syringic acid tartılarak 10 ml'lik balon jöjeye alınır ve metanol:su (80:20) ile çizgisine tamamlanarak stok çözelti hazırlanır. Stok çözeltiden 100 µl, 10 ml'lik balon jöjeye alınır ve metanol:su (80:20) ile çizgisine tamamlanarak eksternal standart hazırlanmıştır.

**Numune hazırlama:** 2 g yağ 10 ml'lik santrifüj tüpüne tartılmış ve üzerine 1 ml eksternal standart eklenmiş ve 30 saniye boyunca iyice çalkalanmıştır. 5ml metanol:su (80:20) çözeltisi eklenmiş, 1dk çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Ultrasonic su banyosunda oda sıcaklığında 15 dk tutulmuş ve su banyosundan çıkan deney tüpleri 5000 rpm de 25 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı fazdan 5 ml plastik şırıngaya alınmış ve 0,45 µl PVDF filtreden süzülerek viallere alınmıştır.

**HPLC Analizi:** DAD detektör analizden yaklaşık bir saat önce açılmış. Kromotografi kolonu 15 dk %0,2

fosforik asitli su mobil fazı ile şartlandırılmıştır. İlk olarak HPLC ye 20µl metanol:su (80:20) çözeltisi enjeksiyonu yapılarak kromatogramın doğruluğu kontrol edilmiştir.

İlk olarak eksternal standart solüsyonu enjekte edilmiş ve 280 nm de cevap faktörü hesaplanmıştır. Daha sonra hazırlanan numuneler 20µl olarak enjekte edilmiştir.

Hesaplama:

Cevaplama faktörü eksternal standart için:

$RF1_{\mu g}(\text{syningicasit}) = \text{syningicasit alanı} / \mu g \text{ enjekte edilen syningicasit}$

$RF1_{\mu g}(\text{tyrosol}) = \text{tyrosolalanı} / \mu g \text{ enjekte edilen tyrosol}$

Cevaplama faktörlerinin oranının hesaplanması:

$RRF_{\text{sy}/\text{tyr}} = RF1_{\mu g}(\text{syningicasit}) / RF1_{\mu g}(\text{tyrosol})$

Sonucun iç standart olarak syningicasit kullanıldığında tyrosol cinsinden verilmesi için  $RRF_{\text{sy}/\text{tyr}}$  oranı  $5,1 \pm 0,4$  olmalıdır.

$(\Sigma A) \times 1000 \times RRF_{\text{sy}/\text{tyr}} \times (W \text{ syr. asit})$

$(A \text{ syr. asit}) \times (W)$

$\Sigma A = 280 \text{ nm}'de \text{ tanımlanmış biofenollerin toplam alanı}$

$A_{\text{syr.asit}} = \text{internal standart olarak kullanılan syringic asitin } 280 \text{ nm deki alanı}$

1000= sonuçların mg/kg olarak verilmesi için kullanılacak faktör

$W = \text{kullanılan numune miktarının g olarak değeri}$

$RRF_{\text{sy}/\text{tyr}} = \text{sonucun tyrosol olarak verilmesi için olan oran}$

$W \text{ syr. Asit} = 1 \text{ ml kullanılan iç standardın içerdiği syringic asitin ağırlığı}$

**Zeytinyağında Biofenollerin Hesaplanması:** Sonuçlar toplam biofenol olarak mg/kg (ppm) tyrosol cinsinden verilmiştir.

**Duyusal Analiz:** Duyusal analiz; Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Analiz Metotları Tebliği (Tebliğ No: 2014/53) metoduna göre yapılmıştır. Duyusal analiz için eğitilmiş sekiz tadımcıdan oluşan bir panel tarafından (Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Paneli) nicel olarak yapılmıştır. Yağ numuneleri (15 g) olarak tadımcılara iki kez sunulmuş ve numuneler oda sıcaklığında renkli tadım bardakları ile dengeli bir sıra ile verilmiştir.

Tadımcılar numuneleri meyvensiliğine (meyveli, kesilmiş ot, enginar, yeşil elma, çiçek, domates benzeri, badem), acılığına ve yakıcılığına göre profil kağıdı kullanarak değerlendirmişlerdir. Sonuçlar profil kağıdındaki verilere göre sayısal pozisyona dönüştürülmüş, median değer olarak hesaplanmıştır.

**Örnekleme metodu:** Çalışmalar sonucunda çıkan sonuçlarla, elde edilecek zeytinyağında fenol miktarları değerlendirilerek en yüksek değerlere sahip ürünün elde edileceği sıcaklık süre değerleri belirlenmesi amaçlanmıştır. Çizelge 1'de örnekleme modeli bulunmaktadır. Numuneler bu modele göre belirlenerek paketlenmiş ve belirtilen sıraya göre analizlerine başlanmıştır. Numuneler Merkezi Kompozit Dizayn modeli kullanılarak 2 paralel 3 tekrür olarak çalışılmıştır.

**Çizelge 1.** Numunelerin örnekleme modeli

Numune numarası	Run	Block	Malaksasyon süresi/dk	Malaksasyon sıcaklığı/°C
13	1	Block 1	45	30
6	2	Block 1	60	30
3	3	Block 1	30	40
2	4	Block 1	60	50
9	5	Block 1	45	30
5	6	Block 1	30	30
8	7	Block 1	45	40
11	8	Block 1	45	30
12	9	Block 1	45	30
1	10	Block 1	30	50
4	11	Block 1	60	40
7	12	Block 1	45	50
10	13	Block 1	45	30

### 3. Bulgular

#### 3.1. Varyans Analizi Bulguları

Yapılan varyans analizine göre çeşitler ve uygulamalar arasında fark çıkmıştır. Biofenoller meyvemsilik üzerine etkili değildir. Meyvemsilik üzerine aromalar etkilidir. Biofenoller, acılık ve yakıcılık üzerine etkilidir. Memecik çeşidinin yakıcılık değerlerinin yüksek olduğu bilinmektedir. Gemlik çeşidinin acılık ve yakıcılığı diğer çeşitlere göre daha düşüktür. Yapılan çalışmada da bu sonuç ortaya çıkmıştır (Çizelge 2).

Farklı seviyelerde uygulanan sıcaklık ve sürenin Gemlik çeşidi zeytinyağı örneklerinin varyans analizi sonuçları incelendiğinde;

- Fenol miktarı değeri üzerine malaksasyon sıcaklık derecesi önemsiz iken 30 dakikalık malaksasyon süresinin önemli olduğu,

- Duyusal analiz: meyvemsilik değeri üzerindeki etkisine ait malaksasyon sıcaklık derecesinin önemli olmadığı ancak süresinin 60 dakika prosesin önemli olduğu,

- Duyusal analiz: acılık değeri üzerine malaksasyonun hem sıcaklık derecesi hem de süresinin önemli olmadığı,

- Duyusal analiz yakıcılık değeri üzerine malaksasyonun hem sıcaklık derecesi hem de süresinin önemli olmadığı,

Farklı seviyelerde uygulanan sıcaklık ve sürenin Memecik çeşidi zeytinyağı örneklerinin varyans analizi sonuçları incelendiğinde;

- Fenol miktarı değeri üzerine malaksasyon sıcaklık derecesi ve süresinin önemli olduğu, en iyi sonucun 50°C 60dk prosesinde elde edildiği,

- Duyusal analiz: meyvemsilik değeri üzerindeki etkisine ait malaksasyon sıcaklık derecesinin önemli olmadığı ancak malaksasyon süresinin 60 dakikalık prosesin önemli olduğu,

- Duyusal analiz: acılık değeri üzerine etkisine ait malaksasyonun hem sıcaklık derecesi hem de süresinin önemsiz olduğu,

- Duyusal analiz: yakıcılık değeri üzerine malaksasyonun hem sıcaklık derecesi hem de süresinin önemsiz olduğu, tespit edilmiştir.

**Çizelge 2.** Memecik ve Gemlik çeşitlerinin biofenol, meyvemsilik, yakıcılık, acılık varyans analiz tablosu

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Memecik biofenol	Between Groups	47,679	1	47,679	0,072	0,789
	Within Groups	34419,787	52	661,919		
	Total	34467,465	53			
Memecik meyvemsilik	Between Groups	0,022	1	0,022	0,056	0,814
	Within Groups	20,799	52	0,400		
	Total	20,821	53			
Memecik acılık	Between Groups	0,022	1	0,022	0,050	0,823
	Within Groups	23,099	52	0,444		
	Total	23,121	53			
Memecik yakıcılık	Between Groups	0,482	1	0,482	0,898	0,348
	Within Groups	27,886	52	0,536		
	Total	28,368	53			
Gemlik biofenol	Between Groups	21,092	1	21,092	0,036	0,850
	Within Groups	30159,099	52	579,983		
	Total	30180,191	53			
Gemlik meyvemsilik	Between Groups	0,007	1	0,007	0,008	0,929
	Within Groups	43,213	52	0,831		
	Total	43,220	53			
Gemlik acılık	Between Groups	0,005	1	0,005	0,008	0,930
	Within Groups	30,463	52	0,586		
	Total	30,468	53			
Gemlik yakıcılık	Between Groups	0,022	1	0,022	0,042	0,839
	Within Groups	28,032	52	0,539		
	Total	28,054	53			

### 3.2.Zeytinyağı Biofenol Bulguları

Çizelge 3’de Gemlik çeşidi, zeytinyağının toplam biofenol miktarları 141 mg/kg ile 227 mg/kg arasında tespit edilmiştir. Gemlik çeşidinde en yüksek biofenol

miktarı 30°C’de 30 dakikalık (G1) malaksasyon sonucu çıkan üründe tespit edilmiştir (227 mg/kg).

**Çizelge 3.** Gemlik çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının Sıcaklık/süre korelasyonuna göre biofenol miktarları

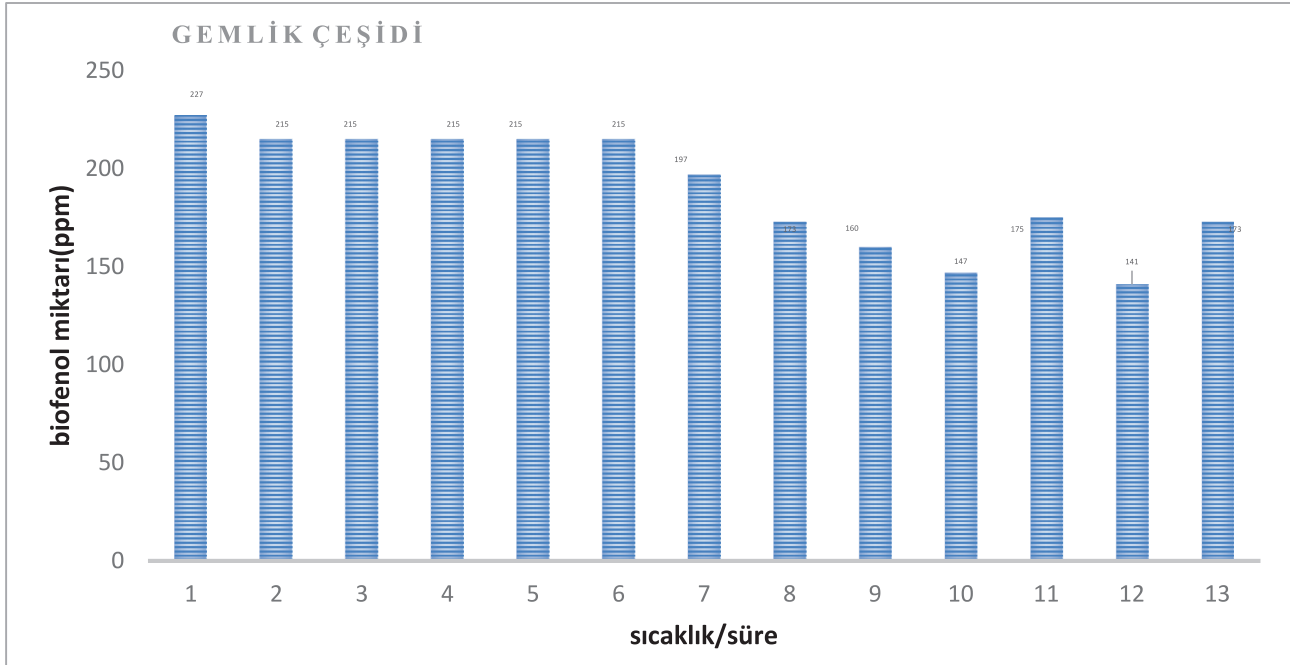
GEMLİK	Sıcaklık/Süre	Numune numarası	Toplam biofenol mg/kg
G1	30/30	6	227
G2	30/45	1	215
G2	30/45	5	215
G2	30/45	8	215
G2	30/45	9	215
G2	30/45	13	215
G3	30/60	2	197
G4	40/30	3	173
G5	40/45	7	160
G6	40/60	11	147
G7	50/30	10	175
G8	50/45	12	141
G9	50/60	4	173

**Çizelge 4.** Memecik çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının sıkım sıcaklık ve sürelerine göre biofenol toplamı

Memecik	Sıcaklık/Süre		Toplam Biofenol mg/kg
M1	30/30	6	309
M2	30/45	1	346
M2	30/45	5	346
M2	30/45	8	346
M2	30/45	9	346
M2	30/45	13	346
M3	30/60	2	346
M4	40/30	3	271
M5	40/45	7	284
M6	40/60	11	307
M7	50/30	10	347
M8	50/45	12	312
M9	50/60	4	387

Çizelge 4’de görüldüğü şekilde Memecik çeşidinde en yüksek biofenol miktarı 50°C 60 dakikalık (M9) malaksasyon sonucu elde edilen üründe tespit edilmiştir (387 mg/kg). Biofenol miktarları zeytin

çeşidine göre değişiklik göstermekle birlikte sıkım sıcaklık ve sürelerinin de biofenol miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir.

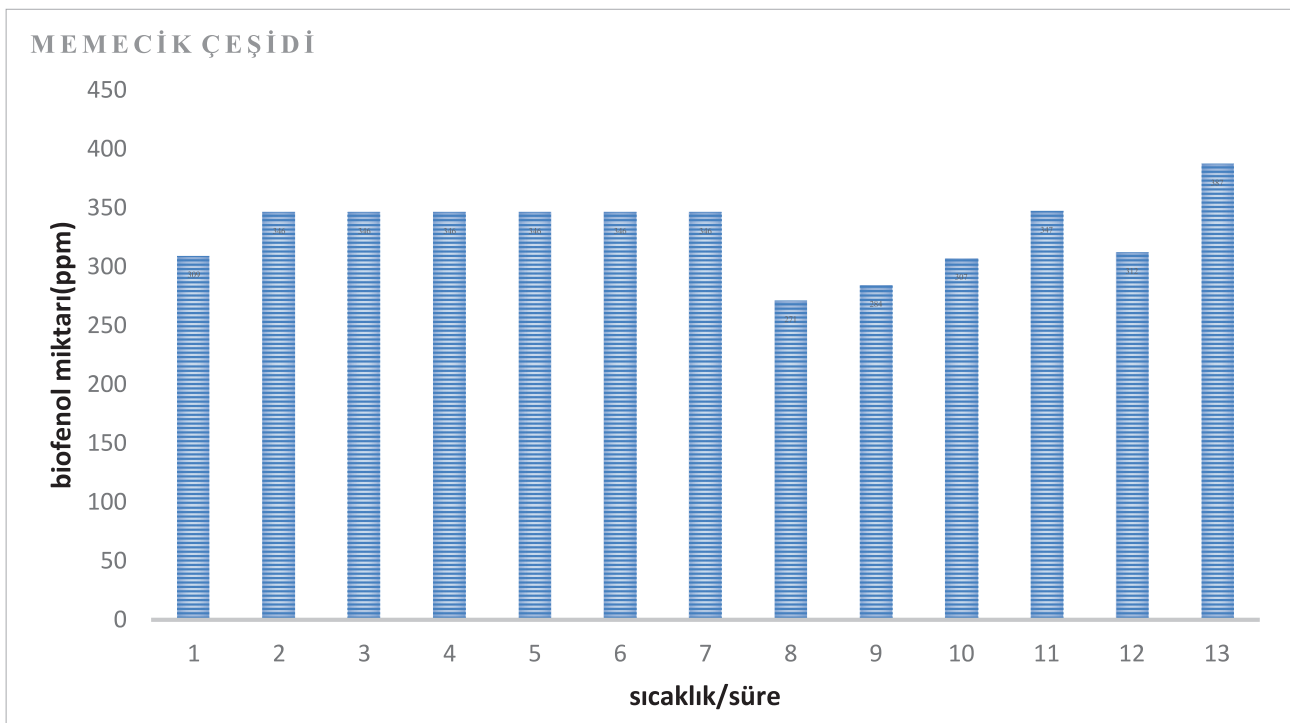


Şekil 1. Gemlik çeşidinin toplam biofenollerin sıkım sıcaklık ve süreleri

Şekil 1’te gösterildiği üzere Gemlik çeşidinde biofenol miktarlarında değişen malaksasyon sıcaklık ve sürelerinde genel olarak düşüş gözlenmekle birlikte sıcaklığın 50°C’ye çıkması ile bir miktar yükseldiği gözlemlenmiştir. Ancak en yüksek biofenol miktarı 30°C ve 30 dakikalık (G1) malaksasyon sonucu elde edilen üründe tespit edilmiştir (227 kg/mg).

Şekil 2 incelendiğinde ise Memecik çeşidinin biofenol miktarının 30°C ve 30dk malaksasyon

prosesinde (M1) düşük miktarlarda olduğu (309 mg/kg) ancak sürenin artmasının olumlu etkisi olduğu gözlemlenmiş, sıcaklığın 40°C’ye yükselmesi ile küçük bir azalmanın olduğu tespit edilmiş (40/30:271 mg/kg, 40/45:284 mg/kg, 40/60:307 mg/kg) ancak yine malaksasyon sıcaklığı 50°C ve sürelerinin artışı ile biofenol miktarlarında önemli bir artış gözlemlenmiştir (M7:50/30:347 mg/kg, M8:50/45:312 mg/kg, M9:50/60:387 mg/kg).

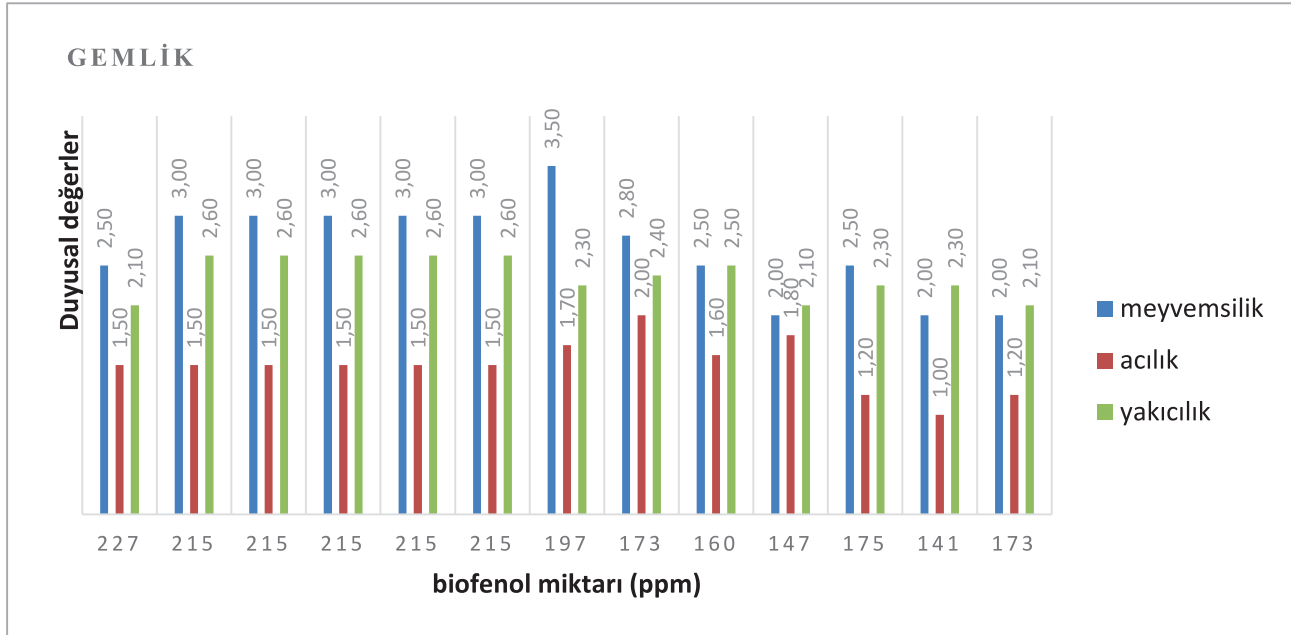


Şekil 2: Memecik çeşidinin toplam biofenol miktarları süreleri ile korelasyonu

### 3.3. Duyusal Analiz Bulguları

Farklı parametreler kullanılarak elde edilen zeytinyağlarının duyusal özellikleri meyvemsi, acılık ve yakıcılık olarak değerlendirilmiştir. Çizelge 5'te belirtildiği üzere çeşitlerdeki duyusal özellikler

malaksasyon sıcaklığı ile doğrudan ilişki halinde olup sıcaklık grupları içinde malaksasyon sürelerinde önemli bir fark görülmemiştir.



Şekil 3. Gemlik çeşidi duyusal özelliklerinin biofenol miktarı ile korelasyonu

Çizelge 5: Zeytinyağları malaksasyon süre ve sıcaklıklarına göre duyusal özellikleri ve toplam fenol değerleri

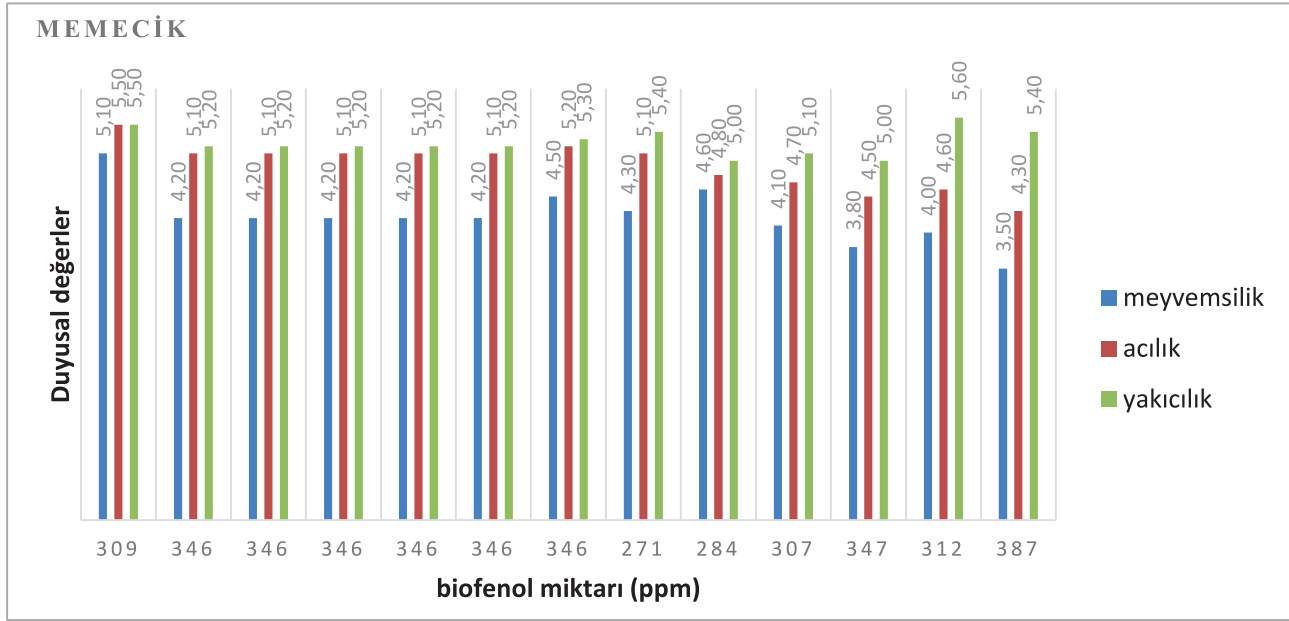
Numune kodları	NUMUNELER	TOPLAM FENOL mg/kg	MEYVEMSİLİK	ACILIK	YAKICILIK
M1	3030	309,00	5,10	5,50	5,50
M2	3045	346,00	4,20	5,10	5,20
M3	3060	346,00	4,50	5,20	5,30
M4	4030	271,00	4,30	5,10	5,40
M5	4045	284,00	4,60	4,80	5,00
M6	4060	307,00	4,10	4,70	5,10
M7	5030	347,00	3,80	4,50	5,00
M8	5045	312,00	4,00	4,60	5,60
M9	5060	387,00	3,50	4,30	5,40
G1	3030	227,00	2,50	1,50	2,10
G2	3045	215,00	3,00	1,50	2,60
G3	3060	197,00	3,50	1,70	2,30
G4	4030	173,00	2,80	2,00	2,40
G5	4045	160,00	2,50	1,60	2,50
G6	4060	147,00	2,00	1,80	2,10
G7	5030	175,00	2,50	1,20	2,30
G8	5045	141,00	2,00	1,00	2,30
G9	5060	173,00	2,00	1,20	2,10



Şekil 3’de Gemlik çeşidi zeytinyağında 30°C ve 60 dk’lık proseste (G3:197 mg/kg) meyvemsilik özelliği en yüksek seviyede (3,5) bulunurken acılık ve yakıcılık unsurlarının proses değişikliklerinde önemli bir sapmaya rastlanmamıştır.

Şekil 4’de Memecik çeşidindeki değişimler gözlemlendiğinde biofenol miktarı en yüksek değer 50°C

60 dk prosesinde (M9:50/60:387 mg/kg) olsa da 30°C ve 30 dk’lık malaksasyon prosesi (M1:30/30:309 mg/kg) sonrası elde edilmiş olan numunenin genel olarak daha yoğun pozitif özelliğe sahip olduğu gözlemlenmiştir (meyvemsilik:5,10; acılık:5,50 ve yakıcılık:5,50).



Şekil 4. Memecik çeşidi duyusal özelliklerinin biofenol miktarı ile korelasyonu

#### 4.Tartışma ve Sonuç

Esti ve ark. (2009) İtalya’da Gentile di Larino, Gentile di Colletorto, Peranz-ana, Coratina, Nociara ve Ascolana çeşitlerinden elde ettikleri mono kültür zeytinyağlarında yapılmış olan çalışmalarında acılık ve yakıcılık değerleri ve bunların zamanla değişimlerini incelemişlerdir. Biofenol miktarlarının acılık ve yakıcılık üzerine etkisini vurgulamışlar ve bu değerlerin korelasyon içinde olduğunu belirtmişlerdir.

Avusturalya’da zeytinyağı yarışmalarına katılan yağlar ile yapılan bir çalışmada zeytinyağları duyusal olarak yumuşak, orta ve yoğun olarak sınıflandırılmış ve bu yağların toplam fenol konsantrasyonu incelenmiştir. Panel tarafından yumuşak, orta veya yoğun olarak sınıflandırılan zeytinyağları için toplam fenol konsantrasyonlarının dağılımı incelendiğinde toplam fenol seviyesi (ortalama=299, se=7,3), orta olarak sınıflandırılanlardan (ortalama=235, se = 4,0) önemli ölçüde daha yüksek ( $p < 0,001$ ) ve bu da önemli ölçüde yoğun olarak sınıflandırılanlardan (ortalama=182, se=7,2) daha yüksek ( $p < 0,001$ ) bulunmuştur. Bu, zeytinyağlarındaki toplam fenol konsantrasyonunun üreticiler tarafından algılanan tadı etkilediği güçlü bir şekilde görülmektedir.

Algılanan acılık ve yakıcılığın toplam fenol konsantrasyonu ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu

görülmüştür. Zeytinyağındaki fenol konsantrasyonu, genel acılığa ve keskinliğe katkıda bulunarak tadını da temelden etkilemektedir (Gawel ve Roger 2009).

Servili ve ark. (2000)’nin yaptıkları çalışma raporlarında yüksek sıcaklıkların natürel sızma zeytinyağının bazı duyusal özelliklerinin ve sağlık kaynağı olarak tanımlanan biofenol miktarının kaybına yol açtığı vurgulamıştır (Servili ve ark. 2000, Angerosa 2001). Salas ve Sánchez (1999) yaptıkları çalışmada sıkım prosesi 25°C’nin üstünde yapıldığında polyfenoloksidaz ve lipoksigenaz enzimlerinin çalışmaya başladığını ve C<sub>6</sub>’yı doymuş ve doymamış aldehitlere, alkol ve esterlerine parçalayarak meyvemsiliği oluşturduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda zeytinyağının kusurlarının oluşmasında da bu enzimlerin sıcaklıkla beraber farklı yan ürünler oluşturmasında etkili olduğuna vurgu yapmışlardır.

Bundan dolayı Gemlik ve Memecik için optimum malaksasyon sıcaklık ve sürelerinin farklı olması çeşitlerin bu konu için önemini vurgulamaktadır. Aynı zamanda zeytinyağının biofenol miktarı yoğunluğu ve duyusal karakteri de çeşitlere göre farklılık göstermektedir. Ancak zeytinyağı çeşitleri farklılık gösterse de biofenoller oleuropein, hidroksitirozol, tirosol gibi benzer kompozisyon oluşturmaktadır.

## 5.Kaynaklar

- Angerosa, F.; Mostallino, R.; Basti, C. and Vito, R., 2001. Influence of Malaxation Temperature and Time on the Quality of Virgin Olive Oils. *Food Chemistry*, 72 (1), 19-28.
- Aparicio, R., Roda, L., Albi, Ma and Gutierrez, F, 1999. Effect of Various Compounds In Olive Oil Stability Measured By Ransimat J Agric Food Chem 47:4150-4155.
- Bayrak, A., 2010. Ege Bölgesi Zeytinyağlarının Aroma Profilleri ve Bazı Kalite Özelliklerinin Araştırılması Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, 2010
- Bendini, A. and Cerretani, L., 2007. Phenolic Molecules In Virgin Olive Oils: A Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. an Overview of The last decade, *Molecules*, 12, 1679-1719
- Esti, M., Contini, M., Moneta, E. and Sinesio, F., 2009. Phenolics Compounds and Temporal Perception Of Bitterness and Pungency In Extra Virgin Olive Oils: Changes Occurring Throughout Storage *Food Chemistry* 113, 1095–1100
- Famiano, F., Farinelli, D., Urbani, S., Al Hariri, R., Paoletti, A., Rosati, A., Esposto, S., Selvaggini, R., Taticchi, A. and Servili, M., 2020. Harvesting System and Fruit Storage Affect Basic Quality Parameters and Phenolic and Volatile Compounds of Oils from Intensive and Super-intensive Olive Orchards *Scientia Horticulturae* Volume 263, 15 March 2020, 109045
- Fito, M; De La Torre, R. and Covas, M.I., 2007. Olive Oil and Oxidative Stress. *Molecular nutrition & Food Research*, 51(10), 1215-1224.
- Garcia-Mesa, J. and Mateos, R., 2007. Direct Automatic Determination of Bitterness and Total Phenolic Compounds In Virgin Olive Oil Using A Ph-Based Flow-Injection Analysis System, *J. Agric. Food Chem.*, 55, 3863-3868
- Gawel R. and Roger D., 2009. The Relationship Between Total Phenol Concentration and The Perceived Style Of Extra Virgin Olive Oil, *Grasas Y Aceites*, 60 (2), Abril-Junio, 134-138, 2009,
- Nakbi, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Koubaa, N., Ehbili, A., Hammami, M. and Attia, N., 2010. Evaluation of Antioxidant Activities of Phenolic Compounds from two Extra Virgin Olive Oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(7), 711-715.
- Salas, J.J., and Sánchez, J., 1999. The Decrease of Virgin Olive Oil Flavor Produced by High Malaxation Temperature is due to Inactivation of Hydroperoxide Lyase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 809-812.
- Servili, M., Selviaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G. and Morozzi, G., 2004. Health and Sensory Properties of Virgin Olive Oil Hydrophilic Phenols: Agronomic and Technological Aspects of Production that Affect their Occurrence in the Oil. *Journal of Chromatography A* 1054(2004) 113-127
- Servili, M.; Baldioli, M.; Begliomini, A.L.; Selvaggini, R. and Montedoro, G.F., 2000. The Phenolic and Volatile Compounds of Virgin Olive Oil: Relationships with the Endogenous Oxidoreductases during the Mechanical Oil Extraction Process. In *Flavour and Fragrance Chemistry; Proceedings of the Phytochemical Society of Europe, Campobasso, Italy, January 13-16*
- Sinesio, F. Moneta, E.M. and Esti, M., 2005. The Dynamic Sensory Evaluation of Bitterness and Pungency In Virgin Olive Oil *Food Quality and Preference* 16 557–564
- Taticchi, A., Esposto, S., Veneziani, G., Urbani, S., Selvaggini, R. and Servili, M., 2013. The Influence of Malaxation Temperature of Polyphenoloxidase and Peroxidase and on the Phenolic Composition of Virgin Olive Oil. *Food Chemistry* 136 975-983
- Tuck, K.L. and Hayball, P.J., 2002. Major Phenolic Compounds in Olive Oil: Metabolism and Health Effects. *Journal of Nutritional Biochemistry*. Vol. 13 Issue 11, p636-644. 9p

# GIDA VE YEM BİLİMİ-TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

## ETİK KURALLARI VE İNTİHAL KONTROLÜ

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, Yayın Etiği Komitesi [Committee on Publication Ethics (COPE)] tarafından hazırlanan yönerge (The COPE Code of Conduct for Journal Editors) hükümlerine uymayı kabul ve taahhüt etmiştir.

Dergi tarafından kabul edilen etik görev ve sorumluluklar Committee on Publication Ethics (COPE) ve Council of Science Editors (CSE) tarafından yayınlanan rehberler ve politikalar dikkate alınarak hazırlanmıştır.

### A- EDİTÖRLER ve YAYIN KURULUNUN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi'nin Editörler Kurulu, açık erişim olarak Committee on Publication Ethics (COPE) tarafından yayınlanan "COPE Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors" ve "COPE Best Practice Guidelines for Journal Editors" rehberleri temelinde belirtilen tüm etik görev ve sorumluluklara bağlı kalmayı taahhüt eder.

1-Editörler, dergide basılan tüm makalelerden sorumlu olup derginin niteliğinin iyileştirilmesine katkı yapmakla yükümlüdürler.

2-Editörler, okuyuculardan gelen geri bildirimleri dikkate almak ve geri bildirim vermekle yükümlüdürler.

3- Editörler, dergiye gönderilen çalışmaların önemi, özgün değeri, geçerliliği, anlatımın açıklığı ve derginin amaç ve hedeflerine uygunluğu bakımından değerlendirerek olumlu ya da olumsuz karar vermelidirler.

4-Editörler, dergiye gönderilen çalışmaları; yazarların sosyal, kültürel, ekonomik özellikleri ile dini inançları göz önüne alınmaksızın, sadece entelektüel değerleri çerçevesinde değerlendirilmelidir.

5-Editörler ve Yayın Kurulu, dergiye yayınlanmak üzere gönderilen çalışmaların, 3 hafta içerisinde değerlendirmeye alıp almayacaklarına karar vermeli ve bunu yazara bildirmelidirler.

6-Editörler ve Yayın Kurulu, makaleyi ilk inceleme sonucunda red etme kararına varırsa yazarlara bunun nedenini açık bir şekilde bildirmekle yükümlüdürler.

7-Dergiye gönderilen çalışmalar editörler tarafından öncelikle intihal ihtimaline karşı raporların olup olmadığı kontrol edilmelidir. Bu aşamada intihal raporu olmayan çalışmalar ve intihal ihtimali olan çalışmalar, editörler tarafından reddedilir.

8-Editörler ve Yayın Kurulu Üyeleri Dergiye gönderilen makaleleri hakemler dışında hiç kimseye ifşa etmemelidirler.

9-Editörler, dergiye gönderilen çalışmaların kabulü için yazarlara dergideki herhangi bir makaleye veya başka bir çalışmaya atıf yapması konusunda telkinde bulunmamalıdır.

10-Editörler, makaleleri aynı disiplindeki konu uzmanlıklarına uygun olan hakemlere göndermelidirler.

11- Yayın kurulu, yazarlarla, yazarların kurumları ya da yazarların bir veya daha fazla ilgi alanı ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması/çakışması yaşama durumundaysa, görevlendirilen editöre bilgi vermeli ve değerlendirme sürecinden çekilmelerini istemelidirler.

12-Editörler, hakemleri tarafsız, bilimsel ve nesnel bir dille çalışmayı değerlendirmeleri için teşvik etmelidirler.

13-Editörler, makaleleri objektif değerlendiren, hakemlik sürecini zamanında yerine getiren, makaleyi yapıcı eleştirilerle değerlendiren ve etik kurallara uygun davranan bilim insanlarının olmasına özen göstermelidirler.

14-Editörler, yayın kurulu ve hakemler kurulu üyelerini, uzmanlık alanlarına uygun, katkı sağlayabilir ve uygun nitelikte belirleyerek kurullara derginin yayın politikaları konusunda bilgi vermekle yükümlüdür.

## **B-YAZARLARIN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR**

Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi yayın etiği açısından, COPE (Committee on Publication Ethics) tarafından kabul edilen kriterlere uymayı taahhüt eder.

1-Eserlerin tüm sorumluluğu yazarlarına aittir. Eserler, bilim etiği ilkelerine uygun olarak hazırlanmalı, Etik Kurul Raporu gerektiren durumlarda bir kopyası eklenmelidir.

Aşağıdaki araştırma konuları ile ilgili Etik Kurul Raporu bilgileri (kurul adı, tarih ve sayı no) yöntem bölümünde ve ayrıca makale son sayfasında ek olarak verilmelidir.

- ✓ Anket, mülakat, odak grup çalışması, gözlem, deney, görüşme teknikleri kullanılarak katılımcılardan veri toplanmasını gerektiren nitel ya da nicel yaklaşımlarla yürütülen her türlü araştırmalar.
- ✓ İnsan ve hayvanların (materyal/veriler dahil) deneysel ya da diğer bilimsel amaçlarla kullanılması,
- ✓ İnsanlar üzerinde yapılan klinik araştırmalar,
- ✓ Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar,
- ✓ Kişisel verilerin korunması kanunu gereğince retrospektif çalışmalar.
- ✓ Ayrıca, kullanılan fikir ve sanat eserleri için telif hakları düzenlemelerine riayet edilmeli, başkalarına ait ölçek, anket, fotoğrafların kullanımı için sahiplerinden izin alınması.

2-Yayımlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur.

3-Ancak; yurtiçi veya yurtdışı kongrelerde sunularak yalnızca özeti yayımlanmış makaleler yayıma kabul edilmektedir.

4-Dergiye yayımlanmak üzere gönderilen eserlerle birlikte Telif Hakkı Devir Sözleşmesi de tüm yazarlarca imzalanarak, makale ile birlikte gönderilmelidir.

5-Dergi, COPE hükümleri doğrultusunda, hakemlerin ve yazarların kimliklerinin birbirinden gizlendiği double blind peer review (Çift Kör) hakem değerlendirme sistemini kullanmaktadır

6-Yayın sürecinde, dergi ile yazışmaları yapan kişi/kişiler “Sorumlu Yazar” olarak kabul edilir. Yazışmaların diğer yazarlarla paylaşılması, gerekli işlemlerin zamanında ve doğru olarak yapılması “Sorumlu Yazar” a aittir. “Sorumlu Yazar” makalenin ilk ismi olmak zorunda değildir.

7-Değerlendirme süreci başlamış bir çalışmada yazar ekleme, yazar sırası değiştirme ve yazar çıkartma gibi özel durumlar “Sorumlu Yazar” inisiyatifindedir.

8-Son Kontrol Listesi sadece sorumlu yazar tarafından imzalanarak makale ile birlikte gönderilmelidir.

9-Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi yayımlanmak üzere gönderilen makaleler, hakem süreci başlatıldıktan sonra geri çekilemez.

10-Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi İntihal ve Duplicate önüne geçmek üzere sorumlu yazarlardan İntihal raporu talep edilir.

11-Benzerlik oranı kaynakça hariç en fazla %20-30 olmalıdır.

12-Yazarlar, yayımlanmak üzere gönderilen tüm çalışmaların potansiyel çıkar çatışması teşkil edebilecek durumları ve çalışmalarını destekleyen kuruluşları makalenin son kısmında beyan etmekle yükümlüdürler.

13-Ayrıca, çalışma lisansüstü tezlerden üretilmiş ise ve çalışmaya katkısı için teşekkür edilecek kişi veya kurumlar varsa bu gibi durumların da makalenin son kısmında belirtilmesi gerekmektedir.

## **C-HAKEMLERİN UYMASI GEREKEN ETİK KURALLAR**

1-Hakemler, Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi'ne gönderilen bir çalışma kendi uzmanlık alanında değilse, makale konusu hakkında yeterli bilgiye sahip değilse ya da zamanında bir değerlendirme yapamayacak durumda ise, editörü bu durumdan haberdar ederek değerlendirme görevinden ayrılmalıdır.

2-Hakemler, yazarı ile aralarında rekabet, iş birliği veya başka türlü ilişki ya da bağlantılar bulunduğunu tespit ettiği çalışmaları kesinlikle değerlendirmemelidir.

3-Hakemler, gizlilik ilkesine riayet ederek değerlendirmesini yapmalı, çalışmayı üçüncü kişilerle paylaşmamalıdır.

4-Hakemler, inceleme sürecinde elde etmiş olduğu ayrıcalıklı bilgi ve fikirleri gizli tutmalı ve kişisel çıkarı için kullanmamalıdır.

5-Hakemler, eleştiri ve önerilerini nazik bir dille objektif ve yapıcı bir şekilde yapmalıdır.

6-Yazara karşı iftira ve hakaret içeren aşağılayıcı yorum ve eleştiri kullanılmamalıdır.

7-Hakemler, fikirlerini açık biçimde destekleyen belgelerle desteklemelidir.

8-Hakemler, değerlendirilen çalışmanın daha önce yayınlanmış başka bir çalışma ile arasında esaslı bir benzerlik tespit etmeleri halinde, durumu editöre iletmelidirler.

# GIDA VE YEM BİLİMİ-TEKNOLOJİSİ DERGİSİ

## GENEL İLKELER ve YAZIM KURALLARI

Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, yılda iki defa (Ocak ve Temmuz) yayımlanan hakemli bir dergidir.

Dergide, özgün araştırma ürünü makaleler ile belirli bir konuyu yeterli sayıda kaynaktan araştırarak hazırlanmış derleme makaleleri yayımlanır. Gıda-yem bilimi ve teknolojisindeki son gelişmeleri ve araştırmaları kapsayan ve/veya farkındalık yaratmak amacıyla orijinal metne sadık kalınarak yapılan çeviri makaleler de değerlendirilir. Çeviri makalelerde orijinal eserin yabancı dildeki adı, yazarı, yayımlandığı yer ve yılı belirtilmelidir. Olgu sunumu türündeki yazılar da kabul edilerek değerlendirilir. Önemli bir potansiyeli ya da bulgusu olmayan ve sadece yerel ilgi çekecek makaleler basıma kabul edilmez. Dergide basılacak İngilizce makale sayısı toplam makale sayısının üçte birini geçemez.

Dergide yayımlanacak makaleler; gıda, yem, bunlara ait katkı maddeleri ve hammaddeler, su-atıksu, su ürünleri, gıda ile temas eden madde ve malzemelerde;

- Güvenilirlik ve kalite
- İşleme teknolojileri
- Analiz yöntemleri
- Biyogüvenlik ve biyoteknoloji
- Sosyo-ekonomik araştırmalar
- Mevzuatlar
- Diğer konular (geleneksel gıdalar, organik gıda ve yem, beslenme, gıda kimlik belirleme, gıda ve yem sanayi atıklarının değerlendirilmesi vb.) ile ilgili olmalıdır.

"Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisine gönderilmiş ve makalenin tamamı ya da bir bölümünün herhangi bir dilde daha önceden yayımlanmamış (tezler ve kongre sunu özetleri hariç) başka bir dergiye basım için gönderilmemiş olması gerekir. "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisinde yayımlanmış olan bir makale başka bir yerde yayımlanamaz.

"Etik Kurul İzin Belgesi'nin kullanıldığı araştırmalarda bu belgelerin makaleye eklenmesi gerekir.

Yayımlanması için "Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisine gönderilen makalede herhangi bir kurum ya da kuruluştan doğrudan ya da dolaylı alınan desteğin makale içinde ilk sayfa dipnot veya teşekkür başlığı altında belirtilmesi tümüyle yazarların sorumluluğundadır.

Tüm aşamalardan geçmiş dergimizde yayımlanması uygun olarak değerlendirilmiş makaleler sisteme yükleniş tarihine göre yayımlanmak üzere sıraya konulur. Hangi sayıda yayımlanacağı ile ilgili bilgi sorumlu yazara iletilir.

Aşağıda verilen yazım kurallarına uymadan hazırlanmış ve/veya dergi yayım ilkeleri ile uyuşmayan makaleler, hakeme gönderilmeden yazara iade edilir.

### MAKALE GÖNDERİMİ

Makaleler, basılı kopyaya gerek olmaksızın bursagida@tarim.gov.tr adresine e-posta yolu ile gönderilmelidir.

Makaledeki bilgilerin doğruluğunun sorumluluğu yazar(lar)a aittir.

#### Yazışma Adresi:

e-posta: bursagida@tarim.gov.tr

Yazar isterse, makaleyi değerlendirmek üzere "Son Kontrol Listesi Formu (BGA-FR-103)"nda ilgili bölüme üç isme kadar hakem önerebilir. Editör ve Yayın Kurulu, hakemleri seçme hakkını korur.

Gönderilen yazılar, önce yayım kurulunca dergi ilkelerine uygunluk açısından incelenir. Yayın kurulu üyeleri tarafından incelenen makaleler için “Yayın Kurulu Değerlendirme Formu (BGA-FR-105)” doldurulur. Uygun bulunmayanlar için kabul edilmeme sebebi yazara bildirilir.

Uygun bulunanlar, “Hakemlik Görev Yazısı Formu (BGA-FR-107)” doldurmuş olan o alandaki üç hakeme “Hakem Makale İnceleme Yazısı Formu (BGA-FR-106)” ile birlikte gönderilir (Öncelikle iki hakeme gönderilir. Hakemlerden birinden olumsuz sonuç gelmesi halinde üçüncü hakeme gönderilir). Dergi, COPE hükümleri doğrultusunda, hakemlerin ve yazarların kimliklerinin birbirinden gizlendiği double blind peer review (Çift Kör) hakem değerlendirmesi sistemini kullanmaktadır

Hakemler “Hakem Değerlendirme Formu (BGA-FR-102)”nu doldurarak makale ile ilgili değerlendirmelerini editöre iletirler. Hakemlerin ve yazarların isimleri gizli tutulur ve raporlar beş yıl süreyle saklanır. Hakem raporlarından ikisi olumlu, diğeri olumsuz olduğu takdirde, yazı yayımlanır. Olumsuz görüş bildiren hakeme durum hakkında bilgi verilir. Yazarlar, hakemlerin görüş ve önerileri doğrultusunda düzeltmeleri yaparlar. Editör ve Yayın Kurulu gerektiği durumlarda yazıların yazım şekli üzerinde değişiklik yapabilir. Makalesi kabul edilen yazarlara “Makale Kabul Yazısı (BGA-FR-110)” bu makalede değerlendirme yapan hakemlere de “Hakem Makale Teşekkür Yazısı (BGA-FR-115)” gönderilir.

Bütün makaleler ile birlikte "Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)" ile "Son Kontrol Listesi (BGA-FR-103)" de gönderilmelidir.

<http://arastirma.tarim.gov.tr/bursagida> adresindeki “Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)” doldurulup sorumlu yazar tarafından imzalandıktan sonra tarayıcıdan geçirilmeli ve elektronik dosya olarak [bursagida@tarim.gov.tr](mailto:bursagida@tarim.gov.tr) adresine mail ile gönderilmelidir. Makale basım için kabul edilmezse, “Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)”nun yasal bir önemi kalmaz ve hükümsüz olarak kabul edilir.

“Telif Devir Hakkı Formu (BGA-FR-104)”nun imzalanması ile yazar, makalenin " Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi" dergisinde basılması ve web sayfasında yayınlamasına ilaveten makalenin tamamı ya da bir kısmının yasal olarak çoğaltılması, yeniden basılması ve dağıtılması hakkını Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne devrederek, kendi haklarından feragat etmektedir.

## MAKALENİN HAZIRLANMASI

Dergiye başvuru sırasında gönderilecek makale, Microsoft Word yazılımıyla, A4 boyutundaki kağıdın tek yüzüne Times New Roman yazı tipi, 12 punto ve 2 satır aralıkla iki yana yaslanmış olarak yazılmalı; kenar boşlukları, her bir kenardan 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 22 sayfayı geçmemelidir. Editör ve yayın kurulu, makalenin kısaltılmasını isteyebilir. Ayrı kapak sayfası dışındaki tüm sayfalar numaralandırılmalı, ancak 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 olmalıdır. Diğer başlıklarda makale başlığı ile aynı özellikte olup sola dayalı olarak yazılmalıdır.

**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:**

Öztaş, 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.