



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**ÇİYA TOHUMU VE ÇİMLENDİRİLMİŞ TANE VE
FİLİZLER İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ YOĞURDUN
İN VİTRO SİNDİRİM SONRASINDA PROTEİN
PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Merve Eda Eker

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.

Ege Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

**ÇİYA TOHUMU VE ÇİMLENDİRİLMİŞ TANE
VE FİLİZLER İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ
YOĞURDUN *İN VİTRO* SİNDİRİM SONRASINDA
PROTEİN PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

Merve Eda EKER

Danışman : Prof. Dr. Sibel KARAKAYA

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir

2019

Merve Eda Eker tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filizler ile zenginleştirilmiş yoğurdun *in vitro* sindirim sonrasında protein profilinin belirlenmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 24.05.19 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Sibel KARAKAYA 

Raportör Üye : Prof. Dr. Özer Kınık 

Üye : Doç. Dr. Özlem Çağındı 

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filizler ile zenginleştirilmiş yoğurdun *in vitro* sindirim sonrasında protein profilinin belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

24/ 05/ 2019



Merve Eda Eker



ÖZET**ÇİYA TOHUMU VE ÇİMLENDİRİLMİŞ TANE VE FİLİZLER İLE
ZENGINLEŞTİRİLMİŞ YOĞURDUN *İN VİTRO* SİNDİRİM
SONRASINDA PROTEİN PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

EKER, Merve Eda

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sibel Karakaya

Mayıs 2019, 104 Sayfa

Günümüzde beslenme ve sağlık arasında olan ilişkinin daha net gün yüzüne çıkmış olması ve bu ilişkinin öneminin gün geçtikçe daha çok anlaşılması; tüketicilerde gıda ve beslenmeye verilen önemin artmasına ve tüketicilerin daha sağlıklı gıdalara yönelmesine, gıda sanayinde ise bu talebi karşılayabilmek adına yeni ürün geliştirme çalışmalarının artmasına neden olmuştur. Fonksiyonel gıda üretimi hem bilim dünyasında hem de gıda endüstrisinde üzerinde en çok çalışılan konular arasında yer almaktadır. Genel olarak fonksiyonel gıda üretiminde saf formda çeşitli besin öğeleri (vitaminler, mineraller vb) veya biyoaktif bileşenlerle zenginleştirme işlemi uygulanmaktadır. Fonksiyonel gıda biliminde en önemli çekince, bu bileşenlerle zenginleştirme sonrasında gıda matriksinde bu bileşenlerin nasıl davranacağı, sindirim sırasında gıda matriksinden açığa çıkıp çıkamayacakları ve/veya gıdadaki besin öğeleriyle (proteinler, karbonhidratlar vb) interaksiyon oluşturup oluşturmayacaklarıdır. Bu nedenle üretilen fonksiyonel gıdaların duyusal olarak kabul edilebilirliğinin yanı sıra gıda matriksi içerisinde beklenen sağlık faydasını sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi önemlidir. Bu yüksek lisans tezinde kaliteli protein kaynağı olan yoğurdun diyet lifi ve fenolik bileşiklerce zengin çimlendirilmiş mercimek ve börülce tane ve filizleri ve protein içeriği yüksek, ω -3 yağ asidi içeren ve diyet lifince zengin çiya tohumları ile zenginleştirilmesi amaçlanmıştır. Üretilen yoğurtların bileşimlerinde, yağ asidi profillerinde, toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimin kontrol yoğurt örneği ile karşılaştırılması, bununla birlikte *in vitro* sindirim

uygulanan tüm örneklerin protein profilinin incelenmesi, farklı bileşen kombinasyonları ile üretilen yoğurtların özellikle *in vitro* gastrik sindirimi sonrasında (alerjen protein tespitinde ilk adım proteinin pepsin ile hidroliz olup olmadığının tespitidir) alerjen bir protein olan β -laktoglobulin hidrolizi üzerine etkisinin kontrol yoğurtla kıyaslanması, hem duyuşal olarak kabul edilebilir hem de sağlığı olumlu etkileme potansiyeline sahip bir ürün eldesi amaçlanmıştır. Ayrıca kontrol yoğurt, \mathcal{C} iya içeren yoğurt, tane ve filiz içeren yoğurt ve her iki bileşeni içeren yoğurdun sindirim sonrası kolon fermantasyonu modellenerek kısa zincirli yağ asidi üretme potansiyeli değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonrasında tane ve filiz ile \mathcal{C} iya eklenen yoğurtların protein oranı, toplam fenolik madde içeriği kontrol yoğurda göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca *in vitro* sindirim sonrası toplam fenolik madde içeriğinin yaklaşık 13-23 kat artış gösterdiği saptanmıştır. \mathcal{C} iya içeren yoğurtların yağ asidi profilinde ω -3 yağ asidi (ALA) tespit edilirken kontrol yoğurt ile tane ve filiz içeren yoğurtta ω -3 yağ asidi saptanmamıştır. Yapılan *in vitro* gastrik sindirim sonrasında tane filiz içeren yoğurt ile kontrol yoğurdun β -laktoglobulin hidrolizinde bir farklılık saptanmazken \mathcal{C} iya içeren yoğurtta β -laktoglobulin bandının yoğunluğunun daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca model kolonik fermantasyon sonrası kısa zincirli yağ asidi üretimi tespit edilmiştir. Kontrol yoğurdun kolonik fermantasyonu sonrasında asetik asit, bütirik asit ve propiyonik asit, \mathcal{C} iya tohumu ve tane ve filiz içeren yoğurt ile her ikisini içeren yoğurdun fermantasyonu sonrasında ise asetik asit ve bütirik asit tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: fonksiyonel gıda, protein profili, yoğurt, \mathcal{C} iya tohumu, çimlendirilmiş tane, kısa zincirli yağ asitleri

ABSTRACT**DETERMINATION OF PROTEIN PROFILE AFTER *IN VITRO*
DIGESTION OF YOGURT ENRICHED WITH CHIA SEEDS AND
GERMINATED SEEDS AND SPROUTS**

Eker, Merve Eda

MSc in Food Eng.

Supervisor: Prof. Dr. Sibel KARAKAYA

May 2019, 104 Pages

Increasing consumer interest in a healthy lifestyle and health-enhancing natural products has led to an increase in global demand for functional dairy products. In order to meet this demand, new food product development efforts have increased in the food industry. Functional food production is one of the most studied topics in both the scientific world and the food industry. Generally, in functional food production, foods are enriched with various nutrients (vitamins, minerals, etc.) or bioactive ingredients. The most important drawback in functional food research is unknown behaviors of these components in the food matrix after enrichment, whether they can be released from the food matrix during digestion and / or interacted with nutrients food contains (proteins, carbohydrates, etc.). Therefore, it is important to determine whether functional foods provide health benefits within the food matrix besides produce sensory acceptability. In this master thesis, we aimed to enrich the yogurt with high-quality protein and phenolic compounds source, germinated lentil and cowpea seeds and sprouts, and chia seeds rich in ω -3 fatty acids and dietary fiber. The other aims of this thesis can be explained as to compare proximate composition, fatty acid profile and total phenolic content of yogurts, to determine protein profiles of yogurts after *in vitro* digestion, to find out effect of addition of these compounds on gastric

digestion of β -lactoglobulin, a well-known allergen protein, to produce yogurts which have sensory acceptability along with potential health benefits. The potential of short-chain fatty acid production was evaluated by modeling of the colonic fermentation by using enzymes. Protein and phenolic contents of yogurt containing chia seeds, and germinated seeds and sprouts were higher than those of control yogurt. The total phenolic content of yogurts after *in vitro* digestion increased by 13-23 fold. As expected yogurt containing chia seeds displayed ω -3 fatty acid (ALA), but none of the other yogurts did not contain any ω -3 fatty acid. Protein profiles obtained for yogurts after *in vitro* gastric digestion showed that the intensity of the β -lactoglobulin band was lighter in yogurt containing chia seeds than those of other yogurts. Results of model colonic fermentation showed that only control yogurt caused production of propionic acid in addition to acetic and butyric acids. However, the other yogurts caused the production of acetic and butyric acids.

Keywords: functional food, protein profile, yogurt, chia seeds, germinated seeds and sprouts, short chain fatty acids

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında yoğurda çiya tohumu ve çimlendirilmiş mercimek ve börülce tane filizleri eklenip fonksiyonel ürün eldesi amaçlanarak yola çıkılmıştır. Elde edilen bu ürünlerin bileşiminde, toplam fenolik madde içeriğinde, yağ asidi kompozisyonunda meydana gelen değişiklikler ortaya konulmuştur. Ayrıca elde edilen tüm ürünlere *in vitro* sindirim uygulanmış ve üretilen tüm yoğurtların sindirim sonrası protein profillerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. *In vitro* sindirim sonrası proteaz ve karbonhidraz enzimleri kullanılarak kolon fermantasyonu modellenmiş, fermantasyon sonrası halihazırda bir çok olumlu sağlık etkisi olduğu bilinen ve günümüzde üzerine araştırmaların hala devam ettiği kısa zincirli yağ asitlerinin ortamdaki varlığı araştırılmış, elde edilen veriler ortaya konulmuştur.

Merve Eda Eker

24/ 05/ 2019

İZMİR



İÇİNDEKİLERSayfa

İÇ KAPAK	i
KABUL ONAY SAYFASI	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
ÖNSÖZ	xiii
İÇİNDEKİLER	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
TABLolar DİZİNİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Beslenme, Fonksiyonel ve Fermante Gıdalar	5
2.2. Yoğurt.....	7
2.3. Kısa Zincirli Yağ Asitleri	13
2.4. Çiya Tohumu	18
2.5. Çimlendirilmiş Tane ve Filizler.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Gereç.....	31
3.2. Yöntem	31
3.3. Çalışma Planı	34
3.4. Analizler	36
3.4.1. Tanelerin çimlendirilmesi.....	36

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.4.2. Yoğurt üretimi.....	36
3.4.3. Duyusal analiz.....	37
3.4.4. Kuru madde tayini.....	38
3.4.5. Kül tayini.....	39
3.4.6. Yağ tayini.....	39
3.4.7. Yağ asitlerinin saptanması	41
3.4.8. Protein tayini	41
3.4.9. Toplam fenolik madde tayini	42
3.4.10. <i>In vitro</i> sindirim	43
3.4.11. Kolonik fermantasyonun modellenmesi	47
3.4.12. Kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) analizi.....	47
3.4.13. SDS-Page	48
3.4.14. İstatistiksel analiz.....	49
4. GENEL SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	50
4.1. Duyusal Analiz.....	50
4.2. Yoğurtların Bileşimi	51
4.3. Yağ Asitleri Kompozisyonu.....	55
4.4. Toplam Fenolik Madde.....	58
4.5. <i>In vitro</i> Sindirim Sırasında Protein Profili Değişimi	65
4.6. Kolonik Fermantasyon Modeli ve Kısa Zincirli Yağ Asitleri.....	69
5. SONUÇ	77
KAYNAKLAR DİZİNİ	80
TEŞEKKÜR.....	103
ÖZGEÇMİŞ	104
EKLER.....

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.3 Tez çalışma planı	35
3.4.6 Kontrol yoğurtlarına uygulanan Gerber analizinin görüntüleri	40
3.4.10 Mide ve ince bağırsak sindirimleri sonrası uygulanan işlemler	46
4.1 Duyusal analiz için hazırlanan yoğurt örneklerinin görüntüleri	50
4.3.1 Kontrol yoğurdun yağ asidi kompozisyonu.....	55
4.3.2 %2 Çiya içeren yoğurdun yağ asidi kompozisyonu	56
4.3.3 %3 Çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun yağ asidi kompozisyonu .	56
4.3.4 %2 Çiya ve %3 Çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun yağ asidi kompozisyonu.....	57
4.4.1 Fenilalaninden amonyak <u>molekülünün</u> ayrılmasıyla ikincil fenolik bileşenlerin sentezi	60
4.4.2 <i>In vitro</i> sindirim öncesi ve sonrasında saptanan fenolik madde miktarları (mg GAE/100g)	63
4.5 Örneklerin <i>in vitro</i> mide sindirimi ve intestinal sindirim sonrası protein profilleri.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.6.1 Kolonik fermantasyon sonrası kör örneğin kısa zincirli yağ asidi profili....	70
4.6.2 Kolonik fermantasyon sonrası kontrol yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili	72
4.6.3 Kolonik fermantasyon sonrası %2 çiya içeren yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili	73
4.6.4 Kolonik fermantasyon sonrası %3 tane ve filiz içeren yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili	74
4.6.5 Kolonik fermantasyon sonrası %2 çiya ve %3 tane ve filiz içeren yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili	75

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.2 Türkiye genelinde günlük ortalama bitkisel ve hayvansal protein alımları.....	9
3.4.2 Duyusal analiz için üretilen yoğurt örnekleri	37
3.4.3 Uygulanan hedonik skala testi	38
3.4.10 <i>In vitro</i> sindirim yönteminde kullanılan sıvıların elektrolit konsantrasyonları ve hacimleri	44
4.1 Duyusal analiz sonucu yoğurtların aldığı puanlar	50
4.2 Yoğurtların bileşimini temsil eden kül, nem, protein, yağ analizlerinin sonuçları.....	52
4.4.1 Yoğurtların toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/ 100 g).....	61
4.4.2 Yoğurtların <i>in vitro</i> sindirim sonrası içerdikleri toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/ 100 g)	62
4.5 Sığır sütünde bulunan proteinlerin moleküler ağırlıkları.....	65



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
%	Yüzde
°C	Derece santigrat
mL	Mililitre
mg	Miligram
kg	Kilogram
mg/w	Hacim/ağırlık
g	Gram
M	Molar
HCl	Hidroklorik asit
NaOH	Sodyum hidroksit
KCl	Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	Potasyum di hidrojen fosfat
NaHCO ₃	Sodyum bikarbonat
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	Magnezyum klorit hegzahidrat
(NH ₄) ₂ CO ₃	Amonyum karbonat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
<	Küçük
>	Büyük
µg	Mikrogram
L	Litre
µmol	Mikromol
mmol	Milimol
µg	Mikrogram
pH	Power of Hydrogen
α	Alfa
β	Beta
κ	Kappa
ω	Omega
rpm	Dakikadaki devir sayısı
nm	Nanometre
v/v	Hacim/hacim
NaCl	Sodyum klorit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
kDa	Kilodalton
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	Kalsiyum klorür di hidrat
MW	Moleküler ağırlık
Abs	Absorbans
dk	Dakika
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
AOAC	Analitik Kimyagerler Derneği
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
TÜBER	Türkiye Beslenme Rehberi
ANOVA	Varyans Analizi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
SSF	Simule ağız sıvısı
SGF	Simule mide sıvısı
SIF	Simule ince bağırsak sıvısı
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
EPA	Eikosapentaenoik asit
DHA	Dokosaheksaenoik asi
ALA	Alfa-linolenik asit
KLA	Konjuge linoleik asit
KZYA	Kısa zincirli yağ asitleri
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SDS-Page	Sodyum dodesil sülfat–poliakrilamid Jel Elektroforez
SPSS	Statistical Package for the Social Science (IBM firmasının istatistik programı)
GAE	Gallik asit eşdeğeri
M.Ö	Milattan önce

1.GİRİŞ

Günümüzde obezite, kolon kanseri ve kardiyovasküler hastalıklardaki artış modern yaşamın getirdiği hızlı fakat sağlıklı beslenme ile ilişkilendirilmektedir. Türkiye’de Sağlık Bakanlığı İstatistik verilerine göre 2012 yılında %17,2 olan obezite oranı 2016’da %19,6’ya yükselmiştir. Ayrıca DALY (Erken yaşlardaki ölümler ile sonuçlanmayan ancak uzun dönemli işlev kaybına yol açan hastalıklar ve yaralanmalar nedeniyle kaybedilen yılları sayan mutlak bir sağlık kaybı ölçütüdür) olarak ifade edilen ölçüte göre 2002 yılından 2016 yılına kadar olan süreçte diyabet hastalığının %31,4 oranında arttığı ve iskelet ve kas sistemi hastalıklarında da %23,9’luk bir artış olduğu görülmektedir (T.C Sağlık Bakanlığı, 2017). Bu hastalıkların önüne geçebilmek adına insanların dengeli ve sağlıklı beslenmesine katkıda bulunacak, günlük beslenmelerinde yeterince alamadıkları besin öğelerini barındıracak çeşitli zenginleştirilmiş ürünlerin günlük diyetlerine kazandırılması gerekmektedir (Vural, 2004). Son yıllarda besleyici ve sağlıklı gıdalara artan yönelim, gıda bilimini sağlık etkileri yaratacak yeni ürünler geliştirmeye, gıda endüstrisini de yeni ürünler tasarlayarak bu ürünleri sağlıklı gıda pazarına sunmaya teşvik etmiştir. Bu etkiler sonucu bugün diyet takviyesi ve fonksiyonel yiyecek ve içecek pazarı, yılda %10 büyüyen 150 milyar dolarlık bir pazar oluşturmuştur. (El and Şimşek, 2012; Hilton, 2017). Fonksiyonel gıdalar; vücudun temel besin öğesi ihtiyaçlarını karşılamasının yanı sıra insan fizyolojisi ve metabolizması üzerinde ek faydalar sağlayan, hastalıklara karşı koruyucu etki gösteren ve daha sağlıklı bir yaşama ulaşmaya destek olan gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Sevilmiş, 2013). Gıdalar, bileşimlerinde bulunan maddelerin durumuna göre fonksiyonel olabildiği gibi, bu öğelerin yoğun bulunduğu gıdalar, bu öğelerin bulunmadığı ya da eksik bulunduğu gıdalara eklenerek fonksiyonel gıda haline getirilebilmektedirler (Yiğit vd., 2005). Özellikle fonksiyonel gıda kategorisinde “zenginleştirilmiş ürünler” ön plana çıkmaktadır.

Yoğurt, yapısında kaliteli protein, karbonhidrat ve lipit bulunan, kuru madde içeriği yüksek, kalsiyum, potasyum, fosfor, magnezyum, çinko ve B vitaminleri

bakımından da oldukça zengin, probiyotik mikroorganizmalar içeren bir gıda olması sebebiyle aslında tek başına bir fonksiyonel gıda olarak değerlendirilebilmektedir (Kızılaslan ve Solak, 2016).

Çiya tohumu (*Salvia hispanica*) tarih öncesinden gelen bir tohum olmasına karşın son yıllarda popüler olmuş bir tohum çeşididir. Çiya tohumu, protein (%15-25), yağ (%30-33), karbonhidrat (%26-41), yüksek diyet lifi (%18-30), mineraller (özellikle magnezyum, potasyum, demir ve çinko) ve vitaminler içermektedir. Çiya tohumlarının yağı % 60 oranında ω -3 yağ asidi olan alfa-linolenik asit (ALA) ve % 20 oranında ω -6 yağ asidi olan linoleik asit içermektedir. Gluten içermemesi de önemli bir diğer özelliğidir (Mohd Ali et al., 2012; Rahman et al., 2017). İnsan beslenmesinde kullanımı tarih öncesine dayansa da son yıllarda zengin içeriği ile ön plana çıkan ve günlük diyetimize dahil ettiğimiz yağlı tohumlardandır.

Bitkisel gıdalar biyoaktif bileşenler ve diyet lifi açısından zengin gıdalardır ve sağlık üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir (Hu, 2003; Richter et al., 2016). Yağlı tohumlar ve baklagiller bitkisel gıdaların besleyici değerler açısından öne çıkan gruplarındandır. Ayrıca, besleyici değerlerinin yanı sıra çeşitli antioksidanlar ve biyoaktif bileşikler içermektedirler. Baklagiller, protein, nişasta, diyet lifi, vitaminler, özellikle niasin, riboflavin, tiamin ve kalsiyum, demir vb. minerallerin önemli bir kaynağıdır (Aguilera et al., 2015; Sattar et al., 2017). Yapılan çalışmalar çimlendirme işlemi ile baklagillerin besleyici değerinin artırılmasının mümkün olacağını göstermiştir. Çimlendirme sırasında meydana gelen bazı biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda tanenin; protein kalitesinde ve çözünürlüğünde, vitamin içeriğinde, protein sindirilirliğinde, antioksidan aktivitesinde, su tutma kapasitesinde artış sağlanmaktadır. Ayrıca bağırsaklarda gaz yapma özelliğindeki rafinoz, stakiyoz gibi karbonhidratlarda çimlendirmeyle birlikte azalma meydana gelmektedir (Vidal-Valverde et al.,2002; Patil and Khan, 2011).

İn vivo çalışmalar çok zaman alıcı ve masraflı olmaları nedeniyle ve etik açıdan hala tartışma konusu olduklarından özellikle farklı gıdaları veya ürünleri

kıyaslamada *in vitro* yöntemlerin kullanılması bilim dünyasında kabul görmüş bir araştırma yöntemidir. *In vitro* sindirim yöntemleri, *in vivo* tekniklerden etik açıdan üstün, daha hızlı ve daha ucuzdur. Bu yüzden gıda bileşenlerini hızla taramak için hayvan ve insan modellerine bir alternatif sağlamaktadır. Bu tez çalışması, ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirimin modellendiği statik *in vitro* sindirim ve kolon sistemindeki enzimlerin hidroliz etkilerinin modellendiği sistemin kullanımı ile yoğurdun zenginleştirme nedeniyle sağlık faydasının artıp artmadığını (protein profilindeki değişimler, yağ asidi profili, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği) ortaya koyan önemli bir çalışmadır.

Ayrıca bu çalışma henüz tam olarak aydınlatılamayan kolondaki metabolik faaliyetlerin kısıtlı da olsa *in vitro* koşullarda modellenmesi ile yoğurt ve zenginleştirilmiş yoğurtların kolondaki fermantasyonu hakkında bir takım bilgilere ulaşılabilmesi açısından da önemlidir. Elde edilecek ürünlerin fermante bir ürün olmasının ve eklenen tane, filiz ve çiya tohumları nedeniyle diyet lifi ve biyoaktif bileşenler içermesinin kolonik fermantasyonu ve fermantasyon sonrası açığa çıkacağını öngördüğümüz kısa zincirli yağ asitlerine etki mekanizmasını inceleyerek kolon sağlığını arttırabilecek durumlar hakkında fikir sahibi olunacağı için de önemli ve özgün bir çalışmadır.

Tez çalışması için yapılan literatür taraması sonucunda çimlendirilmiş taneler ve çiya tohumunun birlikte kullanılarak zenginleştirildiği bir yoğurt çalışmasına rastlanmamıştır. Science Direct ve Web of Science veri tabanlarında yalnızca çiya tohumu ile zenginleştirilen yoğurda ya da yalnızca çimlendirilmiş soya ile zenginleştirilen soya sütünden yapılan yoğurtlarla ilgili çalışmalara rastlanmıştır. Bu çalışmalarda genelde yoğurdun reolojik ve duyuşsal özellikleri geliştirilmeye çalışılmış ya da zenginleştirme ile bir fonksiyonel gıda oluşturulması amaçlanmıştır. Ancak bizim çalışmamızda hedefimiz yeni bir fonksiyonel gıda yaratmanın yanı sıra bu ürünün sindirimi sonrası beklenen sağlık faydasını gösterip göstermediğini ortaya koymaktır. Sadece zenginleştirme yapmak değil bu zenginleştirme ile; sindirim sonrasında protein ve yağ asidi profillerindeki değişimi saptamak, kolonik fermantasyon sonrası sağlığı olumlu

etkileyen kısa zincirli yağ asitlerinin açığa çıkıp çıkmayacağını tespit etmek amaçlanmıştır.

Yoğurdun, çimlendirilmiş tane ve filizlerin, çiya tohumunun sağlık üzerine çok çeşitli ve olumlu etkileri bulunmaktadır. Yoğurt çeşitli besin öğeleri ve biyoaktif bileşiklerce zengin olmakla birlikte fenolik madde bakımından fakir bir gıdadır ve ω -3 yağ asidi içermez. Bu yüzden çalışmamızda protein, kalsiyum oranı yüksek, laktik asit bakterileri içeren bir süt ürünü olan yoğurdun biyoaktif bileşenlerce zengin, diyet lifi ve protein oranı yüksek taneler, filizler ve çiya tohumu ile zenginleştirilip tüketicilerin tek bir üründen sağlayacağı besleyici faydanın artırılacağı bir ürüne dönüştürülmesi ve besleyici faydanın protein ve yağ asidi profillerindeki değişim ile (*in vitro* sindirim öncesi ve sonrası) ve kolonik fermantasyon sonrasında açığa çıkan kısa zincirli yağ asitlerinin tespiti ile ortaya konması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beslenme, Fonksiyonel ve Fermante Gıdalar

Beslenme sadece büyüme ve yaşamın sürdürülmesi için değil aynı zamanda sağlıklı olmak ve beslenme ile ilişkili hastalıkların önlenmesi açısından büyük bir öneme sahiptir. Yeterli, dengeli ve sağlıklı beslenme için her öğünde beş gıda grubundan (et, yumurta ve kurubaklagil grubu, süt ve süt ürünleri grubu, tahıl grubu, meyve ve sebze grubu ve yağlar) belirli porsiyonlarda tüketilmesi önerilmektedir. Beslenme bilimcileri dengeli ve sağlıklı beslenme ve hastalıkların önlenmesi için besin öğeleri ve biyoaktif bileşenlerin optimum şekilde vücuda alınmasına dayalı bir beslenme modeli olan 'optimal beslenme' yaklaşımını benimsemektedir (Granato et al., 2010; El and Şimşek, 2012; Linares et al., 2017).

Son yıllarda yapılan çalışmalar kalp damar rahatsızlıkları, obezite, tip-2 diyabet, insülin direnci gibi bazı kronik hastalıkların oldukça yaygınlaştığını ve bu rahatsızlıkların genetik yatkınlığın yanı sıra yanlış beslenme alışkanlıklarından ve düşük fiziksel aktiviteden de kaynaklandığını ve sürekli bir artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Süregelen çalışmalar diyetin insan sağlığını etkileyebilecek moleküler ve immünolojik yönlerinin çoğunu hala net olarak açığa kavuşturmamış olsa da diyet ve fizyoloji arasındaki ilişki giderek daha fazla kabul görmektedir. WHO, (2018)'in verilerine göre tüm dünyada obezite 1975 yılından bu yana neredeyse 3 kat artış göstermiş, 5-19 yaş arası adolesanlarda görülen obezite oranı ise 1975 yılında %0.8 iken 2016 yılında %6.8'e yükselmiştir. Ayrıca aynı rapora göre ülkemizdeki ölümlerin %16.1'i kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser gibi beslenme ile ilişkisi olabilecek hastalıklardan kaynaklanmaktadır.

Fonksiyonel gıdalar hastalıkların önlenmesine katkı sağlayıp sağlığı koruyucu etkilerle sağlık sistemi üzerindeki artan yükü azaltmaya yardımcı olabilecek potansiyeldedirler. İlk kez 1980'li yılların başında Japonya'da zenginleştirilmiş ve işlevsel etkilere sahip gıdalar için kullanılan 'fonksiyonel gıda' teriminin günümüzde hala netleşen bir tanımı yoktur. Ancak bu gıdalar için,

içerdiği besin öğeleri aracılığıyla insan sağlığı üzerinde bir veya daha fazla yararlı etkisi bulunan, genel sağlık koşullarını iyileştirici veya hastalıkların riskini azaltıcı özelliklere sahip olan gıdalardır şeklinde bir tanımlama yapmak mümkündür. Hap, ilaç ya da besin takviyesi değildirler (Martirosyan and Singh, 2015; Gul et al., 2016; Linares et al., 2017; Türkmen ve Gürsoy, 2017). Yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, fonksiyonel gıda tüketimi ile kanser riskinin azalması, kalp sağlığının sağlanması, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, menopoz semptomlarının azalması, kan basıncının azalması, osteoporoz ve obezitenin etkilerinin azalmasının ilişkili olduğunu göstermiştir (Grajek et al., 2005).

Beslenmeyle ilişkili hastalıkların önüne geçebilmek adına insanların günlük beslenmelerinde yeterince alamadıkları ya da yetersiz aldıkları besin öğeleri ve biyoaktif bileşikleri (vitamin, mineral, aminoasitler, antioksidanlar, prebiyotikler, lifler gibi) zenginleştirilen ürünlerle günlük diyetlerine kazandırılmasının uygun olacağı düşünülmektedir (Vural, 2004). Gıda, beslenme ve sağlık arasındaki sinerjistik etkinin farkındalığının binlerce yıl öncesinde dahi olduğunu Hipokrat'ın 'Gıdanız ilacınız, ilacınız gıdanız olsun' sözünden anlamak mümkündür. Bu ilişki, her geçen gün toplum tarafından farkındalığı artan ve bu nedenle gıda endüstrisini "sağlıklı gıda" kapsamında yeni ürünler geliştirmede itici gücü oluşturan bir etken olarak karşımıza çıkmakta, aynı zamanda gıda biliminin de üzerinde yoğunlaştığı ve çalışmalarının ana hedefini oluşturan başlıca araştırma konuları arasındaki payını gün geçtikçe artırmaktadır. Yaşam koşullarına bağlı olarak, tüketicilerin gıdalardan beklentileri de değişmekte gıdalardan karın doyurmanın yanı sıra hastalıklardan koruyucu, sağlığa katkı sağlayıcı etkiler beklenmektedir. Bu beklentileri karşılayabilmek adına fonksiyonel gıdalar adına yapılan çalışmalar son 10 yılda ciddi biçimde artış göstermiştir. Fonksiyonel gıda kategorisinde özellikle "zenginleştirilmiş ürünler" (vitamin ve mineraller ile, protein ve biyoaktif bileşenler ile vb) ön plana çıkmaktadır (Milner, 1999; Ares et al., 2010; Berasategi et al., 2010; Aghajanpour et al., 2017; Türkmen ve Gürsoy, 2017).

Sağlıklı yaşam tarzına ve sağlığı geliştiren doğal ürünlere olan artan tüketici ilgisi, biyofonksiyonel süt ve süt ürünlerinin küresel talebinin de artmasına neden olmaktadır (Linares et al., 2017). Bu talebi karşılayabilmek adına çeşitli işlemlerle (farklı proses uygulama, zenginleştirme, sağlığa zararlı maddeleri inhibe etme vb.) sağlığı geliştirici etkiler yaratacak gıdalar üretilmektedir. Süt ürünleri eldesinde başvurulan fermantasyon işlemi; çok eskiden beri bilinen gıda koruyucu bir yöntem olmasıyla birlikte süt ürünlerinde kaliteyi ve duyuşsal özellikleri arttırmak amacıyla en sık başvurulan yöntemdir. Fonksiyonel içecek pazarının yaklaşık %43'ü süt bazlı ürünlerden oluşmaktadır ve bu ürünlerin büyük kısmı fermante ürünlerdir (Marsh et al., 2014). Sütün fermantasyonunda kullanılan mikroorganizmalar biyolojik olarak aktif moleküller ve enzimler üreterek (gama-aminobutirik asit, biyoaktif peptitler, bakteriyosinler, enzimler, konjuge linoleik asitler vb.) son üründe ek bir sağlık faydası oluştururlar (Linares et al., 2017). Fermante gıdaların ve fermante süt ürünlerinin hem genel hem de gastrointestinal sağlık durumunda yaptığı iyileştirici etki ve hastalık riskini azaltıcı gücü de sağlık değeri açısından oldukça önem taşımaktadır (Gómez-Gallego et al., 2018).

Bunların yanı sıra fermante süt ürünleri ekonomik ve dünyanın her yerinde bulunabilir ürünler olmaları açısından erişilebilirlikleri kolay gıdalardır. Son zamanlarda, fermante edilmiş gıdalar, artisanal süreçlerin vurgulandığı Batı diyetlerin bir parçası olarak popülerliğini yeniden kazanmış ve yarattıkları olumlu sağlık etkileri dolayısıyla tercih edilirlikleri de artış göstermiştir. Artan popüleritesi ve daha çok araştırılması ile birlikte görülen olumlu etkiler sonrasında, araştırmacılar tarafından fermante gıdaların ulusal diyet tavsiyelerinin bir parçası olması gerektiği belirtilmektedir (Marco et al., 2017; Gómez-Gallego et al., 2018).

2.2. Yoğurt

Süt ürünleri, yüksek kaliteli protein, potasyum, magnezyum, çinko ve B vitamini bakımından zengin olup mükemmel bir kalsiyum ve fosfor kaynağıdır. Süt ve süt ürünleri kalsiyumdan zengin olmaları nedeniyle özellikle çocuk ve adolesanlarda sağlıklı kemik ve diş gelişiminde, yetişkinlerde ise kalp-damar

hastalıkları, inme, yüksek tansiyon, Tip II diyabet, osteoporoz, kolon kanserinden korunmada ve vücut ağırlığını yönetiminde önem taşıdığından günlük diyetle mutlaka yer alması gereken gıda gruplarından biridir (Türkiye Beslenme Rehberi, 2016).

Süt ürünlerinin M.Ö 10000-5000 yılları arasında hayvanların evcilleştirilmeye başlanmasıyla diyete dahil olduğu düşünülmektedir. Eski zamanlarda Orta Doğu'da çobanlar kolaylıkla küflenmiş sütü koruma amaçlı hayvan bağırsağından yapılmış torbalarda taşırken bağırsak sıvıları ile temasın sütün ekşimesine, pıhtılaşmasına sebep olduğunu ve oluşan bu yeni yapının daha uzun süre bozulmadan korunabildiğini farketmişlerdir. Böylece yoğurt gastronomi tarihinde yerini almıştır. Bununla birlikte yoğurt kelimesinin Türkçe kalınlaştırmak, yoğunlaştırmak anlamına gelen 'yoğurmak'tan geldiğine inanılmakta ve 11. Yüzyılda Yusuf Has Hacip tarafından yazılan Kutadgu Bilig ile Kaşgarlı Mahmut tarafından yazılmış Divan-ü Lügati't Türk adlı eserlerde yoğurttan ve Türklerin yoğurdu kullanım biçimlerinden de bahsedilmektedir (Fisberg and Machado, 2015).

Orta çağdan bu yana Türk mutfak kültüründe değişmeyen başlıca gıdalardan olan yoğurt ülkemizde en çok tüketilen süt ürünlerinden birisidir. 2013 yılında Danone Araştırma Enstitüsü'nün yayınladığı rapora göre yıl içerisinde kişi başına yoğurt tüketiminde Türkiye, 281.5 kap (1 kap=125 g) yoğurt tüketimi ile 285.6 kap tüketim yapan Hollanda'dan sonra ikinci sırada yer almıştır (Kızılaslan ve Solak, 2016). Ayrıca Ulusal Süt Konseyinin yayınladığı süt raporuna göre kültürümüzde önemli bir yere sahip olan yoğurt ve ayran, içme sütünden sonra entegre süt işletmeleri tarafından toplanan süt miktarının en çok işlendiği süt ürünleridir. İçme sütü ve peynir tüketim rakamlarıyla benzer bir hesaplama ile 2016 yılı kişi başı yoğurt tüketimi 30 kg/yıl olarak hesaplanmıştır (Ulusal Süt Konseyi Süt Raporu, 2016).

Ülkemizde 2014 yılında yayımlanan Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 sonucuna göre; Türkiye genelinde günlük ortalama bitkisel

protein alımları ile hayvansal protein alımlarının yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2.2’de görülmektedir.

Tablo 2.2. Türkiye genelinde günlük ortalama bitkisel ve hayvansal protein alımları (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2014)

Yaş Grubu	Kadın		Erkek	
	Bitkisel protein (g)	Hayvansal protein (g)	Bitkisel protein (g)	Hayvansal protein (g)
2-5	17.4	19.2	18.2	21.0
6-8	24.2	21.1	25.3	23.3
9-11	28.1	22.5	26.7	25.2
12-14	29.4	21.9	33.7	28.6
15-18	28.9	19.9	38.3	29.8
19-30	27.4	24.5	37.2	34.1
31-50	28.4	23.6	37.6	35.2
51-64	27.7	21.7	34.2	30.1
65-74	26.3	19.8	30.9	25.2
75+	22.1	17.4	29.0	22.9

Aynı çalışmada Türkiye genelinde süt tüketmeyenlerin oranının %44.6, yoğurt, kefir ve ayran gibi süt ürünlerini tüketenlerin oranının ise %55.1 olduğu bildirilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2014).

Özellikle çocuklarda süt ve süt ürünleri grubunun tüketim alışkanlığının oluşturulması, ileri yaşlarda alışkanlığın devam ettirilmesi açısından önemlidir. Her gıda gurubunda olduğu gibi süt ve süt ürünlerinde de önerilen günlük tüketim miktarı yaş, cinsiyet ve fizyolojik duruma göre değişiklik göstermektedir. Türkiye Beslenme Rehberi (TÜBER) yetişkinlerde günde 3 porsiyon, çocuklarda adolesan

dönemi gençlerde, gebe ve emzikli kadınlarda ve menopoz sonrası kadınlarda ise 2-4 porsiyon süt ve süt ürünleri tüketilmesini önermektedir (TÜBER, 2016).

Yoğurt; fermantasyonda spesifik olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*'un simbiyotik kültürlerinin kullanıldığı fermante bir süt ürünüdür ve yapısında kaliteli protein, karbonhidrat ve lipit bulunan, kalsiyum, potasyum, fosfor ve B vitaminlerince zengin, probiyotik mikroorganizmalar içeren bir gıdadır (Adolfsson et al., 2004; Fisberg and Machado, 2015). Yoğurt, yüksek orandaki kalsiyum içeriğinin yanı sıra bileşiminde bulunan kalsiyumun emiliminin oldukça yüksek olması nedeniyle de iyi bir kalsiyum kaynağıdır. Süt ürünlerinde kazeinden türetilen fosfopeptitler ve amino asitlerin varlığı, aktif taşıma veya pasif difüzyonun etkinliğini artırarak kalsiyumun emilimini kolaylaştırır (Özden, 2007; Pei et al., 2017).

Ayrıca, yoğurt üretimi sırasında gerçekleşen fermantasyon sonucu süt proteinlerinin sindirilebilirliği artmakta dolayısıyla süt ürünlerinin besleyici değeri artabilmektedir. Örneğin; fermantasyon esnasında bazı bakteriler folat sentezleyebilmektedir. Crittenden et al., (2003) *Streptococcus thermophiles* bakterilerinin en yüksek folat üretme özelliğine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *B. animalis* ve *S. thermophilus* bakterilerinin birlikte bulunduğu yoğurt fermantasyonu sırasında folat seviyelerinin yağsız süte oranla altı katına kadar çıkabildiği gösterilmiştir. Ek olarak, fermantasyon işlemi ile bakterilerin proteolitik aktivitesi sonucu kısmi olarak hidrolizlenen süt proteinleri ve laktozun laktik aside dönüşmesiyle yoğurtta bulunan protein ve laktoz süttekenden daha rahat sindirilebilir hale gelmektedir (FAO, 2013). Bunlara ek olarak, yoğurt melatonin içeren bir gıdadır. Probiyotik yoğurdun melatonin (0,13 ng/g) ve melatonin izomeri (0,90 ng/g) içerdiği bildirilmiştir (Eker ve Karakaya, 2018).

Kaliteli protein kaynaklarının tüketimi, bebeklikten yaşlılığa insan metabolizmasında bir çok fonksiyonun sağlanması (büyüme, gelişme, hormonların sentezi, bağışıklık sisteminin gelişimi, kas kütlelerinin oluşması vb) için zorunludur. Yapılan çalışmalar proteinler kadar kaynaklarınının da önemli olduğunu ve sağlıklı ya da zararlı etkilerinin bulunabileceğini göstermiştir.

Örneğin: bazı epidomiyolojik çalışmalarda işlenmiş kırmızı etin kolon kanseri riskini artırabileceği yönünde bulgular elde edilmiştir. Yoğurt hem miktar olarak hem de aminoasit profii nedeniyle kaliteli protein kaynağı olan bir gıdadır. Ayrıca protein fraksiyonu, sağlık üzerinde spesifik etkileri olabilecek biyoaktif peptitler ve diğer biyoaktif faktörleri içerir (Conlon and Bird., 2015; TÜBER., 2016; Pei et al., 2017; Gómez-Gallego et al., 2018).

Süt proteinleri büyüme ve gelişmeyi sağlamanın yanı sıra biyolojik olarak aktif peptitlerin öncüleri olarak da farklı sağlık faydaları taşımaktadır. Süt proteinlerinin işlevselliği, biyoaktif peptitlerin proteoliz sonucu serbest bırakılmasıyla daha da artmaktadır. Proteoliz; sütte doğal olarak meydana gelen enzimler, starter kültürler ve sindirim sistemi enzimleri tarafından gerçekleştirilir ve bu da opioid, hipotansif, bağışık sistemi düzenleyici, antitrombotik ve antimikrobiyal aktiviteler gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip peptidin serbest kalmasına neden olur. Biyoaktif peptitler, vücut fonksiyonları üzerinde olumlu bir etkiye sahip olan ve sağlığı etkileyebilen spesifik protein parçacıklarıdır. Yoğurt, fermante süt ve peynir gibi süt ürünlerinde biyolojik olarak aktif peptitlerin varlığı birçok araştırmada ortaya konmuştur. Biyoaktif peptit kaynağı olan süt proteinleri peynir altı suyu proteinleri ve kazein olmak üzere iki ayrı grupta yer alır (Shah, 2007; Korhonen, 2009; Sah et al., 2018).

Kazein inek sütünün %80 gibi büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Kazeinler kazein misellerinin bir araya gelmesiyle oluşmuş fosforlanmış proteinler ailesidir. Bunlar α_{s1} , α_{s2} , β ve k-kazein olmak üzere fosfat içeriklerine göre değişim gösteren 4 farklı protein yapısıdır. Kazeinlerin insan beslenmesinde oldukça önemli rolleri vardır ve vücutta çok sayıda biyolojik etki gösterme potansiyeline sahiptir. Kazeinlerin enzimatik sindirimi ile elde edilen fosfor içeren peptitler olan kazein fosfopeptitler (KFP), kalsiyum, demir veya çinko gibi beslenme açısından son derece önemli olan mineralleri özellikle farklı pH koşulları gibi farklı fizikokimyasal şartlarda kararlı ve stabil hale getirirler. Böylece vücutta bu minerallerin çözünürlüğünü ve emilimini artırır (Muro Urista et al., 2011; Artym and Zimecki, 2013; Gómez-Gallego et al., 2018). Kazeinler oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahiptirler. Bu aktivite peptitlerdeki spesifik

aminoasit dizilimleri ve hidrofobik yapıda olmaları gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır (Taşkın ve Bağdatlıoğlu, 2011).

Süt proteinlerinin yaklaşık %20'sini oluşturan peyniraltı suyu proteinleri globuler yapıdadır ve α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sığır serum albumin ve immunoglobulinlerden oluşur. Miktar olarak en çok β -laktoglobulin ikinci sırada da α -laktalbumin bulunmaktadır. Peyniraltı suyu proteinleri zorunlu aminoasitler ve dallanmış zincirli aminoasitlerce (lözin, izolösin, valin) zengindirler. Bu aminoasitler protein ve lipit metabolizmasında düzenleyici rol oynarlar. Peyniraltı suyu proteinleri kükürtlü aminoasitlerce de (metiyonin, sistein) zengindir. Özellikle sistein vücudun antioksidan ve bağışıklık sisteminin ana maddesi olan glutatyonun öncülerinden biridir ve yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Ha and Zemel, 2003; Karagözlü ve Bayarer., 2004; Smithers, 2008; Yerlikaya vd., 2010; Taşkın ve Bağdatlıoğlu., 2011). Peyniraltı suyu proteinleri egzersiz sonrası iyileşmeye yardımcı olma, enfeksiyon önleme, yaraların onarımına katkıda bulunma, tokluk sağlama ve kilo yönetimine yardımcı olma, antikanser özellik gösterme gibi pek çok fizyolojik aktiviteye sahiptir (McIntosh et al., 1998; Karagözlü ve Bayarer, 2004; Smithers, 2008; Yerlikaya vd., 2010).

Konjuge linoleik asit (KLA) laktik asit bakterileri ve bifidobakteriler tarafından linoleik asidin biyodönüşümü yoluyla sentezlenen çoklu doymamış yağ asididir. Biyoaktif özelliklere sahip olan ve süt ürünlerinde en çok bulunan iki KLA izomeri cis-9,trans-11 ve trans-10,cis-12 olarak bilinmektedir ve antikarsinojenik, antienflamatuar ve antikolesterolemik etkilere sahip oldukları bildirilmiştir. KLA sütün doğal bileşenlerinden biridir. Bugüne kadar günlük tüketilmesi gereken miktar net olarak belirtilmemiş olsa da günlük tüketim ile vücuda alınan miktarlar oldukça düşüktür (Sosa-Castañeda et al., 2015; Linares et al., 2017). KLA'dan daha fazla yararlanabilmenin bir yolu da fermante süt ürünleri tüketimidir. Çalışmalar fermante süt ürünlerinin fermante olmamış süte oranla daha fazla KLA içerdiğini göstermiştir (Aneja and Murthy, 1990; Florence et al., 2009). Prandini et al., (2007) çeşitli yoğurtlar ve fermante ürünler içerisindeki KLA miktarlarını araştırmışlar ve en yüksek KLA koyun yoğurdunda bulunmuş, standart yoğurt ile probiyotik yoğurdun KLA miktarları arasında

istatistiksel bir fark saptanmamıştır. Bu veriler KLA miktarlarının probiyotik mikroorganizmaların varlığı ile ilgili olmadığını ancak kullanılan sütün içerdiği KLA miktarı ile ilgili olabileceğini göstermiştir.

Probiyotikler WHO/FAO (2002) tarafından ‘yeterli miktarda uygulandığında konakta bir sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar’ olarak tanımlanmıştır. Laktik asit bakterileri insan bağırsak mikrobiyotasında doğal olarak bulunabilmesinin yanı sıra gıda endüstrisinde fermante süt ürünleri üretiminde kullanılmaktadır. Yoğurt insanların yüzyıllardır kullandığı probiyotik içerikli bir ürün olarak pek çok sağlık faydası sağlamaktadır. Probiyotikler; enterik patojenlere karşı direnç gösterir, mutajenleri bağlama ve karsinojenlerin aktivitesini engelleme ve bağırsaktaki mikroorganizmaların ürettiği karsinojen üreten enzimleri inhibe etme özellikleri ile kolon kanserine karşı korurlar. Yoğurdun içeriğinde bulunan laktuloz gibi bazı oligosakkaritler ise kommensal bakterilerin büyümesini destekleyerek prebiyotik bir etki yaratabilir. Bu oligosakkaritler mide asidine ve gastrointestinal sistemdeki sindirim enzimlerine dirençli olduklarından hidrolize olmadan ve emilmeden kalın bağırsağa gelirler. Kalın bağırsakta bakteriyel metabolizmaya uğrarlar. Bakterilerin metabolize etmeleri sonucunda kısa zincirli yağ asitleri, CO₂, H₂, metan oluşur. Oluşan kısa zincirli yağ asitleri sonucu pH düşer, ortam asitleşir ve böylece zararlı mikroorganizmalar inhibe edilir, karsinojenik bileşiklerin oluşması da önlenmiş olur (Grajek et al., 2005; Linares et al., 2017; Pei et al., 2017).

Bu etkilerin yanı sıra, Jones et al., (2012) 114 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada mikroenkapsüle edilmiş *L. reuteri* bakterileri içeren yoğurdu tüketen deneklerin serum kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinin anlamlı olarak düşüş gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ancak HDL kolesterolde anlamlı bir değişim saptanmamıştır.

2.3. Kısa Zincirli Yağ Asitleri

Son yıllarda yapılan çalışmalarda artan kanıtlar, bağırsaklarda bulunan bakterilerin, genetik ve yaşam tarzının obezite ve metabolik hastalıklar üzerindeki

etkisine aracılık etmede rol oynayabileceğini göstermektedir. İnsan bağırsak mikroflorasının, yaklaşık 100 milyar konakçının bulunduğu büyük bir mikroorganizma ekosistemi olduğu bilinmektedir. Bağırsak mikrobiyotası çoğunlukla bakterilerden oluşur ancak aynı zamanda virüsler, mantarlar, protozoa ve arkeler de bulunmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının bileşimi, konakçı genomu ve yaşam tarzı, hijyen, antibiyotik kullanımı, özellikle diyet gibi çevresel faktörlerin etkisi ile bireyler arasında büyük farklılıklar gösterir (Janssen and Kersten., 2017; Kałużna-Czaplińska et al., 2017). Kolonun mikrobiyal dengesini geliştirerek yararlı bir şekilde etkileyen ve probiyotik olarak adlandırılan bakterilerin hastalıkların engellenmesinde, insan sağlığının iyileştirilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu probiyotiklerin vücuda alınması ile hastalıklara karşı daha güçlü bir gastrointestinal bariyer oluşmaktadır. Diyet, dengeli bir kolon mikroflorası oluşturmada ve bakterilerin kolonileşmesinde çok güçlü bir etkiye sahiptir (Lee et al., 2006).

İnsanlarda kolon mikrobiyotası direkt olarak patojen mikroorganizmaların adezyonunu, indirekt olarak da ürettikleri kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) ile patojenlerin çoğalmasını engelleyerek koruyucu görev yaparlar (Sakin ve Tanoğlu, 2016). Kolonda bulunan mikroorganizmalar, sindirim sırasında bağırsakta sindirilmeyen karbonhidratları ve proteinleri fermante ederler. Karbonhidratlar öncelikle proksimal kolonda lineer KZYA'lar, H₂ ve CO₂ üreten sakkarolitik bakteriler tarafından fermante edilir. Proteinlerin ve amino asitlerin fermantasyonu ise proteolitik bakteriler tarafından gerçekleştirilir ve dallanmış KZYA'lar, H₂, CO₂, CH₄, fenoller ve aminler meydana gelir (Wong et al., 2006). Kısa zincirli yağ asitleri, kolon florası tarafından ince bağırsakta absorbe edilemeyen/sindirilmemiş gıda bileşenlerinden fermantasyon ürünleri olarak üretilen uçucu yağ asitleridir. Bunlar, düz ve dallanmış zincirli konformasyonda mevcut altı karbondan daha azını içeren yağ asitleridir. Kolonda bulunan KZYA'ların %95'i asetik asit, bütirik asit ve propiyonik asitten meydana gelmektedir. Kolonda bulunan kısa zincirli yağ asitlerinin ana kaynağı genellikle karbonhidratlar olsa da protein yıkımı sonucu elde edilen amino asitler valin, lösin ve izölösün, dallanmış kısa zincirli yağ asitleri olarak bilinen ve kolondaki

KZYA'ların %5'lik kısmını oluşturan izobutirat, izovalerat ve 2-metil bütirata dönüştürerek katkıda bulunur (Rios-Covian et al., 2016).

Bağırsakta KZYA üretilmesi ile ortamın pH'sında düşme gözlenir. Meydana gelen bu pH düşüşü ile bağırsakta bulunan bazı patojen mikroorganizmalar inhibe olurken bazı besin öğelerinin ise emilimi artar. Asetatın, bifidobakterilerin enteropatojenleri inhibe etme kabiliyeti üzerinde anahtar bir rolü olduğu bulunmuştur (Rios-Covian et al., 2016). KZYA'ların üretimi sonrası pH düşüşünün yanı sıra safra asitlerinin çözünürlüğü azalır ve amonyak ve diğer aminlerin protonik ayrışmasıyla amonyak emiliminde azalma gerçekleşir (Wong et al., 2006). Üzerinde en çok durulan kısa zincirli yağ asitlerinden biri de bütirik asittir; kolondaki epitel hücrelerinin en önemli enerji kaynağıdır. Bütirik asit kolon mukozasının durumunu iyileştirir, bütirik asidin artmasıyla müsin üretimi artar, toksik ve inflamatuvar maddelerin mukozadan dolaşıma girme riski azalır (Jakobsdottir et al., 2014; Ríos-Covián et al., 2016). Yapılan bir çok çalışmada, KZYA'nın diyet ile indüklenen obeziteye karşı koruyucu bir etkisinin olduğu gösterilmiştir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlarda bütiratın diyete eklenmesi sonrasında obezite ve insülin direncinde bir azalma gözlenmiştir. Bunun bütiratın yağ sentezi ve yağ oksidasyonu mekanizmalarına yaptığı etkilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Örneğin; Gao et al., (2009) farelerde gerçekleştirdikleri çalışmada yüksek yağlı diyet uyguladıkları farelerin bir bölümüne ağırlıkça %5 oranında diyet takviyesi ile sodyum bütirat uygulamışlardır. Uygulama sonucunda yüksek yağlı diyetle, bütirat takviyesi farelerde insülin direnci ve obezitenin gelişmesini önlemiştir. Bu sonuçların bütiratın mitokondrilerin aktivitesini artırıcı ve enerji harcamayı teşvik edici faaliyetlerinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bütirat ve propiyonatın kısa zincirli yağ asidi reseptörleri aracılığı ile bağırsak hormonlarının üretimini indüklediği Lin et al., (2012)'nin yaptığı çalışma ile gösterilmiştir. Çalışmada sırasıyla bütirat, propiyonat ve asetatın enerji dengesinde ve glukoz metabolizmasında anahtar rolü olan Glukagon peptide 1 ve Peptide YY gibi iştah azaltıcı peptitlerin üretilmesini teşvik ettiği ve gıda alımını azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca asetatın merkezi sinir sistemi ile etkileşime girerek iştahı azalttığı bilinmektedir (Ríos-Covián et al., 2016).

Çoğu çalışma, KZYA'nın (özellikle bütiratın) kolorektal kanser gelişimine karşı koruma sağladığını göstermiştir. Histon asetiltransferazlar ve histon deasetilazların enzimatik faaliyetlerindeki dengesizlik kanserlerin altında yatan sebeplerden biri olarak kabul edilmektedir. Histon asetilasyonu, asetil grupları ekleyen histon asetiltransferazlar (HAT'lar) ve asetil grupları ayıran histon deasetilazlar (HDAC'ler) arasındaki denge ile düzenlenir. Propiyonat, bütirat kadar güçlü olmasa da HDAC inhibitörüdür ve kolonositlerde daha az birikim ile daha geniş biyoyararlanımlara sahiptir. Bütirat bir HDAC inhibitörü olarak işlev görmesinin yanı sıra kolon hareketliliğini artırır, enflamasyonu azaltır, apoptozu indükler ve tümör hücresi geçişini inhibe eder. Bu özelliklerin hepsi kanseri önlemede son derece önemlidir. KZYA'lar aynı zamanda irritabl bağırsak sendromu, inflamatuvar bağırsak rahatsızlıklarını azaltıcı etkilerle ilişkilendirilmiştir (Hijova and Chmelarova, 2007; Ríos-Covián et al., 2016; Bultman, 2017). Veiga et al., (2014) yaptıkları çalışmada *Bifidobacterium animalis* içeren fermante süt ürünü kullanmışlar ve bu ürünün kısa zincirli yağ asitleri üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için 2 farklı donörden alınan fekal örnek ile inoküle etmişlerdir. Fermante süt ürünün öncelikle bütirat olmak üzere propiyonat, asetat ve toplam kısa zincirli yağ asidi miktarında artış sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, bu fermante süt ürününün irritabl bağırsak sendromu yaşayan hastalarda patojen *Bilophila wadsworthia* düzeylerinde azalmaya katkıda bulunduğu bildirilmiştir.

Prebiyotikler bağırsakta bulunan laktik asit bakterileri ve bifidobakterilerin varlığını artırırken bu bakteriler de ürettikleri KZYA'ların etkisi ile kolondaki mikrobiyotayı modüle ederek anti-inflamatuvar aktiviteyi artırır. Bu etki prebiyotiklerin tüketilmesi sonucunda kolonda KZYA'nın üretilmesinden kaynaklanmaktadır. Ek olarak KZYA, mukozal bariyer fonksiyonunu artırmakta ve pro-inflamatuvar araçlarının seviyelerini düşürmektedir (Fernández et al., 2016). Prebiyotiklerin safra emilimini azalttığı ve vücudun tekrar safra tuzu üretebilmek için karaciğerdeki kolesterolü kullandığı, böylece kolesterol düşürücü bir etki yaptığı da bilinmektedir. Bunun yanı sıra prebiyotiklerin bağırsaktaki mikroorganizmalar tarafından fermante olması ile oluşan KZYA'nın da kolesterol mekanizması üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir. Asetat vücutta kolesterol

sentezinin birincil substratıdır. Bunun yanı sıra vücuttaki etkileri henüz tam olarak anlaşılamayan propiyonatin fermantasyon yoluyla üretimi vücutta arttığında hepatik kolesterol sentezini inhibe edebileceği gözlenmiştir (Hijove and Chmelarova., 2007). Dong et al., (2016) yüksek yağlı diyetlere üç yulaf ürünü (yulaf ezmesi, yulaf unu, yüksek lifli yulaf kepeği) ilave etmiş ve 8 hafta boyunca obez fareleri bu diyetlerle beslemişlerdir. Her yulaf ürününün, vücut ağırlığını ve serum enflamasyon faktörü düzeylerini düşürdüğü ve serum lipid düzeylerini önemli ölçüde düzenlediği görülmüştür. Bununla birlikte veriler yulaf ürünlerinin, özellikle yulaf kepeğinin, yüksek yağlı diyet ile azalan toplam KZYA konsantrasyonunu arttırdığını göstermiştir. Yapılan korelasyon analizi, yulaf ürünlerinin tüketilmesiyle artan KZYA üretiminin ve mikrobiyota kompozisyonundaki değişikliklerin toplam kolesterol ve triaçilgliserol seviyeleriyle anlamlı bir ilişkisi olduğunu ortaya koymuştur (Dong et al., 2016).

Beslenme alışkanlıkları ve yaşam stili KZYA'ların sentezlenmesiyle doğrudan ilişkilidir. De Filippo et al., (2010)'nın yaptığı çalışmada Afrika'nın kırsal kesiminde yaşayan ve geleneksel Afrika diyeti uygulayan (yağ ve hayvansal protein bakımından fakir, nişasta, lif ve bitki polisakkaritleri bakımından zengin beslenme) 14 sağlıklı çocuk ve İtalya'nın Floransa şehrinde yaşayan ve tipik Batı diyeti uygulayan (yüksek hayvansal protein, şeker, nişasta ve yağ ile düşük diyet lifi içerikli beslenme) 15 sağlıklı çocuğun kolon mikroflorasında gelişen mikroorganizmalar ve KZYA üretim miktarları karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda Afrika diyeti (AD) uygulayan çocuklarda Prevotella, Xylanibacter (Bacteroidetes) ve Treponema (Spirochaetes), mikrobiyotada mevcut iken Batı diyeti (BD) uygulayan çocuklarda bu mikroorganizmalara rastlanmamıştır. Ayrıca Firmicutes/ Bacteroidetes oranının BD uygulayan çocuklarda AD uygulayanlara göre iki kat fazla olduğu görülmüş ve bu durumun obezler ve normal kiloda olanlar arasındaki oranla benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca AD uygulayanlarda toplam KZYA miktarı BD uygulayan çocuklardakine göre büyük ölçüde daha yüksek bulunmuş, fekal örneklerde bulunan özellikle propiyonik ve bütirik asitlerin AD uygulayan çocuklarda BD uygulayan çocuklara göre yaklaşık dört kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Kolon sağlığının 6neminin g6nden g6ne daha 6ok vurgulanmasıyla ‘probiyotikler, prebiyotikler ve sinbiyotikler’ gibi kolonu, kolon mikroflorasının bileşimini ve aynı zamanda fizyolojisini etkileyen fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi sağlık ve gıda end6strisinde bir hedef haline gelmiştir. Her ne kadar hen6z tam olarak aydınlatılamamış olsa da KZYA’ların beslenme, bağırsak mikrobiyolojisi, fizyoloji ve patoloji ile ilişkili olabileceği, v6cutta ger6ekleşen pek 6ok biyolojik etkiye bu bakteriyel metabolitlerin aracılık ettiği d6ř6n6lmektedir. Yapılan *in vitro*, *in vivo* yaklaşımlı 6alışmalara ek olarak insan denemelerinin de ger6ekleştirilmesi ile KZYA’ların 6retim ve 6alışma mekanizmalarının araştırılması ve bunların ortaya koyulması gelecekte doğru beslenme 6nerilerinde bulunulması a6ısından son derece 6nem taşımaktadır (Wong et al., 2006; R6os-Covi6n et al., 2016).

2.4. 6iya Tohumu

6iya tohumu (*Salvia hispanica*) son yıllarda pop6ler olan bir tohum 6eşidi olmasına karşın milattan 6nce 3500 yılında insan gıdası olarak kullanılmaya başlanmış olan bir tohumdur. Tarih 6ncesinden kullanılmaya başlanan bu tohum Aztekler ve Mayalar tarafından 6eşitli ila6ların, yiyeceklerin ve resimlerin hazırlanması i6in kullanılmıştır. Azteklerin dilinden gelen ve yağlı anlamını taşıyan 6iyan kelimesinin İspanyolcaya uyarlanmış hali olan ‘6iya’, isminin anlamını taşıyan yağ oranı olduk6a y6ksek bir tohumdur (Muñoz et al., 2013).

6iya tohumu, protein (%15-25), yağ (%30-33), karbonhidrat (%26-41), y6ksek diyet lifi (%18-30), k6l (%4-5), mineraller ve vitaminler i6ermektedir. Y6ksek yağ, protein ve diyet lifi i6eriği ile 6n plana 6ıkmaktadır. Protein i6eriği mısır, pirin6, buğday, yulaf gibi sık kullanılan diğer tahıllara g6re daha y6ksektir (EFSA, 2009). Protein fraksiyonu olarak en 6ok globulin (%52-54) bulunmaktadır (Sandoval-Oliveros and Paredes-L6pez, 2012; Orona-Tamayo et al., 2015). Globulini sırasıyla, albumin, glutelin, prolamin izlemektedir. 6iya tohumunun amino asit kompozisyonu k6k6rtl6, aspartik ve glutamik aminoasitler i6in iyi bir kaynak olduğunu g6stermektedir. 6iya tohumundan izole edilen globulin fraksiyonunun da aromatik ve k6k6rtl6 amino asitler ile treonin, histidin ve bol

miktarda glutamik asit içerdiği gösterilmiştir (Sandoval-Oliveros and Paredes-López, 2012). Glutamik asidin metabolik aktiviteler açısından önemli bir amino asit olduğu, merkezi sinir sisteminin uyarılmasında görev aldığı, bağışıklık sistemi ile ilgili fonksiyonlarının bulunduğu, glutatyon sentezinde anahtar bir molekül olduğu bildirilmiştir (Brosnan and Brosnan, 2013). Çiya tohumu zorunlu aminoasit içeriği açısından da zengin olup %41.8 ile %42.8 arasında değişen miktarlarda zorunlu aminoasit içermektedir (Olivos-Lugo et al., 2010). Sandoval-Oliveros and Paredes-López, (2012)'in yaptığı çalışmada un haline getirilen çiya tohumunun zorunlu amino asitlerinin dengeli bir dağılım gösterdiğini bildirmiş buna karşın Olivos-Lugo et al., (2010) çiya tohumu proteininin lisin açısından sınırlı olabileceğini bu nedenle lisin bakımından zengin bir kaynakla takviye edilmesini önermiştir. Yine Sandoval-Oliveros and Paredes-López, (2012) un haline getirilen çiya tohumunun, sistin, metionin, arjinin, aspartik asit içerdiğini göstermiştir. Aspartik asit bakımından zengin gıdaların, sinir sisteminin düzgün çalışması için gerekli olan hormonal düzenlemelerde potansiyel etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir. Kalp hastalıklarına karşı önleyici etki gösterdiği bilinen arginin açısından da iyi bir kaynaktır (Olivos Lugo et al., 2010; Sandoval-Oliveros and Paredes-López, 2012).

Çiya tohumu ayrıca antihipertansif biyoaktif peptitler için önemli bir kaynaktır. Orona-Tamayo et al., (2015) çiya tohumundan elde edilen protein fraksiyonlarının farklı peptidazlar ile hidrolizi sonucunda oluşan peptitlerinin anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyonu sağlayarak antihipertansif etki yaratabileceğini ortaya koymuşlardır. Özellikle çiya albumin ve globulininin ACE inhibisyonu üzerinde yüksek etkiye sahip olduğu ve bu etkinin aynı miktarlardaki barbunya proteinlerinden yüksek olduğu belirtilmiştir. Albumin ve globulin fraksiyonlarının prolamin ve glutenine göre daha yüksek ACE inhibisyon etkisine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, hidrofobik, negatif ve iyonize olabilen amino asitlerin (treonin, glutamin, aspartat, serin, metiyonin gibi) varlığının prolamin ve glutelin fraksiyonlarından daha kuvvetli bir ACE inhibitör etkisine sahip olmada etkili olduğu bildirilmiştir (Orona-Tamayo et al., 2015). Yapılan bir başka çalışmada çiya tohumundan enzim hidrolizi ile potansiyel biyolojik aktiviteye sahip hidrolizatlar üretilmiş ve bu hidrolizatların ACE inhibisyonu etkisine sahip

olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte bu hidrolizatlar kullanılarak ekmek ve havuç püresi üretilmiş, hidrolizat içeren ürünlerin kontrol örneklere kıyasla daha yüksek ACE inhibisyonu gösterdiği bildirilmiş ve bu etkinin fonksiyonel gıda üretiminde ‘sağlığı güçlendirici ürünler’ olarak ticari potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir (Salazar-Vega et al., 2012).

Çiya tohumu yağ içeriğiyle de ön planda olan bir tohumdur. İçerdiği yağın büyük çoğunluğunu (% 60 oranında) ω -3 yağ asidi olan alfa-linolenik asit (ALA) ve %20’sini ω -6 yağ asidi olan linoleik asit oluşturmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerinden neredeyse sekiz kat daha fazla olduğu çiya tohumunun, ω -3 yağ asitleri ve ω -6 yağ asitleri oranı 2.65'dir. 2015 yılında yapılan bir çalışmada hamilelerde çiya yağı tüketimi sonrasında ALA'nın eikosapentaenoik aside (EPA) dönüştürüldüğü ve sütlerinde dokosaheksaenoik asitin (DHA) artışına neden olduğu bildirilmiştir (Valenzuela et al., 2015). Çiya ile yapılan başka bir çalışmada menapoz sonrası dönemdeki 10 kadının diyetine 7 hafta boyunca günde 25 g olacak şekilde çiya tohumu eklenmiştir. Başlangıç ALA, EPA, dokosapentaenoik asit (DPA), ve DHA değerleri ile çiya takviyesini takip eden 1, 2, 3, 5 ve 7. hafta sonrasındaki ALA, EPA, DPA, DHA değerleri karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda çiya alımıyla ALA ve EPA değerlerinin yükselmesi arasında bir korelasyon saptanırken DHA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiş, DPA değerlerinde de artış saptanmamıştır. Bu çalışma çiyanın zorunlu yağ asitlerinden olan ALA ve EPA için çok iyi bir kaynak olabileceğini göstermektedir (Jin et al., 2012).

Diyet lifi açısından da önemli bir kaynak olan çiya tohumunun diyet lifi miktarının %33-41 arasında olduğu bildirilmiştir. İçerdiği diyet lifi keten tohumu, amarant, kinoa gibi tohumlardan yüksektir. Çiya tohumundaki diyet lifinin büyük oranını çözünmeyen diyet lifi oluşturmaktadır (Reyes-Caudillo et al., 2008; Muñoz et al., 2013; da Silva Marineli et al., 2014; da Silva et al., 2017). Çözünmeyen diyet lifi formunun büyük çoğunluğunu lignin, selüloz, hemiselüloz oluştururken çözünen diyet lifi formu ise çoğunlukla müsilajdan oluşmaktadır. 15 gram çiya tohumu tüketimi yetişkinler için tüketilmesi önerilen günlük diyet lifi (25-30 g/gün) miktarının yaklaşık %20’sini karşılamaktadır (Ertaş-Öztürk and

Şanlier, 2017). Diyet lifi alımı pek çok sağlık faydası ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek diyet lifi tüketenlerin koroner kalp hastalığı, felç, hipertansiyon, diyabet, obezite ve bazı gastrointestinal hastalıklar için daha düşük risk altında olduğu bununla birlikte lif alımının artışıyla, kan basıncının ve serum kolesterol seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir. Ek olarak artan diyet lifinin kilo vermeye yardımcı olabileceği de bildirilmiştir (Anderson et al., 2009; Lattimer and Haub, 2010). Çiya tohumuyla ilgili 2010 yılında yapılan bir çalışmada da 7, 15 ve 24 gram çiya tohumu ile zenginleştirilen 3 ayrı ekmek ve zenginleştirilme yapılmayan ekmek (kontrol ekmek) deneklere tüketirilmiş ve tüketim sonrası kişilerin iştah durumları ile 15, 30, 45, 60, 90 ve 120. dakikalardaki (dk) kan glukoz seviyeleri kontrol grup ile kıyaslanmıştır. Düşük, orta ve yüksek (7, 15, 24 g çiya) dozlarla zenginleştirilen ekmeklerin kontrol grubuna kıyasla kan glukoz seviyelerinde sırasıyla %21, %28 ve %41 azalmayı sağladığı saptanmıştır. Ayrıca kontrol grupla kıyaslandığında iştah seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğu, yüksek dozda çiya ilave edilen ekmeklerin tüketiminin 60 dk ve sonraki dakikalarda, düşük dozda çiya ilave edilen ekmeklerin tüketimi sonrasında ise 120 dk'dan sonra iştah seviyelerinde azalma tespit edilmiştir. Bu değişimler çiya tohumunun yüksek diyet lifi içeriği ile ilişkilendirilmiştir (Vuksan et al., 2010).

Çiya ile yapılan bir başka çalışmada kadın ve erkeklerden oluşan bir gruba 12 hafta boyunca günde 35 g çiya verilmiş ve başlangıçta hastaların kan glukoz seviyeleri ve lipit profillerine bakılmış, ayrıca hastaların vücut bileşimleri ve gıda alımları her 4 haftada bir incelenmiştir. Çalışmanın sonunda tüm bireylerde kilo kaybı görülmüş, özellikle obez bireylerde kilolu bireylere oranla daha fazla bir kilo kaybı saptanmıştır. Bunun yanı sıra total kolesterolde bir azalma görülürken HDL değerlerinde artış gözlenmiştir (Toscano et al., 2015).

Çiya tohumu kalsiyum, magnezyum, potasyum, demir, çinko gibi mineraller açısından da son derece zengindir. 100 gram çiya tohumu günlük alınması gereken kalsiyum, magnezyum ve fosfor miktarının yarısından fazlasını karşılamaktadır. Çiya tohumu buğday, pirinç, yulaf ve mısıra göre 2-12 kat fazla fosfor, 13-354 kat fazla kalsiyum ve 1.6-9 kat fazla potasyum içermektedir. Demir içeriği de diğer tohumlara göre oldukça yüksek olan çiya tohumu ıspanağın 6 katı

kadar demir içermektedir. Ek olarak çiya tohumu mikroelement olarak selenyum, manganez, bakır ve çinko da içermektedir (Muñoz et al.,2013; Ullah et al., 2016; da Silva et al., 2017).

Çiya tohumu klorojenik asit, kafeik asit gibi fenolik asitler ile mirisetin, kuersetin ve kaemferol gibi flavanoidler açısından da zengin bir tohumdur. Bu bileşenlerin fazla olmasından dolayı da yüksek bir antioksidan aktivite göstermektedir (Mohd Ali et al., 2012; Muñoz et al.,2013; Rahman et al., 2017). Çiya tohumu tokoferoller bakımından, özellikle E vitamini, oldukça zengindir ve α -tokoferol ana bileşen olarak bulunmaktadır. Tokoferollerin yarattığı sinerjistik etki antioksidan aktiviteye katkıda bulunmaktadır (Muñoz et al.,2013; da Silva et al., 2017). 2014 yılında yapılan bir çalışmada çiya tohumunun toplam fenolik madde miktarı 0.94 ± 0.06 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir (da Silva Marineli et al., 2014). İki farklı bölgede yetişen çiya tohumunun antioksidan kapasitesinin araştırıldığı çalışmada antioksidan değerleri 478.2 ± 0.02 μ mol TEAC/g örnek ve 466.3 ± 0.06 μ mol TEAC/g örnek olarak bulunmuştur (da Silva et al., 2017). Çiya'nın *in vivo* antioksidan kapasitesinin incelendiği bir çalışmada obez sıçanlar bileşimi Amerikan Beslenme Enstitüsüne dayanan %12 protein içerikli bir kontrol diyeti, yüksek yağ ve fruktoz içeren diyet (YYF), çiya tohumu ve çiya yağı ile desteklenmiş yüksek yağ ve yüksek fruktoz içeren diyet (CYYF) ile 6 ve 12 hafta boyunca beslenmiştir. Sıçanlardan diyet sonrası kan ve karaciğer dokusu örnekleri alınmış alınan bu örneklerde glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, superoksit dismutaz, katalaz değerleri ölçülmüş ve ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) testi ile antioksidan kapasite tespit edilmiştir. Sonuç olarak; tüm çiya tohumu ve çiya yağı eklenen diyet ile beslenmiş sıçanlarda kanda yüksek katalaz aktivitesi ve glutatyon peroksidaz aktivitesi görülmüş ancak glutatyon peroksidaz aktivitesi karaciğer dokusunda görülemedi. CYYF diyeti ve YYF diyeti arasında superoksit dismutaz aktivitesi açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Karaciğerde glutatyon peroksidaz aktivitesi görülmezken glutatyon redüktaz aktivitesinde artış belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, tüm kan ve karaciğer FRAP antioksidan değerleri CYYF diyeti ile beslenen gruplarda YYF ile beslenen gruplara göre sırasıyla %35 ve %47 oranında artış göstermiştir (da Silva Marineli et al., 2015).

Çiya tohumu ve yoğurtla yapılan bir çalışmada çiya tohumları yoğurda eklenerek elde edilen ürünün tüketimi sonrası kısa süreli gıda alımı ve tokluk hissini artırıcı etkisi incelenmiştir. 24 kişiye ayrı test günlerinde öğle yemeği öncesi yoğurt, 7 g çiya ilaveli yoğurt ve 14 gram çiya ilaveli yoğurt tükettiler ve tüketim sonrası görsel analog skala skorlarını duyuşal sonuçlarla bildirmeleri istenmiştir. Çalışmanın sonunda çiya içeren yoğurtların tüketimi sonrası öğle yemeğinde toplam enerji alımının, neredeyse %25 daha düşük olduğu ve tokluk süresinin uzadığı gözlenmiştir (Ayaz et al., 2017).

Tüm bunlara ek olarak çiya tohumunun, yapılan ağır metal testlerinde de maksimum ağır metal sınırlarını aşmadığı ve mikotoksin barındırmadığı tespit edilmiştir. Gluten içermemesi de çiyanın diğer önemli özelliklerinden biridir ve çölyak hastaları için alternatif bir kaynak olma potansiyeline sahiptir (EFSA, 2009). Çiya tohumu gıda endüstrisinde gelişmiş su tutma ve absorplama kapasitesi ile stabil emülsiyon oluşturma özelliği nedeniyle emülsiyonlarda, kurabiye, jelibon, cips ve karışık unlarda kullanılmaktadır. Yüksek ω -3, diyet lifi, protein, mineral içermesi fonksiyonel gıda üretiminde kullanılmasının önemli sebeplerinden biri olan çiya tohumunun proteinleri denaturasyon sıcaklığına dayanıklı olduğundan fırıncılık ürünleri gibi ısıl işleme tabii tutulan gıdalara da eklenmeye uygundur. Çiya tohumundan elde edilen protein izolatları da iyi bir stabilite sağlayıcıdır. Bununla birlikte iyi bir su ve yağ tutma kapasitesine sahiptir. Çiya tohumu aynı zamanda hayvansal gıdaların ω -3 seviyelerini artırabilmek amacıyla hayvanların beslenmesinde besin takviyesi olarak da kullanılabilir (Mohd Ali et al., 2012; Ertaş-Öztürk and Şanlier, 2017).

2.5. Çimlendirilmiş Tane ve Filizler

Bitkisel gıdalar biyoaktif bileşenler, diyet lifi, vitamin ve mineraller açısından son derece zengin kaynaklar olup, olumlu sağlık etkileri yaratan gıdalardır. Bitkisel gıda kaynaklarının en önemlileri arasında olan baklagiller, besleyici değerlerinin yanı sıra insan sağlığına faydalı çeşitli antioksidanlar ve biyoaktif bileşikler içermektedir. Baklagiller, protein, nişasta, diyet lifi, vitaminler, özellikle niasin, riboflavin, tiamin ve kalsiyum, demir, manganez ve

çinko gibi minerallerin yanı sıra antioksidanlar ve polifenollerin önemli bir kaynağıdır (Aguilera et al., 2015; Sattar et al., 2017). Baklagillerin, oksidatif strese bağlı hastalıklar ve yaşa bağlı gelişen kronik dejeneratif hastalıkların riskini azaltan fitokimyasallar bakımından zengin kaynaklar olduğu bildirilmiştir. Son zamanlarda, çimlendirilmiş tanelerin tüketiminin plazma ve antioksidan enzim aktivitelerinde antioksidan kapasiteyi arttırarak oksidatif stresi azalttığı öne sürülmüştür (Mohd. Esa et al., 2013; Aguilera et al., 2015). Çimlendirme işlemi uygun koşullarda uygun sıcaklık, su ve oksijen varlığında tanenin embriyosundan filizin oluşması sürecidir. Bu süreçte meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlar “de novo” sentezi olarak adlandırılır ve tanenin kendi nişasta deposunu kullanabilme yeteneği olarak değerlendirilir. Filiz oluşum sürecinde meydana gelen bu biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda tanede; protein kalitesinde ve sindirilirliğinde, vitamin, fenolik madde içeriğinde, antioksidan aktivitesinde artış, bağırsaklarda gaz yapma özelliğindeki rafinoz, stakiyoz gibi karbonhidratlarda ve antinutrisyonel öğelerde azalma meydana gelmektedir. Hububatlarda doğal olarak bulunan ve minerallerle kompleks oluşturup emiliminde azalma yaratan fitik asit, tanelerin çimlendirilmesi esnasında, fitaz enzimi tarafından hidrolize edilir. Böylelikle fitik asitte meydana gelen azalmayla mineral emilimindeki azalma da önenebilmektedir. Kurubaklagil ve tahıllar tüketilmeden önce genellikle bir takım ısı işlemlere uğratılmaktadırlar. Tanelerin ısı işlem dışında tüketime uygun hale getirilmesi için uygulanabilecek yöntemlerden biri de çimlendirmedir. Çimlendirme sonrası meydana gelen filiz gelişimi ile tanelerin sebze formları oluşmaktadır. Oluşan bu sebze formları direkt tüketilebilmekte ya da çorbalarda, salatalarda veya un haline getirilerek fırıncılık ürünlerinde kullanılabilir. Oluşan filizlerin, yapılan hayvan deneyleri ile toksik etkisi bulunmadığı kanıtlanmıştır (Kavas and El, 1991; Bilgiçli, 2002; Vidal-Valverde et al., 2002; Martínez-Villaluenga et al., 2008).

Bazı çalışmalarda çimlendirme ile elde edilen filizlerin gıdaların sindirimi sonrası meydana gelen hipergliseminin kontrolüne yardımcı olabileceği gösterilmiştir. Filizler bu etkiyi α -amilaz ve α -glukosidaz inhibisyon aktivitesi göstererek yaratırlar. McCue et al., (2005) çalışmalarında soya fasulyesi filizlerinden elde ettikleri ekstraktların oldukça yüksek α -amilaz inhibisyonu

aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir. Çalışmada örneklerin, α -amilaz inhibisyonunun yanı sıra α -glukosidaz inhibisyon aktivitesi de gösterdiği ancak bu inhibisyonun oldukça az olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak, ekstraktların α -amilaz inhibisyon aktivitesinin, çimlendirilmiş tanelerin toplam fenolik madde içeriği ile yüksek, antioksidan aktivitesiyle ise orta derecede ilişki gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca araştırmacılar çimlendirme süresine bağlı olarak α -amilaz ve α -glukosidaz inhibisyon aktivitesinde artış olduğunu da kaydetmişlerdir. 2017 yılında yapılan bir başka çalışmada da çimlendirilmiş mercimek ile siyah ve yeşil maş fasulyelerinin çimlendirmeyle birlikte artan amilaz, proteaz ve lipaz aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da McCue et al., (2005)'na benzer olarak çimlendirme işlemi ile toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan kapasitesinin artış gösterdiği görülmüştür. Ayrıca, tanelerin antioksidan kapasitesindeki artışın artan fenolik madde içeriği ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Sattar et al., 2017). Bir başka çalışmada ise kefir (K), mercimek taneleri ve 7 ve 14 gün çimlendirilmiş mercimek taneleri ile ayrı ayrı zenginleştirilmiştir. Zenginleştirme sonrasında antioksidan aktivitede mercimek taneleri içeren kefir (KM) ile çimlendirilmiş mercimek taneleri içeren kefirlerin (KÇM) kontrol örneğe kıyasla daha yüksek antioksidan içeriğe sahip olduğu gösterilmiştir. KÇM'nin KM'den daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve çimlendirme süresi uzadıkça antioksidan aktivitenin arttığı görülmüştür. Antioksidan aktivitede görülen bu artışın, diyet lifine, proteine vb., bağlı formda bulunan fenolik maddelerin fermantasyon sonrasında serbest hale geçmesiyle alakalı olabileceği düşünülmektedir (Gunenc et al., 2017).

Çimlendirme işleminin ekstraktların anjiyotensin dönüştürücü (ACE) enzim inhibisyon aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir. Mamilla and Mishra., 2017 çalışmalarında nohut, soya fasulyesi, kırmızı mercimek, maş fasulyesi ve barbunyayı 2 farklı sıcaklıkta (30 ve 40 °C) 5 gün boyunca çimlendirmişlerdir. Çimlendirme öncesi ve sonrasında ACE inhibisyonunda belirgin farklar görülmüştür. Çimlendirme öncesi %25 (maş fasulyesi) ve %65 (kırmızı mercimek) arasında görülen ACE inhibisyonu değerleri çimlendirme ile birlikte soya fasulyesinde 40 °C'de %83.5'e, maş fasulyesinde 30 °C'de %82'ye yükselmiştir. Maş fasulyesi ve barbunya dışında diğer bakliyalarda en yüksek

ACE inhibisyonu aktiviteleri 40 °C’de görülmüştür. Bu durumun çimlendirmeyle birlikte gerçekleşen protein hidrolizinin 40 °C’de devam ederek ACE peptitlerinin peptidazlarla hidrolizinden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Mamilla and Mishra, 2017). Çimlendirmeyle ilgili bir diğer çalışmada da çimlendirilen mercimeğin ACE inhibisyon aktivitesi ve mercimek izolatu ile peynir altı suyu proteininin *in vitro* sindirim sonrası ACE inhibisyon aktivitesi belirlenmiştir. ACE inhibisyonu gösteren peptitler genellikle düşük molekül ağırlıklıdır ve moleküler ağırlıkları ne kadar düşük olursa bağırsak bariyerini geçme ve biyolojik bir etki gösterme şansları o kadar yüksektir. Ayrıca ACE inhibitörlerinin enzimin aktif bölgesini bloke etmek üzere bölgeye erişebilmesi için yeterince küçük olması gerekmektedir. Bu yüzden çalışmada çimlendirilmeyle ve sindirimle peptit oluşumu da incelenmiştir. Peptit oluşumunun çimlendirmenin süresi arttıkça ve sindirimin başlangıcından intestinal faza doğru gittikçe artış gösterdiği belirlenmiştir. Çimlendirilmiş tanenin ACE inhibisyonu çimlendirilmemiş taneye göre yüksek bulunmuştur. Pepsin, tripsin ve kimotripsin ile muamele edilmiş 5 gün boyunca çimlendirilen mercimek hidrolizatlarından en yüksek biyoaktiviteye sahip olanları elde etmek amacıyla HPLC’de fraksiyonlama yapılmıştır. Elüsyonun başlamasından 5 dakika sonra başlanarak fraksiyonlama işlemi boyunca her 5 dk’da bir fraksiyonlar toplanmış ve sırasıyla I, II,III, IV, V, VI, VII, VIII olmak üzere 8 ayrı fraksiyon elde edilmiştir. Sonuç olarak; çimlendirilmiş tane için en yüksek ACE inhibisyon aktivitesi 5 günlük çimlendirmede, fraksiyon III, IV,V’de tespit edilmiştir (Bamdad et al., 2009).

Sangronis et al., (2006) çimlendirme işleminin fasulyenin protein içeriğinde ve lizin yararlılığında artışa neden olduğunu bildirmiştir. Farklı tanelerin çimlendirildiği bir diğer çalışmada ise çimlendirme işlemi ile tanelerin total antioksidan kapasitelerinde ve total fenolik madde içeriklerinde artış saptanmıştır (Sattar et al., 2017). Çimlendirilmiş tanelerle sebze suyu ve fermante sebze suyu üretilen bir başka çalışmada ise sebze sularının her ikisinde de antihipertansif, antidiyabetik aktivite saptanmış ve her iki sebze suyunun da kolesterol düşürücü etkisi olduğu gösterilmiştir (Şimşek et al., 2014).

Landfeld et al., (2014) soya sütünden yapılan yoğurda çimlendirilmiş soya taneleri eklemiş ve bu tanelerin yoğurdun duyuşal ve reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. Sonuç olarak çimlendirilmiş taneler kuru madde oranını yükselterek soya sütünden yapılan yoğurtlarda daha iyi bir kıvam elde edilmesini sağlamış ve yapılan duyuşal testler sonucunda uygulanabilecek optimum kuru madde miktarı %6,5 olarak bulunmuştur. Çimlendirilmiş soya taneleri ve soya sütü kullanılarak yoğurt üretilen bir başka çalışmada çimlendirilmiş tanelerde γ -aminobütirik asit, izoflavonlar ve bazı aminoasitlerin değerlerinin artmasıyla yoğurda fonksiyonel özellik kazandırıldığı bildirilmiştir (Park and Oh, 2007). Bir başka çalışmada ise aroma vermek ve fonksiyonellik kazandırmak amacıyla esmer pirinç, çimlendirilmiş esmer pirinç, α -amilaz ve β -amilaz ile muamele edilip çimlendirilmiş esmer pirinçler yoğurda katılmıştır. Bu çalışmada esmer pirincin çimlendirme işlemi ile birlikte γ -aminobütirik asit ve oleik asit miktarlarının arttığı gözlenmiştir. Yoğurttaki doymuş yağ asidi miktarının yoğurda eklenen çimlendirilmiş tane miktarlarının artışıyla birlikte azaldığı görülmüştür. Bunun tam aksine çeşitli pirinçlerle çimlendirilen tüm yoğurt örneklerinde oleik ve linoleik asit gibi doymamış yağ asitlerinin arttığı saptanmıştır (Kim et al., 2016).

Yapılan bir diğerk çalışmada ise çimlendirilen bakla taneleri (ÇBT) un formuna getirilerek kurabiye yapımında kullanılmıştır. Yapılan çalışmada %10, 20, 30, 40, 50 oranda ÇBT ile zenginleştirilmiş buğday unu içeren kurabiyeler üretilmiştir. Zenginleştirilmiş kurabiyelerde kontrol ürüne kıyasla kül, protein, diyet lifi miktarlarında artış görülmüş ve bu artışın ÇBT oranının artmasıyla doğru orantılı olduğu belirtilmiştir. Artan protein ve diyet lifi miktarlarının sağlıklı beslenme üzerine olumlu etkiler yapacağı düşünülmektedir. Yapılan duyuşal değerlendirmelerde tüketiciler tarafından kabul görmüş olan ürüne eklenmesi uygun görülen optimum ÇBT miktarı %30 olarak belirtilmiştir. Çalışmada bu tür fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi ve kullanılmasının genel popülasyonun beslenme durumunu iyileştirmeye yardımcı olabileceği ve aynı zamanda dejeneratif hastalıkları olanlara da destek olabileceği kaydedilmiştir (Obeidat et al., 2013).

Çimlendirilmiş tanelerin kanser hücrelerini öldürücü etkisinin verilerinin bulunduğu çalışmalar da mevcuttur. Mora-Escobedo et al., (2009) soya fasulyelerini 0-6 gün boyunca çimlendirmiş ve çimlendirilen taneler un haline getirildikten sonra alkali ortamda ekstrakte edilip pH 4.5'te çöktürülerek izolat elde edilmiştir. Daha sonra etanolde çözünür fitokimyasallar içeren (EÇF1) ve içermeyen (EÇF2) iki ayrı izolat sindirim enzimleriyle hidrolize edilerek hidrolizat elde edilmiştir. Bu hidrolizatların kanser hücreleri olan HeLa ve C-33 ile kanser hücresi olmayan HaCaT hücrelerinin büyümeleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Protein içeriğine bağlı olarak, her bir hidrolizatın test edilen konsantrasyonları, 0.63 ila 20 mg/ml arasında değişiklik göstermiştir. Çalışmada 2.5 ve 5.0 mg/ml arasındaki konsantrasyonlarda EÇF1'li hidrolizatlar kullanılarak, HeLa hücreleri üzerinde nispeten daha yüksek, ve HaCaT hücreleri üzerinde ise minimal düzeylerde büyümeyi önleyici etki görülmüştür. Konsantrasyon en yükseğe ulaştığında ise her iki hücre türünde de ölüm görülmüştür. İki gün boyunca çimlendirilmiş olan soyadan elde edilen EÇF1 içeren hidrolizatın (2.5 mg/ml konsantrasyonunda), kanser hücreleri üzerinde normal hücrelere göre oldukça yüksek öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. EÇF2 içeren hidrolizatlarda ise 0-3 gün arasında çimlendirmenin kanser hücreleri üzerinde öldürücü etkisi 10 mg/ml üzerindeki konsantrasyonlarda saptanmıştır. Dört ya da 5 gün çimlendirilen soyadan elde edilen EÇF2 içeren hidrolizatlar sadece HeLa hücrelerinde 20 mg/ml konsantrasyonda büyümeyi inhibe ederken normal hücreler olan HaCaT hücrelerini etkilememiştir. Çimlendirilmiş soya fasulyesi proteini, yapısındaki fitokimyasal maddeler ile sinerjistik etki yaratarak kanser hücreleri üzerinde etkili olabilir. Sonuç olarak; kanserli hücrelerde majör inhibisyon 2 gün çimlendirilmiş EÇF1 içeren hidrolizat kullanımıyla mümkün olmuştur. Dikkat çekici olan bulgu ise normal hücreler üzerindeki hidrolizat sitoksisitesinin, kanser hücrelerine kıyasla asgari düzeyde oluşudur.

Yapılan bu çalışmalar, çimlendirme işleminin tanelerin kimyasal kompozisyonlarında olumlu değişimler yarattığını, tüketimleri sonucu potansiyel sağlık etkilerini artırdığını ve çeşitli rahatsızlıklara karşı koruyucu etkiler gösterdiğini sunmuştur. Bununla birlikte, çalışmalar çimlendirilmiş tanelerin fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabilirlikte etkinlikte komponentler olduğunu da

kaydetmiştir. Çimlendirilmiş taneler, gelecekte yapılacak sağlık beyanlarında ve gıda endüstrisinin geliştireceği yeni ürünlerde yararlanılma potansiyeli yüksek gıdalardır.

Literatürde çimlendirilmiş taneler ve çiya tohumları üzerine yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde besin öğeleri ve biyoaktif bileşiklerce zengin olan bu gıdaların sağlık faydası sağlamak üzere çeşitli gıdalara eklenebileceği görülmektedir.

Bu noktadan hareketle bu tez çalışmasında tüm yaş grupları için kaliteli protein kaynağı olarak kabul edilen yoğurdun sağlık faydasının artırılması amacıyla protein, ω -3 yağ asitleri ve diyet lifince zengin çiya tohumları ve fitokimyasallarca zengin çimlendirilmiş tane ve filizlerle (mercimek ve börülce) değişik oranlarda zenginleştirilmesi hedeflenmiştir.

Genellikle bu tip ürünlerin üretimindeki ilk yaklaşım ürünün duyuşal kabul edilebilirliği ve hedef besin öğeleri ve/veya biyoaktif bileşenlerin miktarlarındaki artışın araştırılmasıdır. Ancak bu eklenen bileşenlerin yoğurt matriksi içerisinde çeşitli interaksiyonlar (protein-protein interaksiyonları, protein-fenolik bileşik interaksiyonları) nedeniyle yoğurttaki proteinlerin sindirim enzimleri tarafından hidrolizini etkileme olasılığının araştırılması önemli ve gereklidir. Benzer olarak biyoaktif bileşenlerin miktarının artması önemli olmayıp, bu bileşenlerin gıda matriksinden açığa çıkıp çıkamadıklarının tespit edilmesi gerekir. Örneğin fenolik bileşiklerin intestinal sindirim sonrasında gıda matriksinden serbest hale geçmesi veya geçmemesi sağlık üzerine etkilerinin farklı olmasına neden olacaktır. Bu nedenle tez çalışması kapsamında;

1. Yoğurda eklenen çiya tohumunun *in vitro* gastrik ve intestinal sindirim sırasında yoğurt proteinlerinin sindirimi üzerinde etkili olup olmadığı,

2. Yoğurda eklenen çimlendirilmiş tane ve filizlerin *in vitro* gastrik ve intestinal sindirim sırasında yoğurt proteinlerinin sindirimi üzerinde etkili olup olmadığı,

3. Yoğurda eklenen çiya tohumu ile çimlendirilmiş tane ve filiz kombinasyonunun *in vitro* gastrik ve intestinal sindirim sırasında yoğurt proteinlerinin sindirimi üzerinde etkili olup olmadığı,

4. Bu bileşenlerin eklenmesi ile elde edilen yoğurttaki fenolik bileşiklerin *in vitro* gastro-intestinal sindirim sonrasında gıda matriksinden serbest hale geçip geçemedikleri,

5. Özellikle gastrik sindirim sırasında allerjen bir protein olan β -laktoglobulinin olası interaksiyonlar nedeniyle hidrolizinde bir farklılık olup olmadığı,

6. Tüm bu kombinasyonlar ile zenginleştirilen yoğurtların *in vitro* sindirim sonrasında sindirilmeyen kısımlarından kolon mikrobiyotası tarafından salgılanan proteaz ve karbonhidraz enzimlerinin etkisiyle *in vitro* koşullarda kısa zincirli yağ asitlerinin açığa çıkıp çıkmadığı,

7. Bu ürünlerin duyuşal olarak kabul edilip edilmediğı, yanıtlarının elde edilmesi gereken araştırma soruları olarak belirlenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Hammadde

Tez çalışmasında yoğurt yapımı için gerekli olan süt (pastörize günlük süt) ve süt tozu ile çimlendirilecek taneler ve çiya tohumu İzmir ilindeki marketlerden temin edilmiştir. Yoğurt kültürü (YoMix 205 LYO) ise Danisco Food International Inc.'ten temin edilmiştir.

Kimyasal Malzemeler

Analizlerde kullanılan sodyum klorür (106404), sodyum hidroksit (106462) ve potasyum klorür (104936) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Metanol (34885), etanol (34870), hidroklorik asit (07102), Folin & Ciocalteu (F9252), pepsin (P7012), pankreatin (P7545), safra tuzu (B3883), sodyum bikarbonat (S8875), kloroform (34854), kalsiyum klorür (C4901), pefabloc® (76307) Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Kullanılan diğer tüm kimyasal malzemeler Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiş olan analitik saflıktaki kimyasal malzemelerdir.

3.2. Yöntem

Kullanılan Cihazlar

Hassas Terazî: tüm tartım işlemlerinde Denver Instrument, SI 234 terazî kullanılmıştır.

Yüksek Hızlı Homojenizatör: yoğurt üretimi sırasında homojen bir karışım elde edebilmek için IKA, T25 Digital Ultra-Turrax (Almanya) kullanılmıştır.

Isıtmalı Magnetik Karıştırıcı: analizlerde kullanılan çözeltilerin hazırlanması ve homojen karıştırma sağlanması için IKA, RH basic 2 (Almanya) kullanılmıştır.

Manyetik Karıştırıcı: çözelti hazırlama işlemlerinde IKA, big squid (Almanya) manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

Soğutmalı İnkübatör: tanelerin çimlendirilmesi sırasında FOC 225E, Velp Scientifica (Italy) kullanılmıştır.

Vorteks Karıştırıcı: analizler sırasında homojen bir karışım sağlamak için Isolab Laborgerate GmbH kullanılmıştır.

pH metre: sindirim sıvılarının ve uygun analiz ortamlarının hazırlanması sırasında gerekli olan tüm pH ayarlamaları için WTW, inoLab® pH 7110 (Almanya) kullanılmıştır.

Çalkalamalı İnkübatör: yoğurt üretiminde gerekli inkübasyon sıcaklığını sağlamada, tüm örneklerin ağız, mide ve ince bağırsak sindirim aşamalarında, toplam fenolik madde analizi için yapılan ekstraksiyon işlemlerinde ve yağ asitlerinin saptanması için yapılan ekstraksiyon işlemlerinde Stuart, S1500 (OSA, Birleşik Krallık) çalkalamalı inkübatörü kullanılmıştır.

Isıtıcı: yoğurt üretimi esnasında sütü ısıtmak için Arçelik ev tipi elektrikli ısıtıcı kullanılmıştır.

Derin Dondurucu: örneklerin ve kimyasalların saklanması amacıyla Uğur marka derin dondurucu kullanılmıştır.

Kjeldahl Cihazları: üretilen yoğurtların protein tayinini yapmak için yakma işleminde Gerhardt Kjeldatherm ve distilasyon işleminde de Gerhardt distilasyon ünitesi kullanılmıştır.

Kül Fırını: kül tayininde Heraeus marka kül fırını kullanılmıştır.

Butirometre: çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filiz bulundurmayan kontrol yoğurtların yağ oranının belirlenmesinde %8'lik butirometreler kullanılmıştır.

Gerber Santrifüj Cihazı: çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filiz bulundurmayan kontrol yoğurtların yağ oranının belirlenmesinde Funke Gerber (Almanya) kullanılmıştır.

Ev tipi aromatik kahve ve baharat öğütücü: soxhlet ekstraksiyonuna örnek hazırlanırken çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filizlerin toz haline getirilmesinde ev tipi aromatik kahve ve baharat öğütücü Sinbo (Çin) kullanılmıştır.

Soxhlet ekstraktörü: çiya tohumu ve tanelerin yağ oranlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

Soğutmalı Santrifüj: *in vitro* sindirim sırasında, yağ asitlerinin saptanması için yapılan ekstraksiyon işlemlerinde Thermo Scientific, IEC C1312 Multispeed Centrifuge (Almanya) kullanılmıştır.

Karıştırmalı ısıtıcı: SDS-Page analizi öncesi örnek hazırlama aşamasında Eppendorf ThermoMixer C (Almanya) kullanılmıştır

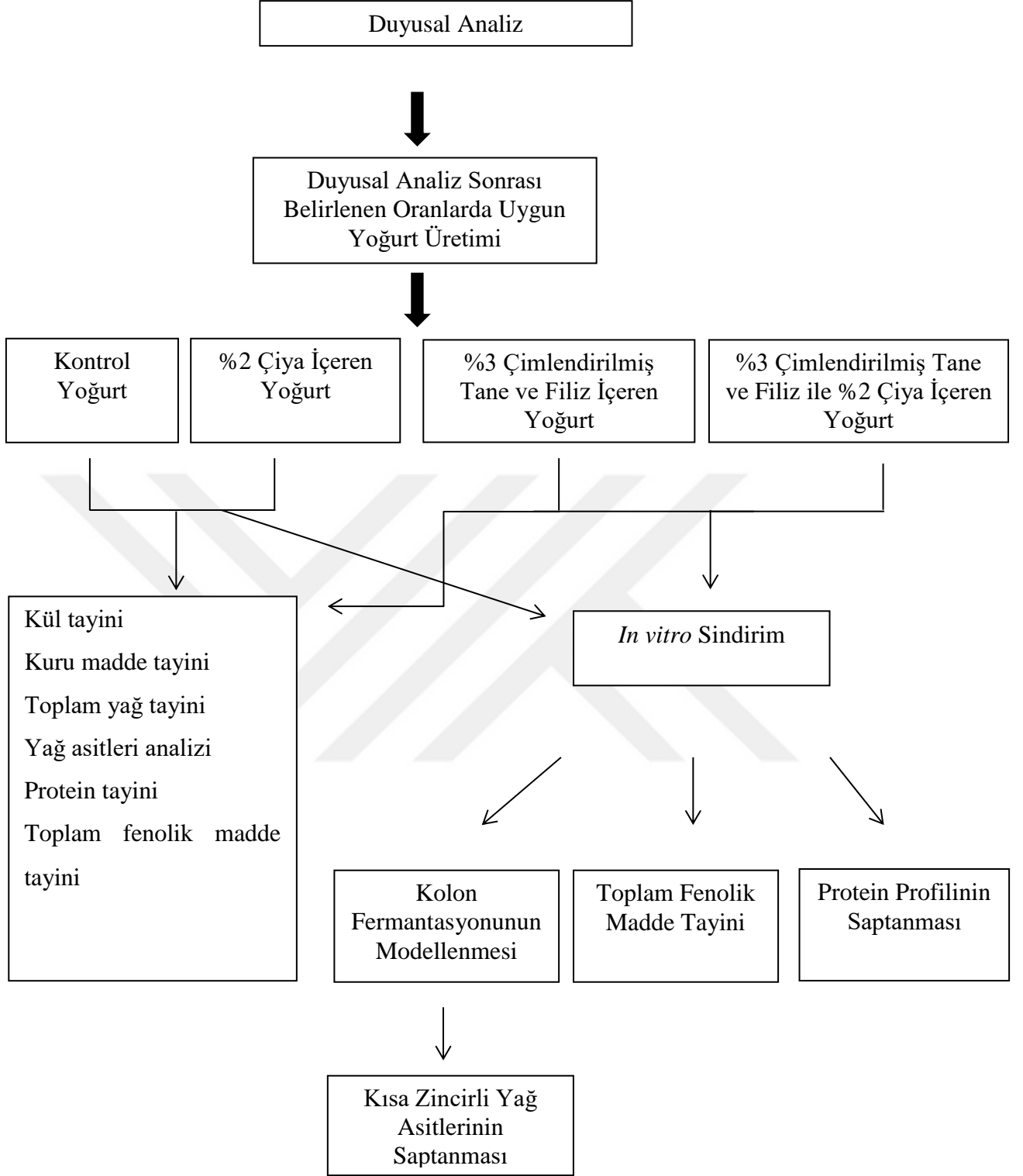
Elektroforez Cihazı: üretilen yoğurtların *in vitro* mide ve intestinal sindirimi sonrası protein modellerinin belirlenmesinde Bio-Rad mini-protean tetra cell (Çin) elektroforez sistemi kullanılmıştır.

Spektrofotometre: Sindirim öncesi ve sonrası tüm örneklerin toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesinde Novaspec Plus Visible Spectrophotometer, Amersham Biosciences (General Electric, Türkiye) görünür bölge spektrofotometresi kullanılmıştır.

3.3. Çalışma Planı

Tez kapsamında yapılan tüm analizler 3 tekrar 2 paralel olarak yürütülmüştür. Üretilmesi planlanan yoğurtların içereceği çimlendirilmiş tane ve filiz miktarı uygulanan duyusal analizlerin sonuçlarına göre tespit edilmiştir. Tez kapsamında yapılan analizlerle ilgili çalışma planı Şekil 3.3’de verilmiştir.





Şekil 3.3. Tez çalışma planı

3.4. Analizler

3.4.1. Tanelerin çimlendirilmesi

Mercimek ve börülce tanelerini çimlendirme işlemi Kavas and El (1991) yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Kırık ve yabancı taneler uzaklaştırıldıktan sonra taneler % 0.5 hipoklorit içeren çeşme suyunda (v/v) 2 dk bekletilmiş, daha sonra taneler yıkanıp oda sıcaklığında ağırlıklarının 3 katı kadar suda 8 saat ıslatılmıştır. Islatma işleminden sonra mercimek ve börülce taneleri soğutmalı inkübatörde (FOC 225E, Velp Scientifica Italy) 30°C’de sırasıyla 3-5 gün çimlendirilmiştir. Çimlendirme süresi, oluşan filizlerin uzunluğuna (yaklaşık 7 cm) bağlı olarak belirlenmiş ve çimlendirme işlemi 3 tekrar olarak gerçekleştirilmiştir. (Karakaya et al., 2016).

3.4.2. Yoğurt üretimi

Yoğurtlara eklenecek çiya tohumu miktarı Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Tebliği ω -3 yağ asitleri için “kaynak, içerir/...ilaveli” beslenme beyanı yapabilme koşuluna göre, çimlendirilmiş tane ve filiz miktarı ise duyuusal kabule göre belirlenmiştir. Çiya tohumu protein içeriğinin yanı sıra ω -3 yağ asidi olan alfa linoleik asidince (ALA) zengindir. Çiya tohumunda yaklaşık %30 civarında yağ bulunmakta ve bu yağın %60’ını ALA oluşturmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği’ne göre ω -3 yağ asitleri için “kaynak, içerir/...ilaveli” beslenme beyanı yapabilme koşulu “100 g ve 100 kcal gıdada ALA miktarı en az 0.3 g olmalı” şeklindedir. Bunu sağlayabilmek için eklenmesi gereken çiya tohumu miktarı %2 (ALA miktarı yaklaşık 0.36 g) olarak hesaplanmış ve eklenecek çiya oranı %2 olarak belirlenmiştir. Yoğurda eklenen çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filiz miktarları Tablo 3.4.2’de verilmiştir.

Yoğurt üretimi için pastörize süt 83 °C’ye kadar ısıtılmıştır. Yağsız kuru madde içeriği %12 olacak şekilde yağsız süttezu ilave edilmiştir. Yoğurt üretimi sırasında 43°C’ye getirilen süte yoğurt kültürü ilave edilmiş ve 43 °C’de 5-6 saat inkübasyona bırakılan yoğurtların pH’sı 4.7 olduğunda inkübasyon

sonlandırılmıştır. Elde edilen yoğurtlar analizlerde kullanılmak üzere -18 °C'deki soğutma ortamında depolanmıştır. Kontrol (herhangi bir bileşen eklenmemiş), çiya tohumu ile zenginleştirilmiş, çimlendirilmiş mercimek ve börülce tane ve filizleri ile zenginleştirilmiş ve çiya tohumu ile çimlendirilmiş tane ve filiz kombinasyonu ile zenginleştirilmiş yoğurtlar üretilmiştir. Duyusal analizler, bu dört farklı kombinasyona uygulanmıştır (Tablo 3.4.2).

Tablo 3.4.2. Duyusal analiz için üretilen yoğurt örnekleri

Yoğurt	Çiya Tohumu (%2)	Çimlendirilmiş tane ve filizler (%2)	Çimlendirilmiş tane ve filizler (%3)	Çimlendirilmiş tane ve filizler (%4)
Kontrol	-	-	-	-
Zenginleştirilmiş 1	✓	-	-	-
Zenginleştirilmiş 2	✓	✓	-	-
Zenginleştirilmiş 3	✓	-	✓	-
Zenginleştirilmiş 4	✓	-	-	✓

Duyusal olarak tüketilebilir bir ürün olup olmadığını görmek için ön deneme olarak % 2 çiya tohumu içeren (tohumlar fermantasyon öncesinde eklenmiştir) yoğurt yapılmış ve 10 panelistle ön bir duyusal değerlendirme testi (tüketirim/tüketmem) gerçekleştirilmiştir. Panelistlerin tümü “tüketirim” şeklinde tercihlerini belirtmiştir.

3.4.3. Duyusal analiz

Çiya tohumu içeren yoğurtlara eklenecek çimlendirilmiş tane ve filizlerin oranı panelistlerin tercih veya beğenme/beğenmeme durumlarının değerlendirildiği hedonik skala testi ile belirlenmiştir (Altuğ ve Elmacı, 2005). Bu

amaçla her tekrarda 10 panelistle çalışılması planlanmıştır. Panelistlere uygulanan hedonik skala Tablo 3.4.3 verilmiştir. Eklenecek çimlendirilmiş tane ve filiz oranları %2, %3 ve %4 olarak belirlenmiştir. Bu oranların yarısı mercimek tane ve filizleri yarısı ise börülce tane ve filizlerinden oluşmuştur.

Tablo 3.4.3. Uygulanan hedonik skala testi

İsim:	Kod:	Tarih:
Lütfen aşağıdaki ifadeler içerisinde size sunulan ürün hakkındaki yanıtınızı işaretleyiniz.		
.....Çok beğendim		
.....Beğendim		
.....Orta derecede beğendim		
.....Az beğendim		
.....Hiç beğenmedim		

3.4.4. Kuru madde tayini

Yoğurtta kuru madde tayini TS 1330'da verilen yönteme göre yapılmıştır. Kapakları yarı açık, içinde bir miktar deniz kumu (hidroklorik asitte temizlenmiş, yıkanmış ve iyice kurutulmuş) ve cam baget bulunan kurutma kapları 103 ± 2 °C'ye ayarlanmış etüve konarak sabit ağırlığa getirilmiştir. Kurutma kapları desikatörde soğutulduktan sonra daraları belirlenmiştir. Homojen hale getirilen kontrol ve çiya tohumu ve/veya çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurt örneklerinden kurutma kaplarına 0.5 mg hassasiyetle 5'er gram örnek tartılarak, cam baget yardımıyla kumla iyice karıştırılarak kapların dibine yayılmıştır. Örnekleri içeren kurutma kapları, 103 ± 2 °C'ye ayarlanmış etüve kapakları açık durumda konularak yaklaşık 1.5-2 saat bekletilmiştir. Kapakları kapatıldıktan sonra desikatöre alınarak soğumaları beklendikten sonra tartım alınmıştır. İki tartım arasındaki fark 0.0005 g'dan az oluncaya kadar bu işlemler tekrarlanmıştır. Örneğin kuru madde miktarı örnek miktarı ve kabın darasına göre hesaplanmıştır.

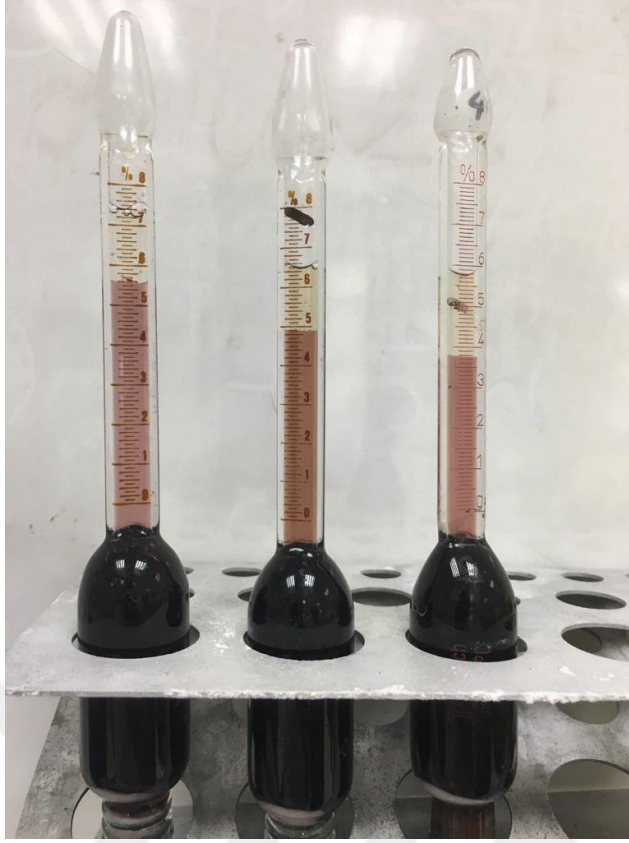
3.4.5. Kül tayini

Sabit ağırlığa getirilip daraları alınan porselen krozelere 10 g örnek tartıldıktan sonra 103 ± 2 °C'de 1-2 saat tutularak örneğin fazla suyu uçurulmuştur. Kül fırınına alınan porselen kroze içerikleri sıcaklığın kademeli olarak 550 °C'ye dereceye yükseltilmesiyle yakılmıştır. Bu sıcaklıkta 3-4 saat daha beyaz kül elde edilene kadar yakma işlemi sürdürülmüş daha sonra krozeler desikatöre alınarak soğutulmuştur. Soğutulan krozelerin son tartımları alınıp % olarak kül miktarı hesaplanmıştır (Kurt vd., 1999).

3.4.6. Yağ tayini

Yağ tayini kontrol yoğurt için Gerber yöntemi ile Metin (2006)'ya göre gerçekleştirilirken çiya ve /veya çimlendirilmiş tane ve filizler içeren yoğurtlarda ise Soxhlet yöntemi kullanılmıştır.

Gerber yöntemiyle yağ tayininde ilke; belirli hacimdeki sütün protein ve zor çözünen tuzlarını derişik sülfürik asit ilavesiyle çözüldürdükten sonra, serbest hale geçen yağı santrifüj ederek ayırmak ve yağ miktarını, bütirometrenin skalasından okumaktır.



Şekil 3.4.6 Kontrol yoğurtlarına uygulanan Gerber analizinin görüntüleri

Sülfirik asit %90-91'lik $d_4^{20}=1.820-1.825\text{g/mL}$ kullanılmıştır. Bütirometreler, ağızları yukarıya gelecek şekilde özel dayanaklarına yerleştirildikten sonra bütirometrelerin içine önce 10 mL sülfirik asit, sonra 20 °C'ye ayarlanmış 11mL yoğurt (1:1 oranında distile su ile seyreltilen) ve son olarak da 1mL amil alkol boşaltılmıştır. Bütirometre doldurulduktan sonra ağız kısmı ıslak kalmayacak şekilde silinmiş ve kuru bir tıkaçla kapatılmıştır. Oluşan pıhtı tamamen çözününceye ve ortamda hiçbir beyazlık kalmayınca kadar bütirometre yavaş yavaş çalkalanıp alt üst edilmiş, daha sonra bütirometreler tıkaçlar dış tarafa gelecek şekilde ısıtmalı santrifüjün tablasına yerleştirilmiş ve 65 °C'de 10 dk santrifüj uygulanmıştır. Santrifüj işlemi tamamlandığında okuma işlemi yapılmıştır (Şekil 3.4.6). Bütirometre skalasından okunan değer 2 ile çarpılarak yoğurdun içeriğindeki yağ miktarı yüzde cinsinden hesaplanmıştır.

Çiya tohumu ve çimlendirilmiş taneler ise kahve öğütücüde öğütüldükten sonra $5\text{ g} \pm 0.5\text{ mg}$ hassasiyetle tartılmış ve kartuşa aktarılmıştır. Kartuş

ekstraktöre yerleştirilmiş ve balona yeterli miktarda çözücü ilave edilmiştir. Balon, ekstraktör ve soğutucu birbirine bağlanmış ve 8 saat boyunca ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonrası çözücü rotary evaporatörle uzaklaştırılmıştır. Daha sonra balon sabit tartıma getirilmek üzere 105 °C'ye ayarlı etüvde 2 saat bekletilmiştir. Desikatöre alınıp soğutulduktan sonra tartım alınmıştır. Balonun son ağırlığı kaydedildikten sonra içindeki yağ miktarı % yağ olarak aşağıda bulunan formülden hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Yağ} = \frac{\text{Son tartımda bulunan yağ miktarı} - \text{Sabit tartıma gelen balonun ağırlığı}}{\text{Alınan örnek miktarı}} \times 100$$

3.4.7. Yağ asitlerinin saptanması

Çiya tohumu, çimlendirilmiş tane ve filizler ile yoğurt örneklerinin *in vitro* sindirim öncesinde yağ asidi kompozisyonları saptanmıştır.

Yağ asitlerinin saptanması amacıyla örneklere Folch et al., 1957 metoduna uygun olarak lipit ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yağ asidi metil esterleri (YAME) lipit örneklerinin transmetilasyonu ile elde edilmiştir. Yağ örnekleri cihaza verilmeden önce metillendirme yöntemi ile türevlendirilmiş ve hegzan ile seyreltilmiştir (Hışıl, 2011). Örnekler GC-FID dedektörü DB23 kolonu (30×0.25×0.25) ile analiz edilmiştir. Sıcaklık, başlangıç periyodunda 120 °C olup dakikada 3 °C artırılarak son adımda 220 °C de 20 dakikada ayarlanmıştır. Enjeksiyon ve tespit portlarının sıcaklıkları sırasıyla 230 ve 260°C'de olacak şekilde sağlanmıştır. Pikler aynı koşullardaki standartlarla karşılaştırma yoluyla tespit edilmiştir (Serhan et al., 2016).

3.4.8. Protein tayini

Çimlendirilmiş tane ve filizler, çiya tohumu ve yoğurtların protein içeriği Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir (AOAC, 1990).

Bu yöntemin ilkesi: Azot içeren örneğin belli bir miktarının H_2SO_4 ile yakılarak içindeki tüm azotun $(NH_4)_2SO_4$ 'e dönüştürülmesi, çözeltinin bazikleştirilmesi ve açığa çıkan NH_3 'ün damıtılıp belli standart bir asit çözeltisi içerisinde toplandıktan sonra nötrleşmeyen fazla asit miktarının titrasyonla saptanmasıdır.

0.005 g hassasiyetle 5 gram örnek Kjeldahl tüplerine tartılmış, yaklaşık 3 g katalizör (1 kg susuz Na_2SO_4 , 30 g $Cu_2SO_4 \cdot 5H_2O$, 15 g saf selenyum bileşiminde) eklenmiş ve 13 mL derişik H_2SO_4 ilave edilmiştir. Yakma ünitesinde sıcaklık $430^\circ C$ 'ye kademeli olarak yükseltilerek yakma işlemine 3-4 saat devam edilmiştir. Daha sonra soğuyan tüplerdeki örneklere 40 mL saf su eklenip destilasyon düzeneğine yerleştirilmiş alkali pompası ile 50 mL %4'lük NaOH tüp içerisine pompalanmış ve 6 dakika sonra oluşan destilat 25 mL borik asit içerisinde toplanmıştır. Destilat, faktörünü bildiğimiz 0.1 N HCl çözeltisi ile yeşil renk açık pembe renge dönene kadar titre edilerek yüzde azot miktarları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Bulunan değerler süt ürünleri için kullanılan 6,38 faktörü ile çarpılarak protein oranları belirlenmiştir.

$$\% \text{Azot} = \frac{(S - \text{Stanık}) \times F \times 0,0014 \times 100}{\text{Örnek miktarı}}$$

F= HCl çözeltisinin faktörü

S= Titrasyonda harcanan HCl hacmi (mL)

Stanık= Şahit denemede harcanan HCl hacmi (mL)

3.4.9. Toplam fenolik madde tayini

Ekstraksiyon

Yoğurt örneklerinde fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda soğuk ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. 5 gram ışık geçirmeyen falcon tüplere alınan örnek üzerine 5 ml %80'lik metanol eklenmiş, 5 dakika boyunca vortekslenmiş ve

30 dakika boyunca soğukta çalkalama yapılmıştır. Çalkalamanın ardından 4 °C’de 10000 g’de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Supernatanttan belirli bir hacim alınmış ve ışık almayan tüplere aktarılmıştır. Daha sonra pellet kısma başlangıçtaki işlemler tekrar uygulanmış ve bir önceki alınan hacimle aynı miktarda supernatant alınıp ışık geçirmeyen tüplere tekrar ilave edilmiştir. Okuma yapılana kadar -20 °C’de depolanmıştır (Diamanti et al., 2010). *In vitro* sindirime uğratılmış örnekler Wootton-Beard et al., (2011) yöntemine benzer olarak sindirim sonrası elde edilen süpernatanttan alınan örneğe aşağıda verilen analiz kısmı uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Analiz

Yoğurt örneklerinde *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası toplam fenolik madde tayini yapılmıştır. Örneklerin toplam fenolik madde konsantrasyonu Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak saptanmıştır. Elde edilen ekstraktlar ve standart 50 µl alınmış gerekli seyreltimler yapıldıktan sonra üzerine 250 µl Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Vorteksledikten sonra oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra 760 nm’de (Novaspec Plus Visible Spectrophotometer) absorbans ölçülmüştür. Standart grafiği gallik asit eşdeğeri olarak çizilmiştir. TFM miktarı gallik eşdeğeri (GAE) olarak (mg GAE/ 100g) hesaplanmıştır.

3.4.10. *In vitro* sindirim

In vitro sindirim işleminde Minekus et al., (2014) *in vitro* sindirim prosedürü uygulanmıştır. Bu işlemde simüle ağız sıvısı (SSF), simüle gastrik sıvısı (SGF), simüle intestinal sıvısı (SIF) kullanılmıştır (Tablo 3.4.10). Pepsin, pankreatin enzimlerinin aktivitesi ve safra tuzundaki safra konsantrasyonunun saptanması da Minekus et al., (2014) metoduna göre yapılmıştır. Tüm enzimler aktivite saptandıktan sonra gerekli miktarlar hesaplanarak kullanılmıştır. Sindirim sisteminin simüle edilebilmesi için uygulanan yöntem detaylı olarak aşağıda açıklanmıştır.

Tablo 3.4.10. *In vitro* sindirim yönteminde kullanılan sıvıların elektrolit konsantrasyonları ve hacimleri

			SSF		SGF		SIF	
			pH7		pH3		pH7	
Bileşim	Stok Kons.		Stok Hacim (mL)	SSF Kons. (mmol/L)	Stok Hacim (mL)	SSF Kons. (mmol/L)	Stok Hacim (mL)	SSF Kons. (mmol/L)
	(g/L)	(mol/L)						
KCl	37.3	0.5	15.1	15.1	6.9	6.9	6.8	6.8
KH ₂ PO ₄	68	0.5	3.7	3.7	0.9	0.9	0.8	0.8
NaHCO ₃	84	1	6.8	13.6	12.5	25	42.5	85
NaCl	117	2	-	-	11.8	47.2	9.6	38.4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	30.5	0.15	0.5	0.15	0.4	0.1	1.1	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	48	0.5	0.06	0.06	0.5	0.5	-	-
pH AYARLAMAK İÇİN				pH AYARLAMAK İÇİN				
	(mol/L)	(mL)	(mmol/L)	(mL)	(mmol/L)	(mL)	(mmol/L)	
NaOH	1	-	-	-	-	-	-	
HCl	6	0.09	1.1	1.3	15.6	0.7	8.4	

Simüle sindirim sıvılarının ve sindirim enzimlerinin kullanımıyla *in vitro* sindirim uygulanmıştır.

Sindirim işleminden hemen önce enzim aktivasyonlarını sağlamak amacıyla 0.3 mol/L CaCl₂(H₂O)₂ hazırlanmış ve sindirim sıvılarına eklenmiştir. Enzimler, 2000 U/mL aktivitede pepsin ve 100 tripsin U/mL aktivitede olacak şekilde hazırlanmıştır. Enzimlere ek olarak 10 mM konsantrasyonda safra tuzu hazırlanmıştır.

Mide ve ince bağırsak sindirimleri sonrasında protein profilleri tespit edilmiştir (Şekil 3.4.10). *In vitro* sindirim işlemi için 5 gram yoğurt örneği alınmış üzerine 4 mL SSF, 25 µL 0.3 M CaCl₂ ilave edilerek ağız ortamını simüle edebilmek için pH 7'ye ayarlanmıştır. Ağız aşamasında eklenen baz miktarı

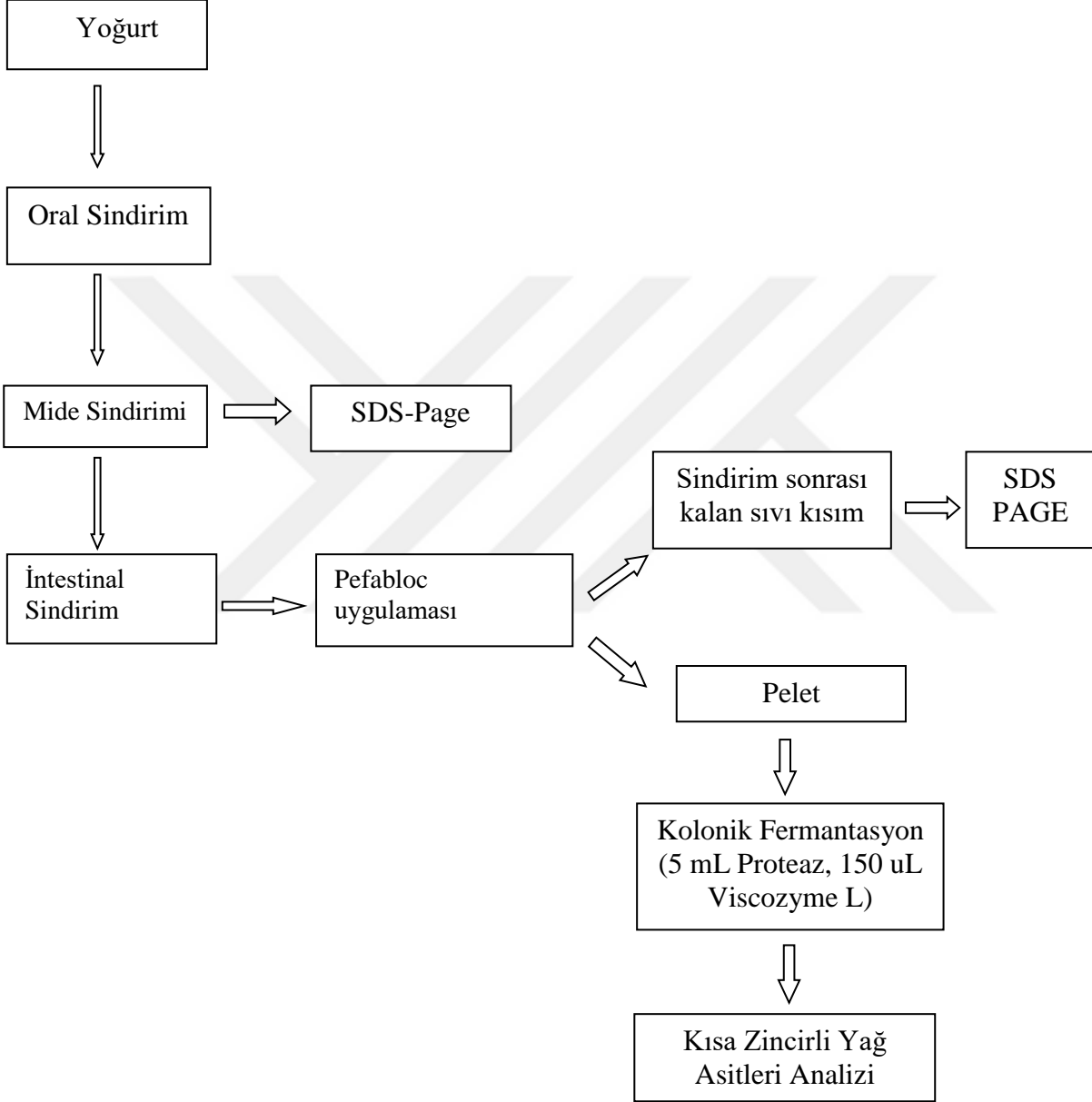
kaydedilerek hacim 10 mL'ye tamamlandıktan sonra 200 rpm, 37 °C'de 2 dakika boyunca çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Böylece sindirimin ağız aşaması tamamlanmıştır.

Daha sonra ağız sindiriminden alınan içeriğe 8 mL SGF ve 5 µL CaCl₂ eklenerek 6 M HCl ile pH 3'e ayarlanmış, 2000 U/mL pepsin içerecek şekilde son hacim 20 mL'ye tamamlanmıştır. Mide içeriği 200 rpm'de, 37 °C'de 2 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında pepsin enziminin aktivitesi NaHCO₃ ile durdurulmuştur.

İnce bağırsak (duodonal) sindirim için mide sindiriminden alınan içeriğe 11 mL SIF, 2,5 mL safra tuzu ve 40 µL CaCl₂ eklenmiş ve 1 M NaOH ile pH 7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 5 mL pankreatin ilave edilmiş ve distile su ile son hacim 40 mL'ye tamamlanmıştır. İçerik 200 rpm'de, 37 °C'de 2 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

İntestinal sindirimin sonunda, intestinal enzimlerin inhibisyonu 150 mM Pefabloc enzim inhibitörü ile sağlanmıştır. Bu karışıma santrifüj uygulandıktan sonra süpernatant alınmış ve SDS-Page yöntemi ile protein profili belirlenene kadar -18 derecede saklanmıştır. Santrifüj uygulamasından sonra elde edilen pelete ise kolonik fermantasyon modeli (proteaz ve karbonhidraz kullanarak) uygulanmıştır.

Mide sindirimi sonrasında protein profilindeki değişimi izlemek için örneklere ayrıca bir sindirim işlemi uygulanmış ve işlem mide sindirimini takiben sonlandırılmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında elde edilen sıvı kısım SDS-Page yöntemi ile protein profili belirlenene kadar -18 derecede saklanmıştır.



Şekil 3.4.10. Mide ve ince bağırsak sindirimleri sonrası uygulanan işlemler

3.4.11. Kolonik fermantasyonun modellenmesi

Kolonik fermantasyonun modellenmesinde Papillo et al., (2014) tarafından önerilen yöntem kapsamında kolon mikroflorası enzimleri olarak proteaz ve karbonhidraz enzimleri kullanılmıştır. Bir proteaz olan Pronase E enzimi bakteriyal proteazları modellemek için, bir karbonhidraz olan Viscozyme L enzimi ise kompleks polisakkaritlerin hidrolizini modellemek amacıyla kullanılmıştır. *In vitro* sindirim sonrasında elde edilen pelete kolonik fermantasyon uygulanmıştır.

Özetle; Ortama 5 mL Proteaz (1mg/ml, pH 8.0) eklenmiş ve karışım 37 °C'de 1 saat boyunca çalkalanarak inkübe edilmiştir. Daha sonra, 150 uL Viscozyme L (1mg /ml) eklenmiş ve 37 °C, pH 4'te dakikada 30 vuruşluk bir karıştırma hızı ile 16 saat çalkalanarak inkübe edilmiştir (Papillo et al., 2014).

3.4.12. Kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) analizi

Model kolonik fermantasyon sonrası elde edilen karışımda kısa zincirli yağ asitlerinin analizi Campos-Vega et al., (2009) tarafından önerilen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Özetle; inkübasyon sonrasında 1,5 mL örnek alınmış ve 450 rpm devirde 4 °C'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işlemi takiben süpernatanttan 800 µL alınıp 1M HCl ile pH 2.9-3.1 arasında olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra 750 µL örnek alınmış ve üzerine 120 µL formik asit eklenerek gaz kromatografisine verilmiştir. Sindirim sonrası oluşan KZYA'ları nicelleştirmek için asetat, propiyonat ve bütirat dış standartlar olarak kullanılmıştır.

Enzimlerin varlığından kaynaklanabilecek kısa zincirli yağ asitleri oluşumu olup olmadığını tespit edebilmek amacıyla yoğurt örneklerinin yanı sıra örneksiz (kör) *in vitro* sindirim ve kolonik fermantasyon uygulanan örnekte de analiz gerçekleştirilmiştir.

3.4.13. SDS-Page

In vitro gastrik ve intestinal sindirime uğratılmış yoğurt örneklerinin protein profillerinin belirlenmesi amacıyla SDS-Page analizi gerçekleştirilmiştir. 1mL SDS-Page örnek tamponu hazırlamak üzere;

1 M Tris-HCl pH 6.8 0.25 mL,

Gliserol 0.5 mL,

Bromfenol mavisi 1 mg,

SDS 80 mg,

diH₂O 0.243 mL

β-Mercaptoetanol 7 µL kullanılmıştır.

β-Mercaptoetanol analizde kullanılmadan hemen önce eklenmiştir.

Yürütme tamponu hazırlamak üzere;

Tris bazı 3.0275 g

Glisin 14.4 g

SDS (%20) 5 mL

diH₂O 1 litreye tamamlanmıştır. (BIO-RAD)

SDS-Page uygulamalarında Bio-Rad Mini Protean elektroforez sistemi ve Mini Protean® TGXTM %12'lik ayırma jeli hazır olarak kullanılmıştır. Protein tayinleri yapılan örnekler örnek tamponuyla karıştırılıp 1 mg/mL konsantrasyona sahip olacak şekilde seyreltilmişlerdir. Tüpler 95°C'de 200 rpm devirde Eppendorf ThermoMixer C kullanılarak 10 dk bekletildikten sonra kuyucuklara 10 µl olacak şekilde yüklenmiş ve 50 V sabit voltajda elektroforez gerçekleştirilmiştir. Örnekler jel kasetinin sonuna 0.5 cm kalana kadar yürüdüktan sonra girişim olmaması için akım durdurulmuş ve jel tabakalar arasından

çıkartılarak boyama çözeltilisine konulmuştur. Sabit hızda çalkamaya bırakılan jeller destaining çözeltilisi ile yıkanarak fazla boya uzaklaştırılmış ve görüntü alınmıştır (Laemmli, 1970).

3.4.14. İstatistiksel analiz

Kontrol ve örnekler arasında çalışılan her bileşen için elde edilen veriler SPSS 23 paket programı kullanılarak varyans analizi ile (ANOVA) değerlendirilmiştir. İstatistiksel farklılıklar %95 güven aralığında Tukey ve Tamhane's T2 ile değerlendirilmiştir.



4. GENEL SONUÇLAR ve TARTIŞMA

4.1. Duyusal Analiz

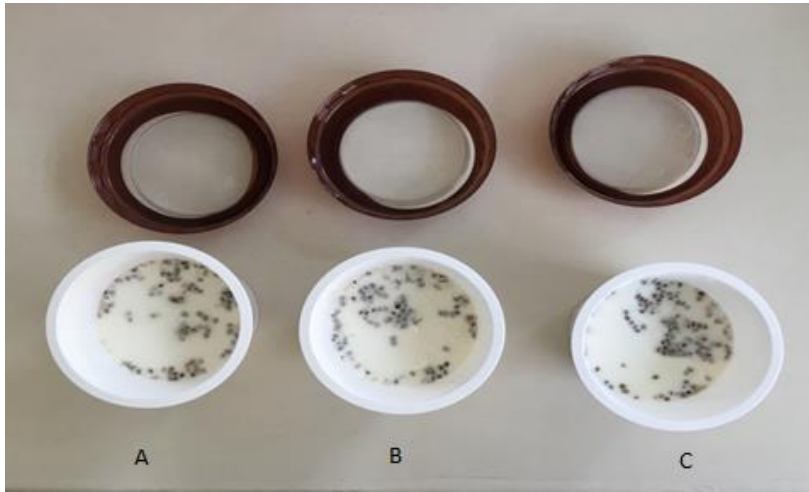
Yoğurtlara eklenecek olan tane ve filiz miktarlarının belirlendiği duyusal analiz sonucu %2, %3, %4 oranlarında eklenen çimlendirilmiş tane ve filizler içeren yoğurtların aldığı puanlar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Duyusal analiz sonucu yoğurtların aldığı puanlar

Yoğurtlar	Duyusal Analiz Sonucu Alınan Puanlar*
%2 Tane ve filiz içeren yoğurt	3.17 ± 1.05 ^a
%3 Tane ve filiz içeren yoğurt	3.47 ± 0.81 ^a
%4 Tane ve filiz içeren yoğurt	3.23 ± 1.04 ^a

*Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir

Ancak aritmetik ortalama olarak en yüksek puanı %3 tane ve filiz içeren yoğurtlar aldığı için yoğurtlara %3 oranında çimlendirilmiş tane ve filiz eklenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Duyusal analiz için hazırlanan yoğurt örneklerinin görüntüleri

A: %2 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurt, B: %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurt, C: %4 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurt

4.2. Yoğurtların Bileşimi

Yoğurdun bileşimini temsil eden kül, nem, protein, yağ analizlerinin sonuçları Tablo 4.2 de verilmiştir.

Yoğurtların kuru madde miktarları kontrol yoğurtta %15.16, %2 çiya tohumu içeren yoğurtta %16.35, %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurtta %15.43, %2 çiya ve %3 tane filiz içeren yoğurtta ise %17.01 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2). Kontrol yoğurdun kuru madde miktarı %2 çiya ve %3 tane-filiz içeren yoğurdun kuru madde miktarından düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Sadece çiya içeren (%2) yoğurt ile %2 çiya ve %3 tane-filiz içeren yoğurtların kuru maddeleri arasında bir fark saptanmamıştır.

En düşük kuru madde dolayısıyla en yüksek nem değeri kontrol yoğurtta tespit edilmiştir. Bunun sebebi diğer yoğurtlarda kuru madde içeriğini artıran çiya tohumu ve/veya tane ve filizlerin olması olarak açıklanabilir. Yapılan bir çalışmada çimlendirme işlemi ile mercimek, maş fasulseyi, bezelye gibi tohumlarda ham lif miktarının arttığını göstermiştir (El-Adawy et al., 2003). Bu artış kuru maddede gerçekleşen artışla ilişkilendirilebilir.

Tablo 4.2. Yoğurtların bileşimini temsil eden kül, nem, protein, yağ analizlerinin sonuçları

Yoğurtlar	Kuru Madde*(%)	Kül*(%)	Protein*(%)	Yağ*(%)
Kontrol yoğurt	15.16 ± 0.95 ^a	0.97 ± 0.01 ^a	4.04 ± 0.14 ^a	3.70 ± 0.16 ^a
%2 Çiya içeren yoğurt	16.35 ± 0.67 ^{a-b}	1.04 ± 0.02 ^b	4.42 ± 0.07 ^b	4.32 ± 0.16 ^b
%3 Tane ve filiz içeren yoğurt	15.43 ± 0.72 ^a	0.99 ± 0.04 ^a	4.37 ± 0.07 ^b	3.71 ± 0.16 ^a
%2 Çiya ve %3 tane ve filiz içeren yoğurt	17.01 ± 0.89 ^b	1.05 ± 0.19 ^b	4.68 ± 0.08 ^c	4.34 ± 0.16 ^b

^{a-b*}: Aynı kolondaki farklı harfler değerler arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

*: Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

Kül tayininin sonuçları kontrol yoğurdun %0.97, %2 çiya tohumu içeren yoğurdun %1.04, %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun %0.99, %2 çiya ve %3 tane filiz içeren yoğurdun ise %1.05 kül içerdiğini göstermiştir (Tablo 4.2). Çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filizlerin eklenmesiyle tüm yoğurtların kül oranında artış olmuş, ancak çiya içeren yoğurtlardaki kül miktarı diğer yoğurtlara göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Bu sonuç çiya tohumlarının yoğurdun mineral madde içeriğinde artışa neden olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Benzer olarak An et al., (2018) çiya tohumu eklenen yoğurtların kül miktarının yüksek olduğunu ve eklenen çiya miktarı arttıkça arttığını bildirmiş ve bunu çiyanın yüksek kül miktarı (%4.45) ve dolayısıyla yüksek mineral içeriğiyle açıklamıştır. Bunun yanı sıra, Curti et al., (2017) çiya tohumuna benzer yağlı bir tohum olan kinoa tohumu eklediği yoğurtlarda kinoa tohumunun yoğurtlarda miktar olarak artmasıyla birlikte kül miktarlarında anlamlı bir artış saptamıştır. Tahılların çimlendirilmesiyle ilgili yapılan bir çalışmada çimlendirme işlemi ile mercimeğin kül miktarında artış saptanmıştır (El-Adawy et al., 2003).

Kontrol yoğurdunun protein miktarı %4.04, %2 çiya tohumu içeren yoğurdun %4.42, %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun %4.37, %2 çiya ile %3 tane ve filiz içeren yoğurdun ise %4.68 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2). En yüksek protein miktarı %2 çiya ile %3 tane ve filiz içeren yoğurtta saptanmış ($p<0.05$), %2 çiya içeren yoğurt ile %3 tane ve filiz içeren yoğurtların protein miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çiya tohumu %15-25 arasında değişen protein içeriğiyle önemli bir protein kaynağıdır. An et al., (2018) çiya tohumunun protein oranını %20.90 olarak belirlemiş çiya tohumu ve belirli miktarlarda çiya tohumu ekledikleri yoğurtlarda, eklenen çiya tohumu miktarlarının protein oranında anlamlı olmasa da artışa neden olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, çiya tohumunun miktar olarak artması aynı zamanda yoğurtların lizin, histidin, lösin, izolösin gibi zorunlu aminoasit değerlerinde artışa sebep olmuştur. Bir başka çalışmada %5 ve %10 oranında çiya tohumu eklenen galetelerin protein içeriğinde eklenen miktarın artmasıyla birlikte istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır (Özgören vd., 2018). Ananas reçeli üretilen farklı bir çalışmada %6.25-50 arasında değişen miktarlarda çiya tohumu eklenen reçellerin protein içeriklerinde çiya tohumu miktarlarının artışıyla birlikte artış saptanmıştır (Nduko et al., 2018). Çalışmamızda yoğurda çiya tohumunun eklenmesi ile protein içeriğinde artış görülmesi literatürde incelenen çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Hububatlar iyi birer protein kaynağı olmakla birlikte protein içerikleri çimlendirme işlemi ile artış göstermektedir. Sattar et al., (2017) çimlendirdikleri mercimeklerin protein oranını çimlendirme öncesi %20.9–22.8, çimlendirme sonrası %27-29 arasında tespit etmişlerdir. Protein içeriğindeki bu artışın, çimlenme ile protein sentezinin yeniden uyarılmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, protein içeriğinin artmasına etki eden bir diğer faktörün çimlenme sırasında proteaz vb. sindirim enzimlerinin sentezi olabileceği belirtilmiştir. Benzer olarak Sangronis et al., (2006) siyah ve beyaz fasulyeleri çimlendirmiş ve çimlendirme işlemi ile her iki fasulye türünün protein içeriğinde artış saptamıştır. Buna ek olarak, çimlendirme işleminin tek başına *in vitro* protein

sindirilirliğinde anlamlı bir artış sağlamadığı ancak pişirme işlemiyle kombine edildiğinde protein sindirimindeki artışın sağlandığı belirtilmiştir. Bu bilgilerin ışığında mercimek ve börülce tane ve filizlerinin eklendiği yoğurtlarda protein oranında gözlenen artışın daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir.

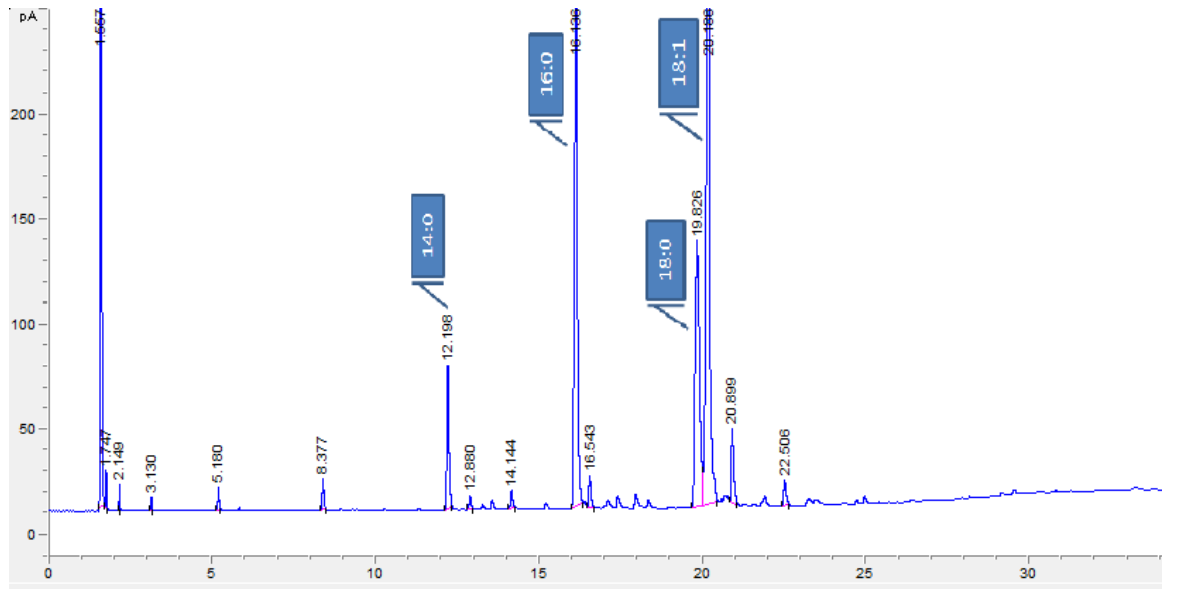
Yapılan yağ analizleri sonucunda kontrol yoğurdun yağ miktarı %3.70, %2 çiya tohumu içeren yoğurdun %4.32, %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun %3.71, %2 çiya ile %3 tane ve filiz içeren yoğurdun ise %4.34 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2).

Çiya tohumunun eklenmesi yoğurtların yağ oranında istatistiksel olarak anlamlı bir yükselmeye neden olmuştur. Yapılan çalışmalar çiya tohumunun %30-33 gibi yüksek bir oranda yağ içerdiğini göstermektedir (Ayerza ve Coates; 2011; da Silva et al., 2017). Çiya tohumu eklenen yoğurtların yağ içeriğinde görülen artış çiya tohumunun yüksek yağ içeriğine sahip olması ile ilişkilidir. An et al., (2018) belirli miktarlarda çiya tohumu eklenmiş yoğurtlarda eklenen çiya tohumu miktarı arttıkça yoğurtların yağ miktarlarında artış saptamıştır. Çalışmada yoğurttaki yağ içeriğinin, duyuusal ve fiziksel özellikler üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceği, yoğurdun kıvamının artmasına katkı sağlayabileceği bildirilmiştir.

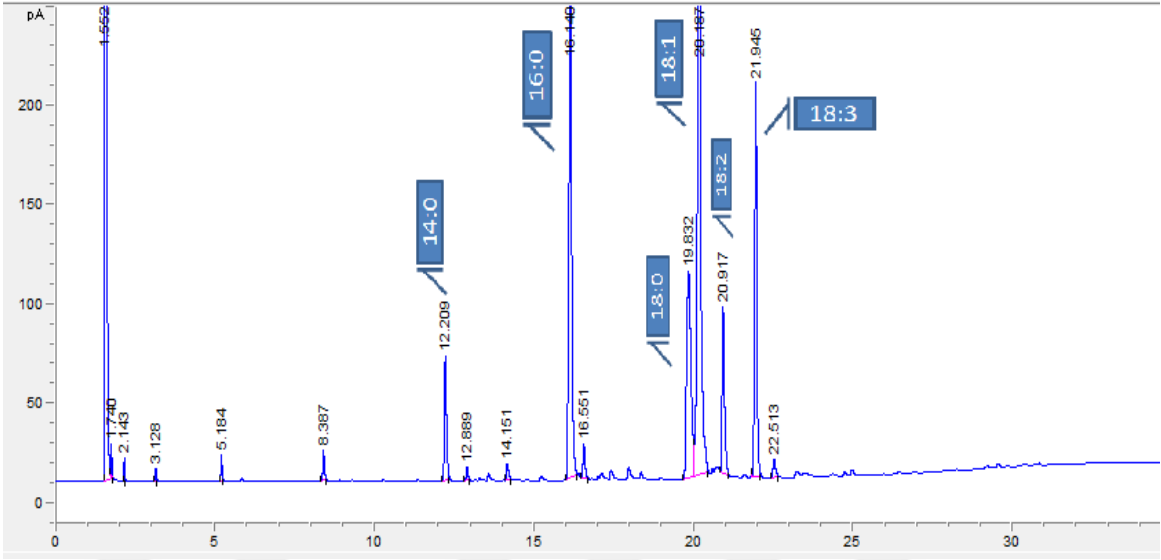
Mercimek ve börülce tane ve filizleri halihazırda yağ oranı yüksek olmayan bitkisel gıdalardır. Çimlendirme işlemi öncesi mercimeğin yağ içeriği %1-1.15 arasında tespit edilmiştir. Bununla birlikte çimlendirme işleminin yağ içeriğinde bir miktar azalmaya neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (El-Adawy et al., 2003; Sattar et al., 2017). Börülce de yağ içeriği % 1.30 olan düşük yağlı bir tohumdur (Güzel and Sayar, 2012). Yoğurtlara eklenen çimlendirilmiş mercimek ve börülce tane ve filizlerinin düşük yağ içeriğine sahip olmaları ve yoğurtlarda %3 oranında bulunmaları tane ve filizlerin bulunduğu yoğurdun yağ miktarında anlamlı bir artış yaratmamıştır ($p>0.05$).

4.3. Yağ Asitleri Kompozisyonu

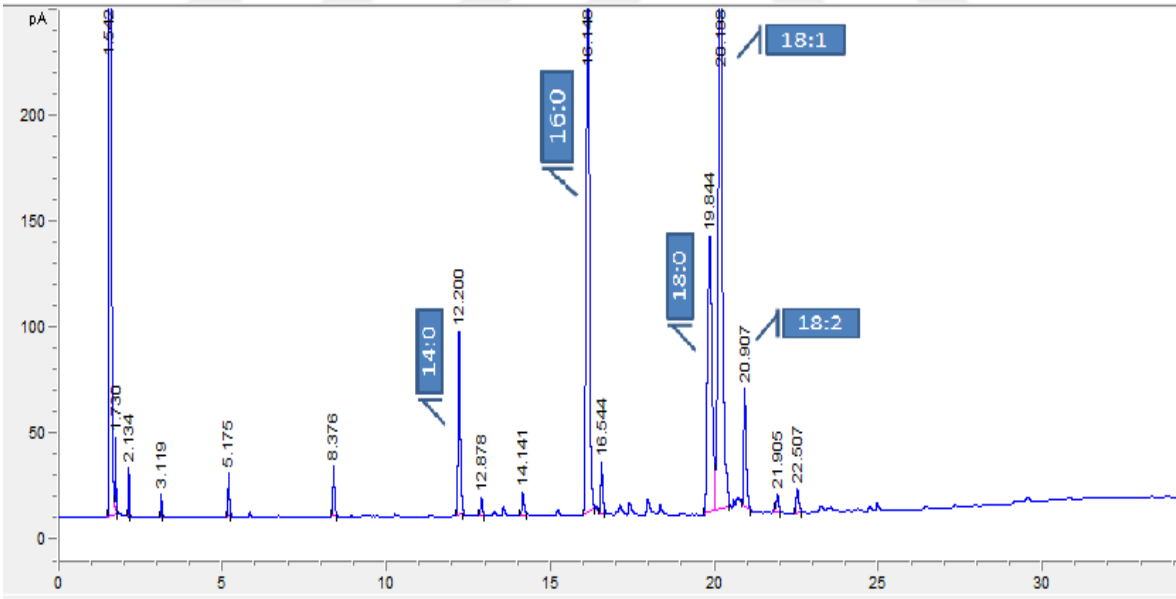
Örneklerin yağ asidi kromatogramları Şekil 4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4'te verilmiştir. Yoğurdun, yağ asidi kompozisyonunun major bileşenleri sırasıyla palmitik asit (16:0), oleik asit (18:1), stearik asit (18:0) ve miristik asit (14:0) olarak belirlenmiştir (4.5.1). Çiya tohumu eklenmiş yoğurtlarda kontrol yoğurdun major yağ asitleri bileşenleri palmitik asit (16:0), oleik asit (18:1), stearik asit (18:0), miristik asit (14:0)'e ek olarak α -linolenik asit (18:3) ve linoleik asit (18:2) saptanmıştır (Şekil 4.3.2). Çimlendirilmiş tane ve filiz eklenmiş yoğurtlarda ise kontrol yoğurdun major yağ asitleri bileşenleri palmitik asit (16:0), oleik asit (18:1), stearik asit (18:0) ve miristik asit (14:0)'e ek olarak linoleik (18:2) asit tespit edilmiştir (Şekil 4.3.3). Çiya ve çimlendirilmiş yoğurtların bulunduğu yoğurtlarda da kontrol yoğurtta tespit edilen yağ asitlerine ek olarak α -linolenik asit (18:3), linoleik asit (18:2) tespit edilmiştir (Şekil 4.3.4). Çiya eklenmiş tüm yoğurtlarda eklenmemiş olanlardan farklı olarak α -linolenik asit (18:3) tespit edilmiştir. Diğer yağ asitleri ise çok küçük oranlarda bulunduğu için GC üzerinde pik alan hesabı yapılamadığı gibi net olarak da tespit edilememiştir.



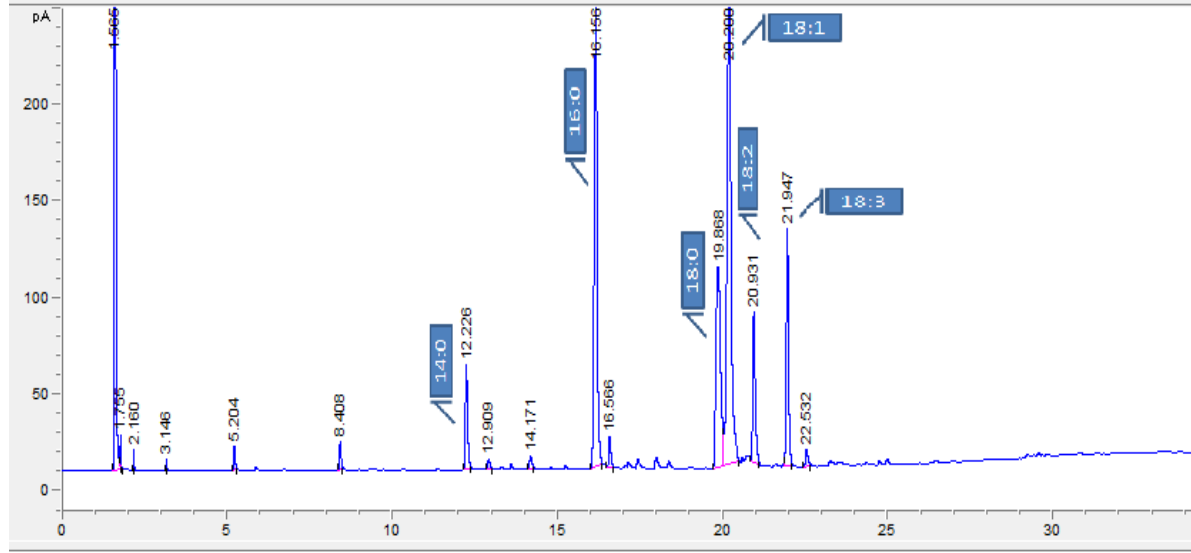
Şekil 4.3.1. Kontrol yoğurdun yağ asidi kompozisyonu



Şekil 4.3.2. %2 Çiya içeren yoğurdun yağ asidi kompozisyonu



Şekil 4.3.3. %3 Çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun yağ asidi kompozisyonu



Şekil 4.3.4. %2 Çiya ve %3 Çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun yağ asidi kompozisyonu

Serafeimidou et al., (2012) çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak farklı süt kaynaklarından elde ettikleri yoğurtların yağ asidi kompozisyonlarında doymuş yağ asitleri: miristik (C14:0), palmitik (C16:0), stearik (C18:0) ile tekli doymamış yağ asidi: oleik (C18:1) saptamışlardır. Özturkoğlu-Budak et al., (2016) çalışmada tespit ettiğimiz yağ asitleriyle paralel olarak yoğurtta palmitik (C16:0), stearik (C18:0) ve oleik (C18:1) asidi majör yağ asitleri olarak bulmuş, ceviz eklenen yoğurdun linolenik asit (18:3) içeriğini kontrol yoğurda göre anlamlı şekilde yüksek tespit etmiştir.

Porras-Loaiza et al., (2014) çiya tohumunda α -linolenik asit (18:3) ve linoleik asit (18:2) saptamıştır. An et al., (2018) çiya tohumunun yoğurtların α -linolenik asit konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırdığını ve tüm numuneler arasında çiya tohumu miktarı arttıkça α -linolenik asit konsantrasyonunda önemli farklılıklar görüldüğünü bildirmişlerdir. Linoleik asit miktarlarında ise kontrol yoğurt ile %1.5 çiya tohum ilaveli yoğurdun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken %2.5-3.5 çiya tohumu ilavesi farkı anlamlı kılmıştır ($p<0.05$)

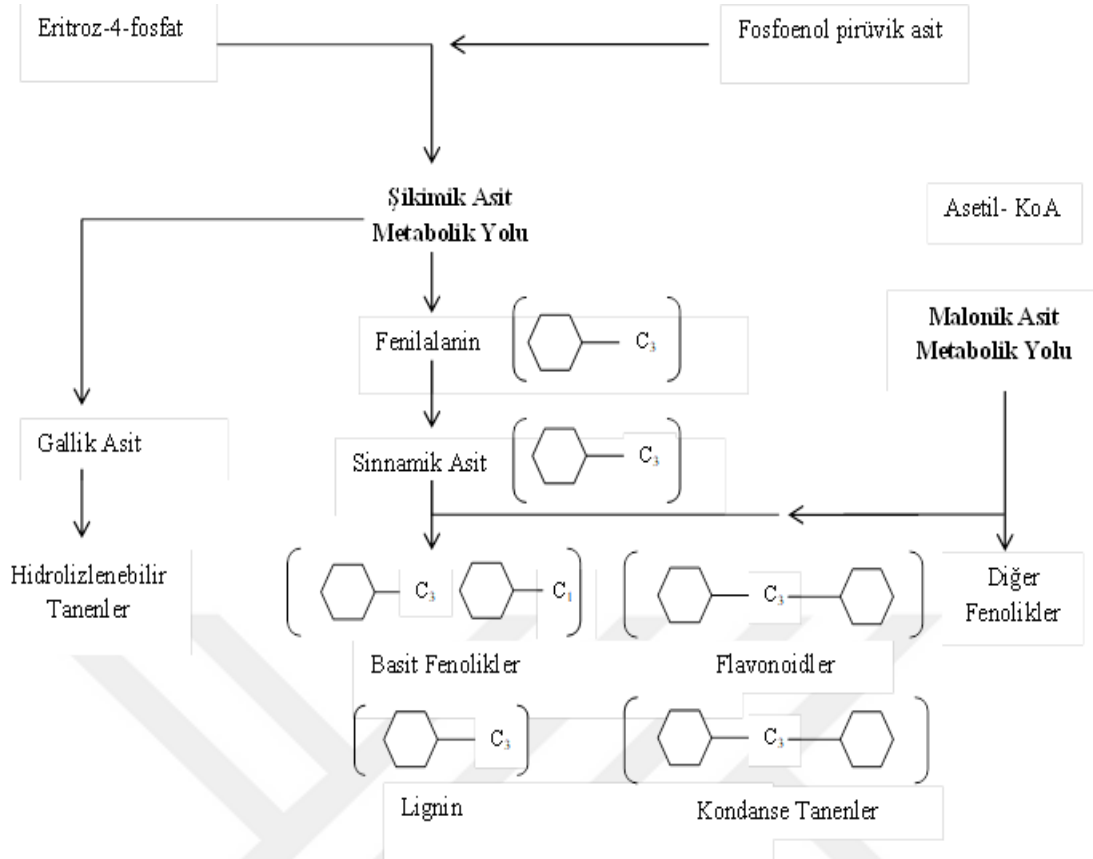
Pal et al., (2017) çimlendirilmiş mercimeklerde en baskın yağ asitlerinin sırasıyla linoleik asit (18:2), oleik asit (18:1), palmitik asit (C16:0) olduğunu saptamışlardır. Bu veriler çimlendirilmiş tane ve filiz eklediğimiz yoğurtlarda bulunan yağ asitleri ile uygunluk göstermekte ve kontrol yoğurdunda saptanmayan linoleik asit (18:2) asidin çimlendirilmiş tane ve filizler içeren yoğurtta saptanmasını açıklamaktadır.

4.4. Toplam Fenolik Madde

Yapılan toplam fenolik madde analizi sonucunda kontrol yoğurdun 7.11, %2 çiya tohumu içeren yoğurdun 10.23, %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurdun 13.69, %2 çiya ve %3 tane filiz içeren yoğurdun ise 14.23 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/ 100 g olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4.1). Yoğurtların toplam fenolik madde içerikleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol yoğurdun toplam fenolik madde içeriği çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filiz eklenen yoğurtlardan daha düşük bulunmuş, en yüksek toplam fenolik madde içeriği çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filizlerin bulunduğu yoğurtta saptanmıştır ($p<0.05$).

Zenginleştirilmiş/güçlendirilmiş yoğurtlarla ilgili daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara benzer olarak kontrol yoğurdun fenolik madde içeriği zenginleştirilen/güçlendirilen yoğurtlara göre düşük bulunmuştur (Amirdivani and Baba, 2015; Joung et al., 2016; Marchiani et al., 2016). Vital et al., (2015) sade yoğurdun toplam fenolik madde miktarını 2.18 mg GAE/100 g, Chouchouli et al., (2013) 7.24 mg GAE/100 ve Mercan et al., (2018) ise 9.6 mg GAE/ 100 g olarak tespit etmişlerdir. Sonuçlarda görülen bu farklılık ekstraksiyon metodundan, kullanılan çözügen türünün farklı olmasından, kullanılan hammaddenin aynı olmamasından kaynaklanıyor olabilir. Bu etmenlerin yanısıra probiyotik yoğurt ile yapılan bir çalışmada farklı suşların kullanılmasının toplam fenolik madde miktarında farklılığa yol açtığı gösterilmiş ve *L. acidophilus* SBP55 suşu ile üretilen yoğurdun toplam fenolik madde miktarının *L. brevis* SBP49 suşu ile hazırlanan yoğurttan daha yüksek olduğu saptanmıştır (Lim, 2018). Helal and Tagliazucchi, (2018) sade yoğurdun Folin-Ciocalteu

reaktivitesini, düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar, serbest amino asitler, peptitler ve proteinler gibi polifenoller dışındaki süt bileşiklerinden kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Bununla birlikte, kontrol yoğurdun ek herhangi komponenti bulunmamasına rağmen fenolik madde içermesi fermantasyon sırasında gerçekleşen mikrobiyal aktivite ile ilişkilendirilmiştir. Fermantasyon sırasında, amilazlar ve proteazlar gibi mikroorganizma türevli enzimler yoğurdun yapısında bir takım değişimler yaratabilmektedir. Sade yoğurta fenolik madde içeriğinin tespit edilmesi tirozin ve fenilalanin gibi fenolik yan zincirine sahip aminoasitlerin fermantasyon esnasında gerçekleşen mikrobiyal enzim aktivitesi sonucu parçalanmasına bağlı olabilir. Tirozinden bir molekül amonyak ayrılması ile p-kumarat, p kumarattan ise kafeat ve ferulat meydana gelmektedir (Şekil 4.4.1) ya da p kumarat p-kumarat CoA'ya ve buradan çalkon yapıya dönüştürülmekte ve daha sonra fenolik asitler ve flavanoller gibi fenolik bileşikler oluşmaktadır. Ayrıca, hayvanın yem olarak tükettiği bitkilere bağlı olarak süt ve ürünlerinde bulunan fenolik madde miktarı değişiklik gösterebilir (Taiz and Zeiger, 1998; O'Connell and Fox, 2001; Bayram, 2011; Amirdivani and Baba, 2015).



Şekil 4.4.1. Fenilalaninden amonyak molekülünün ayrılmasıyla ikincil fenolik bileşenlerin sentezi

Folin-Ciocalteu yöntemi elektron transferine dayalı bir yöntem olması nedeniyle örneklerin indirgen etkisini ölçen bir metottur (Prior ve ark., 2005). Bu nedenle herhangi bir bileşen eklenmemiş yoğurta fermantasyon sırasında açığa çıkması olası indirgen gruplarla (peptitler vb) reaksiyona girmesi mümkündür. Özetle kontrol yoğurta saptanan fenolik madde miktarı; yoğurttaki fenolik bileşikler dışındaki diğer indirgen gruplardan, hayvanın tükettiği yemin fenolik madde içeriğinden ve/veya mikrobiyal kaynaklı enzimler ile fenilalaninden fenolik bileşiklerin sentezlenmesinden kaynaklanabilir.

Çiya tohumu; klorojenik asit, kafeik asit, mirisetin, kuersetin ve kaemferol gibi fenolik bileşikler ile, liganlar ve tokoferolleri içeren bir tohumdur. Ayrıca bu bileşiklerin sinerjistik etkisinden bahsetmek mümkündür (Ayerza et al., 2013; Muñoz et al., 2013; da Silva Marineli et al., 2014). Bu özelliği sebebiyle gıdaların fenolik bileşenlerce zenginleştirilmesi için kullanılmaktadır. Özgören vd., (2018) çiya tohumu eklediği galetalarda çiya tohumu bulunmayan galetalara kıyasla

istatistiksel olarak daha yüksek fenolik madde içeriği saptamıştır. Benzer olarak Mesías et al., (2016) çiya tohumu ile zenginleştirdiği bisküvilerde toplam fenolik miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptamıştır. Çiya tohumunun yoğurtlara eklenmesiyle toplam fenolik madde miktarında görülen artış literatürde çiya tohumu ile yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir (Mesías et al., 2016; Özgören vd., 2018).

Tablo 4.4.1. Yoğurtların toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/100g)

Yoğurtlar	Toplam Fenolik Madde* (mg GAE/100g)
Kontrol yoğurt	7.11 ± 0.49 ^a
%2 Çiya içeren yoğurt	10.23 ± 0.37 ^b
%3 Tane ve filiz içeren yoğurt	13.69 ± 2.14 ^{b,c}
%2 Çiya ile %3 tane ve filiz içeren yoğurt	14.23 ± 1.13 ^c

a-c Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir (p<0.05)

*: Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Sattar et al., (2017) çimlendirdikleri mercimeklerin çimlendirme öncesi 1.16- 1.48 mg GAE/L arasında değişen toplam fenolik madde miktarlarının çimlendirme işlemi ile 1.61-2.82 mg GAE/L değerlerine yükseldiğini ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte fenolik bileşenlerin bitkilerin gelişimi ve büyümesi sırasında doğal olarak üretildiği ve çimlendirme sırasında çarpıcı bir biçimde değişim göstererek arttığı vurgulanmıştır. Çimlendirilmiş tane ve filizler ile ilgili yapılan başka bir çalışmada maş fasulyesi, soya fasulyesi, siyah fasulye, adzuki fasulyesi (kırmızı fasulye), nohut çimlendirilmiş ve tüm hububatlarda çimlendirme işlemi ile birlikte fenolik madde içeriklerinde istatistiksel olarak anlamlı olarak artış görülmüştür. Fenolik madde içeriği bakımından güçlü bir kaynak olan çimlendirilmiş tane ve filizlerin eklendiği yoğurtlarda fenolik madde içeriğinde artış görülmesi beklenen bir durumdur.

In vitro sindirim sonrası toplam fenolik madde değişimi

In vitro sindirim uygulanan yoğurtların toplam fenolik madde miktarları kontrol yoğurdunda 167.32, %2 çiya tohumu içeren yoğurtta 194.71, %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurtta 174.49, %2 çiya ve %3 tane filiz içeren yoğurtta ise 187.15 mg GAE/ 100 g olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4.2). *In vitro* sindirime uğramış yoğurtların toplam fenolik madde miktarlarında çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filiz eklenmesiyle bir miktar artış saptanmıştır. Ancak *in vitro* sindirim sonrası her bir yoğurtta görülen bu artış istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sadece kontrol yoğurt ve %2 çiya içeren yoğurt arasında anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0.05$). Bununla birlikte *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası yoğurtların toplam fenolik madde içerikleri kıyaslandığında tüm yoğurtların toplam fenolik madde içeriklerinin sindirim sonrası yaklaşık 13-23 kat arasında değişen değerlerde arttığı saptanmıştır. Sindirim sonrası kontrol yoğurdun toplam fenolik madde içeriği 23.9 kat artış gösterirken %2 çiya ilaveli yoğurt, %3 tane filiz içeren yoğurt ve her ikisini içeren yoğurdun fenolik madde içeriği sırasıyla 19.03, 12.74, 13.15 kat artış göstermiştir (Şekil 4.4.2).

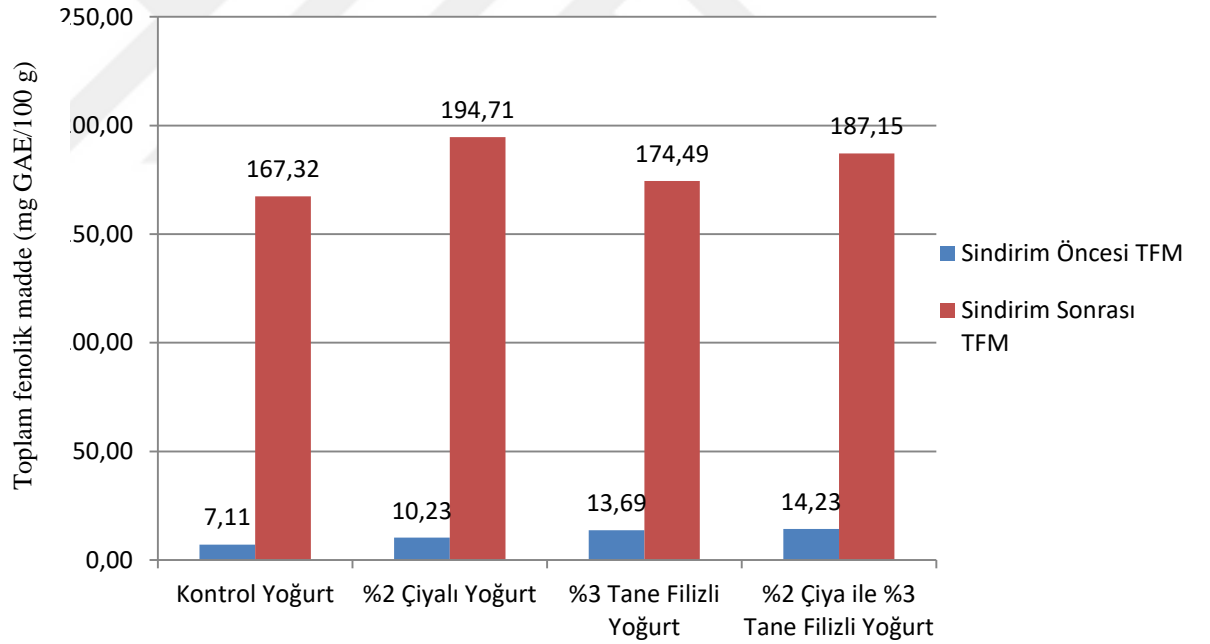
Tablo 4.4.2. Yoğurtların *in vitro* sindirim sonrası içerdikleri toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/100g)

Yoğurtlar	Toplam Fenolik Madde* (mg GAE/100g)
Kontrol yoğurt	167.32 ± 2.03 ^a
%2 Çiya içeren yoğurt	194.71 ± 4.85 ^b
%3 Tane ve filiz içeren yoğurt	174.49 ± 8.98 ^a
%2 Çiya ile %3 tane ve filiz içeren yoğurt	187.15 ± 13.41 ^a

^{a-b} Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$).

*: Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Gıdalar sindirim enzimlerine maruz kaldıklarında yapısında bulunan fenolik bileşenler farklı yapısal formlara dönüşürken kimyasal özellikleri de değişkenlik gösterebilmektedir. Fenolik bileşiklerin ekstrakte edilebilirliği, stabilitesi ve antioksidan aktivitesi, pH'a, sıcaklığa, gıda matriksine ve sindirim enzimlerine bağlı olarak gastrointestinal koşullar sırasında değişebilir. Mide sindirimi sonrası artan fenolik madde konsantrasyonu mide sindirimi sırasında artan asitlik sonucu fenolik glikozitlerin asidik hidrolizi ile açıklanmıştır (Bouayed et al., 2011; Kim and Hur, 2018). Kim and Hur, (2018) ve Bouayed et al., (2011) mide sindirimi sonrası asidik ortamdaki ılımlı alkali ortama geçişle pH'da gerçekleşen değişimin, fenoliklerin aromatik halkalarında bulunan hidroksil grubundan protonun ayrılmasına neden olduğu ve fenoliklerin antioksidan kapasitesini arttırdığını bildirmiştir. Ayrıca gastrointestinal sindirim sırasında bağlı polifenollerin serbest forma geçtiği saptanmıştır (Kim and Hur, 2018).



Şekil 4.4.2. *In vitro* sindirim öncesi ve sonrasında saptanan fenolik madde miktarları (mg GAE/100 g)

23 sebze suyunun *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası toplam fenolik madde miktarlarının belirlendiği bir çalışmada mide sindirimi sonrası 23 sebze suyunun tamamının toplam fenolik madde içeriğinde artış görülmüştür. İntestinal sindirim

sonrasında 19 sebze suyunun toplam fenolik madde içeriğinde artış tespit edilmiştir (Wootton-Beard et al., 2011). Benzer sonuçlara sahip başka bir çalışmada tarçın ilaveli yoğurtlarda *in vitro* sindirim sonrası toplam fenolik madde içeriğinde artış saptanmıştır. Tarçın ilaveli yoğurt ile birlikte tarçın suyu ekstresinin de polifenollerinin biyoerişilebilirlik indeksine bakılmış, bu değerler tarçın ilaveli yoğurtta daha yüksek olduğu bildirilmiş ve bu durum yoğurt matriksinin koruyucu etkisiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu durumun, süt proteinleri ve tanenlerin başlangıçta birbirlerine bağlanıp sindirim ilerledikçe, süt proteinlerinin hidroliz edilmesiyle, süt proteinlerinden tanenlerin salınması böylece toplam polifenollerin biyolojik olarak erişilebilirliğinin artmasından dolayı gerçekleşebileceği vurgulanmıştır. Kazeinlerin sindirim sırasındaki, özellikle de pankreas fazındaki hidrolizi, bağlı bileşiklerin salınmasına izin vererek, tarçın suyu ekstraktına göre daha yüksek bir biyoerişilebilirliğe neden olduğu yorumu getirilmiştir. Araştırmacılar, fenolik bileşenleri bireysel olarak incelediklerinde siringik asidin hem mide hem intestinal sindirim sonrası biyoerişilebilirliğinin en düşük olduğunu saptamışlar, onu en yükseğe doğru sırasıyla kuersetin, kuersetin-3-ramnosid, kumarik asit, kamferol ve ferulik asidin takip ettiğini bildirmişlerdir (Helal and Tagliazucchi, 2018). Kim and Hur, (2018) domuz köftesinin toplam fenolik stabilitesi üzerine enterobakterileri içeren *in vitro* sindirimin etkilerini belirlediği çalışmalarında toplam fenolik madde içeriğinin sindirim boyunca arttığını saptamışlardır. Ayrıca, sindirim sonunda görülen artışın başlangıç fenolik değerlerine göre yaklaşık 18 kat fazla olduğunu kaydetmişlerdir. Gallik asit, klorojenik asit ve kafeik asit majör fenolik bileşenler olarak tespit edilmiş ve *in vitro* sindirim boyunca artış gösterdikleri bildirilmiştir. Bunlara ek olarak araştırmacılar, intestinal sindirim sonrası serbest kalan polifenollerin ince bağırsakta emilebileceğini, ancak diğer polifenollerin sindirilmemiş bir şekilde kalın bağırsağa ulaşarak bağırsak mikroorganizmaları tarafından fermante edileceğini, fermentasyon sonrası üretilen metabolitlerin kalın bağırsakta antioksidan aktivite gösterebileceğini bildirmişlerdir. Tez çalışmamızda Wootton-Beard et al., (2011), Helal and Tagliazucchi, (2018) ve Kim and Hur, (2018) sonuçlarına benzer şekilde yoğurtların fenolik madde içeriğinde *in vitro* sindirim sonrası artış görülmüştür. Bu artışın Helal and Tagliazucchi, (2018)'in çalışmasında belirttiği gibi yoğurdun polifenol koruyucu

etkisi, çiya tohumu polifenollerinin sindirim sonrası matriksten salınışı vb. sebeplerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmaların aksine Bermúdez-Soto et al., (2007) aronya meyvesinin antosiyaninler, flavan-3-ol, flavonoller ve kafeik asit türevlerinde mide sindirimi sonrası değişim saptamazken intestinal sindirim sonrası özellikle antosiyaninlerde azalma tespit etmişlerdir. Antosiyaninlerdeki azalma ince bağırsağın alkali koşulları ile ilişkilendirilmiştir.

4.5. *In vitro* Sindirim Sırasında Protein Profili Değişimi

In vitro mide sindirimi ve intestinal sindirim sonrası örneklerin protein profilleri Şekil 4.5'te verilmiştir. Bu yöntemde (SDS-Page) polipeptitler büyüklüklerine göre ayrıldığından sindirim sonrası örneklerin molekül ağırlıkları ve protein kompleksindeki alt birimlerin bileşimi hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir.

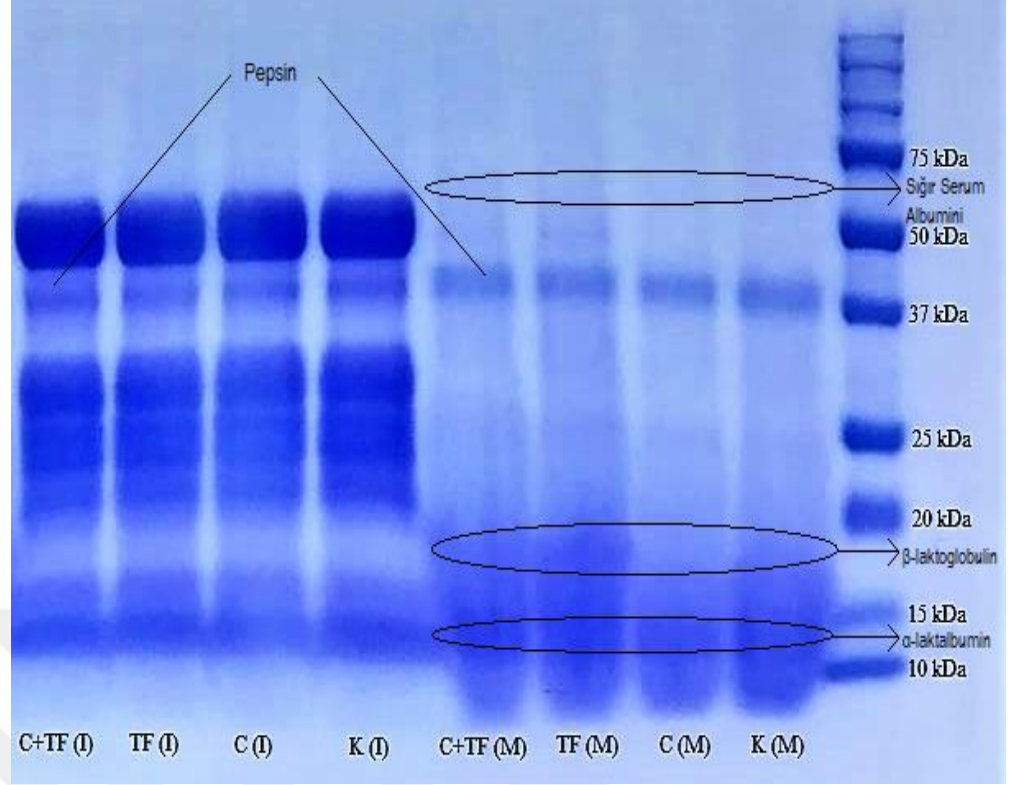
Beklendiği üzere yoğurt proteinleri süt proteinlerine benzer yapıdadır. Sığır sütünde bulunan proteinlerin moleküler ağırlıklarının aralıkları yoğurtların SDS-Page analizi sonrası tespit edilen molekül ağırlıklarına karşılık gelen proteinleri belirlemek amacıyla Tablo 4.5'te verilmiştir (Eigel et al., 1984).

Tablo 4.5. Sığır sütünde bulunan proteinlerin moleküler ağırlıkları

Sığır Sütü Proteinleri	Molekül Ağırlıkları (kDa)
α_{s1} -kazein	22-23,5
α_{s2} -kazein	25
β -kazein	24
κ -kazein	19
β -laktoglobulin	18
α -laktalbumin	14
Sığır serum albumini	66

Yoğurtta β -laktoglobulin (18 kDa), α -laktalbumin (14.2 kDa) mide sindirimi sonrası görülen bantlardır. Mide sindirimi sonunda, büyük molekül ağırlıklı proteinlerin düşük molekül ağırlıklı proteinlere hidrolize olduğu net olarak gözlenmiştir. Bu düşük molekül ağırlığa sahip proteinlerin ve/veya protein fragmentlerinin molekül ağırlığının 10 kDa civarında veya daha düşük olduğu görülmektedir.

Mide sindirimi sonrası alınan örneklerde özellikle alerjen bir protein olan β -laktoglobulin'in sindiriminde çiya tohumunun ya da çimlendirilen tane ve filizlerin etkisi olup olmadığı incelenmiştir. β -laktoglobulin proteini, daha önceki çalışmalarda gösterildiği üzere mide fazındaki pepsin hidrolizine karşı dirençli bir proteindir. Bu yüzden kontrol yoğurdu ile çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurtlarda β -laktoglobulin bandı belirgin bir biçimde gözlenmiştir (Dupont et al., 2010; Jin et al., 2016). Ancak, sadece çiya tohumu eklenen yoğurtta mide sindirimi sonrası β -laktoglobulin bandının diğer yoğurtlara göre daha az belirgin olduğu saptanmıştır. Bunun çiya tohumu ve yoğurt arasında oluşabilecek protein-polifenol interaksiyonlarından kaynaklanmış olabileceği söylenebilir. Çiya tohumunun eklenmesi, β -laktoglobulinin mide sindirimi sonrası hidrolizinde artışa dolayısıyla alerjenitesinde azalmaya yardımcı olabilir. Kazeinler proteolize karşı son derece hassas olan esnek ve sindirime uğramaya açık yapılara sahiptir, bu nedenle kazein bantları mide sindirimi sonrası görülmemiştir (Rioux and Turgeon., 2012). Ayrıca yoğurttaki laktik asit bakterileri, diğer fermante ürünlere nazaran (kefir vb.) yoğurt fermantasyonu sırasında κ -kazeinde bozunma yaratmaya daha eğilimli olduğu için mide sindirimi sonrası 18-20 kDa aralığındaki bandın κ -kazeinden ziyade β -laktoglobulin'e ait olduğu düşünülmüştür (Jin et al., 2016).



Şekil 4.5. K(M): mide sindirimi sonrası kontrol yoğurt, C(M): mide sindirimi sonrası çiyalı yoğurt, TF(M): mide sindirimi sonrası tane filiz içeren yoğurt C+TF(M): mide sindirimi sonrası çiya ile tane ve filiz içeren yogurt, K(I): intestinal sindirim sonrası kontrol yogurt, C(I): intestinal sindirim sonrası çiyalı yoğurt, TF(I): intestinal sindirim sonrası tane filiz içeren yoğurt, C+TF(I): intestinal sindirim sonrası çiya ile tane filiz içeren yoğurt

Mide sindirimi sonrası tane ve filiz içeren yoğurtlarda β -laktoglobulin bandı belirgin biçimde görülürken kazein proteinleri çiya içeren yoğurtta olduğu gibi sindirilmiştir. Bu yoğurtlarda yaklaşık 48 kDa civarında fazla belirgin olmayan bir bant gözlenmiştir. Hububatlarda daha önce yapılan benzer çalışmalarda 48 kDa'ya gelen bu bandın visilin olduğu belirtilmiştir. (Barbana and Boye, 2013; Ghumman et al., 2016). Bununla birlikte Mamilla and Mishra, (2017) çimlendirme prosesinin küçük molekül ağırlıklı proteinlerin/peptitlerin konsantrasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Mercimek taneleri çimlendiğinde 44-120 kDa aralığında bantlarda azalma ve <17 kDa aralığında artış gözlenirken börülce taneleri çimlendirildiğinde 9.4 ila 111.4 kDa arasında değişen 12 bant saptanmış ve çimlendirmenin yüksek molekül ağırlıklı börülce proteinleri üzerinde mercimek ve diğer taneler kadar etkili olmadığı bildirilmiştir. Çimlendirilmiş tane ve

filizlerin bulunduğu yoğurtlarda ki visilin bantlarının çimlendirmenin etkisi ile düşük yoğunlukta olduğu söylenebilir.

Mide sindirimi sonrası görülmeyip intestinal sindirim sonrası görülen bantlar pankreatin enzimine ait bantlardır. Pankreatin, domuz pankreasının ekzokrin hücreleri tarafından üretilen ribonükleaz (13.7-14.7 kDa), proteaz (23.8-64 kDa), tripsin (24 kDa), amilaz (51-55.4), lipaz (45-50 kDa) gibi enzimleri içerir (Sigma Aldrich, 2019a; Worthington Biochemical Corporation, 2019). Bunun yanı sıra 37 kDa molekül ağırlığına karşılık gelen bant pepsin enzimine aittir.

Mide sindirimi sonrası görülen düşük moleküler ağırlıklı (<10 kDa) bantlara intestinal sindirimden sonra rastlanmamıştır. Bu da düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin tamamen sindirildiğini göstermektedir. Bu sonuçlara benzer olarak Rinaldi et al., (2014) yoğurdun çözünebilir protein miktarlarının çoktan aza doğru sırasıyla intestinal > mide > ağız sindirimi sonrası arttığını gözlemiştir. Serbest amino asit miktarlarında en çok intestinal sindirim sonrası artış görülmesinin pankreatinde bulunan çeşitli endoproteazlar (tripsin, kimotripsin, elastaz) ve peptidazlardan (karboksi, amino-, di-, tri-peptidazlar) kaynaklandığı bildirilmiştir.

İntestinal sindirim sonrası tüm yoğurtlarda β -laktoglobulin bandının kaybolduğu görülmüştür. Sonuç olarak intestinal sindirim aşamasında, mide sindirimi sonrası 10 kDa molekül ağırlığının altında görülen bantların ve β -laktoglobulin bantlarının tamamen ortadan kalktığı görülmüştür. 14-15 kDa arası görülen bantlar α -laktalbumin ve/veya pankreatinde bulunan ribonükleaz olabileceği düşünülmektedir. Nguyen et al., (2015) benzer olarak α -laktalbuminin *in vitro* intestinal sindirim sonrasında tamamen hidrolize olmadığını göstermiştir. Ancak, Nguyen et al., (2015) Davidson and Lönnerdal, (1987) ile Donovan et al., (1989) çalışmalarına atfen α -laktalbuminin sindirilebilirliği üzerine yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların uyumsuzluk gösterdiğini, gastrointestinal sistemin üst kısmında α -laktalbuminin tamamen sindirildiğini öne sürmüşler ve erken doğmuş ve normal süresinde doğmuş bebeklerden alınan dışkı numunelerinde α -laktalbumin tespit edilmemesini bu durumun kanıtı olarak bildirmişlerdir. Tez

çalışmamızda *in vitro* yöntemlerden yararlanıldığı için intestinal sindirim sonrası α -laktalbumin bantlarının görülmesi Nguyen et al., (2015)'in verileriyle uyumluluk göstermiştir.

4.6. Kolonik Fermantasyon Modeli ve Kısa Zincirli Yağ Asitleri

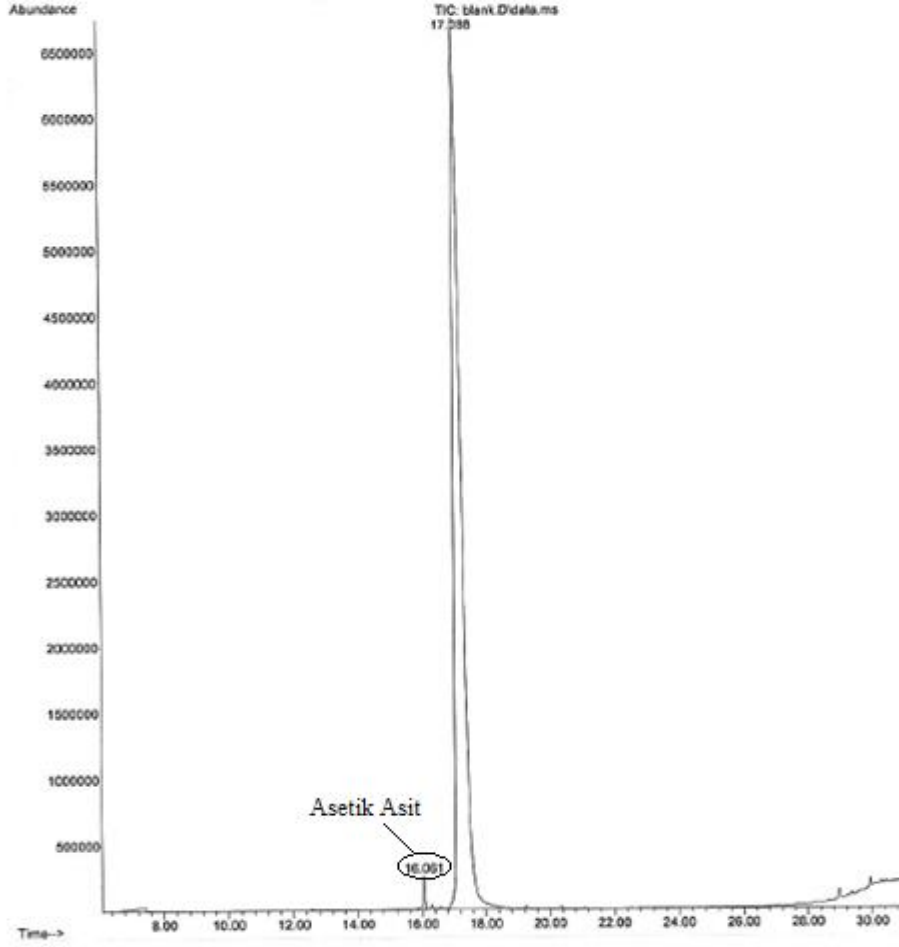
Örneklerin model kolonik fermantasyonu sonrasında açığa çıkan kısa zincirli yağ asitlerine ilişkin kromatogramlar Şekil 4.6.1, 4.6.2, 4.6.3, 4.6.4 ve 4.6.5'te verilmiştir.

Gerçekleştirilen kolonik fermantasyon modellemesinde Viscozyme L ve Pronase E enzimleri kullanılmıştır. Viscozyme L *in vitro* sindirim sonrası ortamda hala mevcut olabilecek kompleks karbonhidratların sindirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Viscozyme L, geniş çapta bir çok karbonhidraz enzimi barındıran (arabinaz, selülaz, beta-glukanaz, hemiselülaz, ksilinaz) çoklu enzim kompleksi olup hücre duvarlarının parçalanmasında, bağlı materyallerin serbest bırakılmasında, nişasta olmayan polisakkaritlerin hidrolizinde kullanılmaktadır. Pronase E ise *in vitro* sindirim sonrası ortamda hala mevcut olabilecek proteinlerin, peptitlerin sindirilmesi için bakteriyel proteazları taklit etmek amacıyla kullanılmıştır. Bu enzim hücre dışı serin proteazlar dahil olmak üzere proteolitik aktivite gösteren 3 enzimin karışımından oluşmaktadır. Serin proteazlar genellikle geniş aralıkta çok çeşitli substrat spesifikliği bulunan enzimlerdir. Pronase E, glutamik veya aspartik asidin karboksil ucundaki peptit bağlarına spesifik olup proteini bu uçlardan hidrolize ederek parçalanmasını sağlar (Novozymes 2002; Sigma Aldrich 2019b).

Bağırsak mikrobiyotasının birçok fizyolojik etkisi ürettikleri metabolitlerinden kaynaklanır. Kısa zincirli yağ asitleri (KZYA'lar), özellikle asetat, propiyonat ve bütirat, diyet liflerinin, dirençli nişastanın veya ince bağırsakta sindirilememiş olan proteinlerin bağırsak mikrobiyotası tarafından fermante edilmiş son ürünleridir. En önemli mikrobiyota türevli metabolitler olan KZYA'lar kan glukoz seviyesinin düzenlenmesi, insülin direnci, antienflamatuvar aktivite gösterme vb. birçok etkiye sahiptir (Qu et al., 2018). Kandaki ana KZYA

asetattır ve KZYA üretimi proksimal ve distal kolonda sırasıyla asetat> propiyonat> bütirat şeklindedir. Molar oranları ise sırasıyla yaklaşık 60:20:20 veya 3:1:1 olarak bildirilmiştir (Hijova and Chmelarova, 2007).

Çalışmamızda kör örnekte kolonik fermantasyon sonrası kısa zincirli yağ asidi olan asetik asit tespit edilmiştir (Şekil 4.6.1).



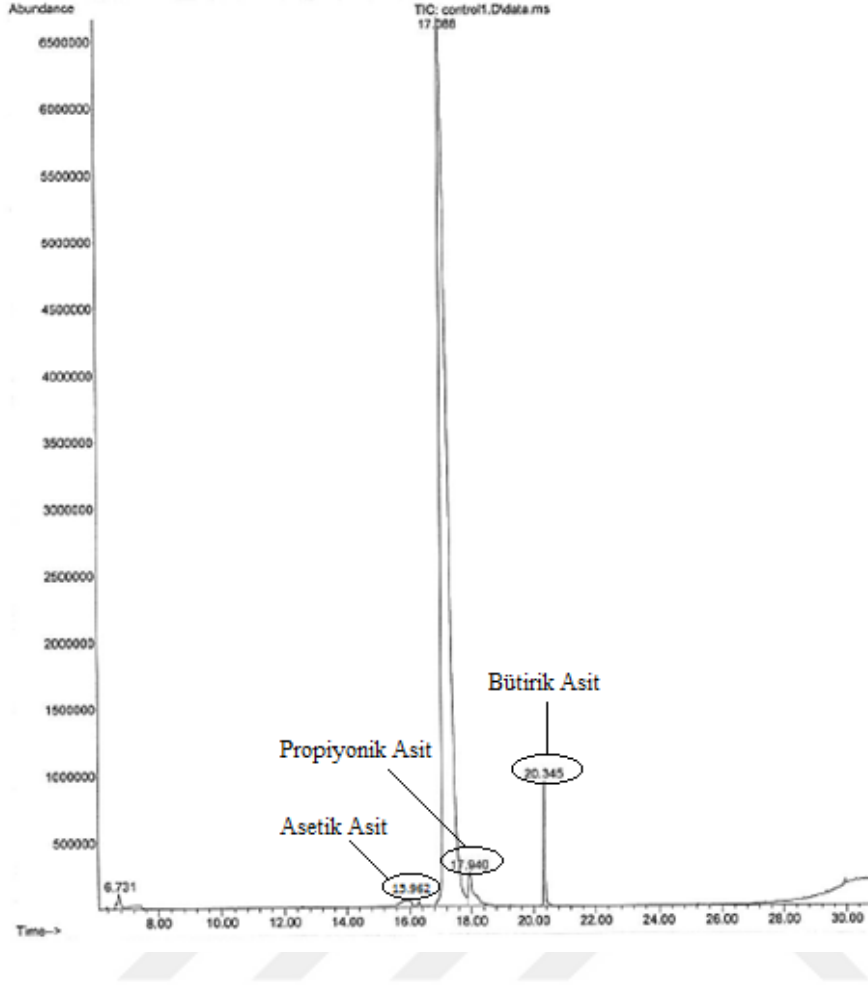
Şekil 4.6.1. Kolonik fermantasyon sonrası kör örneğin kısa zincirli yağ asidi profili

Bunun kolonik fermantasyon sırasında kullanılan Pronase E enziminin yapısında bulunan kalsiyum asetat tuzundan (%2-30) kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Yoğurt yapısında laktik asit bakterileri (LAB) bulunduran fermante bir gıdadır. Yoğurtta bulunan homofermantative LAB, enerji üretmek ve redoks

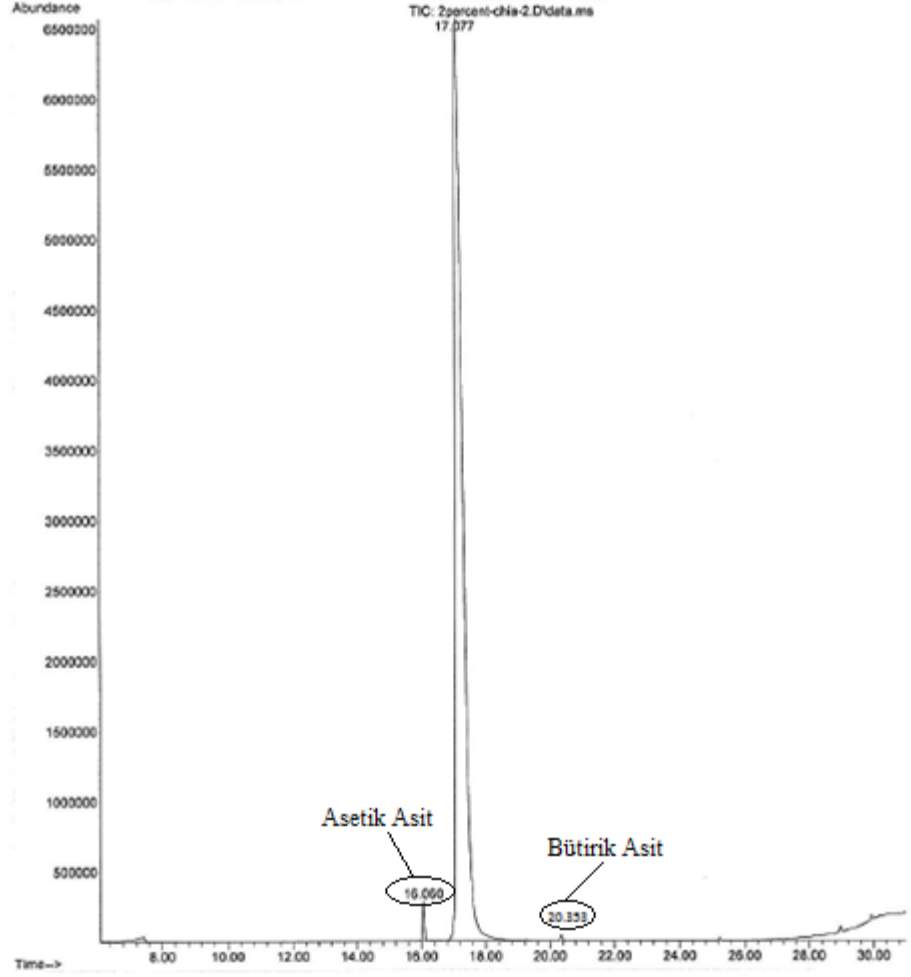
dengelesini dengelemek için piruvat yoluyla mevcut enerji kaynağını (hegsozlar) neredeyse tamamen laktik aside (% 85'ten fazla) dönüştürebilirken, heterofermenatör LAB hegsozları parçalayarak ve birçok başka metabolitin oluşumuna neden olabilir (farklı organik asitler, asetat, asetoin, etanol, karbon dioksit ve diasetil ve asetaldehit gibi aromatik bileşikler). LAB bu şekilde kefir (etanol), tereyağı ve ayran (diasetil) ve yoğurt (asetaldehit) gibi bazı fermante ürünlerin tipik lezzetine katkıda bulunan uçucu maddeler üretir. Bununla birlikte LAB, ortamda pH'ı düşürücü etki yaratacak laktik, asetik, formik, propiyonik ve bütirik asit gibi metabolitler üreterek bulunduğu gıdayı koruyucu etki de sağlamaktadır (Reis et al., 2012).

Kontrol yoğurdun model kolonik fermantasyonu sonrasında literatürdeki çalışmalara benzer olarak asetik asit, bütirik asit ve propiyonik asit tespit edilmiştir. Sindirime uğramamış yoğurtlarda yağ asitlerinin incelendiği bir çalışmada yoğurdun asetik asit (2.46-6.89 mg/ml) ve iz miktarda propiyonik asit (0.06-0.09 mg/ml) içerdiği tespit edilmiş ancak bütirik asit tespiti yapılamamıştır (Yang and Choong, 2001). Bu çalışmaya benzer olarak Fernandez-Garcia and McGregor, (1994) yoğurtta bütirik asit saptamazken Adhikari et al., (2002) yaptığı çalışmada set tipi kontrol yoğurtta 229.6 mg/100g bütirik asit saptamıştır. Alvaro et al., (2007) günde 200 g yoğurt tüketen ve tüketmeyen bireylerden aldıkları dışkı örneklerinde KZYA profillerini değerlendirmiştir. Genel KZYA konsantrasyonu, her iki gruptaki kompozisyonda anlamlı bir grup farkı olmadan yaklaşık 100 mmol/ g taze dışkı olarak saptanmıştır. Ancak, yoğurt tüketen grubun %67'si 100 mmol/ g'dan daha yüksek KZYA konsantrasyonuna sahipken, kontrol grubunun yalnızca %38'i 100 mmol/ g taze dışkı değerini geçebilmiştir. Ayrıca, en düşük değerlerin tümü kontrol grubunda bulunmuştur. Bu çalışma sonucu yoğurdun, KZYA konsantrasyonunu arttırıcı etkisi olduğu öne sürülmüştür.



Şekil 4.6.2. Kolonik fermantasyon sonrası kontrol yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili

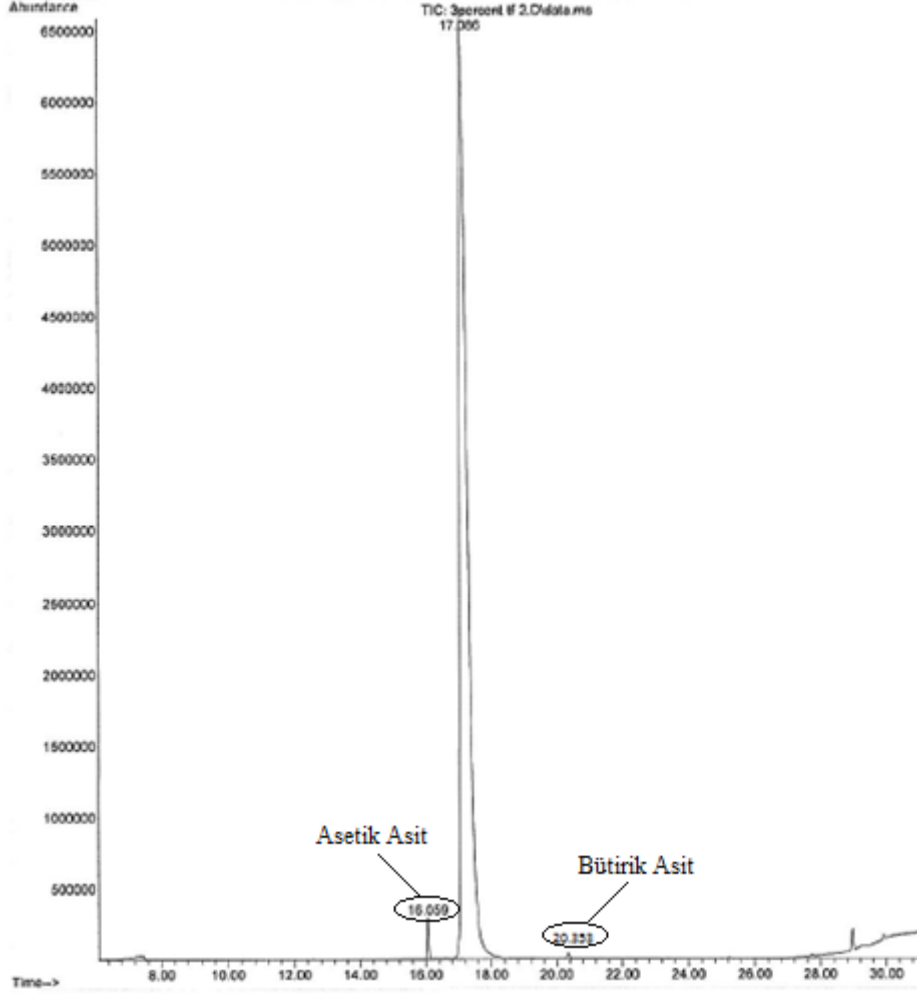
%2 çiya tohumu içeren yoğurtlarda kolonik fermantasyon sonrası asetik asit ve bütirik asit tespit edilmiş ancak propiyonik asit tespit edilememiştir. Bunun çiya tohumu ile yoğurdun etkileşiminden kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Ancak daha net kanıtlar elde edilebilmesi için sadece çiya tohumunun kolonik fermantasyonu sonrası açığa çıkan KZYA'ların incelenmesi ve yoğurt ile çiya tohumunun bir araya gelmesiyle oluşan matriksin (daha jelimsi bir matriks oluşması gibi) etkisinden kaynaklanabilecek ihtimallerin incelenmesi faydalı olacaktır.



Şekil 4.6.3. Kolonik fermantasyon sonrası %2 çiya içeren yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili

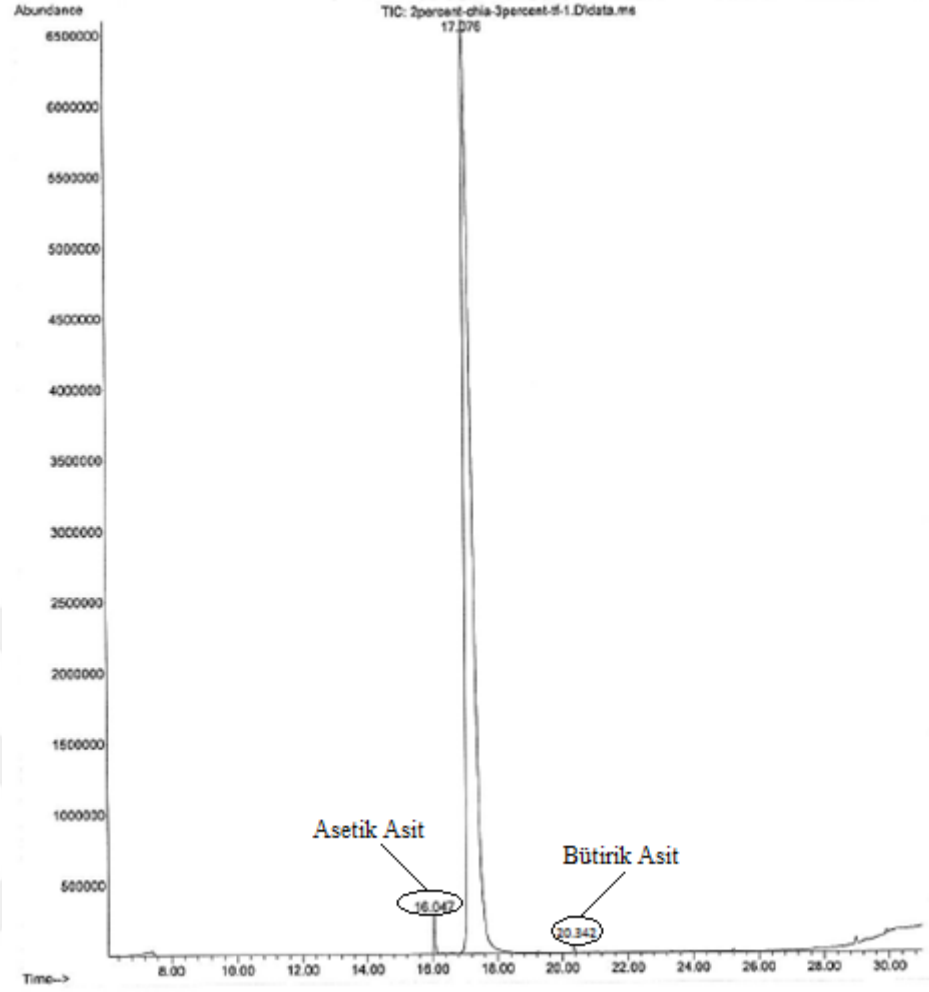
%3 tane ve filizin eklendiği yoğurtlarda da kolonik fermantasyon sonrası çiya tohumu eklenen yoğurtlara benzer bir yağ asidi profili görülmüş olup asetik asit ve bütirik asit tespit edilmiş ancak propiyonik asit tespit edilememiştir. Bu sonucun çimlendirilmiş mercimek ve börülce taneleri ile yoğurdun etkileşiminden kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Mercimek ve börülce taneleri sindirilemeyen karbonhidratların kompleks bir karışımını içerir. Kapadia et al. (1995), yulaf, soya fasulyesi oligosakkaritleri ve soya fasulyesi polisakkaritleri ile takviye edilen diyetlerin tüketimi sonrasında farklı KZYA profilleri saptamışlardır. Çalışmanın sonunda rafinoz, stakiloz, verbaskoz gibi soya oligosakkaritlerinin veya polisakkaritlerinin bulunduğu diyetin, yulaf lifi destekli diyet ve kontrol diyete kıyasla insan deneklerinde önemli ölçüde daha fazla

bütirik asit ürettiği gösterilmiştir. Ayrıca kaynağı farklı liflerin, kolonik bakteriler tarafından spesifik şekilde fermante edildikleri ve bunun farklı KZYA konsantrasyonlarına ve fizyolojik etkilere neden olduğu bildirilmiştir.



Şekil 4.6.4. Kolonik fermantasyon sonrası %3 tane ve filiz içeren yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili

%2 çiya ve %3 çimlendirilmiş tane ve filiz içeren yoğurtlarda da çiya tohumu ve tane ve filiz içeren yoğurtlara benzer olarak propiyonik asit tespit edilememiş ancak asetik asit ve bütirik asit saptanmıştır.



Şekil 4.6.5. Kolonik fermantasyon sonrası %2 çiya ve %3 tane ve filiz içeren yoğurdun kısa zincirli yağ asidi profili

Sonuç olarak; *in vitro* sindirimde sindirilmeyen kısımların kolonik fermantasyon modellemesi sonrasında tüm yoğurtlarda KZYA açığa çıkmasını sağladığı görülmüştür. Analizler kalitatif olarak yapılmış olsa da analiz sonuçlarında yağ asitlerinin pik boyutlarının genel anlamda düşük olduğu, kontrol yoğurdun bütirik asit pikinin çiya tohumu ve/veya tane filiz içeren yoğurtların bütirik asit pikine nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu durum kontrol yoğurdunda miktar olarak daha fazla KZYA açığa çıkabilir şeklinde yorumlanmıştır. Bu sonuç araştırma hipotezi olan “yoğurda çiya tohumunun ve/veya tane ve filizlerin eklenmesiyle KZYA miktarında artış sağlayacak” hipotezini desteklememektedir. Ancak bu hipotezin *in vitro* kolonik fermantasyon ve insanlar üzerinde yapılacak denemelerle de desteklenmesi gerekmektedir. Ek

olarak, kontrol yoğurdun model kolonik fermantasyonunda saptanan propiyonik asidin diğerk yoğurtlarda saptanamamasının nedenleri büyük ölçüde bilinmemekte birlikte *in vivo* ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gerektiğı düşünölmektedir. Ayrıca, uygulanan model kolonik fermantasyonun yanı sıra çalışmanın anaerobik koşullarda fekal örnekler ile gerçekleştirilmesi sonuçların daha iyi değerkendirilmesi açısından güvenilirliğı yüksek ve yol gösterici olabilecek bir diğerk çalışma konusudur.



5. SONUÇ

Sonuç olarak tez projesi kapsamında araştırdığımız araştırma sorularımız için elde edilen veriler aşağıda özetlenmiştir.

Çiya tohumu ilave edilen yoğurtlarda protein ve yağ miktarlarında anlamlı artış görülürken %3 tane ve filiz eklenmiş yoğurtlarda yağ açısından anlamlı bir fark görülmemiş ancak protein miktarında anlamlı olarak artış saptanmıştır. Hem çiya tohumu hem tane ve filiz eklenen yoğurtlarda yağ oranı %4.34 protein oranı ise %4.68'e ulaşmıştır. Ayrıca, çiya tohumu eklenen yoğurtlarda ω -3 yağ asidi olan ALA tespit edilmiştir.

Yoğurda eklenen çiya tohumunun *in vitro* gastrik sindirim sırasında yoğurt proteinlerinin sindirimi üzerinde etkili olabileceği yapılan SDS-Page analizi sonrasında görülmüştür. Mide sindirimi sonrası çiya tohumu eklenen yoğurtlarda allerjen bir protein olan β -laktoglobulinin bandının yoğunluğunun nispeten düşük olduğu saptanmıştır. Bu da β -laktoglobulinin çiya ilaveli yoğurtlarda daha etkin bir şekilde hidrolize uğradığının kanıtıdır.

Yoğurda eklenen çimlendirilmiş tane ve filizlerin *in vitro* gastrik ve intestinal sindirim sırasında yoğurt proteinlerinin sindirimi üzerinde etkili olmadığı, kontrol yoğurt ile tane ve filiz eklenmiş yoğurtların protein profillerinin yapılan SDS-Page analizi sonrasında farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, çiya tohumu ile çimlendirilmiş tane ve filiz kombinasyonunun *in vitro* gastrik ve intestinal sindirim sırasında yoğurt proteinlerinin sindirimi üzerinde bir etkisi olmadığı da tespit edilmiştir.

Çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane ve filizlerin eklenmesi ile elde edilen yoğurttaki fenolik bileşiklerin *in vitro* gastro-intestinal sindirim sonrasında gıda matriksinden serbest hale geçebildikleri, hatta sindirim sonrası fenolik bileşen miktarlarının eklenen bileşene göre değişkenlik gösterecek şekilde 13-23 kat arasında arttığı tespit edilmiştir.

Kontrol yoğurdun ve zenginleştirilen yoğurtların *in vitro* sindirimi sonrasında sindirilmeyen kısımlarında kolon mikrobiyotası tarafından salgılanan proteaz ve karbonhidraz enzimlerinin etkisiyle *in vitro* koşullarda kısa zincirli yağ asitlerini üretebildikleri tespit edilmiştir. Kontrol yoğurdun model kolonik fermantasyonu sonrasında asetik asit, bütirik asit ve propiyonik asidin üçü de açığa çıkarken çiya tohumu ve tane ve filiz içeren yoğurtlar ile her ikisini içeren yoğurtlarda ise asetik asit ve bütirik asit tespit edilmiştir. Kör örneğin model kolonik fermantasyonu sonrası asetik asit saptanmış olması asetik asidin bir miktarının enzimden kaynaklanabileceğini göstermiştir. Bunların yanı sıra, araştırma hipotezlerinden biri olan, “yoğurda eklenen çiya tohumu ile çimlendirilmiş tane ve filizlerin kolonik fermantasyon sonrası KZYA üretiminde kontrol yoğurttan farklı olması” çalışma sonuçları ile desteklenmemiştir. Ancak, üretilen tüm yoğurtların model kolonik fermantasyonu sonucu ortak olarak tespit ettiğimiz bütirik asidin kolon epitel hücrelerine enerji sağlamak, kolon mukozasının durumunu iyileştirmek, genetik olarak hasar görmüş kolon hücrelerinin ölümünü uyararak kolon kanserinin önlenmesine yardımcı olmak, müsin üretimini artırmak ve böylece toksik ve inflamatuvar maddelerin mukozadan dolaşıma girme riskini azaltmak, yağ sentezi ve yağ oksidasyonu mekanizmalarına etki etmek gibi bir çok sağlık etkisi bulunması nedeniyle çalışma kapsamında üretilen tüm yoğurtların tüketiminin sağlık üzerine olumlu etkiler yaratabileceğini söylemek mümkündür.

Tüm bunlara ek olarak, gerçekleştirilen duyuşal analiz sonucunda tüm ürünlerin duyuşal olarak kabul edildiği belirlenmiştir.

Tüm bu sonuçlar ışığında, çiya tohumu ve çimlendirilmiş tane filiz eklenen yoğurtların tüketici beklentisini karşılayabilecek, protein, toplam fenolik madde, ω -3 yağ asidi gibi bileşenler açısından bu gıdaları içermeyen yoğurda göre daha olumlu sağlık etkileri yaratabilecek bir ürün olduğu söylenebilir.

Artan sağlık bilincinin etkisiyle besleyici, sağlıklı, duyuşal olarak kabul gören ve tüketicilerin beklentilerine yanıt verebilecek bu tarz ürünlerin üzerinde çalışılması ve geliştirilmesi bir gereklilik haline gelmiştir. Günümüzde fermente

gıdalara artan ilgi, kolon sağlığının 6neminin giderek daha fazla 6nem kazanması ve araştırılması, yoğurdu 6ok y6nl6 sağlık yararları sağlayan gıda 6r6nleri yelpazesinde 6nemli bir noktaya taşımıştır. Bu 6alışmada yoğurt ve 6iya tohumu ve 6imlendirilmiş tane filiz eklenmiş yoğurdun *in vitro* sindirim ve kolonik fermantasyon modellemesi sonrası KZYA 6retimi yaptığı g6sterilmiş olsa da 6retilen bu yoğurtların bağırsak mikrobiyotası 6zerinde yaratabileceği diğer spesifik etkilerin gelecekte yapılacak *in vitro /in vivo* 6alışmalarla araştırılması gerekmektedir. Bunlara ek olarak homofermantatif ya da heterofermantatif bakterilerin yoğurt 6retiminde ayrı ayrı kullanılması sonrası a6ığa 6ıkabilecek KZYA miktarlarının ve 6eşitlerinin tespit edilmesi bu mikroorganizmaların KZYA oluşumu ve 6eşitleri 6zerine etkilerinin değerlendirilmesi a6ısından 6nem taşımaktadır. Geliştirilen bu yoğurtların biyoaktif peptitlerin salınımına neden olup olmayacağı *in silico* yaklaşımlarla ortaya konup bu peptitlerin yaratacağı sağlık etkilerinin belirlenmesi gelecekte ger6ekleştirilebilecek bir diğer 6alışma konusudur. Bununla birlikte, 6retilen yoğurtların antihipertansif, antioksidatif, antidiyabetik etkilerinin bulunup bulunmadığının yapılacak *in vitro /in vivo* 6alışmalarla ortaya konması ilgili sağlık beyanlarında bulunabilmesi a6ısından da 6nemlidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adhikari, K., Grün, I. U., Mustapha, A. and Fernando, L. N.**, 2002, Changes in the profile of organic acids in plain set and stirred yogurts during manufacture and refrigerated storage, *Journal Of Food Quality*, 25(5), 435-451p.
- Adolfsson, O., Meydani, N. S. and Russell, M. R.**, 2004, Yogurt and gut function, *American Society for Clinical Nutrition*, 80, 245–256p.
- Aghajanpour, M., Nazer, M. R., Obeidavi, Z., Akbari, M., Ezati, P. and Kor, N. M.**, 2017, Functional foods and their role in *cancer* prevention and health promotion: a comprehensive review, *American Journal of Cancer Research*, 7(4), 740–769p.
- Aguilera, Y., Herrera, T., Liébana, R., Rebollo-Hernanz, M., Sanchez-Puelles, C., and Martín-Cabrejas, M. A.**, 2015, Impact of melatonin enrichment during germination of legumes on bioactive compounds and antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(36), 7967–7974p.
- Altuğ, T. ve Elmacı, Y.**, 2005, Gıdalarda Duyusal *Değerlendirme*, Meta Basım, İzmir, 130s.
- Alvaro, E., Andrieux, C., Rochet, V., Rigottier-Gois, L., Lepercq, P., Sutren, M., Galan, P., Duval, Y., Juste, C. and Dore, J.**, 2007, Composition and metabolism of the intestinal *microbiota* in consumers and non-consumers of yogurt, *British Journal of Nutrition*, 97, 126–133p.
- Amirdivani, S., and Baba, A. S. H.**, 2015, Green tea yogurt: major phenolic compounds and microbial growth, *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4652–4660p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- An, K., Owaga, E., and Mburu, M.,** 2018, Proximate composition and nutritional characterization of chia enriched yoghurt, *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 18(01), 13239–13253p.
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis, R. H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, W. and Williams, C. L.,** 2009, Health benefits of dietary fiber, *Nutrition Reviews*, 67(4), 188–205p.
- Aneja, R.P and Murthy, T.N.,** 1990, Conjugated linoleic acid contents of Indian curds and ghee, *Indian Journal of Dairy Science*, 43, 231–238p.
- AOAC.,** 1990, Official Methods of Analysis, Washington D.C: Association of Official Analytical Chemist.
- Ares, G., Giménez, A. and Deliza, R.,** 2010, Influence of three non-sensory factors on consumer choice of functional yogurts over regular ones, *Food Quality and Preference*, 21(4), 361–367p.
- Artym, J., and Zimecki, M.,** 2013, Milk-derived proteins and peptides in clinical trials, *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 67, 800–816p.
- Ayaz, A., Akyol, A., Inan-Eroglu, E., Cetin, A. K., Samur, G. and Akbiyik, F.,** 2017, Chia seed (*Salvia hispanica* L.) added yogurt reduces short-term food intake and increases satiety: randomised controlled trial, *Nutrition Research and Practice*, 11(5), 412–418p.
- Ayerza, R. and Coates, W.,** 2011, Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.), *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1366–1371p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ayerza, R.**, 2013, Seed composition of two chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes which differ in seed color, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25(7), 495-500p.
- Bamdad, F., Dokhani, S., Keramat, J. and Zareie, R.**, 2009, The impact of germination and in vitro digestion on the formation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from lentil proteins compared to whey proteins, *Proceedings of World Academy of Science: Engineering & Technology*, 49(25), 36–46p.
- Barbana, C. and Boye, J. I.**, 2013, In vitro protein digestibility and physico-chemical properties of flours and protein concentrates from two varieties of lentil (*Lens culinaris*), *Food and Function*, 4(2), 310–321p.
- Bayram, M.**, 2011, Kırmızı Şarap Üretiminde Farklı Proses Koşullarının Fenolik Bileşik Dağılımına Ve Duyusal Özelliklere Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 184s.
- Berasategi, I., Cuervo, M., de las Heras, A. R., Santiago, S., Martínez, J.A., Astiasarán, I. and Ansorena, D.**, 2010, The inclusion of functional foods enriched in fibre, calcium, iodine, fat-soluble vitamins and n-3 fatty acids in a conventional diet improves the nutrient profile according to the Spanish reference intake, *Public Health Nutrition*, 14(03), 451–458p.
- Bermúdez-Soto, M. J., Tomás-Barberán, F. A. and García-Conesa, M. T.**, 2007, Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion, *Food Chemistry*, 102(3), 865–874p.
- Bilgiçli, N.**, 2002, Fitik asitin beslenme açısından önemi ve fitik asit miktarı düşürülmüş gıda üretim metodları, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fak. Der.*, 16(30), 79–83s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bouayed, J., Hoffmann, L. and Bohn, T.,** 2011, Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake, *Food Chemistry*, 128(1), 14–21s.
- Brosnan, J. T. and Brosnan, M. E.,** 2013, Glutamate: a truly functional amino acid, *Amino Acids*, 45(3), 413–418p.
- Bultman, S. J.,** 2017, Interplay between diet, gut microbiota, epigenetic events, and colorectal cancer, *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(1), 1–12p.
- Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Pedraza-Aboytes, G., Acosta-Gallegos, J. A., Guzman-Maldonado, S. H., Paredes-Lopez, O., Oomah, B.D. and Loarca-Piña, G.,** 2009, Chemical composition and in vitro polysaccharide fermentation of different beans (*Phaseolus Vulgaris* L.), *Journal of Food Science*, 74(7), 59-65p.
- Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P. and Karathanos, V. T.,** 2013, Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts, *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), 522–529p.
- Conlon, M. A. and Bird, A. R.,** 2015, The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health, *Nutrients*, 7(1), 17–44p.
- Crittenden, R. G., Martinez, N. R. and Playne, M. J.,** 2003, Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 80(3), 217–222p.
- Curti, C. A., Vidal, P. M., Curti, R. N. and Ram, A. N.,** 2017, Chemical characterization, texture and consumer acceptability of yogurts supplemented with quinoa flour, *Food Science and Technology*, 37(4), 627–631p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- da Silva Marineli, R., Moraes, É. A., Lenquiste, S. A., Godoy, A. T., Eberlin, M. N. and Maróstica, M. R.,** 2014, Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.), *LWT - Food Science and Technology*, 59, 1304–1310p.
- da Silva Marineli, R., Moura, C. S., Moraes, É. A., Lenquiste, S. A., Lollo, P. C. B., Morato, P. N., Amaya-Farfan, J. and Maróstica, M. R.,** 2015, Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1 α expressions and improves glucose tolerance in diet-induced obese rats, *Nutrition*, 31(5), 740–748p.
- da Silva, B. P., Anunciação, P. C., da Silva Matyelka, J. C., Della Lucia, C. M., Martino, H. S.D. and Pinheiro-Sant’Ana, H. M.,** 2017, Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places, *Food Chemistry*, 221, 1709–1716p.
- Davidson, L. A. and Lönnerdal, B.,** 1987, Persistence of human milk proteins in the breast-fed infant, *Acta Paediatrica*, 76, 733–740p.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G. and Lionetti, P.,** 2010, Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), 14691–14696p.
- Diamanti, J., Capocasa, F., Battino, M. and Mezzetti, B.,** 2010, Evaluation of F. x ananassa intra-specific and inter-specific back-crosses to generate new genetic material with increased fruit nutritional quality, *Journal of Berry Research*, 1(2), 103–114p.
- Dong, J. L., Zhu, Y. Y., Ma, Y. L., Xiang, Q. Sen, Shen, R. L. and Liu, Y. Q.,** 2016, Oat products modulate the gut microbiota and produce anti-obesity effects in obese rats, *Journal of Functional Foods*, 25, 408–420p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Donovan, S. M., Atkinson, S. A., Whyte, R. K. and Lonnerdal, B.,** 1989, Partition of nitrogen intake and excretion in low-birth-weight infants, *American Journal of Diseases of Children*, 143(12), 1485–1491p.
- Dupont, D., Mandalari, G., Molle, D., Jardin, J., Léonil, J., Faulks, R. M., Wickham, M.S.J, Clare Mills, E.N. and Mackie, A. R.,** 2010, Comparative resistance of food proteins to adult and infant in vitro digestion models, *Molecular Nutrition and Food Research*, 54(6), 767–780p.
- EFSA,** 2009, ‘‘Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies on a request from the European Commission on the safety of Chia seed (*Salvia hispanica*) and ground whole Chia seed as a food ingredient.’’, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2009.996/epdf>, (Erişim tarihi: Şubat 2019)
- Eigel, W. N., Butler, J. E., Ernstrom, C. A., Farrell, H. M., Harwalkar, V. R., Jenness, R. and Whitney, R. M.,** 1984, Nomenclature of proteins of cow’s milk: fifth revision, *Journal of Dairy Science*, 67(8), 1599–1631p.
- Eker, M. E. ve Karakaya, S.,** 2018, Akdeniz diyeti, melatonin ve sağlık, *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(9), 1258–1266s.
- El, S.N. and Simsek, S.,** 2012, Food technological applications for optimal nutrition: an overview of opportunities for the food industry, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(1), 2–12p.
- El-Adawy, T. A., Rahma, E. H., El-Bedawey, A. A. and El-Beltagy, A. E.,** 2003, Nutritional potential and functional properties of germinated mung bean, pea and lentil seeds, *Plant Foods for Human Nutrition*, 58(3), 1–13p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ertaş-Öztürk, Y. and Şanlier, N.**, 2017, Chia seed (*Salvia hispanica* L.): it's place in nutrition and relation with health - a review, *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 9(4), 101–111p.
- FAO**, 2013, Milk and Dairy Products in Human Nutrition, Rome, 404p.
- Fernández, J., Redondo-Blanco, S., Gutiérrez-del-Río, I., Miguélez, E. M., Villar, C. J. and Lombó, F.**, 2016, Colon microbiota fermentation of dietary prebiotics towards short-chain fatty acids and their roles as anti-inflammatory and antitumour agents: a review, *Journal of Functional Foods*, 25, 511–522p.
- Fernandez-Garcia, E. and McGregor, J. U.**, 1994, Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt, *Journal of Dairy Science*, 77, 2934–2939p.
- Fisberg, M. and Machado, R.**, 2015, History of yogurt and current patterns of consumption, *Nutrition Reviews*, 73, 4–7p.
- Florence, A. C. R., Gioielli, L. A., Tamime, A. Y., de Oliveira, M. N., Florence, A. C. R., do Espírito Santo, A. P. and da Silva, R. C.**, 2009, Increased CLA content in organic milk fermented by bifidobacteria or yoghurt cultures, *Dairy Science and Technology*, 89(6), 541–553p.
- Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H.**, 1957, A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509p.
- Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., Ward, R. E., Martin, R. J., Lefevre, M., Cefalu, W.T. and Ye, J.**, 2009, Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice, *Diabetes*, 58(7), 1509–1517p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ghumman, A., Kaur, A. and Singh, N.,** 2016, Impact of germination on flour, protein and starch characteristics of lentil (*Lens culinari*) and horsegram (*Macrotyloma uniflorum* L.) lines, *LWT - Food Science and Technology*, 65, 137–144p.
- Gómez-Gallego, C., Gueimonde, M. and Salminen, S.,** 2018, The role of yogurt in food-based dietary guidelines, *Nutrition Reviews*, 76(1), 29–39p.
- Grajek, W., Olejnik, A. and Sip, A.,** 2005, Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods, *Acta Biochimica Polonica*, 52(3), 665–671p.
- Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. de A. F. and Shah, N. P.,** 2010, Probiotic dairy products as functional foods, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 455–470p.
- Gul, K., Singh, A. K. and Jabeen, R.,** 2016, Nutraceuticals and functional foods : the foods for future world, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8398, 37–41p.
- Gunenc, A., Yeung, M. H., Lavergne, C., Bertinato, J. and Hosseinian, F.,** 2017, Enhancements of antioxidant activity and mineral solubility of germinated wrinkled lentils during fermentation in kefir, *Journal of Functional Foods*, 32, 72–79p.
- Güzel, D. and Sayar, S.,** 2012, Effect of cooking methods on selected physicochemical and nutritional properties of barlotto bean, chickpea, faba bean, and white kidney bean, *Journal of Food Science and Technology*, 49(1), 89–95p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ha, E. and Zemel, M. B.,** 2003, Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (Review), *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14(5), 251–258p.
- Helal, A. and Tagliacruzchi, D.,** 2018, Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt, *LWT - Food Science and Technology*, 89, 164–170p.
- Hışıl, Y.,** 2011, Enstrümental Gıda Analizleri, Genş. 7. Bs.-Bornova: Ege Üniversitesi, İzmir, 545s.
- Hijova, E. and Chmelarova, A.,** 2007, Short chain fatty acids and colonic health, *Bratislavské Lekárske Listy*, 108(8), 354–358p.
- Hilton, J.,** 2017, Developing New Functional Food and Nutraceutical Products, Elsevier Inc., 1-28p.
- Hu, F. B.,** 2003, Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview, *American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 544–551p.
- Jakobsdottir, G., Nyman, M. and Fåk, F.,** 2014, Designing future prebiotic fiber to target metabolic syndrome, *Nutrition*, 30(5), 497–502p.
- Janssen, A. W. F. and Kersten, S.,** 2017, Potential mediators linking gut bacteria to metabolic health: a critical view, *The Journal of Physiology*, 595(2), 477–487p.
- Jin, F., Nieman, D. C., Sha, W., Xie, G., Qiu, Y. and Jia, W.,** 2012, Supplementation of milled chia seeds increases plasma ALA and EPA in postmenopausal women, *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(2), 105–110p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jin, Y., Yu, Y., Qi, Y., Wang, F., Yan, J. and Zou, H.,** 2016, Peptide profiling and the bioactivity character of yogurt in the simulated gastrointestinal digestion, *Journal of Proteomics*, 141, 24–46p.
- Jones, M. L., Martoni, C. J., Parent, M. and Prakash, S.,** 2012, Cholesterol-lowering efficacy of a microencapsulated bile salt hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242 yoghurt formulation in hypercholesterolaemic adults, *The British Journal of Nutrition*, 107(10), 1505–1513p.
- Joung, J. Y., Lee, J. Y., Ha, Y. S., Shin, Y. K., Kim, Y., Kim, S. H. and Oh, N. S.,** 2016, Enhanced microbial, functional and sensory properties of herbal yogurt fermented with Korean traditional plant extracts, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(1), 90–99p.
- Kaluźna-Czaplińska, J., Gałtarek, P., Chartrand, M. S., Dadar, M. and Bjørklund, G.,** 2017, Is there a relationship between intestinal microbiota, dietary compounds, and obesity?, *Trends in Food Science and Technology*, 70, 105–113p.
- Kapadia, S. A., Raimundo, A. H., Grimble, G. K., Aimer, P. and Silk, D. B. A.,** 1995, Influence of three different fiber-supplemented enteral diets bowel function and short-chain fatty acid production, *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 19(1), 63–68p.
- Karagözlü, C. ve Bayarar, M.,** 2004, Peyniraltı suyu proteinlerinin fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(2), 197–207s.
- Karakaya, S., El, S. N., Simsek, S. and Buyukkestelli, H. I.,** 2016, Vegetable product containing caseinomacropetide and germinated seed and sprouts, *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 880–887p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kavas, A. and El, S. N.**, 1991, Nutritive value of germinated mung beans and lentils, *Journal of Consumer Studies & Home Economics*, 15(4), 357–366p.
- Kızılaslan, N. ve Solak, İ.**, 2016, Yoğurt ve insan sağlığı üzerine etkileri, *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 12, 52–59s.
- Kim, H. S. and Hur, S. J.**, 2018, Effects of in vitro human digestion on the antioxidant activity and stability of lycopene and phenolic compounds in pork patties containing dried tomato prepared at different temperatures, *Journal of Food Science*, 83(7), 1816–1822p.
- Kim, M., Ahn, S., Lim, C., Jhoo, J. and Kim, G.**, 2016, Effects of germinated brown rice addition on the flavor and functionality of yogurt, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(4), 508–515p.
- Korhonen, H.**, 2009, Milk-derived bioactive peptides: from science to applications, *Journal of Functional Foods*, 1(2), 177–187p.
- Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A.**, 1999, Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:251, Erzurum.
- Laemmli, U.**,1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680–685p.
- Landfeld, A., Novotná, P., Strohalm, J., Rysová, J. and Houška, M.**, 2014, Yield stress and sensorial evaluation of soya yoghurts prepared from germinated soybeans, *Czech Journal of Food Sciences*, 32(5), 464–469p.
- Lattimer, J. M. and Haub, M. D.**, 2010, Effects of dietary fiber and its components on metabolic health, *Nutrients*, 2(12), 1266–1289p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lee, H. C., Jenner, A. M., Low, C. S. and Lee, Y. K.,** 2006, Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota, *Research in Microbiology*, 157(9), 876–884p.
- Lim, E. S.,** 2018, Preparation and functional properties of probiotic and oat-based synbiotic yogurts fermented with lactic acid bacteria, *Applied Biological Chemistry*, 61(1), 25–37p.
- Lin, H.V., Frassetto, A., Kowalik Jr, E. J., Nawrocki, A. R., Lu, M. M., Kosinski, J. R., Hubert, J.A., Szeto, D., Yao, X., Forrest, G. and Marsh, D. J.,** 2012, Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms, *PLoS ONE*, 7(4), 1-9p.
- Linares, D. M., Gómez, C., Renes, E., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., Ross, R. P. and Stanton, C.,** 2017, Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods, *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–11p.
- Mamilla, R. K. and Mishra, V. K.,** 2017, Effect of germination on antioxidant and ACE inhibitory activities of legumes, *LWT - Food Science and Technology*, 75, 51–58p.
- Marchiani, R., Bertolino, M., Belviso, S., Giordano, M., Ghirardello, D., Torri, L., Piochi, M. and Zeppa, G.,** 2016, Yogurt enrichment with grape pomace: effect of grape cultivar on physicochemical, microbiological and sensory properties, *Journal of Food Quality*, 39(2), 77–89p.
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P.D., Foligne, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J. and Hutkins, R.,** 2017, Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond, *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Marsh, A. J., Hill, C., Ross, R. P. and Cotter, P. D.,** 2014, Fermented beverages with health-promoting potential: past and future perspectives, *Trends in Food Science and Technology*, 38(2), 113–124p.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J. and Vidal-Valverde, C.,** 2008, Alpha-galactosides: antinutritional factors or functional ingredients?, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(4), 301–316p.
- Martirosyan, D. M. and Singh, J.,** 2015, A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique?, *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 209–223p.
- McCue, P., Kwon, Y. I. and Shetty, K.,** 2005, Anti-diabetic and anti-hypertensive potential of sprouted and solid-state bioprocessed soybean, *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14(2), 145–152p.
- McIntosh, G. H., Royle, P. J., Le Leu, R. K., Regester, G. O., Johnson, M. A., Grinsted, R. L., Kenward, R.S. and Smithers, G. W.,** 1998, Whey proteins as functional food ingredients?, *International Dairy Journal*, 8, 425–434p.
- Mercan, E., Sert, D., Karakavuk, E. and Akin, Ni.,** 2018, Effect of different levels of grapeseed (*Vitis vinifera*) oil addition on physicochemical, microbiological and sensory properties of set-type yoghurt, *International Journal of Dairy Technology*, 71, 34–43p.
- Mesías, M., Holgado, F., Márquez-Ruiz, G. and Morales, F. J.,** 2016, Risk/benefit considerations of a new formulation of wheat-based biscuit supplemented with different amounts of chia flour, *LWT - Food Science and Technology*, 73, 528–535p.
- Metin, M.,** 2006, Süt Mamülleri Analiz Yöntemleri, Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulları Yayınları, İzmir, 439s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Milner, J.**, 1999, Nutritional and health benefits of inulin and oligofructose petfood applications of inulin and oligofructose, *Journal of Nutrition*, 129, 1454–1456p.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carriere, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Menard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W. and Brodkorb, A.**, 2014, A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus, *Food and Function*, 5(6), 1113–1124p.
- Mohd Ali, N., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Tan, S. W. and Tan, S. G.**, 2012, The promising future of chia, *Salvia hispanica* L., *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 1-9p.
- Mohd. Esa, N., Kadir, K. K. A., Amom, Z. and Azlan, A.**, 2013, Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice (in vivo and in vitro) and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits, *Food Chemistry*, 141(2), 1306–1312p.
- Mora-Escobedo, R., Robles-Ramírez, M. del C., Ramón-Gallegos, E. and Reza-Alemán, R.**, 2009, Effect of protein hydrolysates from germinated soybean on cancerous cells of the human cervix: an in vitro study, *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(4), 271–278p.
- Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O. and Aguilera, J. M.**, 2013, Chia seed (*Salvia hispanica*): an ancient grain and a new functional food, *Food Reviews International*, 29(4), 394–408p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Muro Urista, C., Álvarez Fernández, R., Riera Rodriguez, F., Arana Cuenca, A. and Téllez Jurado, A.**, 2011, Review: production and functionality of active peptides from milk, *Food Science and Technology International*, 17(4), 293–317p.
- Nduko, J. M., Maina, R. W., Muchina, R. K. and Kibitok, S. K.**, 2018, Application of chia (*Salvia hispanica*) seeds as a functional component in the fortification of pineapple jam, *Food Science and Nutrition*, 6(8), 2344–2349p.
- Nguyen, T. T. P., Bhandari, B., Cichero, J. and Prakash, S.**, 2015, Gastrointestinal digestion of dairy and soy proteins in infant formulas: an in vitro study, *Food Research International*, 76, 348–358p.
- Novozymes**, 2002, ‘‘Product Sheet Viscozyme L’’, Novozymes, http://www.ebiosis.co.kr/Novozymes%20Product%20Sheet/Viscozyme%20L.pdf?fbclid=IwAR3vZZ_Lw0l3zOmNL4BCHSFjGLoUfsZyc6sWy4jMOw7TXrKuTwyEdGE5sBQ, (Erişim tarihi: Mart 2019)
- O’Connell, J. E. and Fox, P. F.**, 2001, Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review, *International Dairy Journal*, 11(3), 103–120p.
- Obeidat, B. A., Abdul-Hussain, S. S. and Al Omari, D. Z.**, 2013, Effect of addition of germinated lupin flour on the physiochemical and organoleptic properties of cookies, *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(5), 637–643p.
- Olivos-Lugo, B. L., Valdivia-López, M. Á. and Tecante, A.**, 2010, Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.), *Food Science and Technology International*, 16(1), 89–96p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Orona-Tamayo, D., Valverde, M. E., Nieto-Rendón, B. and Paredes-López, O.,** 2015, Inhibitory activity of chia (*Salvia hispanica* L.) protein fractions against angiotensin I-converting enzyme and antioxidant capacity, *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 236–242p.
- Özden, A.,** 2007, Yoğurt ve sağlıklı yaşam, *Güncel Gastroenteroloji*, 11(3), 166-178s.
- Özgören, E., Kaplan, H. B. ve Tüfekçi, S.,** 2018, Chia tohumu kullanılarak zenginleştirilen galetelerin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri, *Food and Health*, 4(2), 140–146s.
- Özturkoglu-Budak, S., Akal, C. and Yetisemiyen, A.,** 2016, Effect of dried nut fortification on functional, physicochemical, textural, and microbiological properties of yogurt, *Journal of Dairy Science*, 99(11), 8511–8523p.
- Pal, R. S., Bhartiya, A., Yadav, P., Kant, L., Mishra, K. K., Aditya, J. P. and Pattanayak, A.,** 2017, Effect of dehulling, germination and cooking on nutrients, anti-nutrients, fatty acid composition and antioxidant properties in lentil (*Lens culinaris*), *Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 909–920p.
- Papillo, V. A., Vitaglione, P., Graziani, G., Gokmen, V. and Fogliano, V.,** 2014, Release of antioxidant capacity from five plant foods during a multistep enzymatic digestion protocol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(18), 4119–4126p.
- Park, K. B. and Oh, S. H.,** 2007, Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract, *Bioresource Technology*, 98(8), 1675–1679p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Patil, S. B. and Khan, M. K.**, 2011, Germinated brown rice as a value added rice product: a review, *Journal of Food Science and Technology*, 48(6), 661–667p.
- Pei, R., Martin, D. A., DiMarco, D. M. and Bolling, B. W.**, 2017, Evidence for the effects of yogurt on gut health and obesity, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1569–1583p.
- Porras-Loaiza, P., Jiménez-Munguía, M. T., Sosa-Morales, M. E., Palou, E. and López-Malo, A.**, 2014, Physical properties, chemical characterization and fatty acid composition of Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 571–577p.
- Prandini, A., Sigolo, S., Tansini, G., Brogna, N. and Piva, G.**, 2007, Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(6), 472–479p.
- Prior, R. L., Wu, X. and Schaich, K.**, 2005, Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, 23, 4290–4302p.
- Qu, L., Ren, J., Huang, L., Pang, B., Liu, X., Liu, X., Baolong, L. and Shan, Y.**, 2018, Antidiabetic effects of *Lactobacillus Casei* fermented yogurt through reshaping gut microbiota structure in type 2 diabetic rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 12696–12705p.
- Rahman, M. J., de Camargo, A. C. and Shahidi, F.**, 2017, Phenolic and polyphenolic profiles of chia seeds and their in vitro biological activities, *Journal of Functional Foods*, 35, 622–634p.
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N. and Penna, A. L. B.**, 2012, Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications, *Food Engineering Reviews*, 4, 124–140p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Reyes-Caudillo, E., Tecante, A. and Valdivia-López, M. A.,** 2008, Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, *Food Chemistry*, 107(2), 656–663p.
- Richter, M., Boeing, H., Grünewald-Funk, D., Hesecker, H., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Oberritter, H., Strohm, D. and Watzl, B.,** 2016, Vegan diet position of the German nutrition society (DGE), *Ernaehrungs Umschau International*, 63(04), 92–102p.
- Rinaldi, L., Gauthier, S. F., Britten, M. and Turgeon, S. L.,** 2014, In vitro gastrointestinal digestion of liquid and semi-liquid dairy matrixes, *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 99–105p.
- Rios-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., De los Reyes-Gavilán, C. G. and Salazar, N.,** 2016, Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health, *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–9p.
- Rioux, L. E., and Turgeon, S. L.,** 2012, The ratio of casein to whey protein impacts yogurt digestion in vitro, *Food Digestion*, 3(1–3), 25–35p.
- Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S. and Donkor, O. N.,** 2018, Antioxidative and antibacterial peptides derived from bovine milk proteins, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(5), 726–740p.
- Sakin, Y. ve Tanoglu, A.,** 2016, Prebiyotikler ve insan sağlığı üzerindeki etkileri, *Medicine Science | International Medical Journal*, 5(1), 210-223s.
- Salazar-Vega, I.M., Segura-Campos, M.R., Chel-Guerrero, L.A. and Betancur-Ancona D.A.,** 2012, Antihypertensive and Antioxidant Effects of Functional Foods Containing Chia (*Salvia hispanica*) Protein Hydrolysates, *Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry*, INTECH Open Access Publisher, 381-398p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sandoval-Oliveros, M. R. and Paredes-López, O.,** 2013, Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(1), 193–201p.
- Sangronis, E., Rodriguez, M., Cava, R. and Torres, A.,** 2006, Protein quality of germinated *Phaseolus vulgaris*, *European Food Research Technology*, 222, 144–148p.
- Sattar, D., Ali, T. M. and Hasnain, A.,** 2017, Effect of germination on enzymatic, functional and bioactive attributes of different Pakistani legume cultivars, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 2076–2086p.
- Serafeimidou, A., Zlatanov, S., Laskaridis, K. and Sagredos, A.,** 2012, Chemical characteristics, fatty acid composition and conjugated linoleic acid (CLA) content of traditional Greek yogurts, *Food Chemistry*, 134(4), 1839–1846p.
- Serhan, M., Mattar, J. and Debs, L.,** 2016, Concentrated yogurt (Labneh) made of a mixture of goats' and cows' milk: physicochemical, microbiological and sensory analysis, *Small Ruminant Research*, 138, 46–52p.
- Sevilmiş, G.,** 2013, Yükselen trend: fonksiyonel gıdalar, *İzmir Ticaret Odası AR&GE Bülten*, 39–46s.
- Shah, N. P.,** 2007, Functional cultures and health benefits, *International Dairy Journal*, 17(11), 1262–1277p.
- Sigma Aldrich,** 2019a, "Pancreatin from Porcine Pancreas", <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p1750?lang=en®ion=TR>, (Erişim tarihi: Mart 2019)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sigma Aldrich**, 2019b, “ Protease from *Streptomyces griseus*”,
https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p5147?lang=en®ion=TR&fbclid=IwAR0T5_zAedJuTojSnI2wpO5U-q3gF6MQTAOEFqz5QhkVyJTkEiff63gjOjY, (Erişim tarihi: Mart 2019)
- Smithers, G. W.**, 2008, Whey and whey proteins-from “gutter-to-gold.”,
International Dairy Journal, 18(7), 695–704p.
- Sosa-Castañeda, J., Estrada-Montoya, M. C., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Astiazarán-García, H., Garcia, H. S. and González-Córdova, A. F.**, 2015, Screening of *Lactobacillus* strains for their ability to produce conjugated linoleic acid in milk and to adhere to the intestinal tract,
Journal of Dairy Science, 98(10), 6651–6659p.
- Şimşek, S., El, S. N., Kancabas Kilinc, A. and Karakaya, S.**, 2014, Vegetable and fermented vegetable juices containing germinated seeds and sprouts of lentil and cowpea, *Food Chemistry*, 156, 289–295p.
- T.C. Sağlık Bakanlığı**, 2014, Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010, Ankara, 636s.
- T.C. Sağlık Bakanlığı**, 2017, Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2016, Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, Ankara, 276s.
- Taiz, L., and Zeiger, E.**, 1998, *Plant Physiology - Second Edition*, Sinauer Associates Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- Taşkın, B. ve Bağdathoğlu, N.**, 2011, Süt ve fermante süt ürünlerinin antioksidan özellikleri, *Akademik Gıda*, 9(5), 67–74s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Toscano, L. T., Toscano, L. T., Tavares, R. L., da Silva, C.S.O. and Silva, A. S., 2015, Chia induces clinically discrete weight loss and improves lipid profile only in altered previous values, *Nutrición Hospitalaria*, 31(3), 1176–1182p.

TÜBER, 2016, ‘‘Türkiye Beslenme Rehberi 2015’’, <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/10915,tuber-turkiye-beslenme-rehberipdf.pdf>, (Erişim tarihi: Ocak 2019)

Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Tebliği, <http://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/yonetmelik/7.5.23281-Ek.docx>, (Erişim tarihi: Ocak 2019)

Türk Standartları Enstitüsü, 2006, ‘‘TS 1330 Yoğurt Standardı’’, <https://intweb.tse.org.tr/Standard/Standard/Standard.aspx?081118051115108051104119110104055047105102120088111043113104073101082118082065051084077051113069>, (Erişim tarihi: Şubat 2019)

Türkmen, N. ve Gürsoy, A., 2017, Fonksiyonel dondurma, *Akademik Gıda*, 15(4), 386–395s.

Ullah, R., Nadeem, M., Khalique, A., Imran, M., Mehmood, S., Javid, A. and Hussain, J., 2016, Nutritional and therapeutic perspectives of chia (*Salvia hispanica* L.): a review, *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1750–1758p.

Ulusal Süt Konseyi, 2016, ‘‘2016 Süt Raporu Dünya Ve Türkiye’de Süt Sektör İstatistikleri’’, <http://www.ulusalsutkonseyi.org.tr/media/2016-sut-raporu.pdf> (Erişim tarihi: Şubat 2019)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Valenzuela, R., Bascuñán, K. A., Chamorro, R., Barrera, C., Sandoval, J., Puigredon, C., Parraguez, G., Orellana, P., Gonzalez, V. and Valenzuela, A.,** 2015, Modification of docosahexaenoic acid composition of milk from nursing women who received alpha linolenic acid from chia oil during gestation and nursing, *Nutrients*, 7(8), 6405–6424p.
- Veiga, P., Pons, N., Agrawal, A., Oozer, R., Guyonnet, D., Brazeilles, R., Faurie J., van Hylckama Vlieg, J.E.T., Houghton, L.A., Whorwell, P.J., Ehrlich, S.D. and Kennedy, S. P.,** 2014, Changes of the human gut microbiome induced by a fermented milk product, *Scientific Reports*, 4(1), 1–9p.
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sierra, I., Blazquez, I., Lambein, F. and Kuo, Y. H.,** 2002, New functional legume foods by germination: effect on the nutritive value of beans, lentils and peas, *European Food Research and Technology*, 215(6), 472–477p.
- Vital, A. C. P., Goto, P. A., Hanai, L. N., Gomes-da-Costa, S. M., de Abreu Filho, B. A., Nakamura, C. V. and Matumoto-Pintro, P. T.,** 2015, Microbiological, functional and rheological properties of low fat yogurt supplemented with *Pleurotus ostreatus* aqueous extract, *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1028–1035p.
- Vuksan, V., Jenkins, A. L., Dias, A. G., Lee, A. S., Jovanovski, E., Rogovik, A. L. and Hanna, A.,** 2010, Reduction in postprandial glucose excursion and prolongation of satiety: possible explanation of the long-term effects of whole grain Salba (*Salvia Hispanica L.*), *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(4), 436–438p.
- Vural, A.,** 2004, Fonksiyonel gıdalar ve sağlık üzerine etkileri, *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 6, 51-58s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- WHO**, 2018, World Health Statistics 2018: Monitoring Health for the SDGs, Sustainable Development Goals, Geneva, 1-100p.
- WHO/FAO**, 2002, ‘‘Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food’’, https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf, (Erişim tarihi: Şubat 2019)
- Wong, J. M., de Souza, R., Kendall, C. W., Emam, A. and Jenkins, D. J.**, 2006, Colonic health: fermentation and short chain fatty acids, *J Clin Gastroenterol*, 40(3), 235–243p.
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A. and Ryan, L.**, 2011, Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods, *Food Research International*, 44(1), 217–224p.
- Worthington Biochemical Corporation**, ‘‘Worthington Enzyme Manual’’, http://www.worthington-biochem.com/index/manual.html?fbclid=IwAR3oobyIJWOMxliyE9VuAm8utIFwqJWO_bvz0IKKZwRDS7Tc8FykDAY_9AY, (Erişim tarihi: Mart 2019)
- Yang, M. and Choong, Y.**, 2001, A rapid gas chromatographic method for direct determination of short-chain (C 2 – C 12) volatile organic acids in foods, *Food Chemistry*, 75, 101–108p.
- Yerlikaya, O., Kımık, Ö. ve Akbulut, N.**, 2010, Peyniraltı suyunun fonksiyonel özellikleri ve peyniraltı suyu kullanılarak üretilen yeni nesil süt ürünleri, *Gıda Dergisi*, 35(4), 289–296s.
- Yiğit, A., Ertürk, Ü. ve Korukluoğlu, M.**, 2005, Fonksiyonel bir gıda: ceviz, *Bahçe*, 34(1), 163–169s.

TEŞEKKÜR

Bir kadın olarak sahip olduğum tüm haklarım ve özgürlüklerimi borçlu olduğum ulu önder, başöğretmen Mustafa Kemal ATATÜRK başta olmak üzere,

Yüksek lisans tez çalışmam süresince, tecrübe ve bilgi birikimini daima paylaşan ve tezim dışında da birçok akademik çalışmaya katılmam için destek veren ve yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sibel KARAKAYA'ya,

Tez çalışmam boyunca bilgi ve desteğini her zaman hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sedef Nehir EL'e,

Her konuda ve koşulda desteğini hissettiğim, bilgi birikimlerini daima paylaşarak yol göstericilik yapan, her sıkışık anımda bana yardım eli uzatan çok değerli hocalarım, ablalarım Sayın Dr. Hülya İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ ve Sayın Dr. Şebnem ŞİMŞEK'e

Tüm yüksek lisans öğrenimim boyunca çok şey paylaştığım yardımları ve fikirleriyle bana çok şey katan ve yanımda olan çalışma arkadaşlarım, Pelin PERÇİN, Birgül HIZLAR, Celal DEĞERLİ, Aslı KANCABAŞ KILINÇ'a

Lise yıllarımdan bu yana hayatımın her döneminde yanımda olup bana daima destek veren canım dostum İzel Beliz İZCİ'ye,

Son olarak, hayatım boyunca benden maddi manevi desteklerini esirgemeyen, inişli çıkışlı her dönemimde daima yanımda olan canımdan çok sevdiğim annem Dervişe EKER ve babam Halil İbrahim EKER'e, bana olan inancını hiçbir zaman kaybetmeyen, doğduğundan beri hayatıma daima mutluluk getirmiş olan biricik kardeşim Ecem EKER'e ve ikinci annem, teyzem Berrin DOĞAN'a sonsuz teşekkür ederim.

24/05/2019

Merve Eda EKER

ÖZGEÇMİŞ

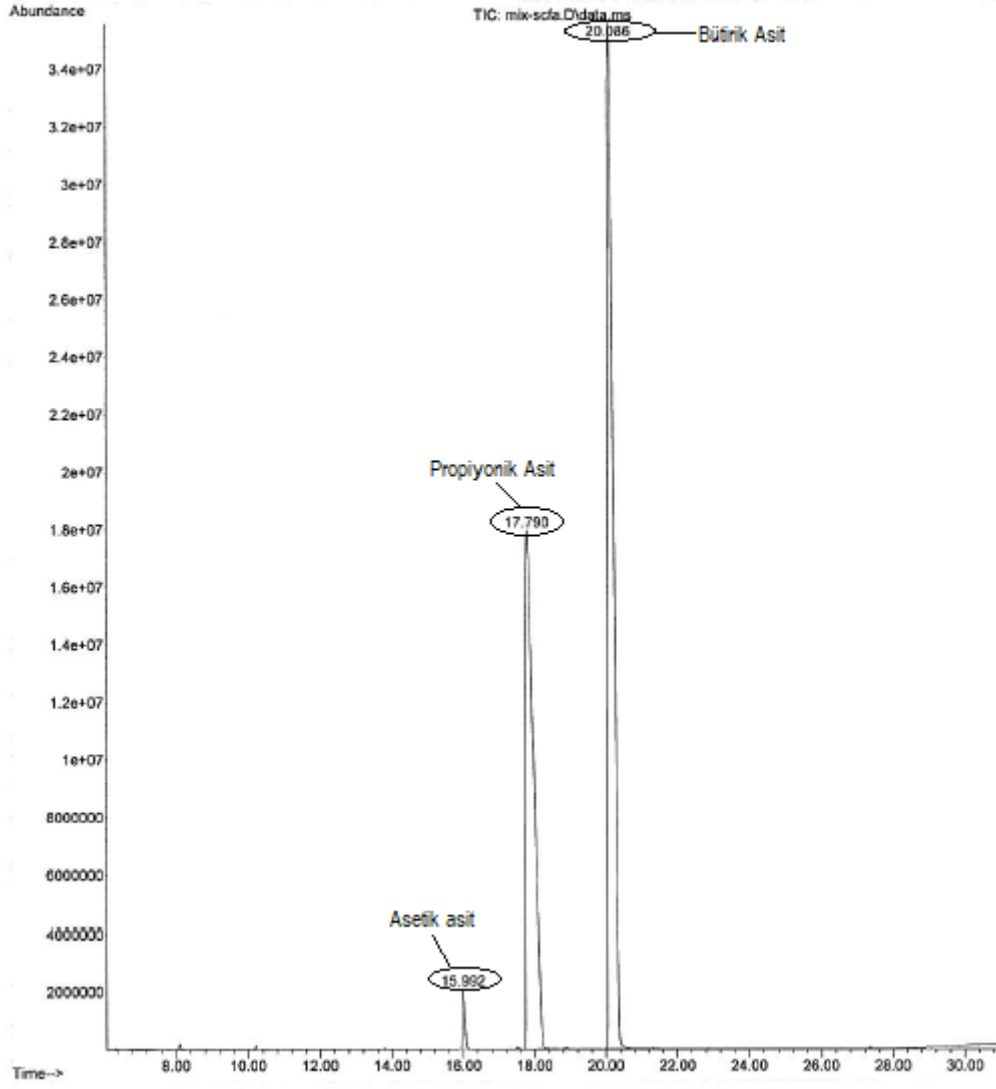
1993 yılında İzmir’de doğdu. İlk orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2011 yılında Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. 2015 yılında onur derecesiyle mezun olduktan sonra 2017 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Bilimleri Bilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı.



EK

EK 1 Çalışmada Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin Tespiti İçin Kullanılan Yağ Asitleri Standartlarının Kromatogramı





EK 1 Çalışmada kısa zincirli yağ asitlerinin tespiti için kullanılan yağ asitleri standartlarının kromatogramı