T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA TEKNOLOJİSİ BİLİM DALI

KURUTULMUŞ KUZU KARACİĞERİ TOZUNDAN VİTAMİN B_{12} SERT JELATİN KAPSÜLÜ ÜRETİMİ VE *IN VİTRO* GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM İLE BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN BELİRLENMESİ

YASEMİN ÖZBAY

Birinci Danışman
PROF.DR. ERGÜN KÖSE

İkinci Danışman
DOÇ.DR. ÖZLEM ÇAĞINDI

MANİSA–2023

YASEMİN ÖZBAY	**KURUTULMUŞ KUZU KARACİĞERİ TOZUNDAN VİTAMİN B_{12} SERT JELATİN KAPSÜLÜ ÜRETİMİ VE *IN VİTRO* GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM İLE BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN BELİRLENMESİ**	**2023**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Yasemin ÖZBAY

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ III
ŞEKİLLER DİZİNİ V
TABLO DİZİNİ VI
RESİMLER DİZİNİ VII
TEŞEKKÜR VIII
ÖZET IX
ABSTRACT X
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1.Kuzu Karaciğeri 3
2.1.1. Kuzu Karaciğeri Üzerine Yapılan Çalışmalar 4
2.2. B_{12} Vitamini (Kobalamin) 5
2.2.1. B_{12} Vitamini Tanımı ve Tarihçesi 5
2.2.2. Vitamin B_{12}'nin Molekül Yapısı ve Özellikleri 6
2.2.3. B_{12} Vitamini İçeren Besinsel Kaynaklar 9
2.2.4. B_{12} Vitamini Eksikliği ve Gereksinimi 10
2.2.5. B_{12} Vitamininin Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonları 13
2.2.6. Vitamini B_{12} (Kobalamin) Emilimi ve Dokuya Taşınması 14
2.3. Takviye Edici Gıdalar 15
2.3.1. Sert Jelatin Kapsüller 17
2.4. Biyoyararlılık ve Biyoerişilebilirlik 19
2.4.1. Biyoerişilebilirliği Belirleme Yöntemleri 20
2.4.2. *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim Modeli 20
2.4.3. B_{12} Vitamini Biyoyararlanımı 21
3. MATERYAL VE YÖNTEM 23
3.1. Materyal 23
3.2. Yöntem 23
3.2.1. Kuzu Karaciğerinde Yapılan Analizler 24
3.2.1.1. *Salmonella* Analizi 24
3.2.1.2. *E.coli* O157 Analizi 24
3.2.1.3. *C.perfringens* Analizi 25
3.2.1.4. Nem Analizi 25

3.2.1.5. B_{12} Vitamini Analizi 26
3.2.2. Kuzu Karaciğerinin Kurutulması ve Toz Eldesi 26
3.2.3. Kuzu Karaciğeri Tozunda Yapılan Analizler 28
3.2.3.1. Elek Analizi 28
3.2.3.2. Nem Analizi 29
3.2.3.3. Renk Analizi 29
3.2.3.4. Yığın Yoğunluk Analizi 29
3.2.3.5. Sıkıştırılmış Yoğunluk Analizi ve % Sıkılaşabilme Değeri 30
3.2.3.6. Akma Hızı ve Yığın Açısı Analizi 31
3.2.4. Kuzu Karaciğeri Tozunun Kapsüllenmesi 31
3.2.5. Kuzu Karaciğeri Tozu İçeren Kapsüllerde Yapılan Analizleri 32
3.2.5.1. Kütle Tekdüzeliği Kontrolü 32
3.2.5.2. Dağılma Analizi 33
3.2.5.3. B_{12} Vitamininin Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi 33
3.2.5.4. B_{12} Vitamini Analizi 38
3.2.6. İstatistiksel Analiz 38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 39
4.1. Kuzu Karaciğerinde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları 39
4.1.1.*Salmonella* Analizi 39
4.1.2. *E.coli* O157 Analizi 40
4.1.3. *C.perfringens* Analizi 40
4.1.4. Nem Analizi 41
4.1.5. B_{12} Vitamin Analizi 41
4.2. Kuzu Karaciğeri Tozu Analizi Sonuçları 42
4.2.1. Nem, Yığın ve Sıkıştırılmış Yoğunluk, Akma Hız ve Yığın Açısı, Renk Analizi 42
4.2.2. Elek Analizi 46
4.3. Kuzu Karaciğeri Tozu İçeren Kapsüllerin Analiz Sonuçları 47
4.3.1. Kütle Tekdüzeliği Kontrolü 47
4.3.2. Dağılma Analizi 48
4.3.3. B_{12} Vitamini Analizi ve Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi 48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 53
KAYNAKLAR 56
EKLER 66
ÖZGEÇMİŞ 68

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromotografisi
RNA	Ribonükleik Asit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
(R)	Radikal
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
TGK	Türk Gıda Kodeksi
AOAC	Amerikan Resmi Analitik Kimyacılar Birliği (American Official Analytical Chemist)
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü (Human Immunodeficiency Virus)
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
MUP	4-Methylumbelliferyl Phosphate
HCl	Hidroklorik Asit
TFA	Trifloroasetik Asit
TS	Türk Standartları
ISO	Uluslararası Standartlar Teşkilatı (International Organization for Standardization)
L*	Aydınlık
a*	Kırmızılık/yeşillik
b*	Sarılık/mavilik
UV	Ultraviyole
CoA	Koenzim A
µg	Mikrogram
pg	Pikogram
mg	Miligram
g	Gram

kob	Koloni oluşturan birim
kg	Kilogram
rpm	Dakikadaki devir sayısı
dk	Dakika
sn	Saniye
°C	Derece celcius
mL	Mililitre
L	Litre
µL	Mikrolitre
cm	Santimetre
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
mm	Milimetre
µmol	Mikromol
M	Molar
mM	Milimolar
%	Yüzde
v	Hacim
w	Ağırlık
Ph	Hidrojen kuvveti (Power of hydrogen)
COVID-19	Koronavirüs hastalığı 2019
KM	Kuru Madde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Korrin halkası 7
Şekil 2.2. B_{12} vitamini molekül yapısı 7
Şekil 2.3. B_{12} vitamini formlarının molekül yapısı 8
Şekil 2.4. B_{12} vitamini emilim şeması 15
Şekil 2.5. Kapsül boyutları 19
Şekil 3.1. Çalışmaya ait akış şeması 23
Şekil 4.1. Kuzu karaciğeri tozuna ait % kümülatif ağırlık-elek çapı eğrisi 47

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. 100 g kuzu karaciğerinin vitamin, mineral ve besin değerleri 3
Tablo 2.2. Bazı gıdaların içerdiği B_{12} vitamin miktarı 10
Tablo 2.3. Günlük tavsiye edilen B_{12} vitamin alım miktarı 11
Tablo 2.4. B_{12} vitamininin emilimini engelleyen durumlar 13
Tablo 2.5. Bazı gıdaların B_{12} vitamini biyoyararlanımı 22
Tablo 3.1. Tozların inceleğine göre sınıflandırılması 28
Tablo 3.2. Toz ürünlerinin akabilirlik ve yapışkanlığının sınıflandırılması 30
Tablo 3.3. Toz akış özellikleri yığın açısı ilişkisi 31
Tablo 3.4. Kütle tekdüzeliği için limit değerler 33
Tablo 3.5. Stok kimyasal çözeltiler..... 36
Tablo 3.6. Simüle ağız-mide-bağırsak sıvı içerikleri 36
Tablo 4.1. TGK sakatat için mikrobiyolojik kriterler 39
Tablo 4.2. Kuzu karaciğeri tozunun bazı fiziksel ve toz ürün özellikleri 42
Tablo 4.3. Kuzu karaciğeri tozu elek analizi sonuçları 46
Tablo 4.4. Kapsüllerin kütle tekdüzeliği kontrolü 48
Tablo 4.5. *In vitro* sindirim öncesi ve sonrası B_{12} vitamin miktarı ve biyoerişilebilirliği 49
Tablo 4.6. *In vitro* gastrointestinal yöntemle B_{12} vitamini biyoerişilebilirlik çalışmaları 52

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1. Kuzu karaciğerinin kurutulma ve toz elde süreci 27
Resim 3.2. Kuzu karaciğeri tozu 27
Resim 3.3. Manuel kapsül dolum makinası ve 0 boyutlu kapsül 32
Resim 3.4. 500 µm altı kurutulmuş kuzu karaciğer tozu 32
Resim 3.5. Kuzu karaciğeri tozu içeren sert jelatin kapsüller 32
Resim 4.1. *Salmonella* kiti 40
Resim 4.2. *E.coli* O157 kiti 40
Resim 4.3. *C.perfringens*'in UV lambası altındaki tipik görünümü 41

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü öğrenim hayatımın tüm aşamalarında yardımcı olan, bilgi ve tecrübeleri ile beni aydınlatan desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ergün KÖSE'ye, çalışmamın her aşamasında akademik desteğini her daim hissettiğim, bilgi ve tecrübesiyle ile yol gösteren ikinci danışmanım Sayın Doç. Dr. Özlem ÇAĞINDI' ya,

Hayatımın her aşamasında ve her zorlukta yanımda olan, beni yetiştirmek için sonsuz fedakârlıkta bulunan canım annem Şerife SÜRMELİ'ye, canım babam Abdullah SÜRMELİ'ye ve biricik kardeşim Burak SÜRMELİ'ye sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmam esnasında sabır ve desteğiyle yanımda olan, motivasyonumu artıran sonsuz sevgi ve saygı beslediğim değerli eşim, hayat arkadaşım Uzm.Dr. Necip Tolga ÖZBAY'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca desteğini her zaman hissettiğim sevgili arkadaşım Filiz ARSLAN'a teşekkür ederim.

Projemize sağladığı mali destekten dolayı (MCBÜ BAP 2021-131) Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Yasemin ÖZBAY

Manisa, 2023

ÖZET

Yüksek Lisans

Kurutulmuş Kuzu Karaciğeri Tozundan Vitamin B_{12} Sert Jelatin Kapsülü Üretimi ve *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim ile Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi

Yasemin ÖZBAY

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Ergün KÖSE
İkinci Danışman: Doç.Dr. Özlem ÇAĞINDI

Bu çalışmada, önemli bir B_{12} vitamini kaynağı olan kuzu karaciğerinin kurutulmasıyla elde edilen tozdan sert jelatin kapsül formunda B_{12} vitamini gıda takviyesi üretilmesi ve üretilen kapsüllerin B_{12} vitamini içeriği ile *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak B_{12} vitamini biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, öncelikle kuzu karaciğerinin mikrobiyolojik olarak tüketime uygunluğu hususunda TGK Mikrobiyoloji Kriterler Tebliği'nde belirtilen *Salmonella, E.coli* O157 ve *C.perfringens* analizleri gerçekleştirilmiş kuzu karaciğerinin tüketime uygunluğu tespit edildikten sonra kuzu karaciğerinde nem analizi gerçekleştirilmiş ve nemi ortalama %70,8±1,16 olarak bulunmuştur. 100 g kuzu karaciğerinin B_{12} vitamini miktarı ortalama 33,08±0,57 µg olarak saptanmıştır. Sonrasında kuzu karaciğeri kurutulmuş ve kurutulan kuzu karaciğeri toz haline getirilmiştir. Karaciğer tozunun fiziksel özelliklerini belirlemek amacıyla toz analizleri gerçekleştirilmiş ve tozun partikül boyutu orta derecede ince, yapışkanlığı yüksek, akışkanlığının çok zayıf olduğu tespit edilmiştir. Tozun nemi ise %12,6±0,52 olarak bulunmuştur. Kuzu karaciğeri tozunun B_{12} vitamin miktarı 80,71±0,17 µg/100 g olarak bulunmuştur. B_{12} vitamini gıda takviyesinin ise 434,12±16,27 mg/100 g B_{12} vitamini içerdiği saptanmıştır. Elde vedilen veriler neticesinde kuzu karaciğeri tozundan üretmiş olduğumuz bir kapsülün B_{12} vitamin miktarı yaklaşık 0,36 µg'dır. Dünya sağlık örgütünün erişkinler için tavsiye ettiği B_{12} vitamin miktarı günde 2,4 µg'dır. Üretilen kapsülün günlük 7 adet alımıyla bu miktar karşılanmaktadır. Kuzu karaciğeri tozunun ve ticari B_{12} vitamini gıda takviyesinin *in vitro* gastrointestinal yöntemle B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği analiz edildiğinde biyoerişilebilirlikleri sırasıyla yaklaşık %482,5±37,48, %53,50±2,12 olarak bulunmuştur. Kuzu karaciğeri tozununun B_{12} vitamini biyoerişilebilirliğinin ticari bir B_{12} vitamini takviyesi ile karşılaştıldığında yaklaşık 9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: sert jelatin kapsül, B_{12} vitamini, kuzu karaciğeri tozu, biyoerişilebilirlik, *in vitro* sindirim

2023, 68 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

The Production of B_{12} Vitamin Hard Gelatin Capsule From Dried Lamb Liver Powder and Determination of Bioaccessibility By *In Vitro* Gastrointestinal Digestion

Yasemin ÖZBAY

Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof.Dr. Ergün KÖSE
Co-Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Özlem ÇAĞINDI

In this study, it was aimed to produce vitamin B_{12} food supplement in hard gelatin capsule form from powder obtained by drying lamb liver, which is an important source of vitamin B_{12}, and to determine the vitamin B_{12} content and vitamin B_{12} bioaccessibility of capsules by *in vitro* gastrointestinal digestion model. Within the scope of the study, primarily specified in the Turkish Food Codex Microbiological Criteria Notification *Salmonella, E.coli O157 and C.perfringens* analyzes were carried out, after determining the suitability of lamb liver for consumption, moisture analysis was carried out in lamb liver and its moisture was found to be 70.8±1.16% on average. The average amount of vitamin B_{12} in 100 g of lamb liver was determined as 33.08±0.57 µg. Then the lamb liver was dried and the dried lamb liver was pulverized. Powder analyzes were carried out to determine the physical properties of liver powder and it was determined that the particle size of the powder was moderately fine, its stickiness was high and its fluidity was very poor. The moisture of the powder was found to be 12.6±0.52%. The amount of vitamin B_{12} contained in the powder was found to be 80.71±0.17 µg/100 g. It was determined that commercial vitamin B_{12} food supplement contains 434.12±16.27 mg/100 g vitamin B_{12}. As a result of the data obtained, the amount of vitamin B_{12} in a capsule we produced from lamb liver powder is approximately 0.36 µg. The recommended daily amount for B_{12} is 2.4 µg for adults. This amount is met by taking 7 capsules in a per day. When the vitamin B_{12} bioaccessibility of lamb liver powder and commercial vitamin B_{12} food supplement was analyzed by *in vitro* gastrointestinal method, their bioaccessibility was found to be approximately 482.5±37.48%, 53.50±2.12%, respectively. The bioaccessibility of lamb liver powder to vitamin B_{12} was found to be approximately 9 fold higher compared to a commercial vitamin B_{12} supplement.

Keywords: hard gelatin capsule, vitamin B_{12}, lamb liver powder, bioaccessibility, *in vitro* digestion

2023, 68 pages

1.GİRİŞ

Sağlıklı ve dengeli beslenmek, sağlığımızı korumak başta olmak üzere büyümek, gelişme, yaşam süremizi ve kalitesini arttırmak için vazgeçilmez bir unsurdur. Beslenmede besin öğesinin hiç alınmaması veya eksik alınması durumunda beslenme yetersizliği ortaya çıkar. Ülkemiz gibi gelişmekte olan toplumlarda beslenme yetersizliklerine bağlı vitamin eksiklikleri bilinenin aksine çok daha fazladır. B_{12} vitamini eksikliği de gelişmekte olan toplumlarda görülen önemli bir sağlık problemidir. Vitamin B_{12} insan vücudunda üretilmediğinden diyetle dışarıdan alınmalıdır.

Vitaminler insanların sağlıklı bir şekilde büyümesi ve gelişmesini sağlayan, yaşamın devamı için önemli besin öğeleridir. Vücudumuz ihtiyacı olan enerjiyi besin öğelerinden sağlarlar. Bu besin öğeleri sinir ve sindirim sisteminin stabil çalışması, büyüme ve vücut sağlığının korunması gibi konularda önemli rol oynarlar [1]. B_{12} vitamini insanlarda büyüme ve gelişme için hayati olan suda çözünen bir vitamindir. Vitamin B_{12} eksikliği bazı hastalıklarla dolaylı olarak ilişkilidir, bazı hastalıklar için de hastalığın direk risk faktörüdür [2]. B_{12} vitamini DNA sentezindeki rolüyle hücre gelişimi ve bölümesinde büyük öneme sahiptir. Vitamin B_{12} eksikliği sonucunda megaloblastik anemini dışında fiziksel ve nöro-motor fonksiyonlarda gelişme geriliği meydana gelebilir. Özellikle sinir hücrelerinde miyelin kılıf oluşumu üzerine etkisi sebebiyle, merkezi sinir sistemi gelişiminde kritik öneme sahiptir [3].

Vücudumuzun vitamin B_{12} gereksinimi günlük olarak 2,5 μg'dır. Bu ihtiyacın büyük bir bölümü hayvansal kaynaklı gıdalarla sağlanmakatdır. B_{12} vitamini için en iyi hayvansal kaynaklar arasında et, süt, balık, yumurta gibi gıdalar yer almaktadır. B_{12} vitamini eksikliğinin ana nedeni besinlerle yeterli miktarda alınamamalarıdır. Sebzelerde ise az miktarda bulunduğundan özellikle vejetaryen diyetle yetersiz alım sonucu B_{12} eksikliği fazla görülmektedir. [4]. Mide ve bağırsak hastalığı olan kişilerde emiliminin çeşitli nedenlerle engellenmesi de eksikliğe yol açabilir.

Vücuttaki eksikliğin giderilmesi için B_{12} vitamini gıda takviyeleri diyet alımı ile yetersiz kalan B_{12} vitamininin alınmasında iyi bir kaynaktır. Hayvansal kaynaklı gıdalar B_{12} vitamini açısından zengin kaynaklardır. Kuzu karaciğeri yüksek oranda B_{12} vitamini içeren gıdalar arasında ilk sıralarda gelmektedir.

Biyoerişilebilirlik ‘’bir gıdanın sindirim sonrasında çözünerek bağırsak emilimi için erişilebilir hale gelmesi olarak’’ tanımlanmaktadır. Biyoyararlılık çalışmaları *in vivo* ve *in vitro* olmak üzere ikiye ayrılır. *In vivo* yöntemler hem etik kurul hem de zaman ve maliyet açısından dezavantajlara sahip olduğundan günümüzde besin ögelerinin biyoerişilebilirliğini belirlemede *in vitro* yöntemler kullanılmaktadır [5]. *In vitro* yöntemler sindirim ve absorpsiyon proseslerinin (biyoyararlanım) ya da sadece sindirim sürecinin (biyoerişilebilirlik) bir laboratuvar ortamında simüle edilmesi gibidir [6]. Simüle edilmiş sindirim yöntemleri tipik olarak oral, gastrik ve ince bağırsak aşamalarını ve bazen de kalın bağırsak fermantasyonunu içermektedir [7]. 2019 yılında insan gastrointestinal fizyolojisini baz alan ve 2014 yılında yayınlanmış INFOGEST Network (gastrointestinal sistemdeki gıda ile ilgili yapılabilecek ortak çalışmalar için kurulmuş uluslararası bir ağ) statik bir in vitro sindirim modelini standartlaştıran bir protokol yayınlanmıştır [8].

Çalışma kapsamında yüksek B_{12} vitamin kaynağı olan kuzu karaciğeri kurutularak toz haline getirilmiş ve sert jelatin kapsül formunda potansiyel B_{12} vitamini gıda takviyesi olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda kuzu karaciğeri tozundan elde edilen sert jelatin kapsül formundaki gıda takviyesinin B_{12} vitamin miktarı belirlenmiş ve B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği in vitro gastrointestinal yöntemle incelenmiştir. Ayrıca kuzu karaciğeri tozundan elde edilen sert jelatin kapsülün B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği ticari bir B_{12} vitamini gıda takviyesiyle karşılaştırılmıştır. Kurutulmuş karaciğer tozundan elde edilen B_{12} vitamini gıda takviye kapsülleri yurtdışı pazarında mevcut olup ülkemizde satışı bulunmamaktadır. Kurutulmuş kuzu karaciğeri tozundan sert jelatin kapsül formunda B_{12} vitamini gıda takviyesi üretimi ile ülkemizdeki açığın giderilmesi bu çalışmanın hedefleri arasındadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kuzu Karaciğeri

Sakatat kavramı ile ilgili olarak çok fazla tanım yer almamakla birlikte tanımlanacak olursa "hayvanın kas ve kemik dışındaki yenebilen iç organları ve bağırsakları olarak" tanımlanmaktadır. Hayvanın iç organları ve dış kısımlarına sakatat adı verilir. Sakatat bir hayvanın canlı ağırlığının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır [9]. Bir iç organ olan karaciğer de sakatat türü arasında yer almaktadır. Karaciğer sadece yüksek dozda demir ve A vitamini sağlamakla kalmaz, aynı zamanda B vitamini, fosfor ve magnezyum kaynağıdır. Karaciğer, en önemli B_{12} vitamini kaynağıdır. A vitamini ve folat, yağsız kas etinden daha fazla oranda karaciğerde bulunmaktadır [10]. Ciğerde bulunan vitamin (A, B_2, C vitaminleri), mineral (iz element selenyum) ve diğer besin içerikleri süt, yumurta, et, balık ve diğer gıdalardan daha yüksektir. Kuzu karaciğerinde bulunan besinler, insan biyokimyasal metabolizmasında yer alan ve vücut metabolizmasını hızlandıran, görsel yorgunluğu gideren ve vücudun bağışıklığını artıran birçok enzim ve koenzimin bileşenleridir [11].

Kuzu karaciğerinin vitamin, besin ve minarel değerleri Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. 100 g kuzu karaciğerinin vitamin, mineral ve besin değerleri [12]

Besin Değerleri	**Kuzu Karaciğeri**
Protein (g)	21,4
Yağ (g)	7,5
Doymuş yağ (g)	2,2
Uzun zincirli omega-3 yağ (mg)	361
Kolestrol (mg)	433
B_1 vitamini (mg)	0,24
B_2 vitamini (mg)	2,80
B_3 vitamini (mg)	10,9
Folik asit (µg)	230
Vitamin B_{12} (µg)	**90**
Retinol Eşdeğerleri (µg)	31400
Çinko (mg)	4,3
Demir (mg)	9,5
Magnezyum (mg)	19
Sodyum (mg)	67
Potasyum (mg)	300

2.1.1. Kuzu Karaciğeri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Hayvan sakatatlarının içerisindeki mikro ve makro elementlerin karşılaştırılmasının amaçlandığı bir çalışmada organik üretim koşullarında yetiştirilmiş 20 buzağı, 20 sığır ve 20 kuzu deney malzemesi olarak kullanılmıştır. Kuzunun karaciğerinde protein değeri %20,4, sığır karaciğerinde %20,3 oranında yüksek protein değerine rastlanılmıştır. Kuzu karaciğerinde makro elementlerden kalsiyum (Ca) 7 mg/100 g, fosfor (P) 365 mg/100 g, sodyum (Na) 71 mg/100 g, potasyum (K) 312 mg/100 g, magnezyum 19 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Ayrıca mikro elemetlerinin de incelendiği çalışmada kuzu karaciğerinde demir (Fe) 7,25 mg/100 g, çinko (Zn) 4,55 mg/100 g, bakır (Cu) 6,88 mg/100 g, manganez (Mn) 0,182 mg/100 g, selenyum (Se) 82 µg/100 g olarak belirlenmiştir [13].

Çiğ kuzu ve koyun sakatatlarının trombojenite ve aterojenite indeksleri ve yağ asitleri profilinin incelendiği bir çalışmada kuzu karaciğerinde çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) 0,477 g/100 g, tekli doymamış yağ asidi (MUFA) 2,870 g/100 g, omega-6 yağ asidi 0,427 g/100 g, omega-3 yağ asidi 0,050 g/100 g olarak belirlenmiştir [14].

Yeni Zelanda sığır ve kuzularından elde edilen pişmiş ve pişmemiş yağsız et, yenilebilir sakatat ve yağ dokusunun trans yağ asidi içeriğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada pişmiş karaciğerin palmitelaidik asit (C16:1 t9) ve trans-vaksenik asit (C18:1 c9 t11), rumenik asit (C18:2 c9 t11) konsantrasyonunun pişmemiş karaciğere göre düşük, ancak eladik asit (C18:1 t9) konsantrasyonunun yüksek olduğu belirlenmiştir. Hem pişmiş hem de pişmemiş karaciğerde ise linolelaidik asit (C18:2 t9 t12) ve konjuge linoleik asit (C18:2 t10 c12) tespit edilememiştir [15].

Güney Afrika'da yetiştirilen serbest dolaşan merino ve dorper ırkı koçlardan elde edilen pişmiş sakatatın besin değerinin incelendiği bir çalışmada Dorper ırkı karaciğerinin Merinos ırkı karaciğerinden daha yüksek valin, tirozin, izolösin, fenilalanin ve lösin seviyelerine sahip olduğu belirlenmiştir. Merino ırkı karaciğerinin protein değeri (20,9 g/100 g) diğer sakatlarla karşılaştırıldığında en yüksek protein değerine sahiptir. Tekli doymamış yağ asiti (PUFA) değeri %24 olarak en yüksek Dorper ırkı karaciğerinde tespit edilmiştir [16].

Seçilmiş Güney Afrika kuzu ve koyun sakatatlarının besin içeriğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada çiğ kuzu karaciğeri protein ve yağ içerikleri sırasıyla 18,5 mg/100 g ve 8,90 mg/100 g olarak mineral içeriği ise kalsiyum 5,50 mg/100 g, fosfor 349 mg/100 g, magnesyum 21,2 mg/100 g, demir 5,11 mg/100 g, manganez 0,15 mg/100 g, çinko 3,02 mg/100 g, potasyum 310 mg/100 g ve sodyum 66,8 mg/100 g olarak bulunmuştur [17].

2.2. B_{12} Vitamini (Kobalamin)

2.2.1. B_{12} Vitamini Tanımı ve Tarihçesi

Eksikliği ilk kez 1962 yılında Jadhav ve arkadaşları tarafından tanımlanan vitamin B_{12} bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve birçok türevi bulunan suda eriyen, kırmızı renkli bir vitamin olarak bilinmektedir [18].

Kobalamin olarak da adlandırılan bu vitamin hayvansal kaynaklı besinlerde ve zenginleştirilmiş ürünlerde bulunan vücut için önemli bir vitamindir [19].

Tüm vitaminler arasında hem en büyük hem de kompleks yapısıyla, küçük dozlarda bile güçlü etkiye sahip olması açısından, en güçlü etkinliğe sahip vitamin olarak kabul görmektedir [20].

B_{12} vitamininin izolasyonu ve karakterizasyonu 19. yüzyılın sonlarında başlamış ve keşfedilme yolunda iki Nobel ödülünü müjdelemiştir. 1855'te pernisiyöz anemiyi ilk gözlemleyen bilim adamı Dr. Thomas Addison olmuştur. Addison, 1855 yılında "idiopatik anemiyi" tanımlamış ve London Guy's Hospital'de bulunan 11 hasta ile ilgili "kan kaybı, ishal, renk değişikliği, guatrı, kötü huylu tümör, karaciğer ve böbrek hastalığı, purpurası olmayan anemi" olarak gözlemini belirtmiştir. O dönemde hastalığın nedeni ve tedavisi bilinmediğinden "sinsi ve ölümcül anemi" olarak tanımlanmış ve 1872 yılında Alman bilim adamı Anton Biermer hastalığı "ilerleyici pernisiyöz anemi" olarak tanımlamıştır. Pernisiyöz anemi hastalığı günümüzde "Addison-Biermer Hastalığı" veya "Biermer Hastalığı" olarak da bilinmektedir [21].

Pernisiyöz anemi için ilk tedavi, köpeklerde anemi üzerine çalışan George Whipple tarafından uygulanmıştır. Whipple, kan kaybının köpekler üzerindeki etkilerini incelemiş ve beslenmenin anemi üzerindeki etkilerini araştırmış ve kansız kalan köpekleri özel bir diyetle beslemiş ve köpeklerdeki iyileşmeleri kaydetmiştir. Karaciğer tüketiminin pernisiyöz anemi üzerindeki etkilerini araştırmaya devam etmiş ve 1920 tarihinde karaciğer yemenin pernisiyöz anemi hastaları üzerinde nasıl yararlı etkileri olduğuna dair bir makale yayınlamıştır [22].

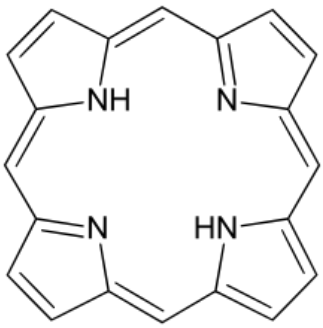
1926' da George Richards Minot ve William Parry Murphy, birkaç yıl önce George Whipple tarafından köpekler üzerinde yapılan çalışmada olduğu gibi hafif pişmiş karaciğer içeren özel bir diyetin pernisiyöz anemiden başarılı bir şekilde koruyabildiğini ortaya koymuştur. Whipple, Minot ve Murphy birlikte tıbbi katkılarından dolayı 1934'te Nobel Ödülü'nü almışlardır [23].

Bir kimyager olan Edwin Cohn, 1928 yılında karaciğerin kendisinden 50-100 kat daha güçlü bir karaciğer ekstraktı geliştirmiştir. Geliştirilen ekstrakt enjekte edilebilmekte ve bu gelişme de daha önce uygulanan büyük miktarlarda karaciğer yeme tedavisine göre büyük bir gelişmeydi. 1948 yılında ise kimyagerler Karl Folkers ve Alexander Todd, karaciğer ekstraktından B_{12} vitamini adını verdikleri aktif bileşeni izole etmeyi başarmışlardır. B_{12} vitamininin yapısı 1953 yılında Dorothy Hodgkin tarafından belirlenmiş ve 1964'te ise Dorothy Hodgkin, B_{12} vitamininin kimyasal yapısını belirlemek için X-ışını kristalografisini kullanan öncü çalışmasıyla Nobel Ödülü kazanmıştır. 1950'lerin sonunda yeni üretim yöntemlerinin geliştirilmiştir. O zamandan beri günümüze kadar olan süreçte artık bakteriler büyük miktarlarda B_{12} vitamini üretmede kullanılmakta ve pernisiyöz anemi kolayca teşhis edilebilmektedir. Artık bir zamanlar olduğu gibi pernisiyoz anemi ölümcül bir hastalık değil ve B_{12} vitamini enjeksiyonları ile tedavisi mümkündür [23, 24].

2.2.2. Vitamin B_{12}'nin Molekül Yapısı ve Özellikleri

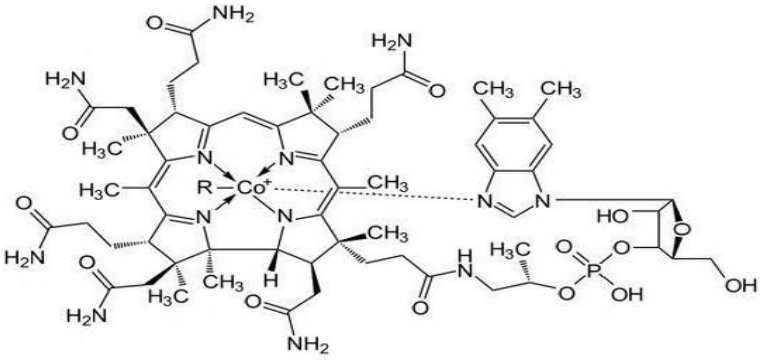
B_{12} vitaminin yapısında kobalt bulunduğu için kobalamin adı da verilmektedir. Kobalamin, dört ekvatoral nitrojen atomuna koordine edilmiş bir kobalt atomu ile bir tetrapirrolik korrinik halkadan oluşan organometalik bir kofaktördür [25].

Korrin halkası çekirdek kısmıdır. Bu yapı hemoglobinin yapısında bulunan porfirin halka yapısıyla benzerlik göstermektedir. Hemoglobinin merkezinde demir bulunurken vitamin B_{12}'de ise iki korrin halkası arasında kobalt atomu bulunmaktadır [26]. Korrin halka yapısı Şekil 2.1.'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Korrin halkası

B_{12} vitaminin molekül yapısında bir (R) grubu bulunur. Vitamin B_{12} isimlendirilmesi bu gruba göre yapılır. Bu grubu olmayan kısım kobalamin olarak isimlendirilir. Kobalamin kelimesi vitamin B_{12} ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır [26]. Şekil 2.2.'de Vitamin B_{12} molekülünün molekül yapısı verilmiştir.



Şekil 2.2. B_{12} vitamini molekül yapısı

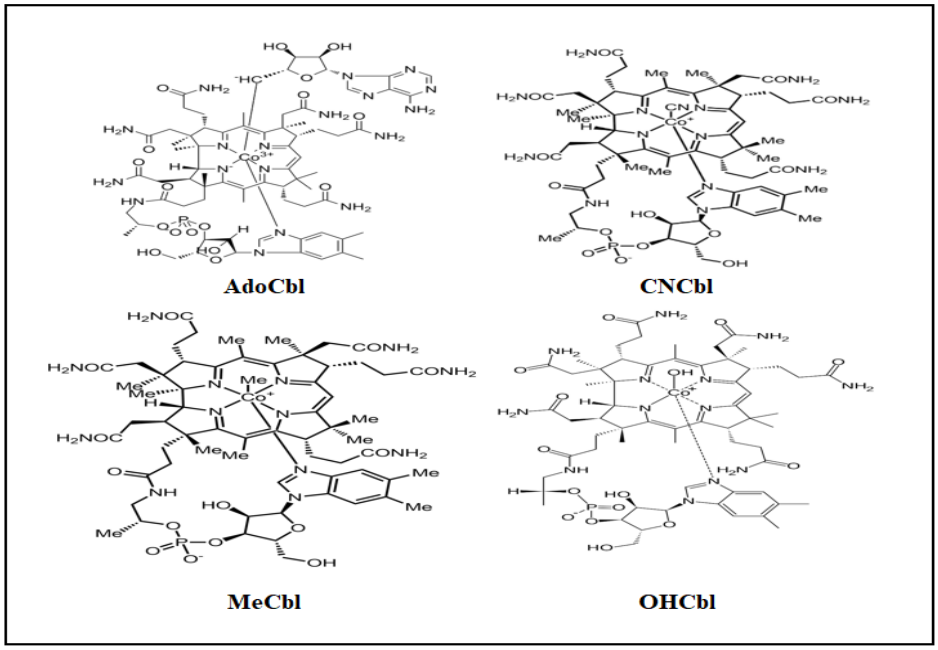
Vitamin B_{12} yapısında bulunan R grubu siyanid (CN) grubu ise siyanokobalamin, 5'-deoksiadenozin grubu ise deoksiadenozilkobalamin, hidroksil grubu (OH-) içeriyorsa hidroksikobalamin, glutatyonil (GS) grubu ise glutatyonilkobalamin, metil grubu (CH_3) ise metilkobalamin olarak isimlendirilmektedir [27].

Gıdalarda bulunan kobalaminin ana doğal formları, hidroksokobalamin, 5-deoksiadenozilkobalamin, metilkobalamin ve siyanokobalamindir [28].

Metabolizma işlevlerinde koenzim olarak görev alan metilkobalamin ve deoksiadenozilkobalamindir [2]. Siyanokobalamin ve hidroksikobalamin sitoplazmada metilkoabalamine, mitokondride ise adenozilkobalamine dönüşürler [29].

Siyanokobalamin ilk bulunan B_{12} vitamin türevi olmakla birlikte vücuttaki sıvılarda ve vücut hücrelerinde çok az bulunur. Kararlı bir bileşik olması nedeniyle ilaç sanayinde kullanılmaktadır [20]. CN-Cbl formundaki B_{12} vitamini, birçok gıdaya takviye olarak eklenmektedir [30]. Siyanokobalamin, diğer formlara göre ışığa daha az duyarlı olduğu için daha kararlıdır [28].

Vücutta en fazla bulunan B_{12} vitamin türevi Hidroksikobalamindir. Adenozilkobalaminin ise hücrelerde aktif koenzim görevi vardır. Kan plazmasının B_{12} vitamininin %70 'i MeCbl türevi içermektedir [20]. Hidroksikobalamin, siyanokobalamin, metilkobalamin ve adenozilkobalamine ait vitamin B_{12} formlarının molekül yapısı aşağıda Şekil 2.3.'te verilmiştir.



Şekil 2.3. B_{12} vitamini formlarının molekül yapısı

2.2.3. B_{12} Vitamini İçeren Besinsel Kaynaklar

Vitamin B_{12} sentezi ökaryotik hücrelerde gerçekleşir ve sadece belirli bakterilerde sentezlenmektedir. Bu bakteriler B_{12} vitamin sentezini anaerobik veya aerobik yol ile gerçekleştirmektedir. Sentezi gerçekleştiren anaerobik bakteriler; *Bacillus megaterium, Pseudomonas shermanii ve Salmonella typhimurium*, aerobik bakteri ise; *Pseudomonas denitrificans'*dır. İnsanlarda ilgili genler bulunmadığı için vitamin B_{12} sentezi gerçekleşememektedir.

Bağırsak bakterileri aracılığıyla vitamin B_{12} sentezi olsa da bu sentez emilim bölgesinin dışında gerçekleşir ve aynı zamanda yeterli düzeyde olmadığı için ihtiyaç duyulan miktar karşılanamamaktadır. Dolayısıyla vitamin B_{12}'nin besinler yoluyla dışarıdan alınması gerekir yani B_{12} vitamini esansiyel bir vitamindir [31].

B_{12} vitamininin ana besin kaynağı et, karaciğer, yumurta, süt, balık ve kabuklu deniz ürünleri gibi hayvansal besinlerdir [32, 33]. Bazı yenilebilir algler ve fermente edilmiş soya fasulyesi (tempe) gibi bazı bitkisel gıdalar da bir miktar B_{12} içermektedir [34]. Bazı gıdaların içerdiği B_{12} vitamin miktarı Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Son zamanlarda yapılan birkaç yayın, bazı bitki türlerinin (*Hippophae rhamnoides, Elymus* spp. ve *Inula helenium*) de B_{12} vitamini içerdiğini ileri sürmüştür ancak sadece hayvansal kaynaklı gıdalar vücudun gereksinimlerini karşılamak için doğal olarak yeterli miktarda B_{12} vitamini sunmaktadır. Bu hayvanların işkembelerinde B_{12} vitamini sentezleyen doğal bakteri popülasyonları nedeniyle en iyi kaynaklar geviş getiren hayvanların et ve sütleridir [34, 35]. Midede sentezlenen B_{12} bağırsakta emilir, kana geçer ve hayvanın karaciğer ve kaslarında depolanır veya süte salgılanır [36].

B_{12} vitamini hayvansal gıdalarda, en fazla karaciğer ve böbrekte bulunmaktadır ve bu gıdaların tüketilmesi B_{12} vitamini eksikliğinin önlenmesinde önemlidir. Hayvansal gıdaların diğerlerinde, et ve süt ürünlerinde daha az miktarlarda B_{12} vitamini bulunur. Baklagiller ise köklerinde simbiyotik şekilde yaşayan toprak bakterileri tarafından sentezlenen B_{12} vitaminini depolar [2].

Besinlerin ısıtılması sonucunda besinlerdeki B_{12} vitamini çok fazla kayba uğramamaktadır. Gıdaların işlenmesi, depolanması ve konservelenmesi gibi işlemlerle kayıp çok daha fazla olmaktadır. Besinlerdeki vitamin B_{12} kayıpları çoğunlukla depolanma, ışık ve ısıya maruz kalma gibi durumlardan olur. Bu oran %30 ile %50 arasında değişiklik göstermektedir [37].

Tablo 2.2. Bazı gıdaların içerdiği B_{12} vitamin miktarı [36, 38]

Gıda Kaynağı	**Vitamin B_{12} (µg)/100 g**
Kuzu karaciğeri	90
Sığır karaciğeri	52,8
Tavuk karaciğeri	44,4
Sığır eti	1,0-2,0
Tavuk eti	<0,5
Koyun sütü	0,71
İnek sütü	0,35
Keçi sütü	0,06
Anne sütü	0,04
Yumurta	0,9
Deniz Tarağı	96,60
İstiridye	18,70
Yayın Balığı	2,80
Taze Peynir	1,20
Tempe	0,7-8
Kurutulmuş Yeşil Su Yosunu	63,6 (kuru ağ.)
Mor Su Yosunu	32,3 (kuru ağ.)

2.2.4. B_{12} Vitamini Eksikliği ve Gereksinimi

EAT-Lancet komisyonu 2050 yılına kadar sağlıklı beslenmeye geçişin önerilmesiyle yakın zamanda kırmızı et ve şeker gibi gıdaların tüketiminin en az %50 oranında azalacağını meyve, sebze, kabuklu yemiş ve bakliyat tüketiminin ise küresel olarak iki katına çıkacağını öne sürmektedir. Bitkisel kaynaklı gıdalar açısından zengin ve daha az hayvansal gıda içeren bir diyet hem sağlık hem çevresel fayda sağlamaktadır ancak özellikle, hayvansal kaynaklı düşük bir diyet B_{12} vitamini eksikliği riskini de artırmaktadır [39].

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) yetişkinler için günlük beslenme ile 4 µg B_{12} vitamini alımını tavsiye etmektedir. Bu miktar birçok Avrupa Birliği ülkesindeki yetişkinlerde 4,2 ile 8,6 µg/gün aralığında değişmektedir [28].

Gebelik ve laktasyon sürecinde fetal dokularda kobalamin birikimi ve kobalaminin anne sütüne geçmesi nedeniyle yeterli miktarın daha fazla olması tavsiye edilmektedir [40].

Tablo 2.3.'de yaş gruplarına göre günlük tavsiye edilen B_{12} vitamin miktarı verilmiştir.

Tablo 2.3. Günlük tavsiye edilen B_{12} vitamin alım miktarı [41]

Grup	**µg/gün**
Yenidoğan ve Çocuklar	
0-6 ay	0,4
7-12 ay	0.7
1-3 yaş	0.9
4-6 yaş	1,2
7-9 yaş	1,8
Adölesanlar	
10-18 yaş	2,4
Yetişkinler	
19-65 yaş	2,4
65+ yaş	2,4
Hamilelik	2,6
Laktasyon Dönemi	2,8

Gelişmiş ülkelerde B_{12} vitamini alımı tavsiye edilen miktarı karşılasada, Vitamin B_{12} eksikliği sık karşılaşılan sağlık problemidir [42]. Vitamin B_{12} eksikliği birçok farklı ülkelerde %3 orandan %40 orana kadar değişen sıklıkta karşılaşılan global düzeyde bir toplum sağlığı sorunu olarak değerlendirilmektedir [43]. Ülkemizde ise bu eksiklik yaklaşık %30 civarıdır [31]. B_{12} vitamini eksikliği kadınlarda daha fazla görülmekte olup bu oran erkeklere göre üç kattır [27].

B_{12} vitamini eksikliği pernisyöz anemi, gastrik ve intestinal hastalıklar, katı vejeteryan beslenme sonucu ve metformin, proton pompa inhibitörleri gibi ilaç kullanımına bağlı olarak gelişebilmektedir [44].

B_{12} Vitamin eksikliği erişkinlerde ve özellikle yaşlı hastalarda (%30-40) daha sık görülmektedir. Yaşlı bireylerde B_{12} vitaminini bağlayan protein emiliminin

azalmasıyla ve atrofik gastrit olasılığının artması sonucu B_{12} vitaminin emilim probleminin görülme sıklığı artmaktadır. Atrofik gastrit sonucunda gastrik mukozada az miktarda pepsin-asit salgılanması gerçekleşir bu nedenle alınan gıdalardan serbest hale geçen B_{12} vitamini azalmaktadır. Buna ilave olarak atrofik gastrit durumunda; midede hidroklorik asit üretiminin yeterli olmaması neticesinde hipoklorhidri durumu oluşmaktadır. Bu durum sonucunda midede bakteriler çoğalmakta ve bu bakteriler de B_{12} vitaminini kullanmaktadır [43].

B_{12} vitamin eksikliği ayrıca anemi hastalığı olarak vejetaryenlerde ve mide-bağırsak hastalığı bulunan bireylerde de görülmekte olup tedavi amaçlı olarak mide ilaçları kullanan ve midesi ameliyat ile alınan kişilerde eksikliğine sık rastlanmaktadır. Ayrıca alkol kullanımı ve tedavi amaçlı mide koruyucu ilacının kullanılması metabolizmada B_{12} vitamin emilimini azaltır ve böylece eksikliğine sebep olmaktadır [45].

Vitamin B_{12} eksikliğine bağlı semptomlar bazen birkaç yıl boyunca sinsice gelişmekte ve diğer birçok yaygın rahatsızlıkla örtüşmektedir [46]. Vücuttaki B_{12} eksikliğine engel olunmazsa sinir sisteminde kalıcı hasarlar bırakabilmektedir [1]. DNA sentezinde ve nörolojik işlevlerde önemli rol oynayan vitamin B_{12} ‘nin eksikliğinde hematolojik, nörolojik ve gastrointestinal belirtiler ortaya çıkabilmektedir [37]. Ayrıca son yıllarda hiperhomosisteinemi ve aterosklerozun başlamasında rol aldığı da tanımlanmıştır [4].

Yapılan çalışmalara göre 200 pg/mL altı eksiklik olarak kabul edilir. Eksikliği durumunda başlangıçta nörolojik semptonlarla karşılaşırken aneminin gelişmesi 3 yılı bulabilmektedir. Nörolojik açıdan davranış bozukluğu, halsizlik, ataksi ve parestezi gibi semptomlarla seyredebilen klinik tablo ortaya çıkabilmektedir [44].

Vücutta B_{12} vitamini eksikliği olması halinde kişide karşılaşılan belirtiler kansızlık, yorgunluk, bacaklarda his kaybı, kabızlık, halsizlik durumu, iştah ve kilo kaybı, kulakta çınlama şeklindedir [45].

Bir yetişkin vücudunda toplam vitamin B_{12} deposu 3 ile 5 mg'dır [47]. Vücudumuzda bulunan kobalaminin %50'si karaciğerde depolanmaktadır. Sağlıklı yetişkinlerde karaciğer dokusunun ortalama B_{12} içeriği dokunun yaklaşık 1,0 µg/g'dır. Böbreklerde de önemli miktarda kobalamin bulunmaktadır [40]. Karaciğerde depolanan vitamin B_{12}'nin bir kısmı safra ile atılır ve enterohepatik dolaşıma girer [48]. Tablo 2.4.'de B_{12} vitamini emilimini etkileyen durum-neden ilişkisi verilmiştir.

Tablo 2.4. B_{12} vitaminin emilimini engelleyen durumlar [49]

Durum	Neden
Beslenme ile eksim alınması	Hayvansal gıdaların tüketilmemesi
Gıda proteini sindirim azlığı	Mide asitinin az salgılanması
İnstrektek faktör azlığı	Pernisiyöz anemi, gastrektomi
R proteini sindirim azlığı	Pankreasa bağlı hastalıklar
Emilim bozukluğu	Çölyak ve crohn hastalığının olması
Bağırsak emiliminin azalması	Bakteriyal artış, parazitoz
Kalıtsal hastalıklar	Transkobalaminin eksik olması
Mukoza veya reseptör problemleri	Metformin, kolşisin gibi ilaçlara bağlı

2.2.5. B_{12} Vitamininin Fizyolojik Önemi ve Fonksiyonları

B_{12} vitamini kırmızı kan hücrelerinin oluşumunda, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında, DNA sentezi ve merkezi sinir sisteminin korunması için kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, uygun beyin gelişimi için gerekli olan önemli bir mikro besin maddesidir [28, 50]. B_{12} vitamini, uykudan uyanma döngüsünün iyileştirilmesi ve uyku ritimlerinin düzenlenmesi ile yakından ilişkilidir, böylece uyku kalitesini iyileştirmektedir [51].

B_{12} vitamini ayrıca insanda hücre içinde iki önemli reaksiyonda koenzim olarak görev almaktadır;

Birincisi; Metilkobalamin, homosisteinin metionin sentaz enzimi ile metionine dönüştürülmesinde koenzim olarak rol oynar. DNA sentezlenmesi için gerekli olan metionin ve folik asitin aktif şekli olan tetrahidrofolik asit üretimi bu reaksiyonla gerçekleşir. Vitamin B_{12}'nin olmaması durumunda RNA sentezi devam eder ve böylece hücreler ve özellikle hücre çekirdekleri büyüyebilir ancak bölünmesi gerçekleşmez çünkü DNA replike olmaz [52, 53].

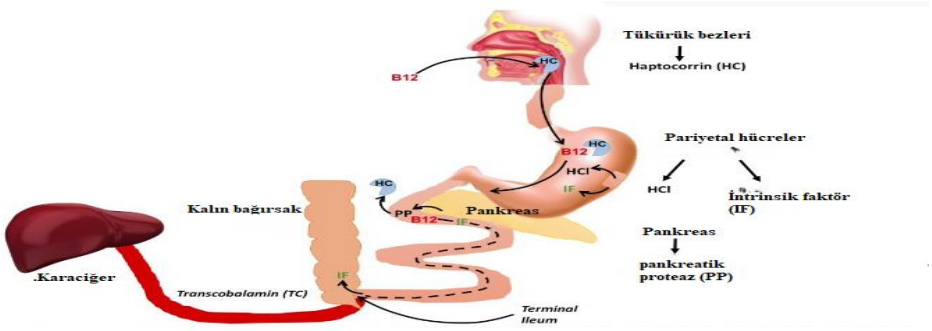
İkinicisi; Adenosiyanokobalamin, metilmalonil CoA tarafından yağ asitlerinin yıkılmasında görev alır. Vitamin B_{12} sinir hücrelerinde myelinleşme ve bu tabakanın korunması için gerekmektedir [53].

2.2.6. Vitamin B_{12} (Kobalamin) Emilimi ve Dokuya Taşınması

Vitamin B_{12} üç taşıma proteini, **intrinsik faktör (IF)**, **haptokorrin (HC)** ve **transkobalamin (TC)** ve bunların ilgili membran reseptörlerini içeren karmaşık mekanizmalar tarafından taşınmaktadır [48]. B_{12} vitaminin emilim şeması Şekil 2.4.'de verilmiştir.

Kompleks bir emilim süreci olan B_{12} vitamini gıdalarda proteinlere bağlanır. Kobalaminin gıda proteinlerinden ayrılması, midede bulunan pepsin ve hidroklorik asit ile sağlanır. Gıdalardan salınan kobalamin ilk önce mide ve tükürük bezleri tarafından salgılanan bir glikoprotein olan **haptokorrine (R bağlayıcı)** bağlanır [54].

Bu glikoproteinler, B_{12} vitaminini midedeki kimyasal denatürasyondan korur. Haptokorrine bağlı olan kobalamin mideden duodenuma gelir. Duodenumda, pankreatik proteazların etkisiyle kobalamin haptokorrinden ayrılır ve midenin paryetal hücrelerinden salgılanan **intrinsik faktör (IF)**, kobalamini bağlar. İntrensek faktör B_{12}'ye midenin asidik ortamında bağlanamaz, bağırsakların alkali ortamında kolay bir şekilde sıkıca bağlanır. Asidik bir pH'ta intrinsik faktörün B_{12} vitamini için afinitesi düşükken, R-bağlayıcıları için afinitesi yüksektir. B_{12} vitamini-intrinsik faktör kompleksi daha sonra alt uca doğru ilerler [54]. IF-B_{12} vitamini kompleksi distal ileumda bulunan kübilin reseptörlerine bağlanır ve endositoz ile mukoza hücreleriden emilir sonrasında IF-B_{12} vitamini kompleksi ayrılır. Serbest hale geçen $B_{12,}$ taşıyıcı protein olan **transkobalamin I ve II'**ye (TC-I ve TC-II) bağlanır ve dolaşıma katılır [55].



Şekil 2.4. B_{12} vitamini emilim şeması

2.3. Takviye Edici Gıdalar

Uluslararası literatürde sıkça rastlanılan kısa ismiyle OTC (Over the Counter Drug) 'tezgâh üstü' ilaç anlamında olan ifade, reçetesiz olarak eczaneden veya sağlık ürünlerinin satıldığı marketlerden alınabilen ilaçlar olarak tanımlanmaktadır. Bu ürün gruplarında reçetesiz satışlar sorun olmamakla birlikte aynı zamanda bir sağlık uzmanının reçetesine ihtiyaç duyulmadan da satın alınabilmektedir. Destek amaçlı kullanılan vitaminlerin çoğu bu gruptadır. Ülkemizde ise daha çok 'Takviye Edici Gıdalar' veya 'Gıda Takviyeleri 'ifadesi ile satışı yapılan ürünler OTC kapsamında değerlendirilmektedir [56].

Ülkemizde takviye edici gıdalar, Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından 5996 sayılı kanun çerçevesinde oluşturulmuş Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliği'nde (Tebliğ No: 2013/49) "Normal beslenmeyi takviye etmek amacıyla, vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit gibi besin öğelerinin veya bunların dışında besleyici veya fizyolojik etkileri bulunan bitki, bitkisel ve hayvansal kaynaklı maddeler, biyoaktif maddeler ve benzeri maddelerin konsantre veya ekstraktlarının tek başına veya karışımlarının kapsül, tablet, pastil, tek kullanımlık toz paket, sıvı ampul, damlalıklı şişe ve diğer benzeri sıvı veya toz formlarda hazırlanarak günlük alım dozu belirlenmiş ürünler" olarak tanımlanmıştır [57].

1994 yılında ABD Senatosu tarafından kabul edilen "Besin Destekleri Sağlık ve Eğitim Yasası" ise gıda takviyelerini, beslenmeyi desteklemek amacıyla tüketilen bir veya daha fazla besin maddesi içeren kapsül, tablet, sıvı gibi formlara sahip ürünler

olarak tanımlamaktadır. Ayrıca yasa; gıda takviyelerini, ilaç yerine ‘gıdalar’ tanımı altında kategorize etmiştir [58].

Takviye edici gıdalar, yeteri miktarda alınamayan besin öğelerinin tablet, kapsül ve sıvı formlarda alınmasıdır. Takviye edici gıdalar, beslenmenin yanında takviye amacıyla kullanılsa da yeterli ve dengeli bir beslenme düzenine sahip kişiler takviye edici gıdalara ihtiyaç duymamaktadır [59].

Gıda takviyeleri, diyete destek amaçlı kullanılan ürünler olup herhangi bir hastalığı önlemek, tanısını koymak veya tedavi etmek amacıyla üretilmemektedir [60].

Gıda takviyeleri;

- Beslenme ile yeteri miktarda karşılayamadığımız besin öğelerini karşılamak,
- Bazı hastalıklar ve bu hastalıklarla ilişkili olarak normal düzeyin üzerinde veya bazı gıda grubunu tüketemediğimizde ihtiyaç duyulan besin öğelerini takviye etmek amacıyla,
- Yoğunlukla bitkisel bazlı beslenen kişilerde (vejetaryenler, veganlar gibi) eksik kalan besin öğelerini takviye etmek için kullanılmaktadır [61].

Takviye edici gıda ürünleri dünyada yaygın olarak kullanılmakta olup bu durum ülkemiz için de geçerlidir. Takviye edici gıdaların kullanım oranına bakıldığında eğitim düzeyi yüksek kişiler, diyet ve spor yapanlar, çocuklar ve yaşlılarda oranın yüksek olduğu görülmektedir [59].

Ülkemizde takviye edici gıda sektörü giderek büyümekte olup bunun bir sonucu olarak da hem ulusal ve hemde uluslararası gıda takviye firmaları Türk pazarına gün geçtikçe artan sayıda gelişmiş takviye edici gıda ürünlerini sunmaktadırlar [62]. COVID-19 pandemi sürecininde etkisiyle insanların beslenme ve yaşam tarzı değişmiş ve bu durum büyümesini devam ettiren takviye edici gıda

pazarının hızlanarak artışına yol açmıştır. Ayrıca COVID-19 hastalığı için önlem almak ve bağışıklık sistemini güçlendirmek isteğiyle toplumda takviye edici gıda kullanımı yaygınlaşmış bu süreç takviye edici gıda pazarının hızla büyümesini sağlamıştır [63].

Küresel gıda takviye pazar büyüklüğünün tahmini olarak yıllık %7,4 bileşik büyüme oranıyla, 2023'te 167,5 milyar ABD dolarından 2028'de 239,4 milyar ABD dolarına çıkması beklenmektedir. Geriatrik nüfusun artması ve kişiselleştirilmiş beslenmeye artan odaklanma gıda takviye pazarının büyümesinde etkili olan başlıca faktörler arasındadır [64]. Bölgesel çapta uluslararası takviye edici gıda pazarına hakimiyet Asya Pasifik, Avrupa, Kuzey Amerika ve diğerleri şeklindedir. Coğrafi olarak ise Çin, ABD ve Hindistanın hakimiyet kurduğu görülmektedir. Özellikle Asya Pasifikte gıda pazardaki en güçlü iki ülke Çin ve Hindistan'dır [65].

Türkiye açısından değerlendirdiğimizde ise Gıda Takviyesi ve Beslenme Derneği (GTBD) Yönetim Kurulu Başkanı Samet Serttaş, gıda takviyesi vitamin pazarının büyüklüğünün, 200 milyon dolar düzeyinde olduğunu ve bu miktarın ülkemizde gelecek on yılda 5 kat artacağını bildirmiştir [66].

Gıda Takviyesi ve Beslenme Derneği, 2022 yılı temmuz ayında 6.'sı gerçekleştirilen "Gıda Takviyesi Kullanımı ve Beslenme Alışkanlıkları Ölçümü" araştırmasına göre, katılımcılara "gıda takviyesi" denilince aklına ilk gelen sorulmuş, cevaplar arasında katılımcılar üst sıralarda vitaminler demiştir. Bu vitaminler sırasıyla B_{12} (%59), C vitamini (%44) ve D vitamini (%39) 'dir. Yine araştırmaya göre, ileri yaşta olan katılımcılar genç yaştakilere göre daha çok gıda takviyesi kullanırken, katılımcıların %27'sinin B_{12} vitamini, %24'ünün D vitamini, %17'sinin multivitamin ve %17'sinin C vitamini kullandığı görülmüştür [67].

2.3.1. Sert Jelatin Kapsüller

Kapsüller, tek dozluk katı formdaki ilaçlardır ve etkin maddenin bir kapsül içerisine doldurularak üretilirler. Kapsüllemedeki temel gaye, etkin maddenin tat ve kokusunu maskelenmesidir [68].

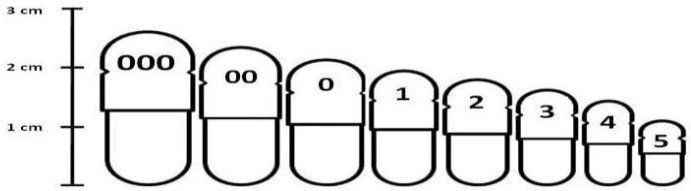
Kapsül, eski Mısırlılar tarafından bilinen, ilaç tarihindeki en eski dozaj formlarından biridir. En eski Avrupa referansı, gut hastalığından muzdarip insanlar için reçete edilen saf terebentinin tatsız tadını örtmek amacıyla oval şekilli kapsüller üretmiş Viyanalı eczacı de Pauli'den bahseden 1730 tarihli bir seyahatnameden söz etmektedir [69].

Kapsül sözcüğünün orjinali küçük kutu veya kap anlamına gelen Latince capsula sözcüğünden gelmektedir. Kapsül dozaj hali, pazardak toplam dozaj formlarının %10'undan fazlasını oluşturmaktadır [70]. Kapsül dozaj formları, tozları, granülleri, sıvıları ve yarı katıları kapsüllemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapsüller, tipik olarak sulu olmayan sıvı ve yarı katı formülasyonları kapsüllemek için kullanılan yumuşak kabuklu kapsüller (yumuşak jeller) veya hem katı hem de susuz formülasyonları kapsüllemek için kullanılan sert kabuklu kapsüller olarak sınıflandırılmaktadır [71].

Jelatin kapsül, 19. yüzyılın başlarında, ağızdan alındığında son derece mide bulandırıcı olan kopaiba oleoresin gibi birçok tıbbi maddenin kötü tadını maskeleme ihtiyacının bir sonucu olarak icat edilmiştir [72]. İlk jelatin kapsül patenti 1834 yılında eczacı Joseph Gérard Auguste Dublanc ve eczacılık öğrencisi François Achille Barnabé Mothès'e verilmiştir. 1837'de Dublanc ile iş birliğine son veren Mothès, jelatin kapsülün geliştirilmesi çalışmalarına ve kapsüllerin üretimi ve kullanımına ilişkin patentler almaya devam etmiştir [69]. Sert jelatin kapsül ise patenti 20 Ekim 1846'da alınan Parisli eczacı Jules Cesar Lehuby tarafından icat edilmiştir [72]. İlk sanayi ölçekli sert jelatin kapsül imalatını, Detroitli bir eczacı olan Hubel gerçekleştirmiştir [73].

Jelatin sert kapsül formunun temel maddesidir. Jelatin haricinde kullanılan diğer maddeler ise nişasta, selüloz türevleri, polivinil alkol/vinil asetat karışımlarıdır. Sert kapsüller kapak ve gövde olmak üzere iki parçadan oluşmakta ve kapsüllerin alt parçasının çapı üst parçasından daha dar, yüksekliği ise üst parçasından daha uzundur. Kapsül büyüklüğünün numaralandırılması hacimlerinin alabileceği distile su miktarına göre belirlenmektedir. Numaraların büyümesiyle kapsül hacimleri azalmaktadır [70].

Kapsüller çeşitli büyüklüklerde üretilmektedir. Normalde, sert jelatin kapsüller %13-16 düzeyinde nem içermektedir. Boyutları Şekil 2.5.'de verilen sert jelatin kapsüllerin 0 numaradan 5 numaraya kadar olmak üzere 8 farklı ebatta üretilmekte olup 000 en büyük, 5 ise en küçük numaradır. Yutulma probleminden ötürü 0 numaradan daha büyük kapsül üretilmez iken 5 numara kapsül ise otomatik dolum prosesinde zorluk çıkaracağından nadiren tercih edilmektedir [73].



Şekil 2.5. Kapsül boyutları [74]

2.4. Biyoyararlılık ve Biyoerişilebilirlik

Biyoyararlılık ve biyoerişilebilirlik terimleri birbirleri yerine kullanılan ve sıklıkla karıştırılan iki terimdir. Biyoaktivite ve biyoerişilebilirlik gibi iki ek terim, biyoyararlanım kapsamına girmektedir. 'Biyoaktivite' terimi, oluşturduğu tüm fizyolojik etkileri, yani bileşiğin sistemik dolaşıma nasıl ulaştığını, hedef hücreye nasıl taşındığını ve biyomoleküllerle nasıl etkileşime girdiğini kapsayan bir terimdir [75].

Biyoerişilebilirlik "besinlerin gıda veya gıda takviyesi formunda tüketilip tüketilmediğine bakmaksızın sindirilen besinlerin %100'ünün absorbe edilmeyeceği gerçeğini iletmek için kullanılan teknik bir terimdir" [76].

Diğer bir ifadeyle gıda matrisinden salınan gıda bileşeninin, bağırsak bariyerini geçerek bağırsakta kalan bileşenin ve gıdanın orijinal olarak içerdiği bileşenin oranı olarak ifade edilir. Gıda matrisinden salınımı gerçekleşmemiş bağırsak duvarından geçme özelliği olmayan gıda bileşenleri biyoerişilebilir değildir. Biyoyararlılık tanımı ise gıda matrisinden ayrılan gıda bileşeninin bağırsaklardan emilimi sonucu dokulara ulaşmasıdır. Gıda bileşininin biyoyararlı olması için biyoerişilebilir olması gerekmektedir [5].

2.4.1. Biyoerişilebilirliği Belirleme Yöntemleri

In vitro ve *in vivo* yöntemlerle biyoerişilebilirlik ve biyoyararlılık çalışmaları gerçekleştirilmektedir.

In vivo yöntem özellikle insan kan sıvısındaki ölçümlere dayanıp bu yöntemde biyoyararlanım konusunda kesin verilere ulaşılabilmektedir. Bu yöntem daha maliyetlidir ve daha çok zaman gerektirmektedir. Aynı zamanda *in vivo* çalışmalarındaki etik açıdan sınırlamaların olması bu yöntemin kullanım alanlarını sınırlandırmaktadır [77]. Beslenme bilimi alanında gıdaların sindirimini simüle etmek için *in vitro* yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır [78].

Bunlar: biyoerişilebilirlik için çözünürlük, diyaliz edilebilirlik ve gastrointestinal model ve biyoyararlanım için ise Caco-2 [54]. Bu yöntemler hızlıdır, güvenlidir ve *in vivo* yöntemlerdeki etik kısıtlamalara sahip değildir [6].

2.4.2. *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim Modeli

Son dönemde gastrointestinal şartların simüle edilmesi amacıyla; hızlı, güvenli ayrıca *in vivo* yöntem gibi etik kısıtlamalara sahip olmayan *in vitro* sindirim modeli dikkat çekmektedir [79]. *In vitro* sindirim modeli, statik ve dinamik model olarak sınıflandırılmaktadır. Statik modellerde sindirim ürünleri tüm süreç boyunca hareketsizdir. Dinamik modelde ise fiziksel ve mekanik süreçleri içermekte ve sindirim süreci boyunca oluşan değişiklikler haricinde farklı fizyolojik koşulların da simüle edildiği modellerdir [80].

Simüle edilmiş sindirim yöntemleri tipik olarak oral, gastrik ve ince bağırsak aşamalarını ve bazen de kalın bağırsak fermantasyonunu içermektedir. Bu yöntemler, diğer faktörlerin yanı sıra sindirim enzimlerini ve konsantrasyonlarını, pH'ını, sindirim süresini ve tuz konsantrasyonlarını dikkate alarak *in vivo* fizyolojik koşulları taklit etmeye çalışır [7].

İnsan gastrointestinal fizyolojisini simüle eden statik bir *in vitro* sindirim modelini standartlaştıran protokole göre;

Ağız Aşaması; Ağız aşaması için tükürük amilazı olsun veya olmasın simüle edilmiş tükürük sıvısı ile analiz edilen gıdanın 1:1 (w/w) oranında karıştırılması önerilmektedir. Eğer amilaz kullanılırsa gıdanın tükürük amilazına maruz kalması pH 7'de 2 dakika ile sınırlıdır. Seyreltmenin tutarlılığını sağlamak için gıdanın durumuna (sıvı veya katı) bakılmaksızın ağız aşaması tüm simüle sindirim prosedürlerine dahil edilmelidir [8].

Mide Aşaması ve İnce Bağırsak Aşaması; Oral bolus daha sonra simüle edilmiş mide sıvısı (SGF) ve mideye ait enzimleri (pepsin ve gastrik lipaz) ile 1:1 (v/v) oranında karıştırılır ve 2 saat boyunca pH 3'de çalkalama altında inkübe edilir. Gastrik kimus daha sonra simüle edilmiş simüle edilmiş bağırsak sıvısı (SIF), safra tuzları ve pankreatik enzimlerle (tripsin aktivitesine dayalı veya ayrı enzimler olarak pankreatin) 1:1 (v/v) oranında seyreltilir ve 2 saat daha pH 7'de inkübe edilir [8].

2.4.3. B_{12} Vitamini Biyoyararlanımı

B_{12} Vitamininin biyoyararlanımı alım miktarı ile birlikte değişmekte ve artan dozla azalmaktadır. Ayrıca alım miktarına ek olarak gıda matrisi B_{12} vitamini emilim oranını belirlemektedir. 1, 5, 10 ve 20 µg alım için yaklaşık emilim oranları sırasıyla %50, %20, %10 ve sadece %5'tir [81].

Bazı gıdaların B_{12} vitamini biyoyararlanımı Tablo 2.5.'de belirtilmiştir.

Tablo 2.5. Bazı gıdaların B_{12} vitamini biyoyararlanımı

Gıda	**B_{12} vitamin Miktarı (µg)**	**Biyoyararlanımı (%)**	**Kaynak**
Koyun Eti	0,9 3,0 5,1	56 – 77 76 – 89 40 – 63	[82]
Tavuk	0,6 1,3 1,9	65 63 61	[82]
Yumurta	1,3	9	[81]
	< 2	24 – 36	[82]
Kızarmış yumurta	1,1-1,4	9,2	[33]
Kaynamış Yumurta		8,9	
Alabalık	2,1 – 13,3	17-25	[82]
İnek Sütü	0,40	65	[81]
	0,25	65	[34]
Gökkuşağı Alabalığı	4,9	42	[81]
Yağsız Et	0,54 5,11	83 52	[83]
Karaciğer	0,5 38	49 4,5	[83]
Balık	2,1 4,1 9,2 13,3	42 38 42 30	[34, 83]

3. MATERYAL ve YÖNTEM

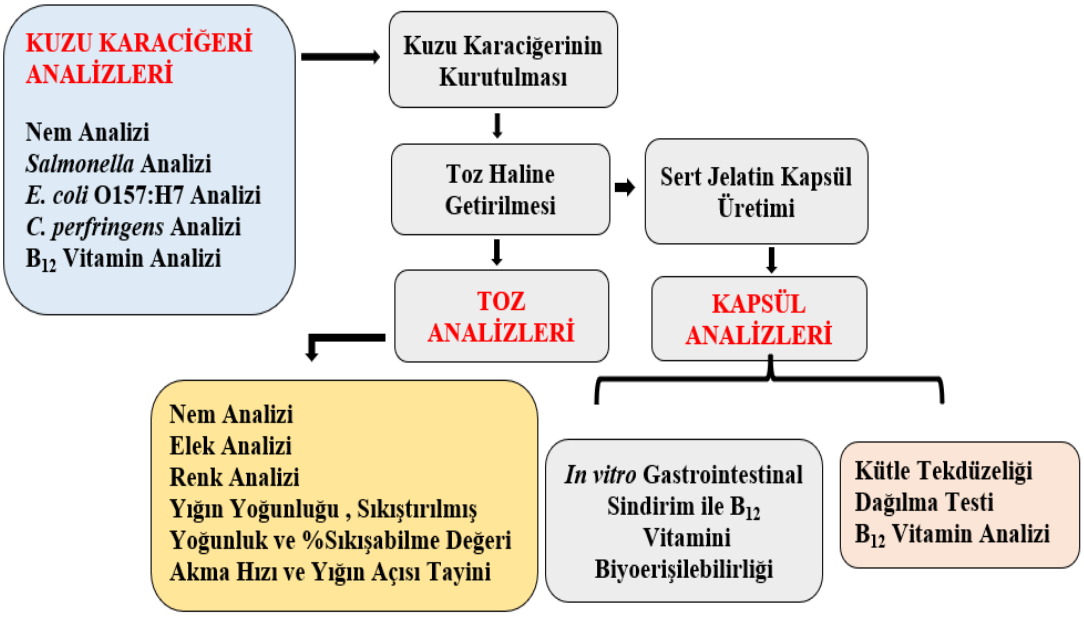
3.1. Materyal

Çalışma kapsamında 2023 yılı Ekim ayında (2,5 kg) ve Kasım ayında (2,5 kg) toplam 5 kg kuzu karaciğeri 2 tekerrür olacak şekilde Manisa ilinde yer alan lokal bir kasaptan temin edilmiştir. Alınan numuneler Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne getirilmiş, tüketime uygun olup olmadığı Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (2009)'nde belirtilen mikrobiyolojik analizler ile belirlendikten sonra kurutularak öğütülmüş ve toz haline getirilmiştir. Analiz için ayrılan kuzu karaciğeri ise steril numune kaplarında -86ºC'de muhafaza edilmiştir.

Kurutularak toz formuna dönüştürülen kuzu karaciğerinin kapsüllenmesinde kullanılacak sert jelatin kapsüller ise yerel bir firmadan temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

Çalışmaya ait akış şeması Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmaya ait akış şeması

3.2.1. Kuzu Karaciğerinde Yapılan Analizler

3.2.1.1. *Salmonella* Analizi

Stomacher poşeti (Isolab, 039.23.003, Almanya) içerisindeki 25 g kuzu karaciğeri üzerine steril haldeki 225 mL tamponlanmış peptonlu su (TPS, Merck, 107228, Darmstadt, Almanya) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenizat 37 ºC 18±2 saat sürede inkübe (Nüve, FN 500, Türkiye) edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürden 0,1 mL alınarak 10 mL Rappaport Vassiliadis Soy Broth (RVS, Merck, 107666, Darmstadt, Almanya) içeren tüplere inoküle edilmiş, 41,5 ºC'de 24±3 saat inkübe (Nüve, FN 500, Türkiye) edilmiştir. Sonrasında kültürden alınan 1–2 mL örnek cam tüpe aktarılmış, 15 dakika kaynar su banyosunda bekletilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulmuş ve buradan 160 µL alınmış, Singlepath® (Merck, 104140, Darmstadt, Almanya) *Salmonella* kitinin yuvarlak girişine damlatılmıştır. Kit 20 dakika süre gözlenmiş ve bu süre zarfında kontrol "C" penceresinde kırmızı şerit gözlenmesi negatif, "T" penceresinde kırmızı şerit gözlenmesi ise pozitif sonuç şeklinde değerlendirilmiştir. Analiz 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.2. *E. coli* O157 Analizi

Laboratuvarda aseptik koşullarda Stomacher poşeti (Isolab, 039.23.003, Almanya) içerisine 25 g kuzu karaciğeri alınmış üzerine steril haldeki 225 mL selektif zenginleştirme besiyeri mEC Broth (Merck, 114582, Darmstadt, Almanya) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizat 35-37 °C 'de 18-24 saat süre inkübe (Nüve, FN 500, Türkiye) edilmiştir. İnkübasyon sonunda bu kültürden alınan 1–2 mL örnek cam bir tüpe aktarılmış, kaynar su banyosunda 15 dakika tutulmuştur. Oda sıcaklığına soğutulmuş ve buradan 160 µL alınmış, Singlepath® (Merck, 104141, Darmstadt, Almanya) *E. coli* O157 kitinin yuvarlak girişine damlatılmıştır. Kit 20 dakika süre gözlenmiş ve bu süre zarfında kontrol "C" penceresinde kırmızı şerit gözlenmesi negatif, "T" penceresinde kırmızı şerit gözlenmesi ise pozitif sonuç şeklinde değerlendirilmiştir. Analiz 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.3. *Clostridium perfringens* Analizi

C.perfringens analizi için 10 g kuzu karaciğeri 90 mL Differantial Reinforced Clostridial Medium (DRCM, Merck, 111699, Darmstadt, Almanya) besiyerinde homojenize edilmiştir. Homojenizat steril erlene aktarılmıştır. Anaerobik ortam için anaerobik gaz kitleri (Anaerocult A) (Merck KGaA, 64271, Darmstadt, Almanya) ile birlikte anaerobik kavanoz (Merck 1.16387.0001 CE, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Erlen inkübatöre (Nüve, FN 500, Türkiye) alınarak 37 °C'de 7 gün ile inkübe edilmiştir. Ön zenginleştirme kültüründen 1 mL alınarak steril tamponlanmış peptonlu su (TPS, Merck, 107228, Darmstadt, Almanya) ile uygun (10^{-2} ve 10^{-3}) seyreltme oranına kadar dilüsyon işlemine devam edilmiştir. Daha sonra seyreltilmiş numuneden 1 mL alınarak ve üzerine 15 mL MUP (Merck, 100888, Darmstadt, Almanya) suplementli Tryptose Cycloserin Agar (TSC, Merck, 111972, Darmstadt, Almanya) dökülmüş ve besiyerinin katılaşmasından tekrar aynı besiyerinden petri yüzeyini kaplayacak şekilde 10 mL besiyeri ilave edilerek petri kutusu 44±4 ºC'de ve 22±2 saat süre anerobik koşullarda inkübe (Nüve, FN 500, Türkiye) edilmiştir. Uzun dalga boylu UV lamba altında tutulan petrilerde floresan ışıma verenler pozitif olarak kabul edilmiştir [84, 85]. Analiz 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.4. Nem Analizi

Kuzu karaciğerinde nem analizi TS 1743 [86]'da belirtilen yöntem ile gerçekleştirilmiştir. 5 g örnek sabit tartıma getirilmiş metal kurutma kaplarına tartılmış ve etüvde (Memmert, UNB400, Almanya) 103 °C'de 2 saat kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutma süresi bitiminde metal kurutma kapları desikatöre alınmıştır. Oda sıcaklığına soğutulan kurutma kaplarının tartımı yapılmıştır. Örneklerdeki nem içeriği aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmış olup analiz 3 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve ortalaması alınmıştır.

$$\%\text{Nem} = \frac{(\text{M1} - \text{M2})}{\text{m}} \text{X100}$$

M1= Örnek ağırlığı+ kurutma kabının ağırlığı (sabit tartıma getirilen)
M2= Kurutulmuş örnek+ kurutma kabının ağırlığı (sabit tartıma getirilen)
m= Alınan örneğin ağırlığı

3.2.1.5. B_{12} Vitamini Analizi

Kuzu karaciğerinde B_{12} vitamini (siyanokobalamin) miktarı belirlenmesinde HPLC-DAD cihazı kullanılmıştır. Analiz, Clemson Üniversitesi tarafından yayınlanan 'Development of HPLC Methods for The Determination of Watersoluble Vitamins in Pharmaceuticals and Fortified Food Products' metodundan modifiye edilmiş metot ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Kuzu Karaciğerinin Kurutulması ve Toz Eldesi

Kuzu karaciğerleri kabaca kuşbaşı olarak doğranmış ve karıştırıcı (Waring 8011S, ABD) ile pelte haline gelene kadar parçalanmıştır. Pelte haline getirilmiş kuzu karaciğeri yaklaşık 5 mm kalınlığında olacak şekilde tepsilere yayılarak bölüm laboratuvarında bulunan döner tepsili kurutucuda (TK Lab, Eksis Makine, Isparta, Türkiye) 45 °C'de sirkülasyon fan hızı 9 ve tepsi döndürme hızı 6'da ortalama 20 saatte kurutulmuştur. Kurutulan karaciğerin yüzey kabuğu, 1 saat aralıklarla bir bıçakla kırılmış ve düzenli nem buharlaşması için karıştırılmıştır. Ardından 30 ºC sıcaklık -0,6 bar basınç altında 7 gün vakumlu etüvde (EV 018 Nüve, Türkiye) bekletilmiştir.

Kurutulmuş kuzu karaciğeri, bölüm laboratuvarında bulunan bıçaklı öğütücü ile (Retsch, Grindomix GM 200, Almanya) toz haline getirilmiştir. Kuzu karaciğerinin kurutulma ve toz eldesi süreci Resim 3.1.'de ve elde edilen kuzu karaciğer tozu Resim 3.2.'de verilmiştir.



Resim 3.1. Kuzu karaciğerinin kurutulma ve toz elde süreci



Resim 3.2. Kuzu karaciğeri tozu

3.2.3. Kuzu Karaciğeri Tozunda Yapılan Analizler

3.2.3.1. Elek Analizi

Elde edilen kuzu karaciğer tozunun partikül büyüklüğünün belirlenmesinde, elek analizi yöntemi kullanılmış olup elek analizi seti (LOYKA, AEK20T, Türkiye) ile analiz gerçekleştirilmiştir. 100 g toz sırasıyla elek gözenek çapları 850 µm, 710 µm, 600 µm, 500 µm, 355 µm, 212 µm ve 150 µm eleklerden geçirilmiş ve elek üzerinde kalan toz ağırlıkları kaydedilmiştir. Analiz 3 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve ortalaması alınmıştır.

x_{90} = Partikül boyutu, % 90'ının altında olan değer (kümülatif dağılımın)
x_{50} = %50 partikül değeri bu değerin altında ve üstünde

'd' ifadesi bu değerleri belirlemede kullanılmaktadır. Bu değerler; d_{90} ve d_{50} ile gösterilmiş ve bu değerler hesaplanmıştır [73]. Tablo 3.1.'e göre elde edilen tozun niteliği belirlenmiştir.

Tablo 3.1. Tozların inceliğine göre sınıflandırılması [87]

Tanımlayıcı terim	**X_{50} (µm)**	**Hacim bazında kümülatif dağılım, $Q_3(x)$**
Kaba	> 355	$Q_3(355) < 0.50$
Orta derecede ince	180-355	$Q_3(180) < 0.50$ ve $Q_3(355) \geq 0.50$
İnce	125-180	$Q_3(125) < 0.50$ ve $Q_3(180) \geq 0.50$
Çok ince	≤ 125	$Q_3(125) \geq 0.50$

Elek analizinden sonra yapılan toz analizleri, 500 µm altı partikül çapına sahip kuzu karaciğeri tozunda gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.2. Nem Analizi

Kuzu karaciğeri tozunda nem analizi AOAC 950.46b [88]'de belirtilen yöntem ile gerçekleştirilmiştir. 2 g örnek sabit tartıma getirilmiş metal kurutma kaplarına tartılmış ve etüvde (Memmert, UNB400, Almanya) 125 °C'de 4 saat kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutma süresi bitiminde metal kurutma kapları desikatöre alınmıştır. Oda sıcaklığına soğutulan kurutma kaplarının tartımı yapılmıştır. Örneklerdeki nem içeriği aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmış olup analiz 3 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve ortalaması alınmıştır.

$$\%\text{Nem} = \frac{(\text{M1} - \text{M2})}{\text{m}} \text{X100}$$

M1= Örnek ağırlığı+ kurutma kabının ağırlığı (sabit tartıma getirilen)
M2= Kurutulmuş örnek+ kurutma kabının ağırlığı (sabit tartıma getirilen)
m= Alınan örneğin ağırlığı

3.2.3.3. Renk Analizi

Kuzu karaciğer tozunun görünür rengi renk ölçme cihazı (Konica Minolta Chroma Meter CR-5, Tokyo, Japonya) ile belirlenmiştir. Yaklaşık 5 g numune cihazın ölçüm kabına yerleştirilmiş ve renk ölçümü yapılmış ve ortalama L* [(0) siyah -(100) beyaz], a* [(+) kırmızı – (-) yeşil] ve b* [(+) sarı – (-) mavi] değerleri kaydedilmiştir. Ölçümler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir. L* değeri aydınlığı ifade etmektedir ve 0 değerine yaklaştıkça koyuluk artar 100 değerine yaklaştıkça ise tam tersi durum söz konusudur. -a* yeşili ve +a* kırmızıyı, +b* sarı ve –b* maviyi ifade etmektedir [89].

3.2.3.4. Yığın Yoğunluk Analizi

10 g kuzu karaciğeri tozu tartılmış ve hazırlanan toz karışım 50 mL'lik mezüre alınmıştır. Hiçbir sıkıştırma yapılmadan karışımın mezürdeki yığın hacim değeri gözlenip kaydedilmiştir. Yığın yoğunluk, g/mL cinsinden aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır [90]. Analiz 3 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve ortalaması alınmıştır. Yığın yoğunluk, toz kütlesi/görünür hacim oranıyla hesaplanmıştır.

3.2.3.5. Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu Analizi ve % Sıkılaşabilme Değeri

10 g kuzu karaciğer tozu 50 mL'lik mezüre herhangi bir basınç uygulanmadan tartılarak görünür hacmi belirlenmiştir. Bu ölçümün amacı vuruş öncesi-sonrası tozun görünür hacim ve sıkıştırılabilirliğini ölçülmesidir. Daha sonra örneklerin sıkıştırılmış yoğunluk değeri için düzgün bir zemine saniyede bir vuruş olacak şekilde 500 kez vuruş gerçekleştirilmiş ve elde edilen final hacim sıkıştırılmış hacim olarak kaydedilmiştir. Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, toz kütlesi/sıkıştırılmış hacim oranı hesabıyla belirlenmiştir [91, 92]. Analiz 3 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve ortalaması alınmıştır.

Elde edilen değerlerle akabilirlik için Carr indeksi (CI), yapışkanlık için ise Hausner oranı (HR) aşağıda verilen formüllere göre hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3.2.'e göre değerlendirilmiştir.

$$\text{Carr Indeks Değeri} = \frac{\text{Sıkıştırılmamış Görünür Hacim} - \text{Sıkıştırılmış Hacim}}{\text{Sıkıştırılmamış Görünür Hacim}} \text{X100}$$

$$\text{Hausner Oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmamış Görünür Hacim}}{\text{Sıkıştırılmış Hacim}}$$

Tablo 3.2. Toz ürünlerin akabilirlik ve yapışkanlığının sınıflandırılması [93]

Parametre	**Değer**	**Değerlendirme**
CI	|<15	Çok iyi
	15-20	İyi
	20-35	Orta
	35-45	Kötü
	>45	Çok kötü
HR	<1,2	Düşük
	1,2-1,4	Orta
	>1,4	Yüksek

3.2.3.6. Akma Hızı ve Yığın Açısı Analizi

Analiz USP 1174 [94]'de belirtilen metotla yapılmıştır. Huni ağzı ile oluşan toz yığınının tepesi arasında yaklaşık 3 cm olacak şekilde mesafe bırakılmıştır. Daha sonra kuru ve temiz bir huni içerisine 50 g toz eklenmiştir. Huninin ucu açılarak 50 g toz karışımının akış süresi tayin edilmiştir. Zemine akan toz karışımının yığın açısı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Test üç kez tekrar edilmiş olup akış sürelerinin ortalaması alınmıştır. Yığın açısı sonucuna göre toz akış özelliği Tablo 3.3.'ye göre değerlendirilmiştir.

$$\tan(\alpha) = h / r$$

α: Yığın açısı
h: Tozun oluşturduğu koninin yüksekliği
r: Tozun oluşturduğu koninin yarıçapı

Tablo 3.3. Toz akış özellikleri yığın açısı ilişkisi [95]

Akış Özelliği	Yığın Açısı (derece)
Mükemmel	25-30
İyi	31-35
Orta-akış için yardım gerekmez	36-40
Fena değil-akmadan kalma ihtimali var	41-45
Zayıf-karıştırma, titreşim gerekir	46-55
Çok zayıf	56-65
Aşırı zayıf	>66

3.2.4. Kuzu Karaciğeri Tozunun Kapsüllenmesi

Elde edilen kuzu karaciğer tozunun kapsüllenmesinde 500 µm (0,5 mm) altı toz çapına sahip karaciğer tozu kullanılmıştır. Bu kapsamda manuel kapsül dolum makinası (SMKD100M-0, Sonkaya Makina, Türkiye) kullanılarak manuel dolum gerçekleştirilmiştir. 0 boyutlu kapsül ve ona uygun manuel kapsül dolum makinası kullanılmıştır.

Kuzu karaciğer tozunun kapsüllendiği manuel kapsül dolum makinası ve kapsüllenmesinde kullanılan 0 boyutlu kapsül Resim 3.3.'de verilmiştir.

500 µm altı kurutulmuş kuzu karaciğer tozu Resim 3.4.'de ve karaciğeri tozu içeren sert jelatin kapsüllere ait görsel Resim 3.5.'de verilmiştir.



Resim 3.3. Manuel kapsül dolum makinası ve 0 boyutlu kapsül



Resim 3.4. 500 µm altı kurutulmuş kuzu karaciğeri tozu



Resim 3.5. Kuzu karaciğeri tozu içeren sert jelatin kapsüller

3.2.5. Kuzu Karaciğeri Tozu İçeren Kapsüllerde Yapılan Analizler

3.2.5.1. Kütle Tekdüzeliği Kontrolü

Bu analiz için rastgele seçilmiş 20 adet sert jelatin kapsül kullanılmıştır. Sağlam sert jelatin kapsül tartılmış ve kapsülün herhangi bir bölümünü kaybetmeden kapsül açılarak içerisi tamamen boşaltılmıştır. Daha sonra boş kapsül tartılmıştır. Ağırlık farkı hesaplanarak içeriğin ağırlığı tespit edilmiştir. Ortalama ağırlık ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Sonuçlar Tablo 3.4.'ye göre değerlendirilmiş olup 2'den fazla kapsül içerik ağırlığı ortalama ağırlığın yüzde sapma değerinden fazla sapma gösteremez; ayrıca hiçbir kapsül içerik ağırlığı yüzde sapma değerinin 2 katından fazla sapma gösteremez [96].

Tablo 3.4. Kütle tekdüzeliği için limit değerler [97]

Net Ağırlık (mg)	Yüzde Sapma (%)	Kapsül Sayısı
300 mg'dan az	10	Minimum 18
	20	Maksimum 2
300'dan fazla	7,5	Minimum 18
	15	Maksimum 2

3.2.5.2. Dağılma Analizi

Analiz Ege Üniversitesi FABAL Araştırma Laboratuvarında bulunan Dezentegratör cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Kuzu karaciğer tozu içeren sert jelatin kapsüllerin dağılma (Dezentegrasyon) analizi Amerikan Farmakopesi USP 32 [98]'de belirtilen yöntem doğrultusunda pH 4,50 ± 0,05 ayarlanmış asetat tampon çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. 6 adet kapsülle çalışılmış ve ortalama süre hesaplanmıştır.

30 dakika sonunda tüm kapsüller dağılmalıdır eğer 1 veya 2 kapsül tamamen dağılmazsa, test 12 ek kapsül üzerinde tekrarlanmalı ve testi gerçekleştirilen toplam 18 kapsülden en az 16 kapsül tamamen dağılmalıdır.

3.2.5.3. B_{12} Vitamini Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi

Örneklerin biyoerişilebilirliği INFOGEST Statik Model *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim protokolünde belirtilen aşamalar modellenerek gerçekleştirilmiştir. Ağız, mide, bağırsak ortamı simüle edilerek gerek duyulan sindirim sıvıları, enzimler ve çözeltiler hazırlanmıştır [8].

- **Pepsin Enzimatik Aktivite Tayini**

Pepsinin enzimatik aktivitesi hemoglobinin substrat olarak kullanılmasıyla belirlenmiştir.

Analiz sürecinde kullanılan bütün çözeltiler ve kimyasallar buzda bekletilmiştir. Hazırlanan pepsin çözeltilerinin konsantrasyonları 0,01-0,02-0,04 ve 0,05 mg/mL'dir. Analiz tüplerine her bir pepsin konsantrasyonu için kör örnek ve test örneği hazırlanmıştır. Kör örnek ve test örnek tüplerine öncelikli olarak 5'er mL substrat pH 2'ye ayarlanmış %2 hemoglobin (Sigma Aldrich) çözeltisi koyulduktan sonra, tüpler 37 ºC çalkalamalı inkübatörde (IKA KS 4000 Control, Staufen, Germany) 10 dakika bekletilmiş olup ve daha sonra test tüplerine 1 mL enzim çözeltisi ilave edilerek çalkalanmış ve 10 dk 37 ºC çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. Daha sonra kör örnek ve test örnek tüplerine 10 mL %5 trikloroasetik asit çözeltisi (TCA, Sigma Aldrich) ilave edilmiştir. 1 mL pepsin (Sigma-Aldrich, P7000) enzim çözeltisi ise kör örnek tüplerine eklenmiştir. Tüpler karıştırılarak 37 ºC çalkalamalı inkübatörde (IKA KS 4000 Control, Staufen, Germany) 5 dakika bekletilmiştir. Hemoglobininin çökmesinin sağlanabilmesi için tüpler 4000 rpm'de 30 dakika santrifüj (Hettich EBA 85, Zentrifugen, Almanya) edilmiştir. Ardından kör ve test örnekleri 0,45 µm filtrelerden geçirilerek kuvars küvetlere alınarak 280 nm'de havaya karşı absorbans değerleri spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1601, ABD) okunmuştur.

Aşağıdaki formül kullanılarak pepsin aktivitesi hesaplanmıştır;

$$\textbf{Ünite/mg enzim} = \frac{(\Delta A280\text{Test} - \Delta 280\text{Kör})\,(df)}{(10)(1)(0{,}001)}$$

10=denemedeki inkübasyon süresi (dk)

1=eklenen enzim miktarı (mL)

df=seyreltme faktörü

0,001=sabit değer (Bir ünite enzimin 37 ºC sıcaklıkta ve pH 2'de dakikada ΔA280 değerinde 0,001'lik sağladığı değişim)

- **Tripsin Enzimi Aktivite Tayini**

Tripsin aktivite testi, pH 8,1 247 nm'de p-toluene-sulfonyl-L-arginin metil esterin (TAME, Sigma-Aldrich) kinetik olarak ölçülmesi ile gerçekleşmektedir [7]. Dakikada 1 µmol TAME nin hidrolizi, 25 ºC'de pH 8,1'de 1 ünite enzim aktivitesi ile gerçekleşmektedir.

Analiz sürecinde kullanılan bütün çözeltiler ve kimyasallar buzda bekletilmiştir. Enzim standartlarının hazırlanmasında kullanılacak 5 mg/mL konsantrasyona sahip stok tripsin enzim çözeltisi soğuk 1 mM HCl (%37, Merck) ile hazırlanmış olup sonrasında hazırlanan enzim çözeltisi seyreltilerek 0,25, 0,5 ve 1 mg/mL olmak üzere 3 farklı konsantrasyonlarda pankreatin (Sigma Aldrich) çözeltileri hazırlanmıştır. Kör örnek tüp içerisine 300 µL substrat (10 mM TAME) ve pH 8,1'de 2,6 mL Tris-HCl tamponu (Sigma Aldrich) eklenerek karıştırılmıştır. Ardından 25 ºC'ye ulaşması için 3-4 dakika bekletilmiştir. Sonrasında tüp içerisine 1 mM 100 µL HCl (%37, Merck) eklenmiştir. 5 dakika boyunca 10'ar sn aralıklarla 247 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1601, ABD) havaya karşı absorbans değerleri okunmuştur. Test örnek tüp içerisine 300 µL substrat (10 mM TAME) ve pH 8,1'de 2,6 mL Tris -HCl tamponu (Sigma Aldrich) eklenerek karıştırılmıştır. Ardından 25 ºC'ye ulaşması için 3-4 dakika bekletilmiştir. Sonrasında tüp içerisine 100 µL pankreatin çözeltileri (0,25-0,5-1 mg/mL) eklenmiş 5 dakika boyunca 10'ar saniye aralıklarla 247 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1601, ABD) havaya karşı absorbans değerleri okunmuştur. Elde edilen veriler ile kör ve test örneklerin absorbans-dakika grafiği çizilmiş ve enzim aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\textbf{Ünite/mg enzim} = \frac{(\Delta A247Test - \Delta 247Kör) * 1000 * 3}{(540 * X)}$$

ΔA247=Lineer eğrinin eğimi (absorbans/dakika)

540=TAME nin 247 nm deki molar sönümleme katsayısı

3=reaksiyon karışımının hacmi (mL)

X=reaksiyon karışımındaki pankreatinin ya da tripsinin miktarı (mg)

- **Ön Hazırlık Aşaması**

Bu aşamada, Tablo 3.5.' de belirtilen konsantrasyonlarda stok kimyasal çözeltiler hazırlanmıştır.

Tablo 3.5. Stok kimyasal çözeltiler

Kimyasallar	Stok Konsantrasyonu (M)	Kimyasallar	Stok Konsantrasyonu (M)
KCI	0,5	$MgCl_2(H_2O)_6$	0,15
KH_2PO_4	0,5	$(NH_4)_2CO_3$	0,5
$NaHCO_3$	1	HCI	6
NaCI	2	$CaCl_2(H_2O)_2$	0,3

Tablo 3.6.'de gösterildiği şekilde simüle ağız sıvısı (Stimulated Saliva Fluid, SSF), mide sıvısı (Stimulated Gastric Fluid, SGF) ve bağırsak sıvıları (Stimulated Intestinal Fluid, SIF) hazırlanmış ve hazırlanan sıvıların hacimleri ultra saf su ile 400 mL hacme tamamlanmıştır.

Tablo 3.6. Simüle ağız-mide-bağırsak sıvı içerikleri

SSF (Ağız) pH:7	SGF (Mide) pH:3	SIF (Bağırsak) pH:7
15,1 mmol/L KCI	6,9 mmol/L KCI	6,8 mmol/L KCI
3,7 mmol/L KH_2PO_4	0,9 mmol/L KH_2PO_4	0,8 mmol/L KH_2PO_4
13.6 mmol/L $NaHCO_3$	25 mmol/L $NaHCO_3$	85 mmol/L $NaHCO_3$
0,15 mmol/L $MgCl_2(H_2O)_6$	0,12 mmol/L $MgCl_2(H_2O)_6$	0,33 mmol/L $MgCl_2(H2O)_6$
0,06 mmol/L $(NH_4)_2CO_3$	0,5 mmol/L $(NH_4)_2CO_3$	8,4 mmol/L HCI
1,1 mmol/L HCI	15,6 mmol/L HCI	38,4 mmol/L NaCI
	47,2 mmol/L NaCI	

$NaHCO_3$ çözeltisi ve SSF, SGF, SIF günlük hazırlanmış bunun yanı sıra hazırlanan çözeltiler ve sindirim analizlerinde ultra saf su kullanılmıştır. 0,3 M $CaCl_2(H_2O)_2$ (Merck) ise sindirim işleminin öncesinde hazırlanmıştır.

$CaCl_2(H_2O)_2$, ağız sıvısında 1,5 mmol/L, mide sıvısında 0,15 mmol/L, bağırsak sıvısında 0,6 mmol/L konsantrasyonda hazırlanmış ve sindirim sırasında çözelti ilave edilmiştir.

- **Sindirim Aşaması**

1 g örnek tüp içerisine alınmış ve sırasıyla üzerine 4 mL ultra saf su, 4 mL ağız sıvısı, 25 µL 0,3 M $CaCI_2(H_2O)_2$ eklenmiş ve daha sonra 1 M NaOH (Merck) ile pH 7'ye ayarlanarak NaOH sarfiyatı kaydedilmiştir. Toplam hacim 10 mL oluncaya kadar ultra saf su eklenmiştir. Bu işlemin ardından tüpler 37 °C 100 rpm'de 2 dk çalkalamalı inkübatörde (IKA KS 4000 Control, Staufen, Germany) inkübasyona bırakılmış böylece ağız sindirimi tamamlanmıştır.

Ağız sindiriminden sonra inkübatörden alınan gıda üzerine sırasıyla 8 mL mide sıvısı ve 5 µL 0,3 M $CaCI_2(H_2O)_2$ ilave edilmiş ve daha sonra 3 M HCI (Merck) ile pH 3'e ayarlanarak HCI sarfiyatı kaydedilmiştir. Ardından tüplere 1'er mL pepsin enzim çözeltisi ilave edilerek son hacim ultra saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır. Ardından 37 °C 100 rpm'de 2 saat çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. Böylece mide sindirimi de tamamlanmıştır.

Mide sindirimine uğramış gıda inkübatörden alındıktan sonra üzerine 11 mL bağırsak sıvısı eklenmiş ve 1 M NaOH ile pH 7'ye ayarlanmış olup NaOH sarfiyatı kaydedilmiştir. Ardından tüplere 5 mL pankreatin (Sigma-Aldrich), 160 mM 2,5 mL safra çözeltisi (Sigma-Aldrich), 40 µL 0,3 M $CaCI_2$ $(H_2O)_2$ eklenmiş ve son hacim ultra saf su kullanılarak 40 mL hacme tamamlanmıştır. Ardından 37 °C 100 rpm'de 2 saat çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. Bağırsak sindirimi de bu aşamada tamamlanmıştır.

Bağırsak sindiriminin tamamlanmasından sonra örnekler 4 ˚C'de 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjlendikten sonra üst faz alınarak 0,45 µm filtrelerden geçirilerek tüplere alınmış ve sindirimi durdurmak amacıyla 1 mL örneğe 9 µL 500 mM Pefabloc (76307, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) olacak şekilde enzim inhibitörü eklenmiştir. Elde edilen süpernatantlar analizler yapılıncaya kadar -86ºC'da muhafaza edilmiştir.

Örneklerin sindirim öncesi ve sindirim sonrası B_{12} vitamin miktarı saptanmış ve %BE ise aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır:

$$\textbf{Biyoerişilebilirlik (\%)} = \frac{\text{Sindirim sonrası numunedeki madde miktarı}}{\text{Sindirim öncesi numunedeki madde miktarı}} * 100$$

3.2.5.4 B_{12} Vitamini Analizi

Kuzu karaciğeri tozu ve ticari B_{12} vitamini takviyesinde (*in vitro* sindirim öncesi/sonrası) B_{12} vitamini (siyanokobalamin) miktarı belirlenmiştir.

Kuzu karaciğeri tozu ve ticari B_{12} gıda takviyesinde (*in vitro* sindirim öncesi/sonrası) B_{12} vitamin analizinde HPLC-DAD cihazı kullanılmıştır. Analiz, Clemson Üniversitesi tarafından yayınlanan 'Development of HPLC Methods for The Determination of Watersoluble Vitamins in Pharmaceuticals and Fortified Food Products' metodundan modifiye edilmiş metot ile gerçekleştirilmiştir.

Akış hızı: 0,8 mL/dk
Dalga Boyu: 361 nm
Mobil Faz: 875 mL su-125 mL Asetonitril
HPLC kolon: Analitik ters fazlı kolon (ACE, 5 AQ-C18, 5 µm, 4,6x250 mm)

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucu elde edilen veriler, SPSS Statistics 25 paket programı kullanılarak bağımsız örneklem t testi (independent sample t-test) ve bağımlı örneklem t testi (paired-samples t-test) metotlarıyla $p<0,05$ önem seviyesinde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Kuzu Karaciğerinde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

TGK Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (2009/6) [99] 'EK-1 Mikrobiyolojik Kriterler' bölümünde sakatat için belirtilen mikrobiyolojik kriterler Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. TGK Sakatat İçin Mikrobiyolojik Kriterler

Gıda	Mikroorganizmalar	Numune Alma Planı		Limitler	
		n	c	m	M
Sakatat	*C.Perfringens*	5	2	10^3	10^4
	Salmonella spp.	5	0	0/25 g-mL	
	E.coli O157:H7	5	0	0/25 g-mL	

n: Partiden bağımsız ve rasgele seçilen numune sayısını,

c: m ve M arasında olmasına izin verilen maksimum numune sayısını

m: (n-c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla mikrobiyolojik değeri,

M: c sayıdaki numunenin bu değeri aşması halinde uygunsuz olup kabul edilemez olduğunu gösteren mikroorganizma sayısını

4.1.1. *Salmonella* Analizi

Salmonellozis, dünyada en sık karşılaşılan gıda kaynaklı hastalıklardan biridir. Kırmızı et ve et ürünlerinin *Salmonella spp.* bakterisi ile fekal kontaminasyonu hayvanın kesimi esnasında hayvanın ayakları, kılları ve deri yüzeyindeki içerikle bulaşı sonrası olabilir [100].

Singlepath® *Salmonella* test kitinde (Resim 4.1.) kontrol "C" penceresinde kırmızı şerit görülmüştür. Sonuç negatif olarak bulunmuş ve '25 g kuzu karaciğerinde *Salmonella* olmadığı tespit edilmiştir.' Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine (2009) göre kuzu karaciğeri uygundur.



Resim 4.1. *Salmonella* kiti

4.1.2. *E.coli* O157 Analizi

Gıdalarda *E.coli* gıdalarda, hem hijyen hem de fekal kontaminasyonunda indikatör bakteridir [101].

Singlepath® *E.coli* test kitinde (Resim 4.2.) kontrol "C" penceresinde kırmızı şerit görülmüştür. Sonuç negatif olarak bulunmuş ve '25 g kuzu karaciğerinde *E.coli* O157 olmadığı tespit edilmiştir.' Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine (2009) göre kuzu karaciğeri uygundur.



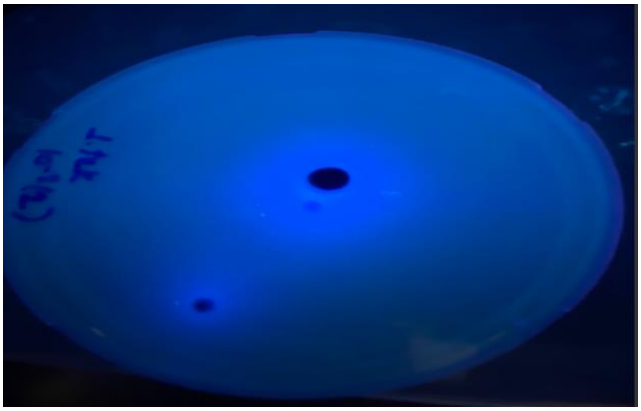
Resim 4.2. *E.coli* O 157 kiti

4.1.3. *C.perfringens* Analizi

C.perfringens, toprak, toz, hava, su, lağım, insan ve hayvan dışkısı ve birçok gıda maddesinin üzerinde bulunur ve doğada çok yaygındır. Bu nedenle gıdalara bulaşmasının tam olarak engellenmesi oldukça zordur. Buna rağmen sanitasyonun tam anlamıyla uygulanmasının ihmal edilmemesi gerekmektedir [85].

Kuzu karaciğerinde *C.perfringens* tespit edilmemiştir. TGK Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine (2009) göre kuzu karaciğeri *C.perfringens* açısından uygundur.

Resim 4.3.'te MUP-TSC agara ekimi yapılan *C.perfringens*'in UV lamba altındaki görünümü verilmiştir.



Resim 4.3. *C.perfringens*'in UV lambası altındaki görünümü

4.1.4. Nem Analizi

Kuzu karaciğerinin nemi ortalama %70,8±1,16 olarak bulunmuştur. Pişmiş vakumda paketlenmiş kuzu karaciğerinin depolanması sırasındaki kalite parametrelerinin incelendiği bir çalışmada çiğ kuzu karaciğerinin nem oranı %69,7 olarak bulunmuştur [102]. Hayvan sakatatlarının kimyasal kompozisyonun araştırıldığı bir diğer çalışmada ise kuzu karaciğerinin nem oranı %71±0,47 olarak saptanmıştır [13].

4.1.5. B_{12} Vitamini Analizi

Yapılan analiz sonucunda 100 g kuzu karaciğerinde B_{12} vitamin (siyanokobalamin) miktarı ortalama 33,08±0,57 µg olarak bulunmuştur. Millar ve Penrose tarafından yapılan kuzu karaciğeri ve serum örneklerinde vitamin B_{12} seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada kuzu karaciğerinde B_{12} vitamin miktarı 0,18 ± 0,06 µg/g olarak tespit edilmiştir [103]. Bir başka çalışmada ise kuzu karaciğerinin B_{12} vitamin içeriğinin 90,05 µg/100 g olduğu belirtilmiştir [104]. Başka bir çalışmada altı farklı koyun karaciğerinden biyopsi örneği alınarak B_{12} vitamini miktarları belirlenmiştir. Sonuçlar 29-54-29-70-39-40 µg/100 g olarak tespit edilmiştir [105].

4.2. Kuzu Karaciğeri Tozu Analiz Sonuçları

4.2.1. Nem, Yığın Yoğunluğu, Sıkıştırılmış Yoğunluk, Akma Hızı ve Yığın Açısı, Renk Analizi

Kuzu karaciğeri tozunun bazı fiziksel ve toz ürün özelliklerini gösteren toz analiz sonuçları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Kuzu karaciğeri tozunun bazı fiziksel ve toz ürün özellikleri

Toz Özellikleri*			
Nem (%)	12,6±0,52		
Görünür Hacim (V_0) (mL)	15,5±0,54		
Sıkıştırılmış Hacim (V_{500}) (mL)	7,5±0,54		
Yığın Yoğunluğu (g/mL)	0,645±0,55		
Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu (g/mL)	1,33±0,55		
% Sıkılaşabilme Değeri	Yapışkanlık (HR)		Akabilirlik (CI)
	2,05±0,07		51,50±2,12
Akma Hızı ve Yığın Açısı	Akma Hızı		Yığın Açısı
	10,16±0,40 s		46,40 º±0,38
Renk (CIE Standart)	**L***	**a***	**b***
	49,44±0,007	5,77±0,007	23,2±0,03

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Kuzu karaciğeri tozunun nemi %12,6±0,52 olarak saptanmıştır. Toz ürünlerin nem içeriği ürünlerin depolanma süreci ve işlenmesi sırasında önemli bir faktördür ve nem içeriğinin yüksek olması toz ürünün akabilme eğilimini etkilemektedir [106]. Gıda tozunun nem içeriği genellikle %5 veya daha azdır, ancak büyük molekül ağırlıklı biyopolimerlerin (nişasta ve hidrokolloidler gibi) tozları %10'dan fazla neme sahiptir [107].

Bir çalışmada bütün olarak kurutulan hamsi ve sardalya'nın nemi %9,04±0,14 ve %10,32±0,09 olarak bulunmuştur. Genellikle kurutulmuş ürünlerdeki nem içeriğinin %10'dan az olması, kalite özelliklerinin korunmasında etkilidir [108].

Kuzu karaciğeri tozunun yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluğu sırasıyla 0,645±0,55 g/mL ve 1,33±0,55 g/mL olarak bulunmuştur. Genellikle, gıda tozlarının yığın yoğunluğu ortalama 0,30-0,80 g/mL arasında değişmektedir [91]. Toz gıdaların yığın özellikleri tozun hem partikül boyut dağılımına hem de partikül çapına göre değişmektedir. Tozun düşük yığın yoğunluğuna sahip olması paket hacmini arttırmakta aynı zamanda tozun boşlukları arasında daha fazla hava barındıracağından oksidasyon riski fazladır [106]. Toz ürünlere ait yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğuna ait veriler toz ürünlerin depolama stabilitesi hakkında bilgi vermektedir. Aynı zamanda ürünlerin ambalajlama maliyeti ve taşıma kolaylığının azaltılması açısından önem arz etmektedir [109].

Toz ürünlerin akabilme ve yapışma eğilimlerinin belirlenmesi endüstriyel açıdan değerlendirildiğinde ürünlerin paketlenmesi, işlenmesi, saklanması, makinalarda dozaj ayarı, karıştırılması gibi proses aşamalarında önemlidir [109]. Toz ürünün yoğunluğu hem ambalaj hem de prosesleme için makine seçiminde de dikkate alınmalıdır [91]. Kuzu karaciğeri tozunun, yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu verileri ile hesaplanan akabilirliliğini tanımlayan Carr indeksi ve yapışkanlık göstergesi olan Hausner oranı sırasıyla 51,50±2,12 ve 2,05±0,07 olarak bulunmuştur. CI değerinin 45'ten ve HR değerinin ise 1,4'ten büyük olması durumunda tozun akabilirliğinin çok kötü ve yapışkanlığının yüksek olarak değerlendirilmektedir [93]. Bu durumda kuzu karaciğeri tozunun akabilme ve yapışkanlık davranışı incelendiğinde çok kötü düzeyde akabilirlik ve yüksek düzeyde yapışkanlık davranışı sergilediği bulunmuştur. Nitekim toz kütlesinin yapışkanlığının yüksek olması, akışkanlığının zayıf olması anlamına gelmektedir [110].

Toz ürünün yapışkanlığının yüksek olmasının hem olumlu hem de olumsuz yönleri vardır. Olumlu yönü kümeler oluşturmak için parçacıkların bir arada kalmasının gerekli olduğu topaklaşma işlemi sürecindedir. Aglomerasyon için parçacık yapışkanlığı avatajlı olsa da yapışkanlık, ürün kalitesini (akışkanlık gibi), tozun işlenmesini ve stabilitesini etkileyen önemli bir sorun olarak kabul edilmektedir. Bunun yanısıra ambalaj malzemesine yapışarak hem ürün kaybına hem de ambalajın hasar görmesine ne olabilmektedir [107].

Karaciğer tozunun akma hızı ortalama 10,16±0,40 s olarak bulunmuş ve yığın açısı ise ortalama 46,40º±0,38 olarak hesaplanmıştır. Yığın açısı değerinin 46º ile 55º arasında olması durumunda tozun akış özelliği zayıf-karıştırma, titreşim gerekir' olarak değerlendirilmektedir [95]. Bu durumda kuzu karaciğeri tozunun yığın açısı sonucu CI değeri ile uyumlu bulunmuş ve akışı zayıf olarak değerlendirilmiştir. Dışarıdan bir kuvvet gerektirecek şekilde zayıf akış özelliklerine sahip olan toz, gıda endüstrisinde üretim hatlarında ekstrüder veya diğer taşıyıcılarda kullanılacaksa dikkate alınmalıdır [111].

Literatürde bir çalışmada sığır dili, hava giriş sıcaklığı 155 ºC ve hava çıkış sıcaklığı 60-75 ºC kurutma koşullarına sahip püskürtmeli kurutucuda kurutulmuştur. Kurutulan dana dili tozunun yığın yoğunluğu 0,8±0,0 g/mL olarak bulunmuştur [112].

Sığır akciğeri tozunda (0,5 mm elek altı toz) yapılan bir çalışmada ise 50 ºC'de kurutularak elde edilmiş sığır akciğeri tozunun yığın yoğunluğu 0,56±0,03 g/mL, Hausner Oranı 1,29±0,04; 70 ºC'de yığın yoğunluğu 0,59±0,04 g/mL, Hausner Oranı 1,28±0,03; 100 ºC'de ise yığın yoğunluğu 0,65±0,02 g/mL, Hausner Oranı 1,32±0,01'dir [113]. Çalışmada 45 ºC'de kurutulan kuzu karaciğeri tozunun yığın yoğunluğu (0,645±0,55 g/mL) 50 ºC'de kurutularak elde edilmiş sığır akciğeri tozundan yüksek bulunmuştur. Yığın yoğunluğu değeri, tozun bileşimi ve gözenekliliği, tanelerin şekli ve boyutundan da etkilenmektedir. Ayrıca kuzu karaciğeri tozunun nemi %12,6 iken ile sığır akciğeri tozunun nemi %4,79'dur. Farklılığın bu parametrelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Köpük kurutma tekniğiyle 70 ºC ve 80 ºC'de kurutulan Japon çipurasından elde edilen tozun yığın yoğunluğu sırasıyla 0,443±0,02 g/mL ve 0,419±0,01 g/mL, sıkıştırılmış yoğunluğu sırasıyla 0,506±0,02 g/mL ve 0,505±0,02 g/mL, Carr indeksi sırasıyla 12,42±0,67 ve 17,03±1,98 olarak bulunmuş ve akabilirlikleri karşılaştırıldığında 70 ºC'de kurutulan tozun 80 ºC'de kurutulan toza göre akma eğiliminin daha yüksek olduğu saptanmıştır. 70 ºC ve 80 ºC'de kurutulan balık tozuna ait Hausner oranları ise sırasıyla 1,14±0,01 ve 1,21±0,03'dir [114].

Kırınım pencereli kurutma tekniğiyle iki farklı sıcaklık ve kalınlıkta kurutulan etten elde edilen tozların özelliklerinin incelendiği bir çalışmada en yüksek yığın yoğunluğu (0,386 g/mL) 100 ºC'de 2 mm kalınlıkta kurutulan et tozunun, en düşük ise (0,268 g/mL) 80 ºC'de 3 mm kalınlıkta kurutulan et tozunun bulunmuştur [111].

Toz ürünlerinde renk, hem görsel hem de duyusal olarak ürünün cazibesini etkileyen aynı zamanda kalitesini de gösteren önemli kriterdir [115]. Kurutulmuş kuzu karaciğeri tozunun çok az kırmızımsı (a*=5,77) ne açık ne de koyu renge (L*=49,44) ve sarı renge (b*=23,2) sahip olduğu tespit edilmiştir. a*/b* değeri ise 0,25'tir. Kırmızılık ve a*/b* değerlerinin yüksek olması istenmeyen bir durumdur. Bu durumun temel nedeni, başlangıçta ette bulunan renk bileşiklerinin (miyoglobin) daha az kurutulan örneklerde daha fazla kalması sonucu ortaya çıkmasıdır [111].

Jayawardena ve ark. tarafından potansiyel protein gıda takviyesi olarak değerlendirilen sığır akciğeri tozu üzerine yapılan bir çalışmada 50 ºC'de kurutularak elde edilmiş sığır akciğeri tozunun renk değerleri, L*=62,72±1,60, a*=4,81±0,90 ve b*=18,26±0,6; 70 ºC'de L*=55,20±1,59, a*=5,2±0,15 ve b*=13,07±0,96 ve 100 ºC'de L*=53,61±1,41, a*=3,89±0,17 ve b*=12,35±0,50 olarak tespit edilmiştir. 50 ºC'de kurutma ile sığır akciğeri tozunun renginin daha açık (L* değeri) ve sarımsı (b* değeri) olduğu saptanmış, 100 ºC'de kurutma ise akciğer tozunun kırmızılığını (a* değeri) önemli ölçüde azaltmıştır. Bu durumun muhtemelen miyoglobinin metmiyoglobine oksidasyonundan kaynaklandığını bildirmişlerdir [113]. Çalışma sonucu elde edilen kuzu karaciğeri tozunun a* değerinin 50 ºC ve 70 ºC'de kurutulan sığır akciğeri tozunun a* değerlerine yakın olduğu görülmektedir.

Rostami ve ark. tarafından kırınım pencereli kurutma tekniğinin kullanıldığı çalışmada 100 ºC 3 mm kalınlıkta kurutulan et tozunun L*=53,312±1,2, a*/b* değeri en yüksek (0,828) ve 80 ºC 2 mm kalınlıkta kurutulan et tozunun L*=58,873±0,22 a*/b* değeri ise en düşüktür (0,566). Daha fazla esmerleşme meydana gelmesinden dolayı daha yüksek sıcaklıklarda et tozlarının L* değerlerinin daha düşük ve a*/b* değerlerinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir [111].

Püskürtmeli kurutucuda hava giriş sıcaklığı 155 ºC ve hava çıkış sıcaklığı 60-75 ºC kurutma koşullarında kurutulan sığır dili tozuna ait renk değerleri ise L*= 78,6±3,5, a*= 10,5±1,3, b*= 16,7±1,5'dir [112].

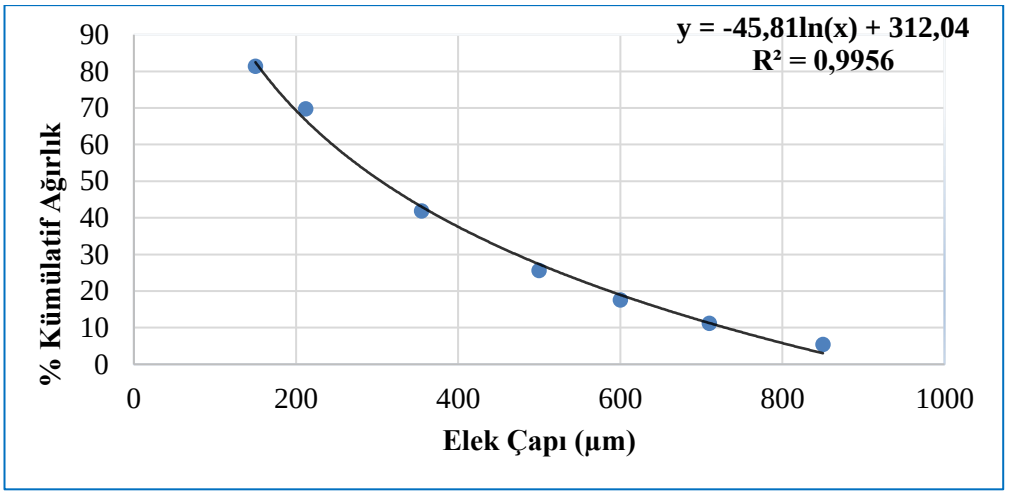
Literatür çalışmaları incelendiğinde et ve sakatat ürünlerinin kurutulmasıyla elde edilen tozların renk değerlerinin (L*, a*, b*) kurutma yöntemi, sıcaklığı ve kurutma süresi gibi faktörlerden etkilendiği anlaşılmaktadır.

4.2.2. Elek Analizi

Kuzu karaciğeri tozunun partikül büyüklüğü elek analiz yöntemi ile tespit edilmiştir. Eleklerin por çaplarına göre numunelerin partikül büyüklüğü dağılımının verildiği Tablo 4.3.'te elek üstü ortalama ağırlığı, % ağırlık, standart sapma ve % kümülatif ağırlık sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3. Kuzu karaciğeri tozu elek analizi sonuçları

Elek Çapı (µm)	Elek Üstü Ortalama Ağırlık (g)	% Ağırlık	% Kümülatif Ağırlık	Elek Üstü Standart Sapma
850	5,4238	5,4238	5	0,70185
710	5,7433	5,7433	11	0,66260
600	6,3753	6,3753	18	0,87302
500	8,0264	8,0264	26	0,79014
355	16,3193	16,3193	42	1,16276
212	27,8851	27,8851	70	1,73194
150	11,616	11,616	81	0,85378
Elek altı	18,6108	18,6108	100	0,31337



Şekil 4.1. Kuzu karaciğer tozuna ait % kümülatif ağırlık -elek çapı eğrisi

Kuzu karaciğer tozuna ait Şekil 4.1.'de % kümülatif ağırlık-elek çapı eğrisi grafiği çizilmiş ve elde edilen eğrinin formülüne göre tozun d_{50} ve d_{90} değerleri hesaplanmıştır. d_{50} =305 µm ve d_{90}=127,4 µm olarak bulunmuştur. Kuzu karaciğeri tozunun partikül boyutu Tablo 3.1.'e göre değerlendirildiğinde 'orta derecede ince' olarak nitelendirilebilir.

4.3. Kuzu Karaciğeri Tozu İçeren Kapsüllerin Analiz Sonuçları

4.3.1. Kütle Tekdüzeliği Kontrolü

Kuzu karaciğeri tozu içeren rastgele seçilmiş 20 adet kapsülün ağırlık farkı hesaplanarak kapsül içerisindeki ortalama net toz ağırlığı hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Kütle tekdüzeliği kontrolü sonucuna göre bir kapsülün içerisindeki karaciğer tozu ağırlığı ortalama net 442,87±1,77 mg olarak bulunmuştur. Hiçbir kapsülün net toz ağırlığı, ortalama net toz ağırlığının Tablo 3.4.'de belirtilen yüzde sapma değerinden fazla sapma göstermemiştir.

Tablo 4.4. Kapsüllerin kütle tekdüzeliği kontrolü

	Kapsül Numunesi No	Dolu Kapsül Ağırlığı (mg)	Boş Kapsül Ağırlığı (mg)	Net Toz Ağırlığı (mg)
Kuzu Karaciğer Tozu İçeren Kapsüller	1	538	96,6	441,4
	2	538,1	94,8	443,3
	3	540	96,2	443,8
	4	541	96,5	444,5
	5	534,2	95,3	438,9
	6	539	97,2	441,8
	7	537,5	93,2	444,3
	8	543,2	99,4	443,8
	9	540,8	98	442,8
	10	540	93,6	446,4
	11	535	93,3	441,7
	12	540	98	442
	13	540,7	97	443,7
	14	540	96,6	443,4
	15	534,3	90,3	444
	16	538	97,1	440,9
	17	536,5	94,4	442,1
	18	539,4	93,7	445,7
	19	536,3	95,5	440,8
	20	535	92,9	442,1
Ortalama		538,35	95,48	442,87
Standart Sapma		2,50	2,19	1,77

4.3.2. Dağılma Analizi

Kuzu karaciğer tozu içeren sert jelatin kapsüllerin dağılma (dezentegrasyon) analizi sonucu (n=6) ortalama dağılma süresi 6,33 dk olarak bulunmuş olup Amerikan Farmakopesi USP 32'ye göre 30 dk sonunda tüm kapsüller dağılmalıdır ve sonuç uygundur.

4.3.3. B_{12} Vitamini Analiz ve Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi

Kuzu karaciğeri tozu ve ticari olarak satın alınan B_{12} vitamin gıda takviyesi örneklerinde *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası B_{12} vitamin (siyanokobalamin) miktarı analizi gerçekleştirilmiş ve biyoerişilebilirlik yüzdesi hesaplanmıştır.

Kuzu karaciğeri tozu ve ticari olarak satın alınan B_{12} vitamin gıda takviyesi örneklerinde *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası B_{12} vitamin miktarları ve biyoerişilebilirlik yüzdeleri Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.5. *In vitro* sindirim öncesi ve sonrası B_{12} vitamin miktarı ve biyoerişilebilirliği

Örnek	B_{12} vitamini (mg/kg)*		
	***In vitro* sindirim öncesi**	***In vitro* sindirim sonrası**	**Biyoerişilebilirlik %**
Kuzu karaciğeri tozu	$0,807 \pm 0,002^{aA}$	$3,895 \pm 0,293^{aB}$	$482,5 \pm 37,48^{a}$
Ticari B_{12} vitamini gıda takviyesi	$4341,23 \pm 162,78^{bA}$	$2337,26 \pm 13,44^{bB}$	$53,5 \pm 2,12^{b}$

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a-b Her sütundaki farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

A-B Her satırdaki farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

Kuzu karaciğerinde B_{12} vitamin miktarı (0,113 mg/100 g kuru madde) kurutulup toz elde edildikten sonra (0,092 mg/100 g kuru madde) yaklaşık %18,58 oranında kayba uğramıştır.

Ticari B_{12} vitamini takviyesinin hem *in vitro* sindirim öncesi hem *in vitro* sindirim sonrası B_{12} vitamin miktarı kuzu karaciğeri tozuna göre daha yüksektir ($p<0,05$). Ticari B_{12} vitamini gıda takviyesinin *in vitro* sindirim sonrası B_{12} vitamin miktarında istatistiksel açıdan önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Kuzu karaciğeri tozunun *in vitro* sindirim sonrası B_{12} vitamin miktarı *in vitro* sindirim öncesine kıyasla istatistiksel olarak önemli bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Bu artış yaklaşık %383 oranındadır. B_{12} vitamini gıda matrisinde proteinlere bağlanır ve mide fazında pepsin ve hidroklorik asit aracılığıyla proteinlerden salınır [116]. Bu artışın da büyük ihtimalle gıda matrisinde proteine bağlı olarak bulunan B_{12} vitamininin *in vitro* mide sindirimi koşullarındaki asidik ortam ve pepsin enzimi nedeniyle bağlı olduğu proteinlerden ayrılması ile B_{12} vitamininin açığa çıkmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Miyamoto ve ark. tarafından Kore mor su yosunu

(Porphyra sp.) ürünlerinde B_{12} vitamininin biyoerişilebilirliği en yüksek (%50,8) gastrik ortamda (pH 2,0) bulunmuştur [54].

Ticari B_{12} vitamini gıda takviyesi ile kuzu karaciğeri tozunun B_{12} vitamini biyoerişilebilirlikleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğu ve kuzu karaciğeri tozunun B_{12} vitamini biyoerişilebilirliğinin ticari B_{12} vitamini gıda takviyesine göre yaklaşık 9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Beslenme ile B_{12} vitamini içeriğinin arttırılması, B_{12} vitamininin biyoyararlanımını azaltmaktadır. Bir çalışmada B_{12} vitamininin biyoyararlanımının yaklaşık 0,5 μg alımda %70, 5 μg alımda %28 ve en düşük biyoyararlanım 100 μg alımda %1 olduğu saptanmıştır. B_{12} vitamini, bağlı olduğu proteinlerden salındıktan sonra glikoprotein olan haptokorrine ve intrinsik faktöre bağlanır ve bu sayede gastrointestinal sistemde B_{12} vitaminin olası parçalanması önlenir [116]. İleum mukozasındaki spesifik reseptörlere bağlandığında emilen IF-B_{12}'nin emilimi, beslenmedeki B_{12} vitamininin biyoyararlanımını önemli ölçüde belirlemektedir. IF aracılı bağırsak emilim doygunluğu nedeniyle B_{12} vitamininin biyoyararlanımı, tek bir öğünde yüksek miktarda B_{12} alımıyla azalabilir [117].

İntrinsik faktör aracılı bağırsak emilim sisteminin, öğün başına yaklaşık 1,5 ile 3,0 μg B_{12} vitamini ile doymuş olduğu tahmin edilmektedir [118]. B_{12} vitamininin biyoyararlanımı, glikoproteinlerin (haptokorrin ve intrinsik faktör) ağızdan ve mideden salınmasına bağlı olduğundan, *in vitro* yöntemle B_{12} vitamininin biyoerişilebilirliğinin incelenmesi üzerine çok fazla çalışma mevcut değildir ve farklı gıdalardaki B_{12} vitamininin biyoerişilebilirliği konusunda, çok az çalışmadan kaynaklanan büyük bilgi boşlukları mevcuttur [54, 119]. Dolayısıyla kuzu karaciğeri tozunun B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği konusunda literatür karşılaştırılması yapılamamıştır. *In vitro* gastrointestinal yöntemle B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği üzerine yapılmış çalışmalar Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Mevsimsellik dikkate alınarak kolyos balığında yağ asitleri, selenyum ve B_{12} vitamini biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi ile ilgili yapılan yakın tarihli bir çalışmada B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği en fazla %83 en az %77 olarak bulunmuştur [119].

Fărcaş ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise en düşük B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği %38,1 olarak tespit edilmiş ve bu durumu örnek içerisindeki mısırın daha önce maltlanmamış olmasıyla açıklamışlardır. Ayrıca diyet lifi miktarının, B grubu vitaminlerin biyoerişilebilirliğini azaltmada etkili olabileceğini belirtmişlerdir [120].

B_{12} vitamini üreten *Propionibacterium freudenreichii* ile fermente edilmiş buğday kepeği ekstraktı tozu ile zenginleştirilmiş ekmek ve ekstrüde makarna yapılmış ve B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği incelenmiştir. Çalışmada püskürtürülerek kurutulmuş fermente kepek özü tozunun B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği %75,1 ve kurutulmuş fermente kepek özü tozu ile yapılan ekmeğin B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği ise %95,1 olarak ayrıca kurutulmuş fermente kepek özü tozu ile yapılan ekmeğin B_{12} vitamini biyoerişilebilirliğinin (%95,1) siyanokobalaminle zenginleştirilmiş ekmeğin biyoerişilebilirliği (%98,9) kadar yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ekstrüde makarnanın biyoerişilebilirliğini ise %82,6 olarak tespit etmişlerdir [121].

Tablo 4.6. *In vitro* gastrointestinal yöntemle B_{12} vitamini biyoerişilebilirlik çalışmaları

Çalışma	**Yazarlar**	**Çalışma Yılı**	**Vitamin B_{12} Biyoerişilebilirlik %**			
Mevsimsellik Dikkate Alınarak Kolyos Balığında Yağ Asitleri, Selenyum ve B_{12} Vitamini Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi	Afonso ve ark. [119]	2023	Mart-düşük yağlı balık	Haziran-orta yağlı balık	Ekim-yüksek yağlı balık	
			80±0,0	83±16	77±1	
Farklı Bira Yapımında Kullanılmış Tahıllarda Minerallerin ve B Grubu Vitaminlerin *In Vitro* Biyoerişilebilirliği	Fărcaş ve ark. [120]	2022	Pale Arpa Malt%40 Münih Malt %30 Karamel Malt%24 Siyah Malt %6 BSG1	Pale Arpa Malt %65 Viyana Malt %35 BSG2	Pilsner Malt %70 Degermed Mısır %30 BSG3	Pilsner Malt %50 Buğday Malt%50 BSG4
			41,76	40,81	38,1	83,57
Fermente Buğday Kepeği Ekstraktı ile Yapılan Ürünlerde *Propionibacterium Freudenreichii* Tarafından Sentezlenen B_{12} Vitamininin Biyoerişilebilirliği	Chamlagain ve ark. [121]	2021	Püskürtürülerek kurutulmuş fermente kepek özü tozu	Püskürtülerek kurutulmuş tozdan yapılan ekmek	Siyanokobalaminli ekmek	Ekstrüde makarna (pişirilmiş)
			75,1	95,1	98,9	82,6
Tofu ve Tempede Soya Fasulyesinin İşlenmesinin Folat, Vitamin B_{12} ve İzoflovan Miktarı ve Biyoerişililebilirliği Üzerine Etkisi	Mo ve ark. [122]	2013	–			
Kore mor su yosunu ürünlerinde B_{12} vitamini kompozisyonu ve biyoerişilebilirliği	Miyamoto ve ark. [54]	2009	50,8±2,1			

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıda takviyeleri, insan beslenmesine destek amaçlı kullanılan vitaminler, mineraller, amino asitler, yağ asitleri vs. gibi besin ögelerini içeren ürünler olarak tanımlanmaktadır. Bitkiler başta olmak üzere meyve ve sebzeler, hayvansal kaynaklı maddeler gıda takviyelerinin üretiminde kullanılmaktadır. Gıdaların insan sağlığı üzerine faydalı özelliklerinin bilinmesinden dolayı günümüzde gıda takviyelerinin tüketimi artmaktadır. B_{12} vitamini, DNA ve kırmızı kan hücrelerinin sentezinde ve sinir dokusunun sağlığı için gerekli bir vitamindir. Ayrıca büyümeyi, hücre gelişimini, yağ ve karbonhidrat metabolizması desteklemektedir. Yakın tarihli bir çalışma ise B_{12} vitamin takviyelerinin COVID-19 ile ilişkili organ hasarını ve semptomlarını azaltma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. B_{12} vitamini içeren gıda takviyelerinin tüketimi gün geçtikçe artmaktadır ve tüketiciler ilk sıralarda B_{12} vitamini takviyelerini tercih etmektedir.

Bu çalışmanın temelinde de yüksek B_{12} vitamini kaynağı olan kuzu karaciğerinden potansiyel B_{12} vitamini gıda takviyesi üretimi ve aynı zamanda üretilen takviyenin B_{12} vitamini miktarı ve biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi düşüncesi yatmaktadır. Kuzu karaciğerinden B_{12} vitamini gıda takviyesi üretimi fikriyle yapılan çalışmada bu amacı gerçekleştirmek için kuzu karaciğeri tozu elde edilmiş ve sert jelatin kapsül formunda potansiyel B_{12} vitamini gıda takviyesi üretilmiştir. Yurtdışı pazarında mevcut olan bu tip takviyelerin yurtiçinde üretimi ve satışı bulunmamaktadır. Çalışmanın hedefleri arasında yurtiçi pazarına yeni bir gıda takviyesinin kazandırılarak bu açığın kapatılması yer almaktadır.

Çalışma kapsamında, öncelikle mikrobiyolojik olarak tüketime uygunluğu tespit edilen kuzu karaciğerinde nem analizi yapılmış ve analiz sonucunda nem oranı %70,8±1,16 olarak bulunmuştur. Kuzu karaciğerinin B_{12} vitamin miktarı ise 33,08±0,57 µg/100 g olarak saptanmıştır. Kuzu karaciğeri tozu, parçacık boyutu dağılımını belirlemek için bir dizi eleklerden geçirilmiş (850, 710, 600, 500, 355, 212, 150 µm) ve 500 µm elekten elendikten sonra diğer fiziksel toz analizleri gerçekleştirilmiştir.

Kuzu karaciğeri tozunun fiziksel özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan toz analizleri sonucu %12,6±0,52 neme sahip kuzu karaciğeri tozunun, partikül boyutunun orta derecede ince, yapışkanlığının yüksek, akışkanlığının çok zayıf olduğu tespit edilmiştir. Tozun içerdiği B_{12} vitamin miktarı 80,71±0,17 µg/100 g olarak bulunmuştur. Kuzu karaciğeri kurutulduktan sonra yaklaşık %18,58 (KM) oranında B_{12} vitamini kaybına uğramıştır.

Ticari B_{12} vitamini gıda takviyesinin B_{12} vitamini miktarı 434,12±16,27 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Kapsül analizleri neticesinde bir kapsülün ortalama net 442,87±1,77 mg kuzu karaciğeri tozu içerdiği ve dağılma süresinin ortalama 6,33 dk olduğu tespit edilmiştir. Bir kapsülün B_{12} vitamin miktarı yaklaşık 0,36 µg'dır. Dünya sağlık örgütünün erişkinler için tavsiye ettiği B_{12} vitamin miktarı günde 2,4 µg'dır. Günde 7 adet üretilen kuzu karaciğeri kapsülü alımıyla bu miktar karşılanmaktadır. Kuzu karaciğeri tozunun ve ticari B_{12} vitamini gıda takviyesinin *in vitro* gastrointestinal yöntemle B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği analiz edildiğinde biyoerişilebilirlikleri sırasıyla yaklaşık %482,5±37, %53,50±2,12 olarak bulunmuştur. Kuzu karaciğeri tozununun B_{12} vitamini biyoerişilebilirliğinin ticari bir B_{12} vitamini takviyesi ile karşılaştıldığında yaklaşık 9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır.

Toz ürünleri depolama açısından avantajlı olması, taşınmasının kolay olması taşıma esnasında soğuk zincire gerek duyulmaması gibi nedenlerle tercih edilmektedir. Kuzu karaciğeri tozuna ilişkin literatür taraması yapıldığında yayınlanmış ilgili herhangi bir yayına rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile kuzu karaciğeri tozunun hem toz özellikleri hem de B_{12} vitamini gıda takviyesi potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Kuzu karaciğeri sıcak havalı (konveksiyon) kurutucu ile kurutulmuştur. Çalışmanın geliştirilebilirliği açısından kuzu karaciğerinin, dondurarak kurutma teknolojisiyle kurutulmasıyla elde edilen tozun hem toz özellikleri hem de B_{12} vitamin miktarı sıcak havalı (konveksiyon) kurutucu ile kurutulan toz ile kıyaslanabilir. Ayrıca elde edilen kuzu karaciğeri tozunun çeşitli gıda ürünlerine katılmasıyla başta B_{12} vitamini olmak üzere vitamince ve mineralce zenginleştirilebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda kuzu karaciğeri tozunun *in vitro* gastrointestinal yöntemle B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği belirlenerek literatüre katkı sağlanmıştır. B_{12} vitamininin kompleks bir emilim sürecine sahip olmasından dolayı *in vitro* gastrointestinal yöntemle B_{12} vitamini biyoerişilebilirliği belirlenen kuzu karaciğeri tozunun B_{12} vitamini biyoyararlanımının *in vivo* çalışma ile de desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca literatürde mevcut olan *in vitro* statik sindirim modeli (INFOGEST Statik Sindirim Protokolü) B_{12} vitamini emilim sürecinde rol oynayan glikoproteinler haptokorrin ve intrinsik faktörün ikamesinin yer aldığı yeni bir sindirim modeli ile geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

[1] Türker, A., Yüksel, O. Beslenmede Vitaminlerin Önemi. In: Beslenme ve Obezite. Ed.: Ç. Yaman. Güven Plus Grup A.Ş. Yayınları, İstanbul, 2020, 7.

[2] Doğan, M., Demirci, S. Vitamin B12 ve nörolojik hastalıklardaki etkisi. SD Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2010, 1(1), 23-29.

[3] Koç, A., Koçyiğit, A., Ulukanlıgil, M., Demir, N. Şanlıurfa yöresinde 9-12 yaş grubu çocuklarda B12 vitamini ve folik asit eksikliği sıklığı ile bağırsak solucanlarıyla ilişkisi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2005, 48, 308-15.

[4] Emen, B., Kılıç Öztürk, Y., Eren, M. A., Özdemir, E., Öztürk, F., Düzenli, E., Sarıaslan, D. B12 vitamin eksikliği bulunan hastalarda etiyolojik faktörler ile laboratuvar verileri arasındaki ilişkinin geriye dönük değerlendirilmesi. Tepecik Eğit. Hast. Dergisi. 2013, 23 (1), 19-23.

[5] Karakaya, S., Şensoy, İ. Fonksiyonel ürün tasarımı: gıda yapısı, gıda işleme ve biyoerişebilirlik arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. TÜBİTAK, 2016, Ankara.

[6] Parada, J., Aguilera, J. M. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. Journal of food science. 2007, 72(2), R21-R32.

[7] Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T. O. R. S. T. E. N., Bourlieu, C., ... Brodkorb, A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food–an international consensus. Food & Function. 2014, 5(6), 1113-1124.

[8] Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Clemente, A. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. Nature Protocols. 2019, 14(4), 991.

[9] Küçükkömürler, S., Koluman, A. Tüketicilerin sakatat tüketimi ve tercihi. Journal of Recreation and Tourism Research. 2021, 8(1), 120-143.

[10] International Agency for Research on Cancer. Red meat and processed meat. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 2018, 114, 1-511.

[11] Liu, T., Zhang, T., Yang, L., Zhang, Y., Kang, L., Yang, L., Duan, Y. Effects of fermentation on the physicochemical properties and aroma of lamb liver paste. Fermentation, 2022, 8(12), 676.

[12] Williams, P. Nutritional composition of red meat. Nutrition & Dietetics, 2007, 64, S113-S119.

[13] Biel, W., Czerniawska-Piątkowska, E., Kowalczyk, A. Offal chemical composition from veal, beef, and lamb maintained in organic production systems. Animals, 2019, 9(8), 489.

[14] Pretorius, B., Schönfeldt, H. C. Cholesterol, fatty acids profile and the indices of atherogenicity and thrombogenicity of raw lamb and mutton offal. Food Chemistry. 2021, 345, 128868.

[15] Purchas, R. W., Wilkinson, B. H., Carruthers, F., Jackson, F. A comparison of the trans fatty acid content of uncooked and cooked lean meat, edible offal and adipose tissue from New Zealand beef and lamb. Journal of Food Composition and Analysis. 2015, 41, 151-156.

[16] Hoffman, L. C., Laubscher, L. L., Leisegang, K. Nutritional value of cooked offal derived from free-range rams reared in South Africa. Meat science. 2013, 93(3), 696-702.

[17] Bester, M., Schönfeldt, H. C., Pretorius, B., Hall, N. The nutrient content of selected South African lamb and mutton organ meats (offal). Food Chemistry. 2018, 238, 3-8.

[18] Ateş, S., Yıldız, F. M., Sarı, Erdal., Kayaş, S. Hematolojik bulgular olmadan vitamin B12 eksikliği. Zeynep Kamil Tıp Bülteni. 2018, 49(1):80-84.

[19] Ede, G., Ayaz, A. B12 vitamini ve folik asidin adipozite üzerine etkisi. Beslenme ve Diyet Dergisi. 2016, 44(1), 47-54.

[20] Yetim, A. Anne ve bebeklerinde B_{12} ve folat eksikliklerinin belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, 2010, 139 s. (Tıpta Uzmanlık Tezi).

[21] Paksoy, S. Emziren annelerdeki B12 düzeyinin bebeğin B12 ve homosistein düzeyi ile ilişkisi. İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, 2020, 59 s. (Tıpta Uzmanlık Tezi).

[22] Anonim, 2023. https://www.animalresearch.info/en/medical advances/medical-discovery-timeline/pernicious-anaemia/. Erişim Tarihi: 12.02.2023.

[23] Lurz, E. Vitamin B12; absorption, metabolism, and deficiency. In: Kuipers, EJ, ed. Encyclopedia of Gastroenterology. 2nd ed. London, United Kingdom: Academic Press. 2020: 727 –733.

[24] Anonim, 2023. https://eczacifarkiyla.com/b12-vitamini-hakkinda-bilmeniz-gerekenler/. 2021, erişim Tarihi:12.02.2023.

[25] Rizzo, G., Laganà, A. S. A review of vitamin B12. Molecular nutrition. 2020, 105-129.

[26] Ahmadova, K. Vücutta gerçek B12 eksikliğinin tespitinde serum metilmalonik asitin rolü. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, 2017, 55 s. (Tıpta Uzmanlık Tezi).

[27] Küçükaydın, H. G. A., Sivri, G. T., Öksüz, Ö. Production of vitamin B12 by propionic acid bacteria and investigation of effective parameters. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 2022, 10(sp1), 2815-2820.

[28] Rampazzo, G., Zironi, E., Pagliuca, G., Gazzotti, T. Analysis of cobalamin (vit. B12) in ripened cheese by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry. Foods. 2022, *11*(18), 2745.

[29] Küçük Ataman, B. B12 vitamin eksikliğinde transkobalamin II gen polimorfizmlerinin araştırılması. Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı, Sakarya, 2019, 46 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[30] Li, Y., Gill, B. D., Grainger, M. N., Manley-Harris, M. The analysis of vitamin B12 in milk and infant formula: A review. International Dairy Journal. 2019, 99, 104543.

[31] Uzun, Y. Vitamin B12 eksikliği ile tam kan sayımı parametreleri arasındaki ilişkilerin araştırılması. Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir, 2021, 63 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[32] Fang, H., Kang, J., Zhang, D. Microbial production of vitamin B12: A Review and Future Perspectives. Microbial cell factories, 2017,16, 1-14.

[33] Watanabe, F. Vitamin B12 sources and bioavailability. Experimental biology and medicine. 2007, 232(10), 1266-1274.

[34] Gille, D., Schmid, A. Vitamin B12 in meat and dairy products. Nutrition reviews. 2015, 73(2), 106-115.

[35] Nakos, M., Pepelanova, I., Beutel, S., Krings, U., Berger, R. G., Scheper, T. Isolation and analysis of vitamin B12 from plant samples. Food Chemistry. 2017, 216, 301-308.

[36] Watanabe, F., Bito, T. Vitamin B12 sources and microbial interaction. Experimental Biology and Medicine. 2018, 243(2), 148-158.

[37] Koçi, E. N., Konuşkan, Z. G. B12 vitamini: kaynakları, metabolizması ve eksikliği. In: Sağlık & Bilim 2022: Medikal Araştırmalar-1. Ed.: O. Kahraman. Efe Akademik Yayıncılık, İstanbul, 2022, 145.

[38] Watanabe, F., Yabuta, Y., Bito, T., Teng, F. Vitamin B12-containing plant food sources for vegetarians. Nutrients, 2014, 6(5), 1861-1873.

[39] Obeid, R., Heil, S. G., Verhoeven, M. M., Van den Heuvel, E. G., De Groot, L. C., Eussen, S. J. Vitamin B12 intake from animal foods, biomarkers, and health aspects. Frontiers in Nutrition. 2019, 6, 93.

[40] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for cobalamin (vitamin B12). EFSA Journal. 2015, 13,4150.

[41] WHO. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. World Health Organization, 2004.

[42] Nohr D., Biesalski H.K. Reference Vitamin B12. Module in Food Science. Elsevier, 2016, Amsterdam.

[43] Tuzcu, M. S., Benli, A. R., Kumbasar, A. B12 vitamin eksikliğinin etiyolojisinin araştırılması ve B12 vitamin düzeyi ile mcv, homosistein, folat düzeyleri ve tiroid fonksiyon testleri arasındaki ilişkinin saptanması. Bozok Tıp Dergisi. 2018, 8(1), 25-30.

[44] Boran, M., Boran, Ö. F., Yılmaz, N., Canbakan, B. Vitamin B12 replasman tedavisi; oral? intramüsküler. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2020, 17(1), 19-23.

[45] Tuna, B. H. Gıda takviyelerinde bulunan c vitamininin *in vitro* biyo erişebilirliğinin belirlenmesi. İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul, 2021, 69 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[46] Wolffenbuttel, B. H., Kobold, A. C. M., Sobczyńska-Malefora, A., Harrington, D. J. Macro-B12 masking B12 deficiency. BMJ Case Rep. 2022, 15(1), e247660.

[47] Shipton, M. J., Thachil, J. Vitamin B12 deficiency–A 21st century perspective. Clinical medicine. 2015, 15(2), 145.

[48] Guéant, J. L., Guéant-Rodriguez, R. M., Alpers, D. H. Vitamin B12 absorption and malabsorption. In: Vitamins and hormones. Academic Press, 2022, p. 241-274.

[49] Sezgin, Y. Vitamin B12 yetersizliğine yaklaşım. Konuralp Medical Journal. 2019, 11(3), 482-488.

[50] Repossi, A., Zironi, E., Gazzotti, T., Serraino, A., Pagliuca, G. Vitamin B12 determination in milk, whey and different by-products of ricotta cheese production by ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Italian journal of food safety. 2017, 6(4).

[51] Geng, C., Yang, Z., Xu, P., Zhang, H. Vitamin B12 deficiency is associated with narcolepsy. Clinical Neurology and Neurosurgery. 2022, 212, 107097.

[52] Kaya, Z. Kalıtsal vitamin B12 eksiklikleri. XXXVIII. Ulusal Hematoloji Kongresi, 31 Ekim-03 Kasım 2012, Antalya.

[53] Evim, M. S., Tüten, R., Baytan, B., Yakarışık, S., Güneş, A. M. Artmış vitamin B12 düzeyi. Güncel Pediatri. 2014, 12(3), 160-164.

[54] Etcheverry, P., Grusak, M. A., Fleige, L. E. Application of in vitro bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, ıron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E. Frontiers in physiology. 2012, 3, 317.

[55] Akış, M. Sağlıklı ve fenilketonürili çocuklarda fonksiyonel b12 vitamin eksikliğinin plazma metilmalonik asit ve homosistein düzeyleri ile araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, 2012, 113 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[56] Kazaz, A., Erdoğan, M. G. Takviye edici gıda reklamlarında aldatıcı unsurlar. Gümüşhane Üniversitesi İletişim Fakültesi Elektronik Dergisi. 2020, 8(2), 930-960.

[57] Anonim, Türk Gıda Kodeksi. Takviye Edici Gıdalar Tebliği. Ağustos 2013 (Tebliğ No: 2013/49), Resmi Gazete Tarihi: 16.08.2013, Sayısı: 28737.

[58] Atalay, D., Erge, H. S. Gıda takviyeleri ve sağlık üzerine etkileri. Food and Health. 2018, 4(2), 98-111.

[59] Tek, N. A., Pekcan, G. Besin destekleri kullanılmalı mı? Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727, Klas Yayınları, 2008, ss.1-32, Ankara.

[60] Kara, B. Üniversite öğrencilerinin besin desteği kullanma durumlarının belirlenmesi. Hasan Kalyoncu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gaziantep, 2019, 77 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[61] Kılıç Kanak, E., Öztürk, S. N., Özdemir, Y., Asan, K., Öztürk Yılmaz, S. Gıda takviyeleri kullanım alışkanlıklarının değerlendirilmesi. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi. 2021, 10(1), 168-177.

[62] Arslan, D., Aydın, M., Türker, S. Extraction methods of medicinal and aromatic plants, ıts use in foods and evaluation in food supplement field. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 2021, 9(5), 926-936.

[63] Savlak, N., Çağındı, Ö., Dedeoğlu, M., İnce, C., Köse, E. Türkiye'de ve dünyada takviye edici gıdalara genel bir bakış. Gıda/The Journal of Food. 2022, 47(4).

[64] Anonim, 2023. https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/dietary-supplements-market-973.html. Erişim tarihi: 02.06.2023.

[65] Özbekler, T. M. Değişen beslenme alışkanlıkları perspektifinde takviye edici gıdalar: tüketiciler ne kadar bilinçli. International Social Sciences Studies Journal. 2019, 5(51), 6866-6882.

[66] Anonim, 2023. https://gtbd.org.tr/gtbd-yonetim-kurulu-baskani-samet-serttas-kuresel-gida-takviyeleri-pazari-110-milyar-dolar/ Erişim tarihi: 04.03.2023.

[67] Anonim, 2023. https://gtbd.org.tr/6-gida-takviyesi-ve-beslenme-arastirmasi-yapildi/ Erişim tarihi: 04.03.2023.

[68] Demirkan, K., & Bayraktar Ekincioğlu, A. Enteral beslenme tüpünden ilaç uygulanmasında ilaç dozaj şekillerinin önemi. Journal of the Turkish Society of Intensive Care/Türk Yogun Bakim Dernegi Dergisi. 2016, 14(1).

[69] Stegemann, S.; Bornem, C. Hard gelatin capsules today-and tomorrow. Capsugel Libr. 2002, 13–35.

[70] Çağlayan, P. Ş. Türkiye piyasasında bulunan meryemana dikeni (sılybum marıanum) eksraktını içeren sert jelatin kapsülleri üzerinde kalite kontrol çalışmaları. Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Mersin, 2020, 76 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[71] Gullapalli, R. P., Mazzitelli, C. L. Gelatin and non-gelatin capsule dosage forms. Journal of pharmaceutical sciences. 2017, 106(6), 1453-1465.

[72] Kathpalia, H., Sharma, K., Doshi, G. Recent trends in Hard Gelatin capsule delivery System. J. Adv. Pharm. 2014, 4.

[73] Yıldırım, M. Rheum Ribes L. ekstratını içeren sert jelatin kapsüllerin kalite kontrolünün yapılması ve oksidatif stres üzerine etkilerinin incelenmesi. Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Mersin, 2017, 71 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[74] Anonim, 2023. https://www.buyemptycapsules.com.au/pages/capsule-sizes Erişim Tarihi: 03.03.2023.

[75] Thakur, N., Raigond, P., Singh, Y., Mishra, T., Singh, B., Lal, M. K., Dutt, S. Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. Trends in Food Science and Technology. 2020, 97, 366-380.

[76] Schönfeldt, H. C., Pretorius, B., Hall, N. Bioavailability of nutrients. Caballero, B, P Finglas and F Toldrá, F (eds) The Encyclopedia of Food and Health. 2016, 1, 401-406.

[77] Erdağ Akca, E. Tahıl bazlı atıştırmalık barların farklı yöntemlerle mikroenkapsüle edilmiş demir ile zenginleştirilmesi ve biyoerişilebilirliklerinin belirlenmesi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa, 2021, 72 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[78] Çağındı, Ö., Köse, E., İnce, C. In vitro bioaccessibility and health effects of bioactive compounds in bread produced by sourdough fermentation. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 2021, 9(9), 1686-1694.

[79] Kamiloğlu, S., Paslı, A. A., Çapanoğlu, E., Özçelik, B. Kuru meyvelerin kuruyemişler ile birlikte tüketiminin flavonoidlerin in vitro biyoyararlılığına etkisinin incelenmesi. Gıda, 2014, 39(4), 227-233.

[80] Ayrancıoğlu Özay, İ. Farklı kurutma yöntemlerinin nar tanelerinin biyoaktif bileşenleri, *In vitro* biyoerişilebilirliği, renk ve yapısal özelliklerine etkisi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, 2021,111 s. (Doktora Tezi).

[81] Ströhle, A., Richter, M., González-Gross, M., Neuhäuser-Berthold, M., Wagner, K. H., Leschik-Bonnet, E., German Nutrition Society (DGE). The Revised D-A-CH-Reference Values for the Intake of Vitamin B12: Prevention of Deficiency and Beyond. Molecular nutrition & food research. 2019, 63(6), 1801178.

[82] Allen, L. H. Bioavailability of vitamin B12. International Journal for Vitamin and Nutrition Research. 2010, 80(4), 330.

[83] Brito, A., Habeych, E., Silva-Zolezzi, I., Galaffu, N., Allen, L. H. Methods to assess vitamin B12 bioavailability and technologies to enhance its absorption. Nutrition reviews. 2018, 76(10), 778-792.

[84] Anonim, Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 2005, 358 sayfa.

[85] Anonim, Gıda Mikrobiyolojisi. Ed.: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Ankara, 2019, 648 sayfa.

[86] Anonim, TS 1743 ISO 1442. Et ve Et Mamulleri-Rutubet Muhtevası Tayini Türk Standartları Enstitüsü, 2001, Ankara.

[87] Anonim, European Pharmacopeia 7.0, Vol. 1. Druckerei CH.; Beck Press, Germany, 2008.

[88] Anonim, Official Methods of Analysis 17th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, 2000, Method 950.46b.

[89] Nale, Z. Prebiyotik eklenmiş kefirin püskürterek kurutulması ve ürünün kalite özelliklerinin belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya, 2013, 117 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[90] Erdoğan, K. O. Steroid Yapıda Olmayan Antienflamatuvar Etken Madde Içeren Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması ve *In-vitro* Değerlendirilmesi. Marmara Universitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2021, 127 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[91] Saraç, M. G., Türker, D. A., Doğan, M. Ticari Öneme Sahip Toz Süt Ürünlerinin Morfolojik Yapısı ve Toz Akış Özelliklerinin Belirlenmesi. Gıda. 2021, 46(1), 119-133.

[92] Türker, D. A., Saraç, M. G., Doğan, M. Tuz oranı değişiminin kırmızı pul biberin toz akış özellikleri üzerine etkisi. Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi. 2021, 36(2), 165-176.

[93] Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P. Production Of Instant Soymilk Powders By Ultrafiltration. Spray Drying And Fluidized Bed Agglomeration, Journal of Food Engineering. 2008, 84:194-205.

[94] Anonim, USP. <1174> Powder flow. USP28 NF 25, 2016.

[95] Demir, Ö. Tasarımla kalite (Qbd) yaklaşımı kapsamında deksketoprofen trometamol tabletlerinin modelleme teknolojisi kullanılarak proses ve formülasyon tasarım aralığının belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2014, 229 s. (Yüksek Lisans Tezi).

[96] Uddin, M. S., Mamun, A. A., Tasnu, T., Asaduzzaman, M. In-process and finished products quality control tests for pharmaceutical tablets according to pharmacopoeias. J Chem Pharm Res. 2015, 7(9), 180-5.

[97] Anonim, World Health Organization. International Pharmacopoeia. 4th ed. Switzerland: WHO; 2015.

[98] Anonim, USP37-NF32. The United States Pharmacopoeial Convention, Inc. 2014.

[99] Anonim, Türk Gıda Kodeksi. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Şubat 2009 (Tebliğ No: 2009/6), Resmi Gazete Tarihi :06 Şubat 2009, Sayısı :27133.

[100] Asal Ulus C. Salmonella Bakterisinin Gıdalarda Varlığı. Samsun Sağlık Bilimleri Dergisi. 2021, 6(1), 28-34.

[101] Balpetek, D., Gürbüz, Ü. Bazı et ürünlerinde E. coli 0157: H7 varlığının araştırılması. Eurasian Journal of Veterinary Sciences. 2010, 26(1), 25-31.

[102] Belibağli, K. B., Ersan, E. Effects of storage on the quality of sous vide processed lamb liver. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi. 2018, 22 (1), 1-11.

[103] Millar, K. R., Penrose, M. E. A comparison of vitamin B12 levels in the livers and sera of sheep measured by microbiological and radioassay methods. New Zealand veterinary journal. 1980, 28(5), 97-99.

[104] Mullen, A. M., Alvarez, C. Offal: Types and Composition. Encyclopedia of Food and Health. 2016, pp. 152-157.

[105] Osborn, P. J., Bond, G. C., Millar, K. R. The distribution of copper, vitamin B12 and zinc in the livers of sheep. New Zealand veterinary journal. 1983, *31*(8), 144-145.

[106] Türker, İ., Koç, B., & İşleroğlu, H. Püskürtmeli-dondurarak kurutma işleminin maltodekstrinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi. Gıda/the journal of food, 2018, 43(2).

[107] Intipunya, P., Bhandari, B. R. Chemical deterioration and physical instability of food powders. In Chemical deterioration and physical instability of food and beverages, 2010, (pp. 663-700). Woodhead Publishing.

[108] Mamun, A. A., Bhowmik, S., Sarwar, M. S., Akter, S., Pias, T., Zakaria, M. A., Little, D. C. Preparation and quality characterization of marine small pelagic fish powder: A novel ready-to-use nutritious food product for vulnerable populations. Measurement: Food, 2022, *8*, 100067.

[109] Dirim, S., Metiner, E. E., Bıyıklı, İ., Yücel, N., Türkoğlu, T. Farklı Kurutma Yöntemleriyle Meyve Kabuğu Tozu Elde Edilmesi: Fiziksel Özellikler, Toz Ürün Özelliği ve Kurutma Yöntemlerinin Enerji Verimliliği Yönünden İncelenmesi. Firat University Journal of Science. 2023, 35(1).

[110] Ermiş, E. Gıda Tozları: Özellikleri ve Karakterizasyonu. Gıda, 2015, 40(5), 287-294.

[111] Rostami, H., Dehnad, D., Jafari, S. M., Tavakoli, H. R. Evaluation of physical, rheological, microbial, and organoleptic properties of meat powder produced by Refractance Window drying. Drying technology. 2018, 36(9), 1076-1085.

[112] Long, J. M., Mohan, A. Development of meat powder from beef byproduct as value-added food ingredient. LWT, 2021, 146, 111460.

[113] Jayawardena, S. R., Morton, J. D., Bekhit, A. E. D. A., Bhat, Z. F., Brennan, C. S. Effect of drying temperature on nutritional, functional and pasting properties and storage stability of beef lung powder, a prospective protein ingredient for food supplements. LWT, Food Science and Technology. 2022, 161, 113315.

[114] Mohamed, A. A., Ismail-Fitry, M. R., Rozzamri, A., Bakar, J. Effect of foam-mat drying on kinetics and physical properties of Japanese threadfin bream (Nemipterus japonicus) powder. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(3), e16376.

[115] Nakilcioğlu-Taş, E., Ötleş, S. Zeytin çekirdeği antioksidanlarının dondurarak kurutma tekniği ile mikroenkapsülasyonu: Toz ürünün fiziksel ve kimyasal karakterizasyonu. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 2021, 10(1), 140-149.

[116] Yaman, M., Çatak, J., Uğur, H., Gürbüz, M., Belli, İ., Tanyıldız, S. N., Yıldırım, H., Cengiz, S., Yavuz, B. B., Kişmiroğlu, C., Özgür, B., Yaldız, M. C. The bioaccessibility of water-soluble vitamins: A review. Trends in Food Science and Technology. 2021, 109, 552-563.

[117] Pereira, P. M. D. C. C., Vicente, A. F. D. R. B. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. Meat science. 2013, *93*(3), 586-592.

[118] Chungchunlam, S. M., Moughan, P. J. Comparative bioavailability of vitamins in human foods sourced from animals and plants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2023, 1-36.

[119] Afonso, C., Cardoso, C., Gomes-Bispo, A., Ferreira, I., Rego, A., Coelho, I., Motta, C., Prates, J.A.M., Castanheira, I., Bandarra, N. M. Fatty acids, selenium, and vitamin B12 in chub mackerel (Scomber colias) as nourishment considering seasonality and bioaccessibility as factors. Food Chemistry. 2023, 403, 134455.

[120] Fărcaș, A. C., Socaci, S. A., Chiș, M. S., Martínez-Monzó, J., García-Segovia, P., Becze, A., Igual, M. *In vitro* digestibility of minerals and b group vitamins from different brewers' spent grains. Nutrients, 2022, *14*(17), 3512.

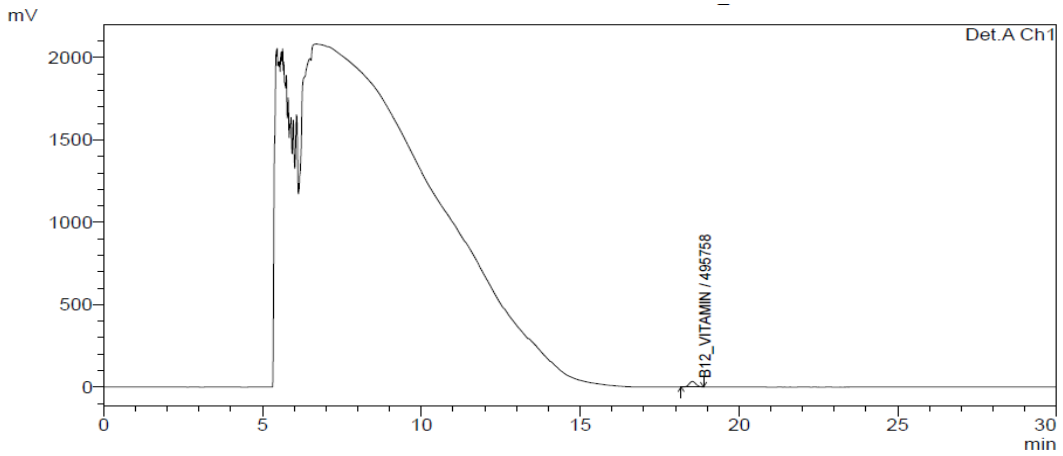
[121] Chamlagain, B., Peltonen, L., Edelmann, M., Ramos-Diaz, J. M., Kemppinen, A., Jouppila, K., Piironen, V. Bioaccessibility of vitamin B12 synthesized by Propionibacterium freudenreichii and from products made with fermented wheat bran extract. Current research in food science. 2021, 4, 499-502.

[122] Mo, H., Kariluoto, S., Piironen, V., Zhu, Y., Sanders, M. G., Vincken, J. P., Nout, M. R. Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate, vitamin B12 and isoflavones in tofu and tempe. Food chemistry. 2013, *141*(3), 2418-2425.

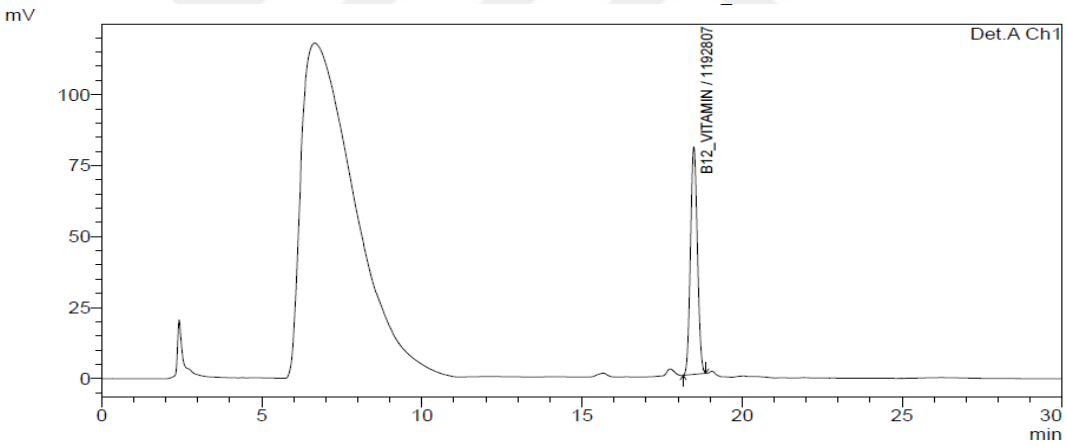
EKLER

EK 1. B_{12} vitamini kromatogramları

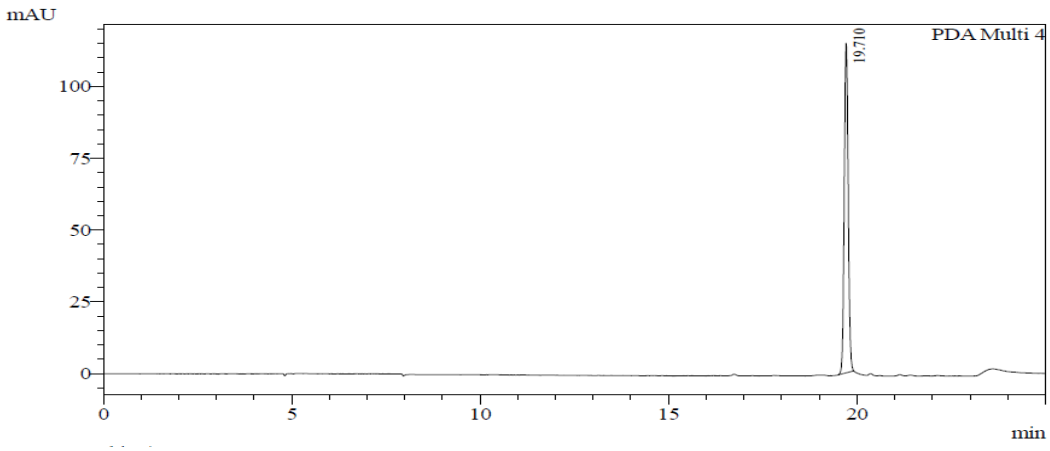
EK 1.1. Kuzu karaciğeri örneği B_{12} vitamini kromatogramı



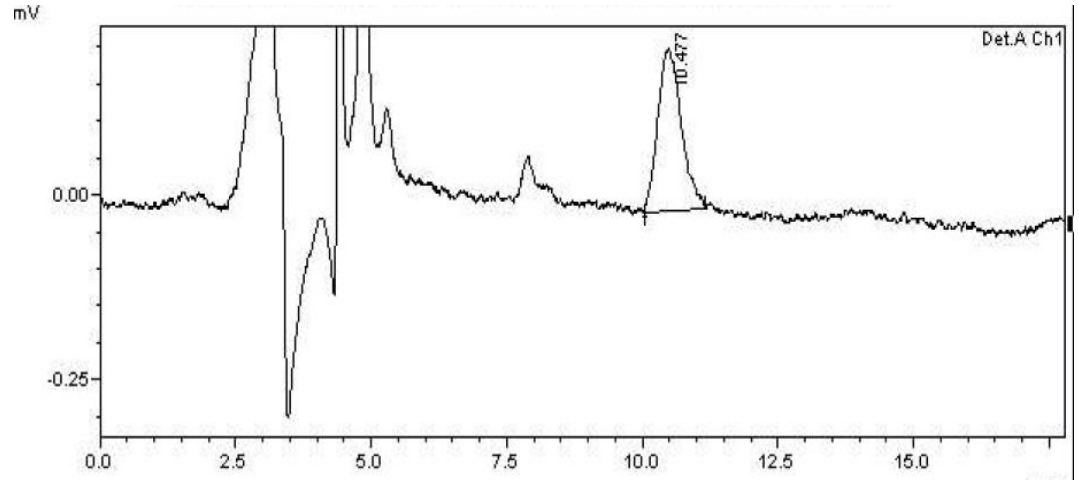
EK 1.2. Kuzu karaciğeri tozu örneği B_{12} vitamini kromatogramı



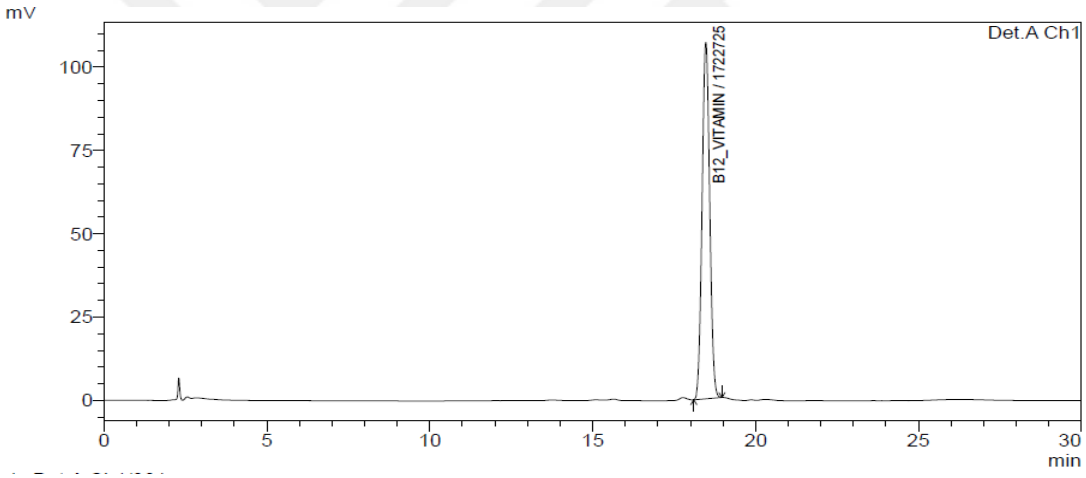
EK 1.3. B_{12} gıda takviyesi örneği B_{12} vitamini kromatogramı



EK 1.4. Kuzu karaciğeri tozu sindirim sonrası B_{12} vitamini kromatogramı



EK 1.5. B_{12} vitamini gıda takviyesi sindirim sonrası B_{12} vitamini kromatogramı



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Yasemin ÖZBAY

Medeni Durumu: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Soma Süper Lise, 2003-2007

Lisans: Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2008-2012

Yüksek Lisans: Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı – Gıda Teknolojisi Bölümü, 2019-2023

Mesleki Deneyim

Efkar Soğuk Hava Deposu, 2013-2015

Intertek Test Hizmetleri, 2015-2016

Sarten Ambalaj San. ve Tic. A.Ş, 2016-2018

Uzmanlık

C sınıfı İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanı
Tehlikeli Madde Güvenlik Danışmanı

Yayınlar

Sürmeli, Y., Bağdatlı, A., Göksu, A. 2013. Fonksiyonel Gıdalar ve Fonksiyonel Et Ürünleri Üretimi. İç Anadolu Bölgesi 1.Tarım ve Gıda Kongresi, 2-4 Ekim 2013, Niğde.

Sürmeli, Y., Bağdatlı, A., Göksu, A. 2012. Fonksiyonel Et Ürünleri Üretim Stratejileri. 11.Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay.