T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SPIRULINA PLATENSIS İLAVE EDİLEREK ÜRETİLEN KEFİRİN BESİN İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

BETÜL AKTAŞ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ÖZLEM AYTEKİN

BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI
BESLENME VE DİYETETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
OCAK/2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bana her türlü imkânı sağlayan ve destek olan tez danışmanım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Özlem AYTEKİN'e,

Laboratuvarlarını ve cihazlarını kullanmama imkân tanıyan ve çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen üniversitemiz Tıbbi Biyokimya Bölümü hocalarına ve çalışanlarına,

Laboratuvar çalışmama destek olan Prof. Dr. Şaban TEKİN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Işık ÇOBAN'a,

Yüksek lisans süresince ihtiyacım olduğu her anda yardımını gördüğüm Dr. Öğr. Üyesi Banu BAYRAM hocama,

Her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR iv
İÇİNDEKİLER v
TABLOLAR LİSTESİ vii
ŞEKİLLER LİSTESİ viii
RESİMLER LİSTESİ ix
SİMGELER VE KISALTMALAR x
ÖZET xii
ABSTRACT xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. *SPIRULINA PLATENSIS* 3
2.1.1. Sınıflandırma ve Morfolojisi 4
2.1.2. Tarihçesi 5
2.1.3. Besin Ögesi Bileşimi 7
2.1.4. Sağlık Üzerine Etkileri 10
2.2. KEFİR 16
2.2.1. Tarihçesi 18
2.2.2. Kefir Üretimi 18
2.2.3. Besin Ögesi Bileşimi 19
2.2.4. Sağlık Üzerine Etkileri 21
2.3. *SPIRULINA PLATENSIS* İLE BESİN ZENGİNLEŞTİRMESİ 25
3. GEREÇ VE YÖNTEM 31
3.1. KEFİR ÜRETİMİ VE KEFİRE *SPIRULINA PLATENSIS* İLAVESİ 31
3.2. DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRMESİ 31
3.3. TİTRASYON ASİTLİĞİ 32
3.4. pH ÖLÇÜMÜ 33
3.5. PROTEİN ANALİZİ 33
3.6. AMİNO ASİT ANALİZİ 33
3.7. YAĞ ASİTLERİ ANALİZİ 33
3.8. MİNERAL ANALİZLERİ 33
3.9. ÖRNEKLERİN EKSTRAKSİYONU 33
3.9.1. Metanol:dH_2O Ekstraksiyonu 34
3.9.2. Etanol Ekstraksiyonu 34

3.9.3. dH_2O Ekstraksiyonu 34
3.10. TOPLAM FENOL TAYİNİ 35
3.11. DPPH ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ 36
3.12. İNDİRGEME GÜCÜ ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ 37
3.13. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 37
4. BULGULAR 38
4.1. DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRMESİ 38
4.2. TİTRASYON ASİTLİĞİ VE pH 39
4.3. PROTEİN ANALİZİ 40
4.4. AMİNO ASİT ANALİZİ 40
4.5. YAĞ ASİTLERİ ANALİZİ 41
4.6. MİNERAL ANALİZLERİ 42
4.7. TOPLAM FENOL TAYİNİ 43
4.8. DPPH ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ 45
4.9. İNDİRGEME GÜCÜ ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ 46
5. TARTIŞMA 50
5.1. DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRMESİ 50
5.2. TİTRASYON ASİTLİĞİ VE pH 51
5.3. PROTEİN VE AMİNO ASİT ANALİZLERİ 51
5.4. YAĞ ASİTLERİ ANALİZİ 53
5.5. MİNERAL ANALİZLERİ 53
5.6. TOPLAM FENOL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ 53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 56
KAYNAKLAR 57

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: *Spirulina*'nın besin değeri 8

Tablo 2.2: 2 g/gün *Spirulina* tüketiminin günlük gereksinimi karşılama yüzdeleri 9

Tablo 2.3: *Spirulina*'nın sağlık üzerine etkileri 13

Tablo 2.4: Kefir danesi mikroorganizmaları 17

Tablo 2.5: Kefirin besin ögesi bileşimi 20

Tablo 2.6: Kefirin sağlık üzerine etkileri 23

Tablo 2.7: *Spirulina platensis* ile yapılan besin zenginleştirmeleri 26

Tablo 3.1: Örneklerin değerlendirme kriterleri 32

Tablo 3.2: Ekstraksiyon sonrası örnek konsantrasyonları 35

Tablo 3.3: Gallik asit standardı hazırlama tablosu 35

Tablo 3.4: Toplam fenol lineer regresyon tablosu için hazırlanan çözeltiler 35

Tablo 4.1: Duyusal analiz sonuçlarının ortalama puan tablosu 38

Tablo 4.2: Titrasyon asitliği ve pH değerleri 39

Tablo 4.3: Örneklerin protein miktarları 40

Tablo 4.4: Örneklerin yağ asidi kompozisyonu 42

Tablo 4.5: Örneklerin kalsiyum ve demir içerikleri 42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: *Spirulina* hücresinin enine kesiti 5

Şekil 2.2: *β*-galaktosidazın hücredeki rollerinin şematik özeti 21

Şekil 3.1: Toplam fenol lineer regresyon eğrisi 36

Şekil 4.1: Örneklerin duyusal analiz değerlendirmesi sonuçları 39

Şekil 4.2: Örneklerin amino asit kompozisyonu 41

Şekil 4.3: Metanol:dH_2O ekstraksiyonu sonrası toplam fenol miktarları 43

Şekil 4.4: Etanol ekstraksiyonu sonrası toplam fenol miktarları 44

Şekil 4.5: dH_2O ekstraksiyonu sonrası toplam fenol miktarları 44

Şekil 4.6: Etanol ekstraksiyonu sonrası DPPH aktivite sonuçları 45

Şekil 4.7: dH_2O ekstraksiyonu sonrası DPPH aktivite sonuçları 46

Şekil 4.8: Metanol:dH_2O ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları 47

Şekil 4.9: Etanol ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları 48

Şekil 4.10: dH_2O ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları 48

Şekil 4.11: *S. platensis*'in su ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları 49

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1: *Spirulina*'nın mikroskobik görüntüsü 4

Resim 2.2: *Spirulina* hasadı ve *Spirulina*'dan dihé yapımı 6

Resim 2.3: Kefir danesinin görünümü 18

Resim 3.1: Duyusal analizde kullanılan örnekler 31

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE : Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim

ALT : Alanin Aminotransferaz

AST : Aspartat Aminotransferaz

ALP : Alkalen Fosfataz

BCA : Bisinkoninik Asit

BKİ : Beden Kütle İndeksi

ÇDYA : Çoklu Doymamış Yağ Asidi

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

DPPH : 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil

DZAA : Dallı Zincirli Amino Asit

g-GT : Gama Glutamil Transferaz

GSH : Glutatyon

HDL : Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HTLV-1 : Human T-cell Lymphotropic Virus Type 1

IL-6 : İnterlökin 6

KES005 : %0,05 (w/v) *Spirulina platensis* Eklenmiş Kefir

KES01 : %0,1 (w/v) *Spirulina platensis* Eklenmiş Kefir

KES05 : %0,5 (w/v) *Spirulina platensis* Eklenmiş Kefir

KES1 : %1 (w/v) *Spirulina platensis* Eklenmiş Kefir

KES2 : %2 (w/v) *Spirulina platensis* Eklenmiş Kefir

LAB : Laktik Asit Bakterileri

LDH : Laktat Dehidrogenaz

LDL : Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

MAM : Marmara Araştırma Merkezi

NADPH **:** Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NASA **:** Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi

NPK **:** Net Protein Kullanımı

NF-kB **:** Nükleer Faktör Kappa B

PEM **:** Protein Enerji Malnutrisyonu

PEK **:** Protein Enerji Kaybı

ROS **:** Reaktif Oksijen Türleri

SD **:** Standart Sapma

TNF-α **:** Tümör Nekroz Faktör Alfa

SPIRULINA PLATENSIS İLAVE EDİLEREK ÜRETİLEN KEFİRİN BESİN İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Amaç: Bu tezin amacı, geleneksel metotla üretilen kefir içeceğini besin değeri yüksek olan bir mikroalg olan *Spirulina platensis (S. platensis)* ile zenginleştirerek bu zenginleştirmenin ürünün duyusal kalitesine, organik ve inorganik bileşenlerine ve antioksidan aktivitesine etkilerini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Gelenksel metotla üretilen kefir örneklerine farklı oranlarda (%0,005, %0,01, %0,5, %1, %2) kurutulmuş ve toz halinde olan *S. platensis* ilave edilerek duyusal analizleri yapılmıştır. Süt ve sade kefirin yanı sıra duyusal analiz testinden en yüksek puanları alan %0,005 (KES005) ve %0,01 (KES01) ile %1 (KES1) oranlarında kurutulmuş toz *S. platensis* ilave edilmiş kefir örneklerinin titrasyon asitliği analizleri ve pH ölçümleri yapılmış, protein miktarları belirlenmiştir. Yağ asidi kompozisyonu, amino asit, kalsiyum ve demir içeriği analizleri yapılmıştır. Örneklerin antioksidan analizleri için uygulanan metanol:dH_2O, etanol ve dH_2O ekstraksiyonları sonrası toplam fenol miktarları, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) aktivitesi ve indirgeme gücü analiz edilmiştir.

Bulgular: Duyusal analiz değerlendirmesinde en yüksek puanları KES005 ve KES01 örnekleri almıştır. Sonuçlar doğrultusunda belirlenen üç konsantrasyon (%0,005, %0,01, %1) analizlerde kullanılmıştır. Kefire eklenen *S. platensis* kefirin protein içeriğini %37, kalsiyum içeriğini %9,6 oranında artırırken, demir içeriğini üç kat artırmıştır. Dallı zincirli amino asit (DZAA) miktarında artış meydana gelirken yağ asitleri kompozisyonunda değişiklik gözlenmemiştir. Etanol ekstraksiyonu sonrası yapılan analizlerde KES1 örneğinde toplam fenol miktarı (%6), DPPH (%11) aktivite ve indirgeme gücü (%3,6) artmıştır.

Sonuç: *Spirulina platensis* ilave edilmiş kefir protein, elzem amino asit, vitamin, mineral içeriği ve sağlık üzerine olumlu etkileriyle sağlıklı ya da diyabet, obezite, hiperlipidemi gibi çeşitli hastalık tanıları olan bireyler için hastalığın tedavisine yardımcı olabilecek fonksiyonel bir besindir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, inorganik bileşen, kefir, organik bileşen, *Spirulina platensis*

DETERMINATION OF NUTRITIONAL CONTENT OF KEFIR ENRICHED WITH *SPIRULINA PLATENSIS*

ABSTRACT

Aim: The aim of the study is to determine the sensory quality, organic and inorganic components and antioxidant activity of the kefir enriched with *Spirulina platensis (S. platensis).*

Materials and Methods: Sensory evaluation were performed by adding different concentrations (0.005%, 0.01%, 0.5%, 1%, 2%) of *S. platensis* to kefir samples. The samples which have the highest scores from sensory evaluation (kefir enriched with 0.005%, 0.01% and 1% *S. platensis*), milk and plain kefir were tested for titratable acidity, pH, protein, calcium, iron, fatty acid and amino asit contents. Total phenol amounts, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and reducing power antioxidant activity analyzes were performed after methanol:dH_2O, ethanol and dH_2O extractions.

Results: In the sensory analysis evaluation, KES005 and KES01 samples got the highest scores. According to the results of sensory evaluation analyzes, three samples (KES005, KES01, KES1) were chosen for other analyses. *S. platensis* increased the protein, calcium and iron content of kefir. While the amount of branched chain amino acid (BCAA) increased, no significant change was observed in the composition of fatty acids. In the analyzes performed after ethanol extraction, an increase was observed in the total phenol amount, DPPH and reducing power antioxidant activities of the samples with *S. platensis*.

Conclusion: Kefir enriched with *S. platensis* is a functional food that can be beneficial for individuals who are healthy or suffering from diseases like diabetes and obesity, with its protein, essential amino acid, vitamin, mineral content and positive effects on health.

Keywords: Antioxidant activity, inorganic component, kefir, organic component, *Spirulina platensis*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde insanlar yiyecek ve içeceklerini tüketirken onları sadece besinsel içerik ve lezzet açısından değil, aynı zamanda fonksiyonel özellikler olarak adlandırılan sağlık üzerine etkileri açısından da değerlendirme eğilimindedirler (1). Bu doğrultuda mikroalgler protein, yağ asidi, vitamin ve mineral içerikleri bakımından zengin olmaları ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle son yıllarda üzerinde en çok çalışılan organizmalardan biri durumuna gelmiştir. (2,3).

Spirulina platensis (*S. platensis*), diğer ismi ile *Arthrospira platensis,* gibi mikroalg türlerinin yüzyıllar öncesinde Hintli kabileler tarafından tüketildiği bulunmuştur (4). 1964'te *S. platensis*'in kimyasal analizi yapılmış ve bunun devamında botanikçiler, mikrobiyologlar, bilim adamları ve araştırmacıların yaptığı pek çok çalışmaya konu olmuştur (5).

Spirulina platensis'in kuru ağırlığının yaklaşık %60'ı sindirilebilirliği yüksek proteinden oluşur. Ayrıca yapısında tüm elzem aminoasitleri, askorbik asiti, B1, B2, B3, B6, B9 ve B12 vitaminlerini, folik asit, biotin ve β-karoteni barındırır. Klorofilin ve antioksidan özellik gösteren mavi pigment fikosiyaninin de kaynağıdır (6). Bunların yanı sıra yapısında yüksek konsantrasyonlarda başta γ-linolenik asit olmak üzere çoklu doymamış yağ asitlerini de barındırmaktadır (7).

Yapılan çalışmalar *S. platensis*'ten hücre parçalaması, protein ekstraksiyonu, enzimatik hidroliz ve fermantasyon gibi işlemler sonucunda elde edilen birçok biyoaktif peptidin antioksidan, immünomodülatör, anti-inflamatuar, antikanser, antiviral, antibakteriyel özeliklerinin olduğunu ve hiperlipidemi, malnütrisyon, obezite, ağır metal ve kimyasalların neden olduğu toksisiteye karşı da olumlu etkilerinin bulunduğunu göstermektedir (3). Arteriyel hipertansiyon, insülin direnci, diyabet, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, anemi, alerjik rinit, kanser ve ilaç toksisitesinin tedavisinde kullanımı önerilmektedir (8,9).

Günümüzde, probiyotik içeren gıdaların insan sağlığı üzerinde yararlı etki gösteren canlı mikroorganizmalar barındırdığının bilinmesi ile beraber fermente süt ürünlerinin tüketiminde bir artış görülmüştür. Probiyotik bakterilerin birçoğu laktik asit

bakterileridir (LAB) ve en sık tüketilen probiyotikli fermente süt ürünlerinden biri olan kefirde bol miktarda bulunur (10).

Kefir yapısında %3,5 oranında yağ, %3,3 oranında protein, %4 oranında laktoz bulundurmakta ve 100 g'da 65 kkal enerji sağlamaktadır. Ayrıca 112,2 g/100 g kalsiyum içermektedir (11). Kefirin sindirimi kolaylaştırdığı, *Salmonella, Helicobacter, Shigella, Staphylococcus* ve *Escherichia coli* gibi patojen bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiği, ayrıca antimikotik, antitümör ve antibiyotik özelliklerinin bulunduğu, iştahsızlık, uykusuzluk, verem ve böbrek hastalıklarında, safra bozukluklarında, sarılık, çeşitli enfeksiyonlar ve egzamada iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir. Mide ve bağırsak inflamasyonları, kalbin atardamar ile ilgili hastalıkları, yüksek tansiyon, diyare, konstipasyon üzerinde de etkili olduğu görülmüştür (12,13).

Spirulina platensis'in süt ürünlerini zenginleştirmede kullanıldığı bazı çalışmalar mevcuttur. Yakın tarihli bir çalışmada *S. platensis* ilave edilmiş yoğurdun besin değeri ve organoleptik özellikleri değerlendirilmiştir. %1 ve %1,2 oranlarında ilavenin protein ve mineral içeriğini artırmanın yanında organoleptik özellikleri yönüyle de tüketicinin ilgisini çektiği sonucuna varılmış ve besin değerinin artırılmasına yönelik olarak yoğurt endüstrisinde yaygın kullanımı önerilmiştir (1). *Spirulina*'nın yine yoğurda eklendiği başka bir çalışmada ise fermantasyon ve soğuk depolama sırasında *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium lactis*'in canlı kalma süresinin arttığı görülmüştür (14).

Bu çalışmanın amacı, kurutulmuş toz formdaki *S. platensis* ile zenginleştirilen kefirin zenginleştirme öncesine göre organik ve inorganik bileşenlerinin ve antioksidan aktivitesinin nasıl değiştiğini belirlemektir. Elde edilen sonuçlar değerlendirilerek ilgili bireylerin tüketimi konusunda tavsiyede bulunulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *SPIRULINA PLATENSIS*

Mikroalgler; tatlı ve tuzlu sularda yaşayan, genel olarak tek hücreli ve ökaryotik olan fotosentetik mikroorganizmalar grubudur. En önemli alg gruplarından bazıları yeşil algler (*Clorophyceae*), kırmızı algler (*Rhodophyceae*), diatomlar (*Bacillariophyceae*) ve kahverengi alglerdir (*Phaeophyceae*). Siyanobakteriler ya da mavi-yeşil algler, fotosentetik prokaryotlar olarak bakteri sınıfına ait olsalar da, genellikle "mikroalg" olarak kabul edilirler (15). Yeryüzündeki en ilkel yaşam formları arasındadır ve basit hücresel yapıya sahip mikroorganizmalardır. Fotosentez yapma kabiliyetine sahip olmalarıyla bitkilere, bitkilerdeki gibi bir hücre duvarlarının olmamasıyla da ilkel bakterilere benzer özellik gösterirler. Bunun yanı sıra hücre membranlarında glikojene benzer kompleks karbonhidrat bulundurmalarıyla hayvanlarla da benzerlik taşırlar. Mavi-yeşil alglerin hem yenilebilir hem de toksik türleri dünya üzerindeki canlılar için yaşam sürdürmenin zor olduğu alanlara adapte olmuşlardır. *Nostoc*, *Spirulina* ve *Aphanizomenon* türleri de dâhil olmak üzere, yenilebilir mavi-yeşil algler, binlerce yıl boyunca yemeklerde kullanılmıştır (16).

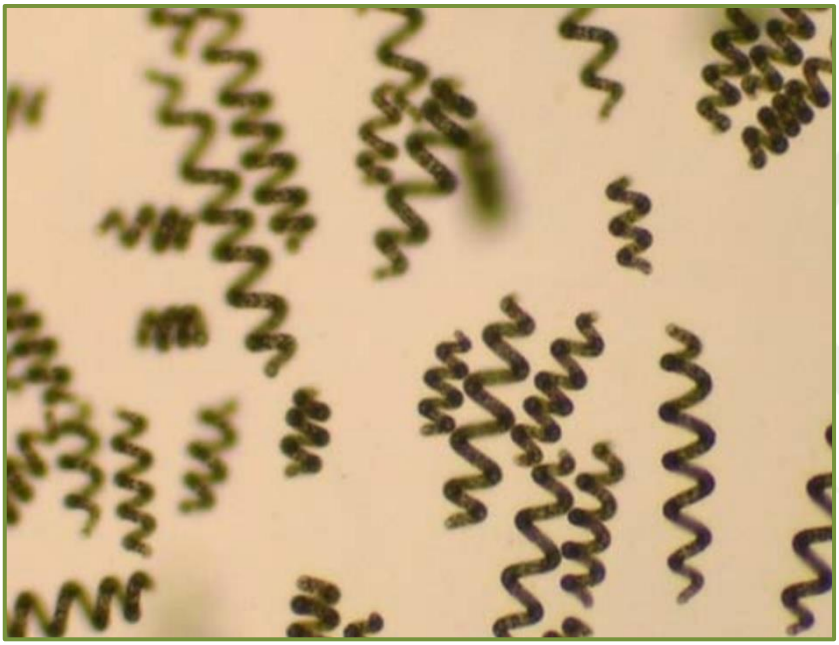
İlk *Spirulina* türleri, *Spirulina osclarlarides*, 1827 yılında bir tatlı su kaynağından izole edilmiş ve sonrasında *Spirulina* türlerinin acı sular, deniz, gelgit havuzları ve tuzlu su birikintileri gibi pek çok farklı ortamda da yaşayabildiği rapor edilmiştir. Cinsin üyelerine subarktik sularda, tropik lagünlerde ve kaplıca sularında da rastlanması, bu organizmaların farklı ortamlarda yaşamlarını sürdürebildiğini ve olumsuz çevre koşullarına uyum sağlayabildiğini göstermektedir. Diğer mikroorganizmaların yaşam şansının olmadığı ya da çok düşük olduğu alkali oranı yüksek (pH 11 civarı) sularda bol miktarda yetişen türlerdir (17). Tüm bu özellikler *Spirulina*'yı ekonomik açıdan önemli bir ürün haline getirmektedir. Bu nedenle *Spirulina*'nın alkali göllerde doğal olarak yetişmesinin yanında, kontrollü koşullarda büyük dış mekân veya sera havuzlarında ticari olarak da üretimi yapılmaktadır (3).

Besin mevcudiyetinin büyüme oranı üzerinde etkisi olmakla birlikte optimum yetişme şartları, alkali ortam (pH 8,5 ila 11,0), tuzlu su (>30 kg m^{-3}) ve 35 - 40 ºC arası sıcaklık değerleridir (4).

Doğadan 35 *Spirulina* türü izole edilmiştir ancak bilimsel literatürde araştırılan, tıp, eczacılık, gıda, tarım ve çevre gibi birçok alanda kapsamlı bir şekilde çalışılan ve tüketimi güvenli olarak kabul edilen en çok bilinen *Spirulina* türleri *Spirulina platensis*, *Spirulina maxima* ve *Spirulina fusiformis*'tir (3,7,8,18).

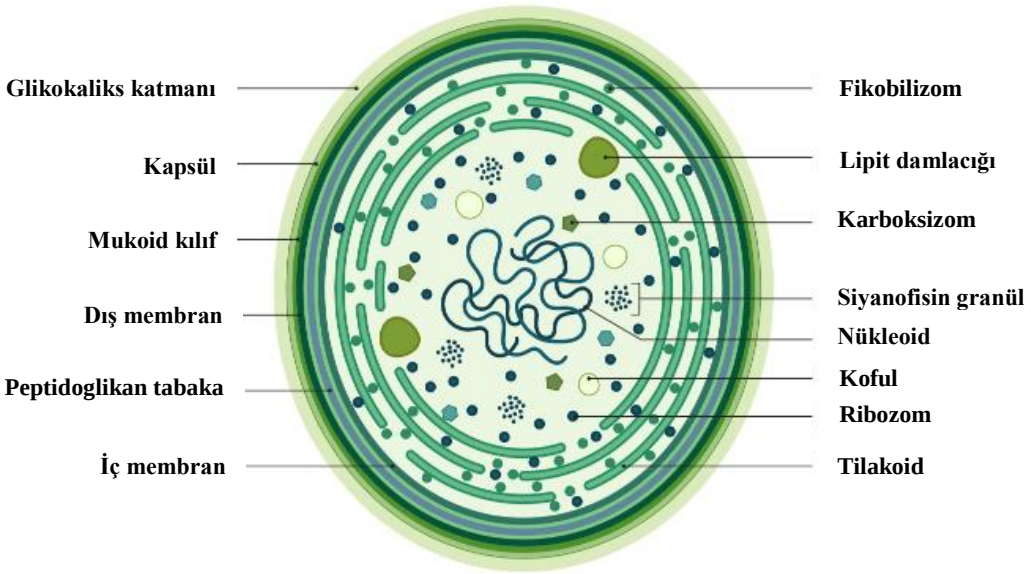
2.1.1. Sınıflandırma ve Morfolojisi

Spirulina platensis (*Arthrospira platensis*) türü; Cyanobacteria şubesi, Cyanophyceaa sınıfı, *Oscillatoriaceae* familyası ve *Spirulina* cinsine aittir (4,18).



Resim 2.1: *Spirulina*'nın mikroskobik görüntüsü (19)

İpliksi yapıda ve spiral şeklinde mavi-yeşil su mikroalgidir (3,8) (Resim 2.1). Mavi-yeşil alg olarak bilinir ancak gerçekte prokaryottur ve diğer alglerde olduğu gibi çekirdeği ve diğer ökaryot hücresel organizmaları yoktur (7). *Spirulina* hücresinin enine kesitinin görüntüsü Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: *Spirulina* hücresinin enine kesiti (20)

Spirulina hücresinin sitoplazma ve organelleri içten dışa doğru iç membran, peptidoglikan tabaka, dış membran, mukoid kılıf, kapsül ve glikokaliks katmanıyla çevrilidir (20).

2.1.2. Tarihçesi

Spirulina platensis'in kökeni aslen Afrika ve Latin Amerika'daki lagünlere dayanmaktadır. Bununla birlikte, farklı ortam şartlarına uyum sağlama yeteneği nedeniyle dünyanın diğer sıcak bölgelerine de yayılmıştır (4). XVI. yüzyılda, İspanyol işgalciler Meksika'yı fethettiklerinde, başkent Tenochtitlan'daki Meksika Vadisi'nde yaşayan Azteklerin gölden ince ağlarla "techuitlatl" adı verilen bir yiyecek topladıklarını ve ondan mavi-yeşil bir pasta yaptıklarını keşfettiler. XVI. yüzyılın sonuna kadar Techuitlat'ın adı çeşitli kaynaklarda geçmiştir ancak kentsel ve tarımsal gelişim sonucu yaşam alanları olan göllerin kurutulması nedeniyle günümüzdeki tek kalıntı Texcoco Gölü'ndeki *Spirulina* popülasyonudur (21).



Resim 2.2: Kanenbu kabilesi kadınlarının *Spirulina* hasadı ve *Spirulina*'dan dihé yapımı (22)

Fransız bitki bilimci Dangeard 1940 yılında, Fransız Ekvator Afrikası'nda - şimdiki Çad Cumhuriyeti- Fort Lamy'de bulunan Fransız Sömürge birliklerinde eczacı olan Crdach'tan bir örnek almıştır. Dangeard, Dihé (veya Dié) adı verilen malzemenin Kanembu kabilesi tarafından tüketildiğini ve Çad Gölü çevresindeki küçük göl ve göletlerin yüzeyindeki mikroskobik alg yığınlarının toplanıp güneşte kurutulmasıyla elde edildiğini bildirmiştir (Resim 2.2). Dihé örneklerini inceleyen Dangeard, örnekleri "filamentli, spiral şeklinde mavi algler" olarak tanımlamıştır (23). 1962 yılında Fransız Petrol Araştırma Enstitüsü, laboratuvarlarında ürettikleri *S. platensis*'in %60-70 oranında protein içerdiğini tespit etmişlerdir. Sonraları Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi (NASA), uzay araştırmalarında kullanılmak üzere besin tabletleri yapmak amacıyla çalışmaları devam ettirmiş, bundan sonraki çalışmalar ise üretim kapasitesini arttırma ve kullanım alanlarını geliştirme üzerine yoğunlaşmıştır (24). Son yıllarda ise genel olarak, dünya nüfusunun katlanarak artması sonucu ortaya çıkabilecek besin kıtlığı durumunda tek hücre protein kaynağı olarak kullanmak amacıyla üretilmektedir (4). Bunun yanı sıra biyoyakıt (25), biyoplastik (26), kozmetik (27), parmak izi tozu

(28), tarım (29), hayvan yemi ve sağlığı (30) ve yenilebilir aşı (31) gibi diğer pek çok alanda kullanımına yönelik çalışmalar mevcuttur.

2.1.3. Besin Ögesi Bileşimi

Spirulina platensis; kuru ağırlığının %50-70'i kadar protein, %15-25'i kadar karbonhidrat, %6-13'i kadar lipit, %4,2-6'sı kadar nükleik asit ve %2,2-4,8'i kadar da mineral içerir. Çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA'lar), toplam lipit içeriğinin %1,5-2'sini oluşturur. Elzem amino asitler (özellikle löysin, izolöysin, valin), γ-linolenik asit (toplam ÇDYA'nın %36'sı), vitaminler (B1, B2, B3, B6, B9, B12, C, D ve E), mineraller (potasyum, kalsiyum, krom, bakır, demir, magnezyum, mangan, fosfor, selenyum, sodyum ve çinko), pigmentler (klorofil a, ksantofil, beta-karoten, ekinenon, miksoksantofil, zeaksantin, kantaksantin, diatoksantin, 3-hidroksiekinenon, beta-kriptoksantin ve osilaksantin, fikobiliprotein, C-fikosiyanin, allofikosiyanin) ve enzimler (lipaz, süperoksit dismutaz vb.) yönünden zengindir (32,33). *Spirulina*'nın besin ögesi bileşimi Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Spirulina platensis et, yumurta ve süt gibi iyi kalite protein kaynaklarıyla karşılaştırıldığında daha az miktarda metionin, sistin ve lizin içermesine karşın, tüm amino asitleri içermesi nedeniyle tam protein olarak nitelendirilir ve baklagiller gibi tüm standart bitki proteinlerinden daha yüksek net protein kullanımına (NPK) sahiptir (21). %65-70 oranında protein içerirken kurutulmuş bütün yumurta %47, yağsız süt tozu %37, tam soya fasulyesi unu %36, fıstık %26, tavuk %24, balık ve biftek %22, tahıl unları %12'den az, sebzeler ise %5'ten az protein içerir (34).

Tablo 2.1: *Spirulina*'nın besin değeri (32)

Besin Ögesi	100 g'da	Besin Ögesi	100 g'da
Makro besin ögeleri		**Vitaminler**	
Enerji	373 kkal	**A vitamini (%100 β-karoten)**	352000 IU
Toplam yağ	4,3 g	**K vitamini**	1090 µg
Doymuş yağ	1,95 g	**B1**	0,5 mg
Tekli doymamış yağ	1,93 g	**B2**	4,53 mg
Çoklu doymamış yağ	0,26 g	**B3**	14,9 mg
Kolesterol	< 0,1 mg	**B6**	0,96 mg
Toplam karbonhidrat	17,8 g	**B12**	162 µg
Diyet lifi	7,7 g	**Mineraller**	
Protein	63 g	**Kalsiyum**	468 mg
Elzem amino asitler (mg)		**Demir**	87,4 mg
İzolöysin	3500	**Fosfor**	961 mg
Löysin	5380	**İyot**	142 µg
Lizin	2960	**Magnezyum**	319 mg
Metionin	1170	**Çinko**	1,45 mg
Fenil alanin	2750	**Selenyum**	25,5 mg
Treonin	2860	**Bakır**	0,47 mg
Triptofan	1090	**Manganez**	3,26 mg
Valin	3940	**Krom**	< 400 µg
Elzem olmayan amino asitler (g)		**Potasyum**	1660 mg
Alanin	4,59	**Sodyum**	641 mg
Arjinin	4,31	**Fitokimyasal bileşenler**	
Aspartik asit	5,99	**Fikosiyanin**	%17,2
Sistein	0,59	**Klorofil**	%1,2
Glutamik asit	9,13	**Süperoksit dismutaz**	531000 IU
Glisin	3,13	**γ-linolenik asit**	1080 mg
Prolin	2,38	**Toplam karotenoid**	504 mg
Serin	2,76	**β-karoten**	211 mg
Tirozin	2,5	**Zeaksantin**	101 mg
Histidin	1		

Tablo 2.1'de yer alan besin ögesi değerlerine göre 2 g/gün *Spirulina* tüketiminin 19 yaş üzeri 70 kg ağırlığındaki yetişkin bir bireyin günlük besin ögesi gereksinimlerini karşılama yüzdeleri Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2: 2 g/gün *Spirulina* tüketiminin yetişkin bir bireyin günlük gereksinimlerini karşılama yüzdeleri (35-40)

Besin Ögesi	Günlük gereksinim		2 g/gün *Spirulina*'nın günlük gereksinimi karşılama %'si	
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
Protein	0,8 g/kg (56 g)	0,8 g/kg (56 g)	2,3	2,3
İzolöysin	19 mg/kg	19 mg/kg	5,3	5,3
Löysin	42 mg/kg	42 mg/kg	3,7	3,7
Lizin	38 mg/kg	38 mg/kg	2,2	2,2
Metionin + Sistein	19 mg/kg	19 mg/kg	10,6	10,6
Fenilalanin + Tirozin	33 mg/kg	33 mg/kg	4,5	4,5
Treonin	20 mg/kg	20 mg/kg	4,1	4,1
Triptofan	5 mg/kg	5 mg/kg	6,2	6,2
Valin	24 mg/kg	24 mg/kg	4,7	4,7
A vitamini (retinol eşdeğeri)	600 µg	900 µg	58,7	39,1
K vitamini	90 µg	120 µg	24,2	18,2
B1	1,1 mg	1,2 mg	0,9	0,8
B2	1,1 mg	1,3 mg	8,2	7
B3	14 mg	16 mg	2,1	1,9
B6	1,3 mg	1,3 mg	1,5	1,5
B12	2,4 µg	2,4 µg	135	135
Kalsiyum	1000 mg	1000 mg	0,9	0,9
Demir	18 mg	8 mg	9,7	21,9
Fosfor	700 mg	700 mg	2,7	2,7
İyot	150 µg	150 µg	1,9	1,9
Magnezyum	310/320 mg	400/420 mg	2,1/2	1,6/1,5
Çinko	8 mg	11 mg	0,4	0,3
Selenyum	55 µg	55 µg	0,9	0,9
Bakır	900 µg	900 µg	0,001	0,001
Manganez	1,8 mg	2,3 mg	3,6	2,8
Krom	25 µg	35 µg	<32	<22,9
Potasyum	4700 mg	4700 mg	0,7	0,7
Sodyum	1500 mg	1500 mg	0,9	0,9

Tablo 2.2'ye göre 2 g/gün *Spirulina* tüketimi A ve K vitaminlerinin günlük gereksinimlerinin önemli bir kısmını; demir gereksiniminin kadınlarda yaklaşık %10'unu, erkeklerde yaklaşık %22'sini karşılamaktadır. Günlük B12 vitamini gereksiniminin ise tamamını sağlayabilmektedir. Bu bilgiler göz önüne alındığında bahsi geçen mikro besin ögelerinin eksikliği sonucunda ortaya çıkabilecek klinik tabloların önlenmesinde ve tedavisinde *Spirulina* kullanımının umut vadettiği görülmektedir.

2.1.4. Sağlık Üzerine Etkileri

Spirulina platensis; antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antitoksik, antidiyabetik, antikanser, anti-inflamatuar ve immünomodülatör özellikleriyle bilinmektedir (41,42). Konstipasyon, hafızada işlev bozukluğu, yara iyileşmesi ve metabolik sendrom üzerinde *S. platensis* takviyesinin ve uygulamasının olumlu sonuçlar verdiği görülmüştür (43-46).

Karotenoidler, klorofil ve fikosiyanin gibi güçlü antioksidanları içeren *Spirulina*'nın sağlık üzerindeki yararlı etkilerinin birçoğu antioksidan özelliğinden kaynaklanır (47). Deltametrin kaynaklı toksisite üzerinde *S. platensis* takviyesinin antioksidan, hepatoprotektif, nefroprotektif ve nöroprotektif etkiye sahip olduğu ve aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), gama glutamil transferaz (g-GT), kolesterol, ürik asit, üre, kreatinin ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α)'nın değişen serum düzeylerini normal seviyelere getirdiği görülmüştür. Ayrıca, doku lipit peroksidasyonunda, nitrik oksit ve oksidatif streste azalma sağlamıştır. Deltametrin kaynaklı subakut toksisitenin temel sebebi deltametrin maruziyeti sonucu vücutta aşırı miktarda üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) ve bunun sonucu oluşan oksidatif strestir. *S. platensis*'in bu oksidatif hasar üzerindeki olumlu etkisinin malondialdehit, nitrik oksit ve serbest radikallerin inhibisyonu yoluyla veya endojen enzimatik antioksidan ve serbest radikal süpürücüleri olan katalaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerini iyileştirme yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu olumlu etkiden C-fikosiyanin, β-karoten, mineraller, vitaminler ve esansiyel amino asitler gibi güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar aktiviteye sahip bileşenler sorumludur (48).

Diyabetik ratlar üzerine yapılan bir çalışmada *S. platensis* ekstraktının oral takviyesinin (20-30 mg/kg vücut ağırlığı) plazma çinko, demir, selenyum, bakır

minerallerini ve antioksidan enzim seviyelerini artırdığı; glukozun, lipit parametrelerinin, malondialdehitin ve ALT, AST, TNF-α ve interlökin 6 (IL-6)'nın plazma seviyelerini düşürdüğü görülmüştür. *S. platensis*'in iz elementlerin plazma konsantrasyonlarını nasıl artırdığı bilinmemekte ancak bunu emilimi artırmak yoluyla sağladığı düşünülmektedir. Çinko ve selenyum, antioksidan enzimlerin kofaktörü olarak görev yapar. Antioksidan enzim seviyelerindeki artış, bu minerallerin plazma düzeylerindeki artışla açıklanabilir. *S. platensis* takviyesiyle birlikte artan antioksidan seviyeleri ROS ve oksidatif stres üzerinde etkili olmuş, ayrıca diyabetin lipit ve glukoz metabolizması ile karaciğer enzimleri üzerindeki olumsuz etkilerini kısmen azaltmıştır. Malondialdehit, bir lipit peroksidasyonu göstergesidir. Çinko ve bakır minerallerinin plazma seviyelerindeki azalma glukoz intoleransı, insülin direnci ve diyabetle ilişkilendirilmektedir. TNF-α ve IL-6 de diyabet patogenezinde önemli rol oynamaktadır (49).

Spirulina'nın içerdiği bazı peptidlerin anti-hipertansif etki gösterdiği (50), 8 hafta boyunca yapılan *Spirulina* takviyesinin (150 mg/kg/gün) sağlıklı Wistar ratlara uygulanan yüksek yağlı diyet sonucu oluşan karaciğer steatozu ve lezyonlarını azalttığı, hepatosit anormalliklerinde iyileşme sağladığı, karaciğer lipit metabolizmasını doğrudan etkilediği ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterolü artırdığı (51) da çalışmalarda gösterilmiştir.

S. platensis takviyesinin plazma lipit konsantrasyonları üzerindeki etkisi üzerine yapılan yedi randomize kontrollü çalışmanın yer aldığı bir meta analizde *Spirulina*'nın plazma toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol ve trigliserit konsantrasyonlarını azalttığı ve HDL kolesterolü artırdığı ortaya koyulmuştur. *Spirulina*'nın hipolipidemik etki gösteren aktif bileşenleri henüz tam olarak bilinmese de içerdiği C-fikosiyanin, glikolipit H-b_2 ve γ-linolenik asidin bu etkiden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bu biyoaktif bileşenlerin lipit metabolizması üzerindeki olumlu etkileri lipoprotein lipaz, hepatik trigliserit lipaz, glutatyon (GSH) peroksidaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerini artırma, lipit peroksidasyonunu ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı inhibe etme ve ince bağırsakta kolesterol ve safra asitlerinin emilimini azaltma yoluyla gerçekleşir (8).

Zahran ve Emam (52)'ın yetişkin Wistar ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 4 hafta süresince günlük 500 mg/kg *Spirulina* takviyesinin intraperitoneal nikotin

enjeksiyonu sonucu oluşan oksidatif strese karşı renoprotektif etki gösterdiği bulunmuştur. *S. platensis*'in renoprotektif etkisinin biyomembranları lipit peroksidasyonuna karşı koruma ve hücresel antioksidan savunmayı arttırma yeteneklerinden kaynaklanabileceği ve *S. platensis* takviyesinin nikotin kaynaklı böbrek hasarının temel mekanizması olan inflamasyonu azaltabileceği düşünülmektedir. *S. platensis* inflamatuar yanıtı sağlayan nükleer faktör kappa B (NF-kB) yolağının inaktivasyonu yoluyla oksidatif stresi azaltarak böbreği sitotoksisiteye karşı etkili bir şekilde koruyabilir. Yapısındaki ana antioksidan bileşen olan fikosiyanin, ROS-NF-kB yolunu inhibe ettiği bildirilen C vitamininden yaklaşık yirmi kat daha etkilidir. 20-60 yaş arası 38 obez ve hafif şişman bireyin dâhil olduğu klinik bir çalışmada da günlük 2 g (4 x 500 mg/gün) *S. platensis* uygulamasının vücut ağırlığı, bel çevresi, vücut yağ kitlesi, beden kütle indeksi (BKİ) ve iştah üzerinde önemli ölçüde azalma sağladığı belirlenmiştir (53).

Doğal ürünlerin kullanımı koruyucu veya tedavi edici özellikleriyle kansere yönelik uygulanan tedavilerin yan etkilerinden kaçınmaya yardımcı olabilir. *S. platensis*'in bağışıklık sistemi ile deoksiribo nükleik asit (DNA) onarımı üzerindeki olumlu etkilerinin ve antioksidan özelliğinin çeşitli kanser türlerine karşı koruyucu etki gösterebileceği öne sürülmektedir (54). Yapılan bir çalışmada, ratlarda günlük diyetin %1'i kadar *S. platensis* takviyesinin intraperitoneal uygulanan (tek doz; 30 mg/kg) 7,12-dimetilbenz[A]antrasen kaynaklı meme tümörü oranını %87'den %13'e düşürdüğü görülmüştür. İmmünohistokimyasal analiz sonuçları ise hem Ki-67 proteininin hem de östrojen α'nın ekspresyonunu azalttığını ortaya koymuştur. Ki-67, hücre fraksiyonundaki büyüme fazını belirlemek için kullanılan bir hücre proliferasyon belirteciyken östrojen α hücresel büyüme ve farklılaşma üzerinde düzenleyici olarak görev yapar. Bu belirteçlerdeki azalma kanserin yayılmasının azaldığını ifade etmektedir (55). Kanser hücreleri üzerinde yapılan *in vitro* bir çalışmada, %5 oranında *S. platensis* uygulamasının kolon kanserinde apoptozla ilgili genlerin ekspresyonunu modüle ederek insan kolorektal adenokarsinom (Caco-2) hücre dizisinin koloni sayısını yaklaşık %20 oranında azalttığı ve kanser hücrelerinin yayılmasını %60-70 oranında inhibe ettiği görülmüştür. Pro-apoptotik genlerin ekspresyonunu artırırken anti-apoptotik gen ekspresyonunu azaltmıştır (56). *S. platensis*'in sağlık üzerine etkilerinin incelendiği bazı çalışmalar Tablo 2.3'te özetlenmiştir.

Tablo 2.3: *Spirulina*'nın sağlık üzerine etkileri

Çalışılan Aktivite/ Hastalık	Etki/Mekanizma	Kullanılan Form	Süre	Doz	Çalışılan Tür	Kaynak
Anti-inflamatuar	Karragenan kaynaklı ödem ve pamuk peletinin neden olduğu granülomda önemli ölçüde azalma TNF-α, IL-1β, IL-6, PGE2 ve NO üretimlerinde azalma COX-2 ve iNOS aktivitelerini baskılama	*Spirulina* ekstraktı	7 gün	200 mg/kg/gün	Wistar albino rat ve fare	(57)
	Anti-piretik ve anti-inflamatuar özellik Pençe ödeminin çapında doza bağlı önemli bir azalma	*S. platensis*	4 gün	2 ve 4 mg/kg/gün	Sprague Dawley rat	(58)
	Alkali yanığı kaynaklı CorNV tedavisinde etkili Kornea stromasına mononükleer ve polimorfonükleer hücrelerin infiltrasyonunu inhibe ederek ve SDF1, TNF-α ve MIP3a düzeylerini azaltarak inflamasyonu inhibe	*S. platensis* polisakkariti içeren göz damlası (100 µg/mL)	7 gün	4 x 5 µL/gün	C57BL/6 fare	(59)
Hepatoprotektif etki (CCl_4 kaynaklı)	Karaciğeri CCl_4 kaynaklı oksidatif stres ve doku yaralanmalarından koruduğu görülmüştür. Artan ALT, AST ve MDA seviyeleri ve azalan SOD ve CAT aktivitelerinde önemli ölçüde iyileşme sağlanmıştır.	Yüksek miktarda fenolik madde içeren *S. platensis*	30 gün	800 mg/kg/gün	Wistar albino rat	(60)
Konstipasyon (Diphenoxylate kaynaklı)	Dışkılamada iyileşme, AchE aktivitesinde artış, NO konsantrasyonunda azalma, hasarlı bağırsak villusunda yenilenme Bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu etki	*S. platensis*'ten izole edilen polisakkaritler	7 gün	50, 100 ve 200 mg/kg/gün	ICR fare	(43)
Metabolik sendrom	Glikoz toleransında iyileşme ve hepatik NADPH oksidazın enzimatik aktivitesinde azalma	*S. platensis* ve silikon ile zenginleştirilmiş *S. platensis*	12 hafta	28,5 mg/kg/gün	Wistar rat	(46)

IL-1β: İnterlökin 1 beta**; PGE2:** Prostaglandin E2; **NO:** Nitrik oksit; **COX-2:** Siklooksijenaz 2; **iNOS:** Inducible nitric oxide synthase; **CorNV:** Korneal neovaskülarizasyon; **SDF1:** Stromal hücre kaynaklı faktör-1; **MIP3a:** Makrofaj inflamatuar protein-3; **CCl_4:** Karbon tetraklorür, **MDA:** malondialdehit; **SOD:** Süperoksit dismutaz; **CAT:** katalaz; **AchE:** Asetilkolinesteraz.

Tablo 2.3 (devam)

Çalışılan Aktivite/ Hastalık	Etki/Mekanizma	Kullanılan Form	Süre	Doz	Çalışılan Tür	Kaynak
İmmünomodülatör	Egzersiz sonrası Treg sayısında artışa ve Tδγ sayısında toparlanma sonrası azalmaya engel Egzersiz öncesi ve sonrası önemli ölçüde daha düşük Treg/CTL değerleri Sporcularda bağışıklık fonksiyonunda meydana gelebilecek ağır egzersiz kaynaklı bozulmayı önleme	*Spirulina* ekstraktı	6 hafta	1500 mg/gün	Klinik çalışma (Kürek takımı)	(61)
	T hücre sayısında kontrol grubuna göre önemli ölçüde artış Viral yükte *Spirulina* grubunda azalma; kontrol grubunda artma	*S. platensis*	12 ay	10 g/gün	Klinik çalışma (HIV-1 ARV-naif hastalar)	(62)
Hafızada işlev bozukluğu	200 mg/kg *S. platensis* takviyesinin, A*β* protein birikimini ve oksidatif hasarı azaltıp katalaz aktivitesini artırarak hafıza kaybını önemli ölçüde yavaşlattığı görülmüştür.	*S. platensis* su ekstraktı	12 hafta	50 ve 200 mg/kg/gün	SAMP8 fare	(44)
Antiviral	6 ay sonunda *Spirulina* grubunun %13,3'ünde Silymarin grubunun ise %3,4'ünde tam virolojik yanıt Silymarin grubuna oranla serum ALT'sinde anlamlı olarak daha fazla azalma ve yaşam kalitesi ve cinsel işlevde daha fazla iyileşme	*Spirulina* kapsülü	6 ay	3 x 500 mg/gün	Klinik çalışma (Kronik hepatit C enfeksiyonu hastaları)	(63)
Yara iyileşmesi	Yara bölgesinin nemini koruma Yara anjiyogenezini ve kollajen birikimini artırarak yara iyileşmesini destekleme ve histopatolojik morfolojik değişikliği hafifletme Anjiyojenik bFGF ve VEGF genlerini yukarı regüle ederek ve yara izi ile ilgili genleri (TGF-β ve α-SMA) inhibe ederek yara izi oluşumuna engel olma	*S. platensis*	15 gün (yara) 21 gün (yanık)	Topikal uygulama	Wistar rat	(45)

Treg: Regülatör T hücreleri; **Tδγ:** Delta gama T hücreleri; **CTL:** Sitotoksik T lenfositi; **bFGF:** Basic fibroblast growth factor; **VEGF:** Vascular endothelial growth factor; **TGF-β:** Transforming growth factor beta; **α-SMA:** α-Smooth muscle actin.

Tablo 2.3 (devam)

Çalışılan Aktivite/ Hastalık	Etki/Mekanizma	Kullanılan Form	Süre	Doz	Çalışılan Tür	Kaynak
Obezite	*S. platensis* grubunda kontrol grubuna göre vücut ağırlığı, BKİ, serum toplam kolesterol ve iştahta önemli ölçüde azalma Ortalama serum VEGF, LDL kolesterol ve trigliserit düzeylerinde *S. platensis* takviyesi sonrası anlamlı bir değişiklik görülmemiş Serum HDL kolesterol konsantrasyonlarında her iki grupta da anlamlı bir artış	*S. platensis*	12 hafta	2 x 500 mg/gün	Klinik çalışma (Obez hastalar)	(64)
Sporcu performansı ve vücut kompozisyonu	Vücut kompozisyonunda iyileşme ve fiziksel performans üzerinde önemli bir etki yok, dikey sıçrama ve sprint performansında kontrol grubuna göre hafif bir artış	*S. platensis*	7 hafta	3 x 1,9 g/gün	Klinik çalışma (Ragbi oyuncuları)	(65)
Genoprotektif etki (Kadmiyum kaynaklı)	*S. platensis* ekstraktı ve kadmiyumla muamele edilmiş grupta, sadece kadmiyumla muamele edilen gruba göre gen üzerinde daha az etki *S. platensis* grubunda DNA hasarı boyutunda azalma, doku onarımı etkinliğinde artma	*S. platensis* ekstraktı	30 gün	1 g/kg/gün	Albino rat	(66)
Deri tümörü (UVB kaynaklı)	Anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri sayesinde UVB'nin neden olduğu deri tümörü gelişimini etkili bir şekilde inhibe ettiği görülmüş	*S. platensis*	40 hafta	%10 *S. platensis* içeren diyet	Ogg1-KO fare	(67)
Pankreas kanseri	Kanserinde hücresi çoğalmasında önemli ölçüde azalma Bu etkinin, antioksidan aktivite, mitokondriyal ROS üretiminin inhibisyonu ve hücre içi redoks durumundaki değişikliklerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.	*S. platensis*'ten izole edilen fikosiyanobilin, ve klorofilin	14 gün	0,5 g/kg	Hücre kültürü (PA-TU-8902, Mia PaCa-2, BxPC-3 hücre dizileri)	(68)
Meme tümörü	*in vitro* 4T1 kanser hücrelerinin apoptozunu sağlamış, *in vivo* farelerde 4T1 meme tümörlerine karşı ikincil bağışıklık tepkisini artırmış Oral uygulama, hayati organlarda tümör büyümesini ve metastatik kolonilerin oluşumunu önemli ölçüde inhibe ederek hayatta kalma süresini artırmış	Immulina® (*S. platensis* kaynaklı)	15 gün	40 mg/kg/gün	Hücre kültürü (4T1 hücre dizisi) BALB/c fare	(69)

VEGF: Vascular endothelial growth factor; **UVB:** Ultaviyole B.

Tablo 2.3'te görüldüğü üzere *Spirulina*'nın sağlık üzerine etkilerinin araştırıldığı pek çok *in vitro, in vivo* ve klinik çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların pek çoğu oral uygulamaya yönelikken yara (45) ve yanık (59) gibi hastalıklara yönelik harici uygulamanın araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur.

2.2. KEFİR

Kefir; Balkanlar, Doğu Avrupa ve Kafkasya kökenli, asidik tada ve kremsi kıvama sahip fermente bir süt ürünüdür. Sütün dondurularak kurutulmuş kefir kültürleriyle veya geleneksel kefir daneleri ile fermente edilmesiyle elde edilir. Kefir danesiyle üretimde işlem sonunda danelerin kefirden süzülerek ayrılması gerekir (70). Türk Gıda Kodeksi'nde kefir, fermantasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefiri*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir danelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü olarak tanımlanmaktadır (71).

Kefir mikrobiyotası, iklim şartlarıyla doğrudan ilişkili olan kefir danelerinin coğrafi kökenine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Mikrobiyota aynı zamanda fermantasyon işleminde kullanılan substrata, fermantasyon süresine, sıcaklığa, çalkalama düzeyine ve kefir danelerinin substrata oranına bağlı olarak da farklılık gösterebilir. Kefirlerdeki bu mikrobiyal çeşitliliğin kefirlerin kendilerine özgü fizikokimyasal özelliklerinden ve biyolojik aktivitelerinden sorumlu olduğu kabul edilmektedir (72).

Türkiye'de üretilen kefir danelerinin mikrobiyolojik açıdan incelendiği bir çalışmada, laboratuvar şartlarında üretilen (Kefir 1) ve ev ortamında üretilen (Kefir 2) iki farklı kefir danesinin mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır (73). Bu çalışmaya göre kefir danelerinde bulunan mikroorganizmalar ve bulunma yüzdeleri Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4: Kefir danesi mikroorganizmaları (73)

Mikroorganizma	Bulunma oranı (%)	
	Kefir 1	**Kefir 2**
Lactobacillus kefiranofaciens	74,301	84,639
Lactobacillus buchneri	8,017	2,536
Lactobacillus helveticus	3,757	4,792
Lactobacillus casei	0,240	0,146
Lactobacillus acidophilus	0,324	0,194
Lactobacillus amylovorus	0,269	0,370
Lactobacillus brevis	0,126	0,016
Lactobacillus delbrueckii	0,079	*
Lactobacillus plantarum	0,204	0,053
Lactobacillus pentosus	0,185	0,070
Pediococcus clausseni	0,131	0,021
Oenococcus oeni	0,096	0,048
Pediococcus damnosus	0,086	*
Lactobacillus salivarius	0,053	*
Lactococcus garvieae	0,038	0,013
Tetragenococcus halophilus	0,034	*
Lactobacillus johnsonii	0,021	0,079
Lactobacillus rhamnosus	0,018	*
Lactobacillus crispatus	0,016	*
Pediococcus halophilus	0,016	*
Lactobacillus gasseri	0,015	0,010
Lactobacillus rossiae	0,011	*
Pediococcus pentosaceus	0,009	*
Lactobacillus kefiri	0,009	*
Lactobacillus sakei	0,008	*
Lactococcus lactis	0,008	*
Lactobacillus reuteri	0,007	*
Leuconostoc mesenteroides	*	0,021
Lactobacillus gallinarum	*	0,015
Lactobacillus paracasei	*	0,013
Toplam	88,077	93,034

* Eser miktarda

Tablo 2.4'e göre, her iki kefir danesinde de baskın olan mikroorganizma *Lactobacillus kefiranofaciens*'tir. Kefir danelerinin sayıca tespit edilebilen mikroorganizmaları karşılaştırıldığında kefir 1'in mikroorganizma çeşitliliğinin daha fazla olduğu görülmektedir. Her iki kefir danesinde de mikrobiyota çoğunlukla LAB'dan oluşmaktadır.

2.2.1. Tarihçesi

Kefir, sütün kefir daneleri ile fermantasyonu sonucu ilk kez Kafkasya'da Elbrus Dağları eteklerinde üretilmiştir (10). Kefir danelerinin üretimi bu bölgede inek sütünün keçi tulumu içinde koyun ve inek şirdenleri ile pıhtılaştırılması ve birkaç hafta sonra tulumun iç yüzeyinde oluşan kabuk tabakasının alınıp kurutulması yoluyla yapılmaktadır (74).

Kefirin tarihte Güneybatı Asya'da Türkler tarafından yapıldığı, kefir kelimesinin içtikten sonra 'iyi hissetmek' anlamına gelen Türkçe 'keyif' sözcüğünden türediği bilinmektedir (10,75). Rusya, Doğu ve Kuzey Avrupa, Güneybatı Asya gibi bölgelerde de yaygın olarak tüketilmekte ve kephir, kefyr, kiaphur, kefer, kipi, knapon ve kippi gibi farklı isimlerle de anılmaktadır (74).

Rus bilim adamlarının 1920'li yıllarda probiyotik bakteriler üzerinde çalışırken kefiri araştırmaları ve yoğurtta iki olan probiyotik bakteri sayısının kefirde 25-30 tane olduğunu fark etmeleriyle kefirin önemi anlaşılmış, sonrasında kefir dünyanın birçok noktasına yayılan ve insanların severek tükettiği bir içecek haline gelmiştir (76).

2.2.2. Kefir Üretimi

Kefir üretiminde inek, keçi, koyun, deve gibi farklı hayvanların sütleri ya da soya, pirinç, hindistan cevizi gibi bitkisel kaynaklı sütler de kullanılabilir. En yaygın kullanımı olan inek sütüdür. Süt tam yağlı, yarım yağlı ya da yağsız olabilir (74).



Resim 2.3: Kefir danesinin görünümü (77)

Kefir üretiminde yaygın olarak geleneksel ve ticari olmak üzere iki yöntem kullanılmaktadır. Geleneksel yöntemde kefir daneleri (Resim 2.3) pastörize edilmiş ve soğutulmuş süte doğrudan ilave edilerek 25 °C'de yaklaşık 24 saat inkübe edilir. Fermantasyon sonrası daneler steril bir elek ile süzülerek sütten ayrılır ve bir sonraki kullanıma kadar muhafaza edilir. Kefir, tüketime hazır halde 4 °C'de sıcaklıkta depolanır. Kefirin ticari üretimi geleneksel yöntemlerden farklıdır. Endüstride fermantasyon sonunda kefir danelerinin ayrılmasındaki zorluklar nedeniyle inokülasyonda LAB ve maya içeren liyofilize starter kültürler kullanılır. İlk adım sütün homojenizasyonu ve 90-95 °C'de 5-10 dakika ısıl işlem uygulamasıdır. Daha sonra 18-24 °C'ye soğutulan süte %2-8 oranında kefir kültürleri (starter kültür) ilave edilir. 18-24 saat fermantasyon sonrası 12-14 °C veya 3-10 °C'de 24 saat olgunlaştırılır ve 4 °C'de saklanır (78,79).

2.2.3. Besin Ögesi Bileşimi

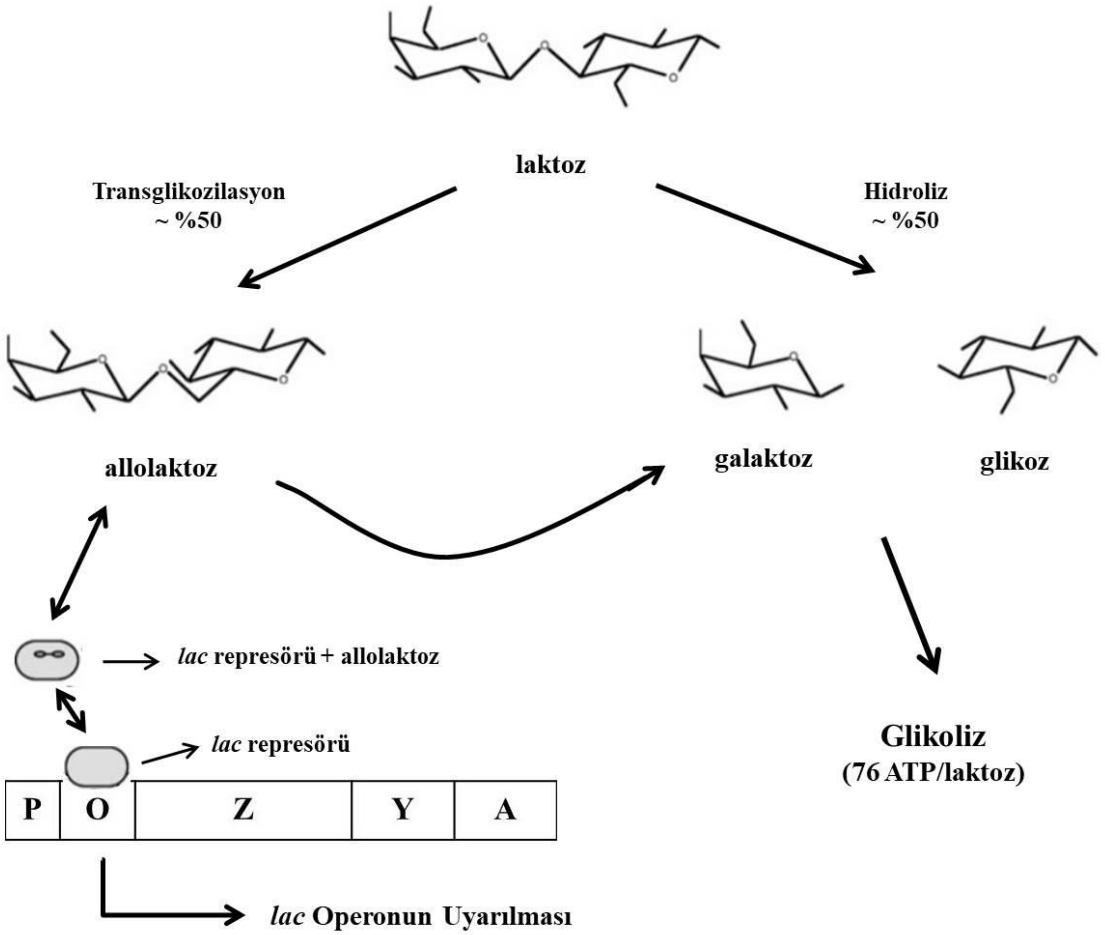
Kefirin lezzeti ve besin ögesi bileşimi; kullanılan sütün çeşidine (inek, keçi, koyun, kısrak), yağ oranına, kefir kültürünü oluşturan mikroorganizmaların kompozisyonuna, danelerin bileşimine, üretim yöntemine, sütün mayalanma sıcaklığına ve soğukta muhafaza süresine bağlı olarak değişebilmektedir (75). Kefir; elzem amino asitlerin, A, E, B2, B12 vitaminlerinin ve kalsiyum ve fosfor minerallerinin iyi bir kaynağıdır (10). Kefirin besin ögesi bileşimi Tablo 2.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5: Kefirin besin ögesi bileşimi (10)

Besin Ögesi	100 g'da	Besin Ögesi	100 g'da
Makro besin ögeleri		**Vitaminler (mg)**	
Enerji	65 kkal	**A**	0,06
Yağ	3,5 g	**Karoten**	0,02
Kolesterol	13 mg	**D**	0,08
Protein	3,3 g	**E**	0,11
Laktoz	4 g	**B1**	0,04
Su	87,5 g	**B2**	0,17
Etil alkol	0,9 g	**B3**	0,09
Laktik asit	1 g	**B6**	0,05
Elzem amino asitler (mg)		**B12**	0,5
İzolöysin	210	**C**	1
Löysin	340	**İz Elementler**	
Lizin	270	**Demir**	0,05 mg
Metionin + Sistein	120	**Bakır**	12 µg
Fenilalanin + Tirozin	350	**Çinko**	0,35 mg
Treonin	170	**Molibden**	5,5 µg
Triptofan	50	**Manganez**	5 µg
Valin	220	**Aromatik bileşikler**	
Mineraller (mg)		**Asetaldehit**	
Kalsiyum	120	**Diasetil**	
Fosfor	100	**Aseton**	
Potasyum	150		
Magnezyum	120		
Sodyum	50		
Klor	100		

Tablo 2.5 incelendiğinde, kefirin yapısında tüm elzem amino asitleri bulundurduğu ve kalsiyum, fosfor, magnezyum, B2 ve B12'nin iyi bir kaynağı olduğu görülmektedir.

Kefir 100 g'da 4 g laktoz içermektedir (10). Sütteki laktozun yaklaşık %30'u fermantasyon esnasında *β*-galaktosidaz enzimi tarafından glikoz ve galaktoza hidrolize olur. Kefir danesi ya da kültürünü oluşturan bakteriler ise glikozu laktik aside dönüştürür. Bu da pH'ın düşmesine ve kıvamın artmasına neden olur (80). *β*-galaktosidaz enziminin hücre içinde üstlendiği görev Şekil 2.2'de özetlenmiştir.



Şekil 2.2: *β*-galaktosidazın hücredeki rollerinin şematik özeti (P: promatör, O: operatör, Z: *lacZ*, Y: *lacY*, A: *lacA*) (81)

Şekil 2.2'e göre *β*-galaktosidaz enzimi laktozu galaktoz ve glikoza hidroliz edebilir, allolaktoz oluşumunu sağlayabilir ve allolaktozu hidrolize edebilir. Laktoz mevcudiyeti, *lac* represörüne bağlanan ve represörün *lac* operonuna olan afinitesini azaltan allolaktoz sentezini uyarır. Bu da *lacZ* geninin ürünü olan *β*-galaktosidazın sentezine izin verir (81).

2.2.4. Sağlık Üzerine Etkileri

Kefir, içerdiği probiyotikler ve biyoaktif bileşenler ile *diabetes mellitus*, obezite, kanser, enfeksiyon, hipertansiyon, hiperlipidemi, gastrointestinal ve kardiyovasküler hastalıklar, alerji gibi birçok hastalık üzerinde olumlu etki göstermektedir (77,82).

Vlachou ve ark.'nın (83) diyabetik nefropatili bireylerde probiyotik takviyesinin etkilerini inceledikleri sistematik derlemenin sonuçları, probiyotik takviyesinin majör gastrointestinal yan etkiye sebep olmaksızın inflamasyon, oksidatif stres ve böbrek

fonksiyon biyobelirteçleri üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu göstermiştir. Derlenen araştırmaların büyük çoğunluğu *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* cinsleri üzerine yapılmıştır.

Kefir antikanser etkisini, tümör gelişiminde ve DNA hasarında azalma; antioksidatif etki; immün yanıt, apoptoz, proliferasyon ve prokarsinojenler üzerinde düzenleyici etki ve intestinal mikrobiyotanın düzenlenmesi yoluyla göstermektedir (84). Yapısında bulunan peptitler, polisakkaritler ve sfingolipidler gibi bir dizi biyoaktif bileşen antikanser aktiviteden sorumludur (85). Yine bileşiminde bulunan selenyum, E vitamini, katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri de antioksidan özellikleriyle antikanserojenik etki gösterirler. Kefir tüketimiyle apoptoz inhibitörü olan Bcl2'nin sekresyonu azalırken apoptoz aktivatörü olan bax'in önderliğinde gerçekleşen apoptozun indüksiyonu artmaktadır. Kefir sfingomiyelinleri bir antiproliferatif sitokin olan interferon- β sekresyonunu artırmaktadır (86).

Kefirin gram-negatif organizmalar üzerinde bakteriyostatik etkiye sahip olduğu ancak gram-pozitif organizmalara karşı daha fazla bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu antimikrobiyal özellik; hidrojen peroksit, peptitler (bakteriyosinler), etanol, karbon dioksit, diasetil ve organik asitlerin (laktik ve asetik asitler) varlığına bağlanabilir (87). İntestinal mikrobiyota üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, farelere 3 hafta oral kefir uygulaması sonrasında kontrol grubuna kıyasla *Firmicutes, Proteobacteria* ve *Enterobacteriaceae* sayılarının önemli ölçüde azaldığı; buna karşılık *Bacteroidetes, Lactobacillus, Lactococcus* ve toplam maya sayılarının önemli ölçüde arttığı görülmüştür (88).

Kefirin sağlık üzerine etkilerinin araştırıldığı bazı çalışmalar Tablo 2.6'da özetlenmiştir.

Tablo 2.6: Kefirin sağlık üzerine etkileri

Çalışılan Aktivite/Hastalık	Etki/Mekanizma	Süre	Doz	Çalışılan Tür	Kaynak
Metabolik sendrom	Açlık insülini, HOMA-IR, TNF-α, IFN-γ, sistolik ve diastolik kan basıncında anlamlı düşüş Bağırsak mikrobiyotasında yalnızca *Actinobacteria*'nın göreceli bolluğunda önemli ölçüde artma; *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia*'nın göreceli bolluğunda değişiklik görülmemiş	12 hafta	180 mL/gün	Klinik çalışma (Metabolik sendrom hastaları)	(89)
Obezite	Kefir grubunda kontrol grubuna kıyasla ağırlık, BKİ ve bel çevresinde anlamlı düzeyde azalma Süt ve kefir grupları arasında önemli bir fark görülmemiş	8 hafta	4 x 250 mL/gün	Klinik çalışma (Hafif şişman veya şişman postmenopozal kadınlar)	(90)
	Kefir grubunda serum zonulin seviyelerinde daha büyük bir iyileşme Kefir ve süt gruplarında lipit profili ve serum glukoz seviyelerinde anlamlı bir iyileşme; ancak iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemiş Olumlu ruh halinde, kefir takviyesi ile hafif ama anlamlı düzeyde artma süt takviyesi ile azalma CRP, adiponektin ve iştah; kefir ve süt takviyesinden etkilenmemiş	21 gün	300 mL/gün	Klinik çalışma (Asemptomatik şişman bireyler)	(91)
Hiperlipidemi	Kefir grubunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük plazma lipoprotein düzeyleri Süt ve kefir grupları arasında önemli bir fark görülmemiş	8 hafta	4 x 250 mL	Klinik çalışma (Hafif şişman veya şişman postmenopozal kadınlar)	(92)
Kanser	Proliferasyondaki azalma yüzdesi, doza ve zamana bağlı olarak, 24 saat boyunca 60 µg/µL müdahale sonrası %98 Kefir uygulaması sonrası hücrelerin proliferasyonunu ve replikasyonunu indükleyen TGF-α'nın aşağı regülasyonu	24 saat	60 µg/µL	HTLV-1 hücre dizisi	(93)
Helicobacter pylori enfeksiyonu	İlaç tedavisiyle birlikte kefir tüketimi yalnız ilaç tedavisine göre *Helicobacter pylori* enfeksiyonunu ortadan kaldırmada daha etkili Yan etkiler kefir grubunda plasebo (süt) grubuna göre anlamlı derecede daha az	45 gün	2 x 250 mL/gün	Klinik çalışma (*Helicobacter pylori* enfeksiyonu olan bireyler)	(94)

HOMA-IR: Homeostatic model assessment for insulin resistance; **IFN-γ:** İnterferon gama; **CRP:** C-reaktif protein; **TGF-α:** Transforming growth factor α.

Tablo 2.6 (devam)

Çalışılan Aktivite/Hastalık	Etki/Mekanizma	Süre	Doz	Çalışılan tür	Kaynak
İnflamatuar bağırsak hastalığı	Tedavi grubundaki tüm deneklerin dışkılarının *Lactobacillus* bakteri yükü ilk ve son ölçümler açısından istatistiksel olarak anlamlı Chron hastalarında eritrosit sedimantasyon hızında ve CRP'de belirgin bir düşüş, hemoglobinde artış ve tedavinin son 2 haftasında şişkinlik skorlarında önemli ölçüde azalma ve iyi hissetmede artma	4 hafta	2 x 200 mL/gün	Klinik çalışma (İnflamatuar bağırsak hastalığı olan bireyler)	(95)
Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) Nonalkolik karaciğer yağlanması (NAFLD)	T2DM grubunda kefir takviyesiyle plazma glukoz düzeylerinde azalma T2DM ve NAFLD gruplarında artan plazma AST, ALT, total protein, kolesterol, trigliserit değerlerinde kefir tüketimiyle birlikte azalma Kefir eklenen grubun karaciğerlerinde normale yakın histolojik yapı	5 hafta	30 mL/kg/gün	Wistar albino rabbit rat	(96)
Kronik konstipasyon	Dışkı sıklığında artış, dışkı kıvamında iyileşme, laksatif kullanımında azalma Dışkılama esnasında ıkınma derecesi kefir uygulamasından sonra iyileşme eğilimi göstermiş; ancak istatistiksel olarak anlamlı değil Bağırsaktan dışkı geçişinin yavaş olduğu grupta kefir tüketimi sonrası kolonik geçişte hızlanma	4 hafta	2 x 250 mL/gün	Klinik çalışma (Kronik konstipasyonlu bireyler)	(97)
Dayanıklılık egzersizi	Serum CRP düzeyleri dışında sonuç değişkenleri açısından gruplar arasında anlamlı bir değişim gözlenmemiş Dayanıklılık egzersizi yapan kontrol grubunda CRP düzeylerinde önemli bir artış; dayanıklılık egzersizi + kefir grubunda anlamlı olmayan artış (antreman sonrası kefir tüketimiyle egzersize bağlı inflamasyonda azalma)	15 hafta	454 g/gün	Klinik çalışma (Sağlıklı yetişkin bireyler)	(98)
Osteoporoz	Kefir tüketen grupta başlangıç ile karşılaştırıldığında 6 ay sonundaki kemik mineral yoğunluğu değerlerinde önemli iyileşme Kemik mineralizasyonunda rol alan osteokalsinin serum düzeyinde negatiften pozitife dönüş Kefir grubunda serum paratiroid hormon düzeyinde önemli ölçüde artma; kontrol grubunda önemli ölçüde azalma	6 ay	1600 mg/gün	Klinik çalışma (Osteoporoz hastaları)	(99)

Tablo 2.6'da görüldüğü üzere kefirin pek çok hastalık üzerinde etkisi araştırılmıştır. Klinik çalışmalarda kullanılan günlük dozlar 180 ile 1600 mL arasında değişmektedir.

2.3. *SPIRULINA PLATENSIS* İLE BESİN ZENGİNLEŞTİRMESİ

Mikroalgler, biyolojik aktivitelerinden ötürü fonksiyonel bileşen olarak umut vadetmekte ve gün geçtikçe mikroalglere karşı duyulan ilgi artmaktadır. Mavi-yeşil mikroalg olan *Spirulina*; fonksiyonel gıda, gıda katkı maddesi ve prebiyotik olarak kullanımı bakımından sağlıklı bir gıda bileşeni olmasıyla bilimsel anlamda tanınırlık kazanmıştır (100). *Spirulina*'nın besin ögesi örüntüsü, onu her yaştan ve yaşam tarzından birey için ideal bir gıda takviyesi haline getirmektedir. Yaklaşık %60'ının örnek proteinden oluşması, yapısında tüm elzem amino asitleri bulundurması, vitamin ve mineraller açısından zengin olması ve esansiyel yağ asitlerini içermesi yeni gıda ürünlerinin formülasyonlarında kullanımına olanak tanımaktadır (101).

Spirulina üretiminin dünyada genel amacı, insanlara alternatif bir protein kaynağı sağlamak ve onun zengin biyokimyasal yapısından faydalanmaktır. *Spirulina*'nın diğer alg türlerinden ayrılan en önemli özelliklerinden biri hücre duvarında selüloz değil %86 oranında sindirilebilir polisakkarit bulundurmasıdır (102). Bu nedenle tüketimi sindirim problemi yaşayan bireylerde sindirimi kolaylaştırabilir ve hastalığın komplikasyonlarını azaltabilir.

Tablo 2.7'de farklı ülkelerin tüketime sunduğu *S. platensis* ile zenginleştirilen besinler verilmiştir.

Tablo 2.7: *Spirulina platensis* ile yapılan besin zenginleştirmeleri

Besin Grubu	Besin	Eklenen form	Ekleme oranı (%)	Ekleme amacı	Çalışmanın yapıldığı ülke	Kaynak
Tahıl	Kraker	*S. platensis*	5 – 10 – 15 – 20	Amino asit ve mineral içeriği yüksek *S. platensis*'i kullanarak popüler gıdalar olan kraker ve hazır erişte üretmek	Mısır	(103)
	Hazır noodle	*S. platensis*	5 – 10 – 15 – 20		Mısır	(103)
	Ekmek	*S. platensis*	10	Temel gıda olarak tüketilen ekmeği protein, magnezyum, demir ve kalsiyum açısından zenginleştirmek ve özellikle dar gelirli bireylerin besin ögesi ihtiyacını karşılamak	Türkiye	(102)
	Ekmek	*S. platensis*	2 – 4 – 6	Özellikle gelişmekte olan ülkelerde genel nüfusun beslenme durumunu iyileştirmek	Hindistan	(104)
	Makarna	*Spirulina*	5 – 10 – 15	Özellikle çocuk ve ergenlerde görülen PEM, anemi ve A vitamini eksikliğiin giderilmesine katkı sağlamak	Hindistan	(105)
	Crostini	*S. platensis*	2 – 6 – 10	Ekşi hamurla yapılan tahıl ürünü crostininin besin kalitesini artırmak ve *S. platensis*'in ürün kalitesine olan etkisini değerlendirmek	İtalya	(106)
	Yazdi kek	*S. platensis*	0,5 – 1,5 – 2,5	Yazdi kekinin besin kalitesini artırmak ve çocukların besin yetersizliğini önleyerek sağlık durumunu iyileştirmek	İran	(107)
	Kurabiye	*S. platensis*	2 – 5	Sık tüketilen bir gıda ürünü olan kurabiyenin besin kalitesini artırmak	Brezilya	(108)

Tablo 2.7 (devam)

Besin Grubu	Besin	Eklenen form	Ekleme oranı (%)	Ekleme amacı	Çalışmanın yapıldığı ülke	Kaynak
Tahıl	Kurabiye	*S. platensis*	1 – 2 – 3	Besin kalitesini artırmak ve eklendiği ürünün fiziksel ve duyusal özellikleri üzerindeki etkisini incelemek	Polonya	(109)
	Kurabiye	*S. platensis*	1 – 2	Sağlıklı ve fonsiyonel bir ürün ortaya koymak; ürünün yapısal, kimyasal ve duyusal karakteristiklerini incelemek	Türkiye	(110)
	Bisküvi	*S. platensis*'ten ekstrakte edilmiş fikosiyanin	0,3 – 0,6 – 0,9	*S. platensis* eklenen ürünün besin değerini ve biyoaktivitesini belirleyerek sağlık üzerine yararlarını göstermek	Mısır	(111)
	Atıştırmalık	*Spirulina* sp. LEB 18	2,6	Sık tüketilen ve besin değeri düşük olan atıştırmalıkların besin kalitesini artırmak	Brezilya	(112)
	Atıştırmalık	*Spirulina*	2,5 – 5 – 7,5 – 10	Düşük maliyetli ve besin kalitesi yüksek gıda ürünü geliştirmek	Mısır	(101)
	Atıştırmalık	*S. platensis*	0,5 – 1 – 1,5	Besin kalitesini artırmak	İspanya	(113)
Meyve	Kavun nektarı	*Spirulina*	2,5 – 5 – 7,5 – 10 12,5 – 15 – 17,5 – 20	Besin kalitesi yüksek meyve suyu ve nektarı üretmek	Mısır	(100)
	Kivi nektarı	*Spirulina*	2,5 – 5 – 7,5 – 10 12,5 – 15 – 17,5 – 20		Mısır	(100)
Et	Sosis	*S. platensis* polisakkariti	0,1 – 0,25 – 0,5	Sık tüketilen Çin sosisinde, ürüne eklenen yapay antioksidanlar yerine *S. platensis*'ten ekstrakte edilen doğal antioksidan bileşenleri kullanmak	Çin	(114)

Tablo 2.7 (devam)

Besin Grubu	Besin	Eklenen form	Ekleme oranı (%)	Ekleme amacı	Çalışmanın yapıldığı ülke	Kaynak
Sebze	Manyok keki	*S. platensis*	1 – 2	Proteinden yoksun olan manyok kekinin protein ve diğer besin ögeleri içeriğini artırmak, çocuklar için sağlıklı ve düşük maliyetli bir okul öğle yemeği geliştirmek	Brezilya	(115)
Süt	Yoğurt	*S. platensis*	0,25 – 0,5 – 1	*S. platensis*'in probiyotik yoğurdun mikrobiyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine olan etkisini incelemek	İran	(14)
	Yoğurt	*Spirulina*	0,5 – 1	*S. platensis*'in, depolama esnasında sade ve probiyotik yoğurt mikrobiyotalarının canlılığını sürdürmesi üzerine etkilerini araştırmak	Türkiye	(116)
	Yoğurt	*S. platensis*	0,5	Sodyum aljinat ve whey proteiniyle hazırlanan *S. platensis* mikrokapsüllerinin az yağlı yoğurdun fizikokimyasal ve organoleptik özellikleri üzerindeki etkilerini tespit etmek	İran	(117)
	Dondurulmuş yoğurt	*Spirulina*	2 – 4 – 6 – 8	Papaya ve *Spirulina*'nın düşük yağlı ve yüksek proteinli donmuş yoğurda uygulanabilirliğini incelemek	Hindistan	(118)

Tablo 2.7 (devam)

Besin Grubu	Besin	Eklenen form	Ekleme oranı (%)	Ekleme amacı	Çalışmanın yapıldığı ülke	Kaynak
Süt	Acidophilus- Bifidus-Thermophilus (ABT) sütü	*S. platensis*	0,3	*S. platensis*'in, ABT sütünün depolama esnasında değişen karakteristik mikrobiyal florası ve bozulma organizmaları üzerine etkisini araştırmak	Macaristan	(119)
	Acidophilus süt	*Spirulina*	0,5 – 1	*S. platensis*'in, depolama esnasında *Acidophilus* sütün mikrobiyotasınının canlılığını sürdürmesi üzerine etkilerini araştırmak	Türkiye	(116)
	Yumuşak peynir	*S. platensis* (Gomont) Geitler	0,5 – 1 – 1,5	Ürünün protein miktarını, besin kalitesini ve biyoaktivitesini artırmak	Endonezya	(120)
	Dondurma	*S. platensis* (Gomont) Geitler	0,6 – 1,2		Endonezya	(120)

Tablo 2.7'de yer alan bilgilere göre *S. platensis* çoğunlukla tahıl ve süt ürünlerini zenginleştirmede kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra sebze, meyve ve et ürünlerine eklendiği çalışmalar da mevcuttur. Tahıl ürünlerine eklenme amacı çoğunlukla bu ürünlerin protein içeriğini ve besin kalitesini artırmaktır. Zenginleştirmede genel olarak sık tüketilen ve besin kalitesi düşük gıdalar tercih edilmektedir. Geliştirilen yeni ürünle toplumda görülen beslenme yetersizliklerinin giderilmesine katkıda bulunmak çalışmaların amaçları arasındadır. Süt ürünlerine eklendiği çalışmalarda amaç genellikle *S. platensis*'in LAB'ın canlılığı üzerindeki olumlu etkilerinden yararlanmaktır.

Agustini ve ark. (120) tarafından yapılan *S. platensis*'in dondurma ve yumuşak peynire eklendiği bir çalışmada, *S. platensis*'in yalnızca besin değerini artırmak için değil aynı zamanda gıda teknolojisi açısından önemli olan reolojik karaktere ve duyusal özelliklere etkisi nedeniyle tercih edildiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada yumuşak peynirde protein, yağ, β-karoten ve doku üzerinde; dondurmada ise protein, toplam yağ ve şeker, hacim, erime noktası ve duyusal özellik üzerinde önemli etki sağladığı görülmüştür. Güldaş ve İrkin (116) tarafından yapılan başka bir çalışmada yoğurda eklenen *S. platensis*'in depolama esnasında LAB'ın canlılığının korunması üzerinde olumlu etkilerinin olduğu görülmüştür. Çalışmada yoğurda %1 oranında *S. platensis* eklendikten 15 gün sonra *Lactobacillus bulgaricus* sayısının kontrol örneğine oranla yaklaşık %35 daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu özelliği ile LAB ile üretilen fermente gıdaların stabilitesini ve biyoyararlılığını olumlu etkileyeceği düşünülmektedir.

Probiyotik fermente süt ürünlerine *S. platensis* ilave edildiğinde meydana gelebilecek teknolojik olumsuzluklar da bulunmaktadır. Bunlar; doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu, ürün içindeki alg tozlarının tam anlamıyla çözünmemesi ve ürün rengindeki bozulma nedeniyle duyusal kusurların ortaya çıkması şeklinde sıralanabilir. Genel olarak ticari ürünlerde bu ve benzeri fiziksel kusurlar dokuyu geliştirecek bileşenler, gıda renklendiricileri ve farklı aromalar ilave edilerek aşılabilmektedir (121).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

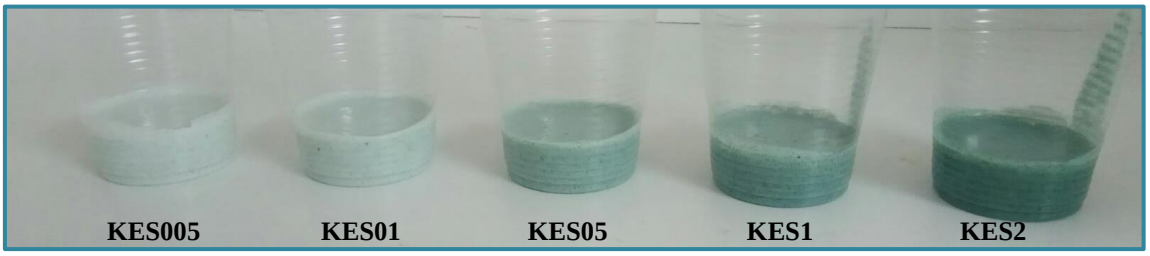
3.1. KEFİR ÜRETİMİ VE KEFİRE *SPIRULINA PLATENSIS* İLAVESİ

Yerel marketten bir litrelik cam şişede temin edilen pastörize günlük süt oda sıcaklığına getirilmiştir. Süte tek kullanımlık kuru doğal kefir mayası ilave edilmiş, şişenin ağzı steril gazlı bezle kapatılarak 25°C'de 22 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası kefir örnekleri 4°C'de depolanmıştır.

Kefire %0,05, %0,1 ve %1 oranlarında (w/v) toz halindeki *S. platensis* ilave edilmiş, ardından örnekler 4°C'de depolanmıştır. Süt, sade kefir, %0,05, %0,1 ve %1 oranlarında *S. platensis* ilave edilmiş kefir ve *S. platensis* olmak üzere toplam 6 örneğin analizleri yapılmıştır.

3.2. DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRMESİ

Spirulina platensis'li kefir örneklerinin tüketici tarafından kabul edilebilirliklerinin değerlendirilmesi için duyusal analizleri yapılmıştır. Analizde puanlama testi yöntemi kullanılmıştır. Puanlama skalalı test, tanımlama değerlendirmesi kapsamındadır (kalite kantite testleri). Puanlama testleri; örneklerin renk, doku, lezzet gibi duyusal özelliklerinin sayısal veya özel bir skala kullanılarak karakteristiklerinin derecelendirilmesi veya bu karakteristiklerinin yoğunluğunun ölçülmesinde kullanılan bir tekniktir. Bu test için yarı eğitilmiş 8-25 kişilik bir panelist grubu gerekmektedir (122).



Resim 3.1: Duyusal analizde kullanılan örnekler (KES005: %0,05 *S. platensis* ilave edilmiş kefir; KES01: %0,1 *S. platensis* ilave edilmiş kefir; KES05: %0,5 *S. platensis* ilave edilmiş kefir; KES1: %1 *S. platensis* ilave edilmiş kefir; KES2: %2 *S. platensis* ilave edilmiş kefir)

Çalışmamızda toplam sayıları puanlama testleri için gerekli aralıkta (8-25 kişi) bulunan panelistler (13 kişi) değerlendirme yapacakları örnekler ile ilgili bilgilendirilmiş ve panelistlere puanlamayı nasıl yapacakları açıklanmıştır. Her örneğin tadımından önce su içmeleri istenen panelistlerden farklı oranlarda [%0,05, %0,1, %0,5, %1 ve %2 (w/v; g/mL)] *S. platensis* ilave edilmiş kefir örneklerinin (Resim 3.1) Tablo 3.1'deki özelliklerini değerlendirmeleri istenmiştir. Örnekler üç basamaklı rastgele sayılarla kodlanmış, kodların temsil ettiği örneklerin bilgisi katılımcılardan gizli tutulmuştur. Buna göre %0,05 oranında *S. platensis* eklenmiş kefir (KES005) 546, %2 oranında *S. platensis* eklenmiş kefir (KES2) 394, %0,5 oranında *S. platensis* eklenmiş kefir (KES05) 272, %0,1 oranında *S. platensis* eklenmiş kefir (KES01) 694, %1 oranında *S. platensis* eklenmiş kefir (KES1) 458 sayısıyla kodlanmıştır.

Tablo 3.1: Örneklerin değerlendirme kriterleri

	546	**394**	**272**	**694**	**458**
Lezzet (genel)					
Ekşilik					
Acılık					
Koku					
Tekstür					
Kıvam					
Yoğunluk					
Homojenite					
Yoğunluk					
Genel izlenim					
Hiç beğenmedim (1 puan)					
Beğenmedim (2 puan)					
Ne beğendim ne beğenmedim (3 puan)					
Beğendim (4 puan)					
Çok beğendim (5 puan)					

Tablo 3.1 için toplanan panelist cevaplarının ortalamaları alınarak duyusal değerlendirme grafiği çizilmiş ve örnekler birbirleriyle karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

3.3. TİTRASYON ASİTLİĞİ

Örnekten 25 mL alınıp bir erlenmayere konulmuştur. Üzerine 3 damla %2'lik fenolftalein indikatörü eklenmiştir. Daha sonra açık pembe renk sabitleşene kadar erlenmayere 0,1 N NaOH eklenmiştir. Kullanılan NaOH miktarı kaydedilerek titrasyon asitliği eşitlik (3.1) ile hesaplanmıştır (123).

$$\% \text{ Asitlik (g/L)} = V.N.E.1000/M \quad (3.1)$$

V: Titrasyonda harcanan alkali (mL), N: Alkalinin normalitesi, E: Organik asidin miliekivalan ağırlığı, M: Örnek miktarı (mL)

3.4. pH ÖLÇÜMÜ

Örneklerin pH değerleri Mettler Toledo marka pHmetre kullanılarak ölçülmüştür.

3.5. PROTEİN ANALİZİ

Protein analizleri için BCA Protein Assay Kit (Pierce, ThermoFisher Scientific, USA) kullanılmıştır. Kit içinde bulunan solüsyon hazırlanmış, ardından 100 µL örnek üzerine 2 mL solüsyon ilave edilerek 37°C'lik su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda örnekler 562 nm'de okunmuştur.

3.6. AMİNO ASİT ANALİZİ

Örneklerin amino asit analizleri HPLC-UV sistemi (D.05.G105, kurum yöntemi) kullanılarak TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi (MAM) Gıda Enstitüsü Beslenme Laboratuvarında yaptırılmıştır.

3.7. YAĞ ASİTLERİ ANALİZİ

Örneklerin yağ asidi kompozisyonları IUPAC IID19 yöntemi kullanılarak TÜBİTAK MAM Gıda Enstitüsü Yağ Analizleri Laboratuvarında yaptırılmıştır.

3.8. MİNERAL ANALİZLERİ

Örneklerin kalsiyum ve demir analizleri AOAC 985.35 ve AOAC 999.10 yöntemleri kullanılarak TÜBİTAK MAM Gıda Enstitüsü Mineral Analiz Laboratuvarında yaptırılmıştır.

3.9. ÖRNEKLERİN EKSTRAKSİYONU

Örnekler, içerdikleri antioksidan bileşiklerin izole edilmesi amacıyla farklı ektraksiyon işlemlerinden geçirilmiş, ardından örneklerin toplam fenol ve antioksidan aktivite (DPPH aktivite ve indirgeme gücü) analizleri yapılmıştır.

3.9.1. Metanol:dH_2O Ekstraksiyonu

Süt, sade kefir, *S. platensis* ve farklı konsantrasyonlarda kuru toz formda *S. platensis* ile zenginleştirilen KES005, KES01 ve KES1 örneklerinden 1 g tartılarak bir tüpe alınmış; üzerine 10 mL metanol:dH_2O (70:30) çözeltisi ilave edilmiştir. Tüp, içerisine cam boncuk atılarak 10 dakika vortekslenmiş ardından 10 dakika süresince ultrasonik su banyosuna konulmuştur. Su banyosundan çıkarılan örnekler 15 dakika boyunca vortekslenmiş, sonrasında 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant yeni tüpe aktarılmış ve çökeltiye aynı işlemler tekrar uygulanmıştır. Süpernatant metanol:dH_2O çözeltisiyle 25 mL'ye tamamlanmıştır (124).

3.9.2. Etanol Ekstraksiyonu

Süt, sade kefir ve farklı konsantrasyonlarda kuru toz formda *S. platensis* ile zenginleştirilen KES005, KES01 ve KES1 örneklerinden 10 g tartılarak bir tüpe alınmış, üzerine 10 mL etanol ilave edilmiştir. Tüp içerisine cam boncuk atılarak 10 dakika vortekslenmiş ardından 10 dakika süresince ultrasonik su banyosuna konulmuştur. Su banyosundan çıkarılan örnekler 15 dakika boyunca vortekslenmiş, sonrasında 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant yeni tüpe aktarılmış ve çökeltiye aynı işlemler tekrar uygulanmıştır. Süpernatant etanolle 25 mL'ye tamamlanmıştır (124).

3.9.3. dH_2O Ekstraksiyonu

Süt, sade kefir, *S. platensis* ve farklı konsantrasyonlarda kuru toz formda *S. platensis* ile zenginleştirilen KES005, KES01 ve KES1 örneklerinden 1 g tartılarak bir tüpe alınmış, üzerine 10 mL dH_2O ilave edilmiştir. Tüp içerisine cam boncuk atılarak 10 dakika vortekslenmiş ardından 10 dakika süresince ultrasonik su banyosuna konulmuştur. Su banyosundan çıkarılan örnekler 15 dakika boyunca vortekslenmiş, sonrasında 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant yeni tüpe aktarılmış ve çökeltiye aynı işlemler tekrar uygulanmıştır. Süpernatant dH_2O ile 25 mL'ye tamamlanmıştır (125).

Kefir örneklerine eklenen *S. platensis* miktarları baz alınarak 0,005, 0,01 ve 0,1 g *S. platensis* tartılmış ve üzerlerine 10 mL dH_2O eklenerek manyetik karıştırıcıda 20 saat boyunca iyice çözünmeleri sağlanmıştır. Tüpe aktarılan örnekler cam boncukla birlikte 10 dakika vortekslenmiş ardından 10 dakika ultrasonik su banyosuna

konulmuştur. Su banyosundan çıkarılan örnekler 15 dakika boyunca vortekslenmiş, sonrasında 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant yeni tüplere aktarılmıştır.

Ekstraksiyon sonrası örnek konsantrasyonları Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2: Ekstraksiyon sonrası örnek konsantrasyonları

Örnekler	**Metanol:dH_2O (g/25mL)**	**Etanol (g/25 mL)**	**dH_2O**
Süt	1	10	1 g/25 mL
Kefir	1	10	1 g/25 mL
KES005	1	10	1 g/25 mL
KES01	1	10	1 g/25 mL
KES1	1	10	1 g/25 mL
S. platensis	0,1	-	1 g/10 mL
S. platensis (%0,05 oranı için)	-	-	0,005 g/10 mL
S. platensis (%0,1 oranı için)	-	-	0,01 g/10 mL
S. platensis (%1 oranı için)	0,01	-	0,1 g/10 mL

3.10. TOPLAM FENOL TAYİNİ

Fenolik madde analizleri Folin-Ciocalteu yöntemi ile yapılmış ve örneklerdeki toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir. Folin CioCalteu 1:10 (v/v; mL/mL) oranında su ile seyreltilmiş, 75 g/L konsantrasyonda sodyum karbonat çözeltisi hazırlanmıştır. Standart kalibrasyon eğrisi çiziminde kullanılacak olan gallik asit ise 500 mg/L konsantrasyonunda metanol:dH_2O (70:30; v/v) ile hazırlanmıştır.

Tablo 3.3: Gallik asit standardı hazırlama tablosu

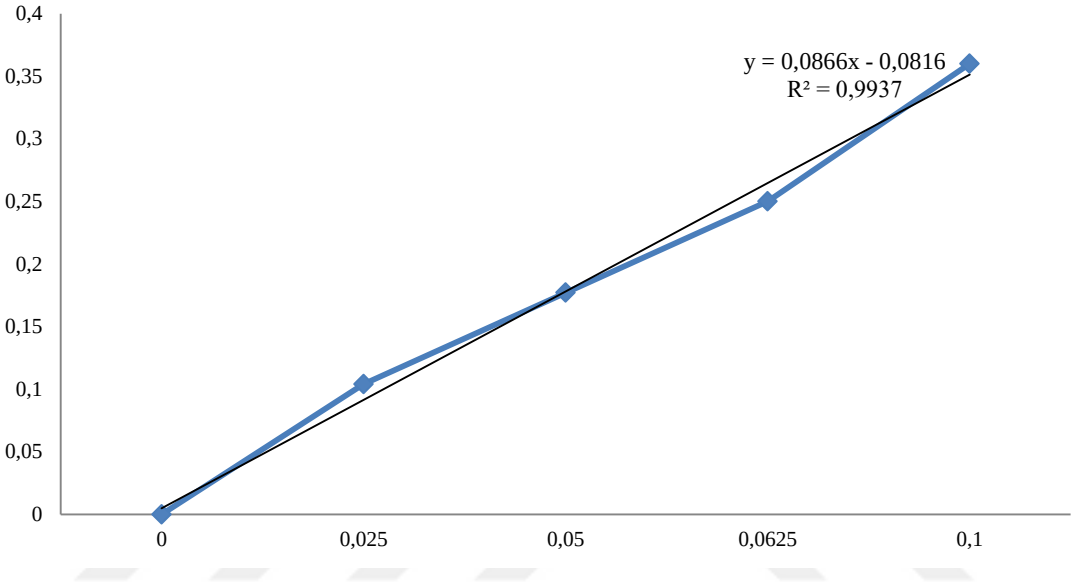
Gallik asit miktarı (µL)	**Su miktarı (µL)**	**Gallik asit - Su oranı**
500	2000	1:4
400	2800	1:7
300	2700	1:9
200	3800	1:19

Gallik asit konsantrasyonu Tablo 3.3'te belirtilen miktarlarda su ile karıştırılarak dört farklı oranda gallik asit-su karışımı elde edilmiştir.

Tablo 3.4: Toplam fenol lineer regresyon tablosu için hazırlanan çözeltiler

Ayarlanan Konsantrasyon	**Folin (µL)**	**Sodyum karbonat (µL)**
100 µL su	200	800
100 µL 1:4	200	800
100 µL 1:7	200	800
100 µL 1:9	200	800
100 µL 1:19	200	800

Tablo 3.4'te belirtilen miktarda örnekler tüplere alınmış, üzerlerine folin ilave edilmiştir. Yaklaşık 2 dakika sonra (en fazla 8 dakika) sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Tüpler vortekslenmiş ve 2 saat boyunca karanlıkta bekletilerek reaksiyon gerçekleştirilmiştir. 2 saatin sonunda 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant mikroküvetlere aktarılarak sonuçlar 765 nm'de okunmuş ve lineer regresyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Toplam fenol lineer regresyon eğrisi

Ekstrakte edilmiş süt, sade kefir, KES005, KES01, KES1 ve *S. platensis* örneklerinin analizi için 100 µL örnek üzerine 200 µL folin ve yaklaşık 2 dakika sonra 800 µL sodyum karbonat çözeltileri eklenmiştir. Tüpler 2 saat karanlıkta bekletilmiş ve 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj sonrası örnekler 765 nm'de okunmuştur (126).

3.11. DPPH ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ

Analiz için metanol ile 0,2 mM DPPH çözeltisi hazırlanmıştır. 300 µL ekstrakte edilmiş süt, sade kefir, KES005, KES01, KES1 ve *S. platensis* örnekleri üzerine 900 µL DPPH çözeltisi eklenmiş ve tüpler karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Blank ölçümü için örnek yerine dH_2O konularak aynı işlem yapılmıştır. Ardından tüm tüpler 9000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş, sonrasında örnekler 571 nm'de okunarak % aktivite hesaplanmıştır (127).

$$\% \text{ Aktivite} = [1 - (\text{Örnek Absorbansı/Blank})] \times 100 \quad (3.2)$$

3.12. İNDİRGEME GÜCÜ ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ

Ekstrakte edilmiş süt, sade kefir, KES005, KES01, KES1 ve *S. platensis* örneklerinden 1 mL alınarak üzerine 1 mL sodyum fosfat tamponu (0,2 M pH 6,6) eklenmiş, ardından tüpler 20 saniye boyunca vortekslenmiştir. Reaksiyonu başlatmak için üzerine 1 mL %1'lik (w/v) potasyum ferrisiyanidin çözeltisi ilave edilmiştir. 50°C'lik sıcak su banyosunda 20 dakika bekletme sonrası örneklere 1 mL %10'luk (v/v) trikloro asetik asit eklenerek reaksiyon durdurulmuştur. 9000 rpm'de 10 dakika santrifüjün ardından 1 mL süpernatant farklı tüplere alınıp 1 mL saf su eklenerek seyreltilmiş ve üzerine 0,2 mL demir (III) klorür eklenmiştir. Örnekler oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyona bırakılarak 700 nm'de okunmuştur (127).

3.13. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Analizler üç tekrarlı yapılmış ve sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

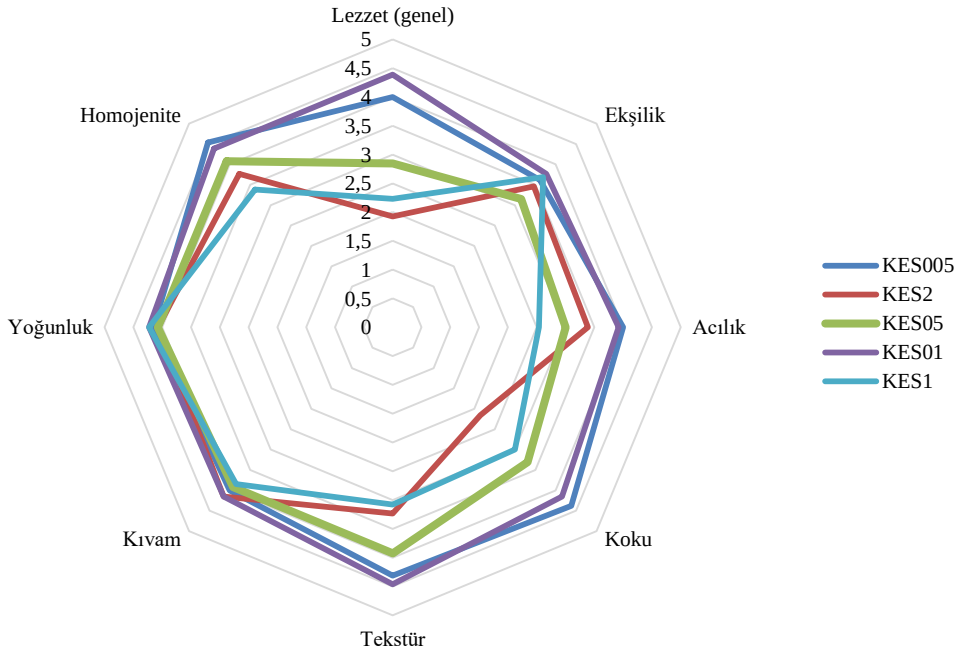
4.1. DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRMESİ

Duyusal analiz değerlendirmesine yaşları 24-51 arasında değişmekte olan 8'i kadın ve 5'i erkek 13 panelist katılmıştır. Katılımcıların %30,8'i 20-29 yaşları arasında, %23,1'i 30-39 yaşları arasında ve %38,4'ü 40-49 yaşları arasındayken %7,7'si 50 yaş üstüdür. Örnekleri, belirlenen değerlendirme kriterlerine göre 1 ile 5 arasında puanlayan (1: hiç beğenmedim; 2: beğenmedim; 3: ne beğendim ne beğenmedim; 4: beğendim; 5: çok beğendim) panelistlerin cevaplarının ortalama değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1: Duyusal analiz sonuçlarının ortalama puan tablosu

Değerlendirme kriterleri	**KES005**	**KES2**	**KES05**	**KES01**	**KES1**
Lezzet (genel)	4	1,923	2,846	4,385	2,231
Ekşilik	3,615	3,462	3,154	3,769	3,692
Acılık	4	3,385	3	3,923	2,539
Koku	4,385	2,154	3,308	4,154	3
Tekstür	4,308	3,231	3,923	4,462	3,077
Kıvam	4	4,154	3,923	4,154	3,846
Yoğunluk	4,154	4,077	4,077	4,231	4,231
Homojenite	4,539	3,769	4,077	4,385	3,385
Ortalama puan	4,125	3,269	3,539	4,183	3,250

Tablo 4.1'e göre koku ve lezzet bakımından en düşük puanlar KES2 örneğine; homojenite, acılık, tekstür ve kıvam bakımından en düşük puanlar ise KES1 örneğine verilmiştir. Homojenite ve tekstür yönünden en yüksek puanları alanlar KES005 ve KES01, en düşük puanları alanlarsa KES1 VE KES2 olmuştur. Lezzet (genel) yönünden en yüksek puanları sırasıyla KES01 ve KES005 alırken en düşük puanları sırasıyla KES2 ve KES1 almıştır. Panelistlerden ortalama en yüksek puanı alan iki örnek KES005 ve KES01 olmuştur. Tablo 4.1'de yer alan bilgilere göre sonuçlar duyusal değerlendirme grafiği çizilerek yorumlanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Örneklerin duyusal analiz değerlendirmesi sonuçları

Şekil 4.1'e göre örneklere verilen puanların en fazla lezzet ve koku kriterlerinde değişkenlik gösterdiği, konsantrasyon arttıkça beğeninin azaldığı görülmektedir. Benzer şekilde, eklenen *S. platensis* konsantrasyonu arttıkça homojenite ve tekstür puanları azalmıştır. Yoğunluk ve kıvam yönünden ise tüm örnekler benzer puanlar almıştır.

Analizlerde en yüksek puanları alan KES005 ve KES01 örneklerinin yanı sıra, klinik araştırmalarda olumlu sonuç alınan günlük *S. platensis* dozu (2 g/gün) (53,128,129) ve kefirin bir porsiyon miktarı (1 su bardağı = 200 mL) baz alınarak KES1 örneği üzerinde çalışılmıştır.

4.2. TİTRASYON ASİTLİĞİ VE pH

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre kefirin titrasyon asitliği laktik asit cinsinden ağırlıkça en az %0,6 olmalıdır (71). Örneklerin pH değerleri ve laktik asit cinsinden titrasyon asitliği yüzdeleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2: Titrasyon asitliği ve pH değerleri

Örnekler	Titrasyon Asitliği (%)	pH
Süt	0,11 ± 0,003	6,66 ± 0,14
Kefir	0,56 ± 0,006	4,02 ± 0,02
KES005	0,57 ± 0,003	4,03 ± 0,07
KES01	0,58 ± 0,009	4,03 ± 0,06
KES1	0,62 ± 0,003	4,13 ± 0,05

Tablo 4.2'de görüldüğü gibi kefir üretimi esnasında sütün pH değeri 6,66'dan 4,02'ye düşmüş, kefire *S. platensis* ilavesi kefirin pH değerinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Sütün fermantasyonuyla titrasyon asitliği laktik asit cinsinden %0,11'den %0,56'ya yükselmiştir. %1'lik *S. platensis* ilavesi asitliği %0,62'ye ulaştırmıştır.

4.3. PROTEİN ANALİZİ

Örneklerin protein miktarı belirlemek için bisinkoninik asit (BCA) protein kiti kullanılmıştır. BCA protein testi, toplam proteinin kolorimetrik tespiti ve miktarının belirlenmesi için kullanılan BCA bazlı bir formülasyondur. Hassas ve seçici kolorometrik tespite izin veren bu yöntemde Cu^{+2} alkali ortamda ve protein varlığında Cu^{+1}'e indirgenir. Cu^{+1}'in iki molekül BCA ile oluşturduğu şelat, bu yöntemin mor renkli reaksiyon ürünüdür. Analizi yapılan örneklerin içerdikleri protein miktarları Tablo 4.3'te verilmiştir.

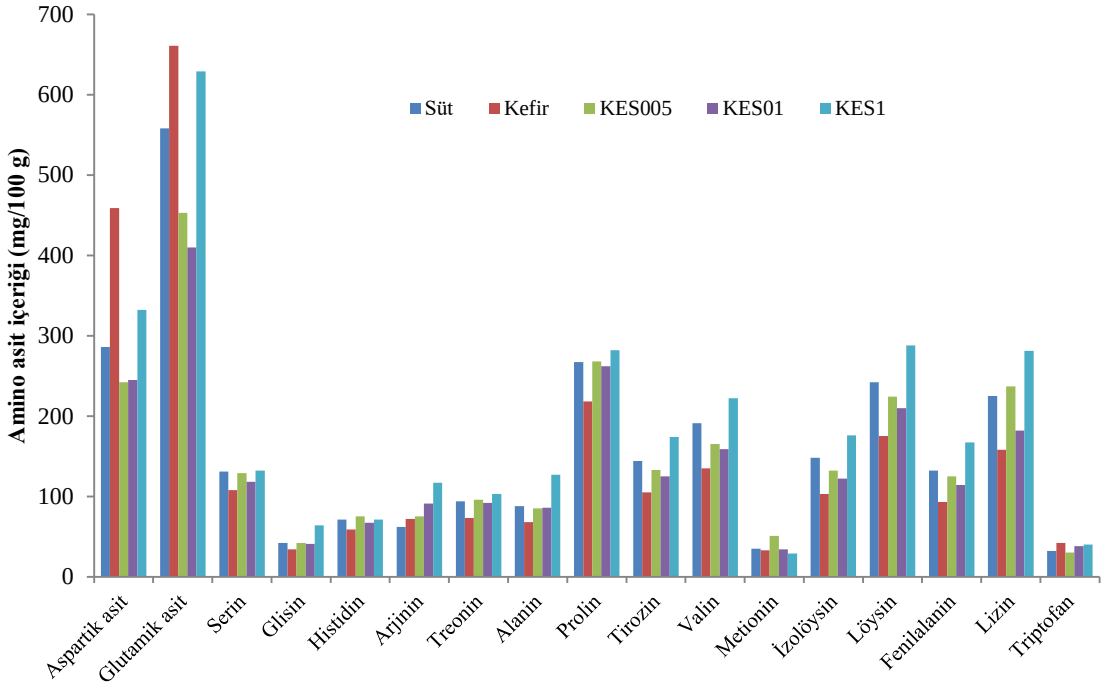
Tablo 4.3: Örneklerin protein miktarları

Örnekler	**Protein miktarı**
Süt	29 ± 0,86 mg/mL
Kefir	27 ± 0,43 mg/mL
KES005	27 ± 0,16 mg/ mL
KES01	28 ± 0,03 mg/mL
KES1	37 ± 1,18 mg/mL
S. platensis	561 ± 4,21 mg/g

Tablo 4.3'e göre kefire eklenen *S. platensis* kefirin protein içeriğini artırmıştır. Sade kefire eklenen %1 oranında *S. platensis* protein içeriğini 10 mg/mL artırmıştır. *S. platensis*'in 56,1 g/100 g protein içerdiği tespit edilmiştir.

4.4. AMİNO ASİT ANALİZİ

Fermantasyonun sütün amino asit içeriğini nasıl değiştirdiğini ve kefire eklenen *S. platensis*'in kefirin amino asit içeriği üzerindeki etkisini incelemek amacıyla süt, kefir, KES005, KES01 ve KES1 örneklerinin amino asit analizleri yapılmıştır. Örneklerin amino asit kompozisyonu Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Örneklerin amino asit kompozisyonu

Şekil 4.2'de yer alan bilgilere göre aspartik asit ve glutamik asit kefirde diğer örneklere göre daha yüksek miktarda bulunmaktadır. Kefire %1 oranında (w/v) *S. platensis* ilavesi kefirin serin, glisin, histidin, arjinin, treonin, alanin, prolin, tirozin, fenilalanin, lizin ve DZAA içeriğini artırmıştır.

4.5. YAĞ ASİTLERİ ANALİZİ

Sütten kefir üretimi ve kefirin *S. platensis* ile zenginleştirilmesi sonucu örneklerin yağ asidi kompozisyonlarında meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla yağ asidi analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre örneklerde bulunan yağ asidi yüzdeleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4: Örneklerin yağ asidi kompozisyonu

Yağ asitleri (%)	Süt	Kefir	KES005	KES01	KES1
Bütirik asit	2,81	2,77	2,58	2,67	2,81
Kaproik asit	1,43	1,38	1,42	1,42	1,43
Kaprilik asit	1,06	1,69	1,04	1,19	1,06
Kaprik asit	2,23	2,14	2,23	2,21	2,23
Undekanoik asit	0,05	0,04	0,05	0,04	0,05
Laurik asit	2,76	2,65	2,77	2,73	2,76
Tridekanoik asit	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Miristik asit	9,72	9,36	9,74	9,60	9,72
Miristoleik asit	0,82	0,80	0,82	0,81	0,80
Pentadekanoik asit	1,04	1,00	1,04	1,02	1,02
Palmitik asit	28,87	27,75	28,94	28,44	28,48
Palmitoleik asit	1,32	1,28	1,30	1,29	1,28
Heptadekanoik asit	0,55	0,51	0,54	0,52	0,51
Stearik asit	9,06	8,70	9,11	8,89	8,91
Elaidik asit	0,28	0,25	0,28	0,25	0,23
Oleik asit	19,04	18,27	18,82	18,70	18,38
Linoleik asit	2,47	2,35	2,38	2,36	2,35
Araşidik asit	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
γ-Linolenik asit	0,03	0,03	0,03	0,04	0,06
cis-11-Eikosenoik asit	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
α-Linolenik asit	0,25	0,23	0,24	0,24	0,23
cis-11,14-Eikosadienoik asit	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Behenik asit	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06
cis-8,11,14-Eikosatrienoik asit	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Trikosanoik asit	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Lignoserik asit	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03
cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik asit	0,01	0,01	-	0,01	-

Tablo 4.4'e göre sütten kefir mayalanması ve kefire *S. platensis* ilavesiyle yağ asidi kompozisyonunda önemli bir değişiklik olmamıştır. Örneklerde en fazla bulunan yağ asitleri sırasıyla palmitik asit, oleik asit, miristik asit ve stearik asittir.

4.6. MİNERAL ANALİZLERİ

Sütten kefir mayalanması esnasında ve kefire *S. platensis* eklenmesiyle kalsiyum ve demir içeriğinde meydana gelen değişimleri belirlemek üzere örneklerin kalsiyum ve demir miktarı analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.5'te verilmiştir.

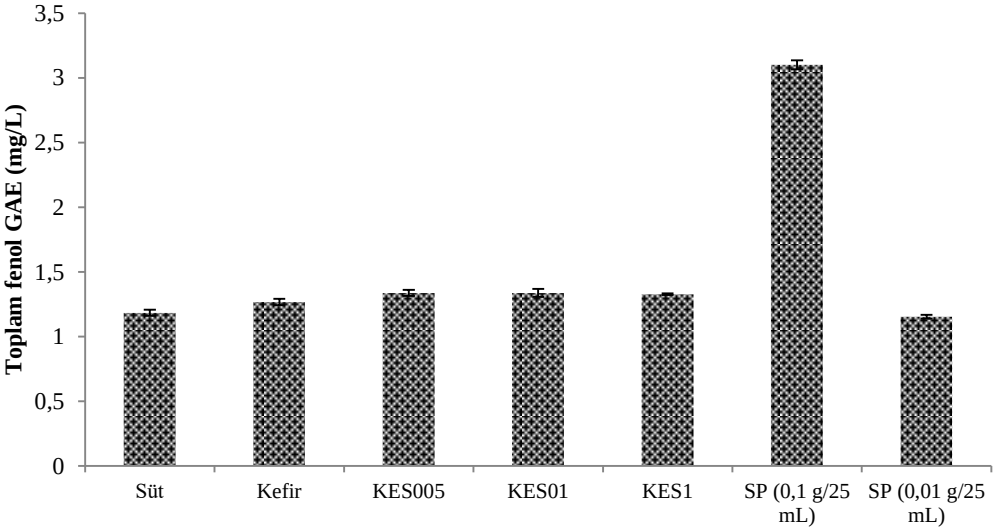
Tablo 4.5: Örneklerin kalsiyum ve demir içerikleri

Örnekler	Kalsiyum (mg/100 g)	Demir (mg/100 g)
Süt	94,78 ± 0,23	0,182 ± 0,02
Kefir	82,23 ± 0,12	0,098 ± 0,04
KES005	95,55 ± 0,16	0,168 ± 0,03
KES01	95,14 ± 0,14	0,182 ± 0,05
KES1	90,12 ± 0,13	0,425 ± 0,16

Tablo 4.5 incelendiğinde sütün kalsiyum miktarında fermantasyonla birlikte azalma olduğu, kefire *S. platensis* ilavesiyle kalsiyum içeriğinin arttığı görülmektedir. Sütten kefir mayalanması esnasında demir içeriği 0,182 mg'dan 0,098 mg'a düşmüş, kefire eklenen *S. platensis* miktarı arttıkça demir içeriği de artmıştır. En yüksek demir içeriği 0,425 mg/100g değeriyle KES1 örneğinde görülmüştür. KES1'e eklenen *S. platensis* kefirin demir içeriğini yaklaşık üç kat artırmıştır.

4.7. TOPLAM FENOL TAYİNİ

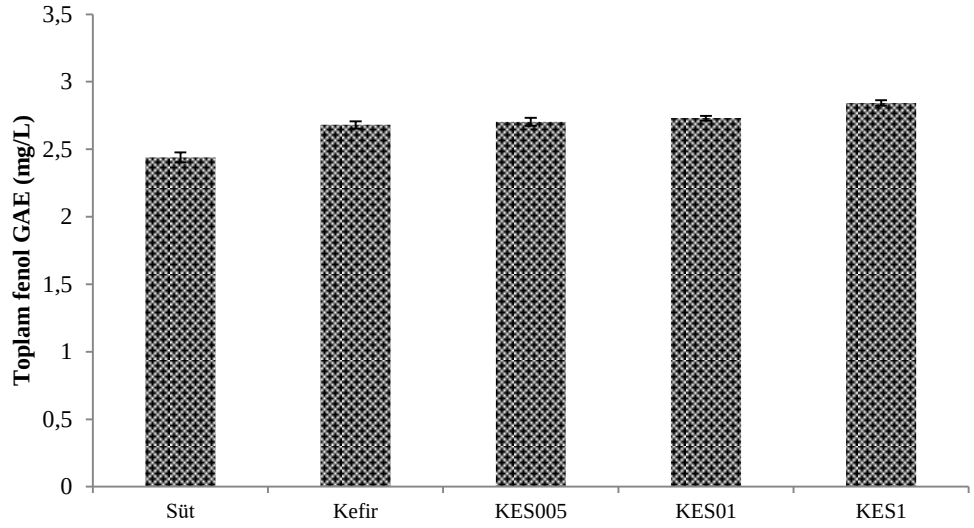
Örneklerin metanol:dH_2O, etanol ve dH_2O ekstraksiyonu sonrası yapılan toplam fenol tayini sonuçları sırasıyla Şekil 4.3, Şekil 4.4'te ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



TOPLAM FENOL	1,18±0,02	1,27±0,03	1,34±0,02	1,34±0,03	1,33±0,01	3,1±0,04	1,15±0,02

Şekil 4.3: Metanol:dH_2O ekstraksiyonu sonrası GAE cinsinden toplam fenol miktarları (mg/L) (SP: *S. platensis*)

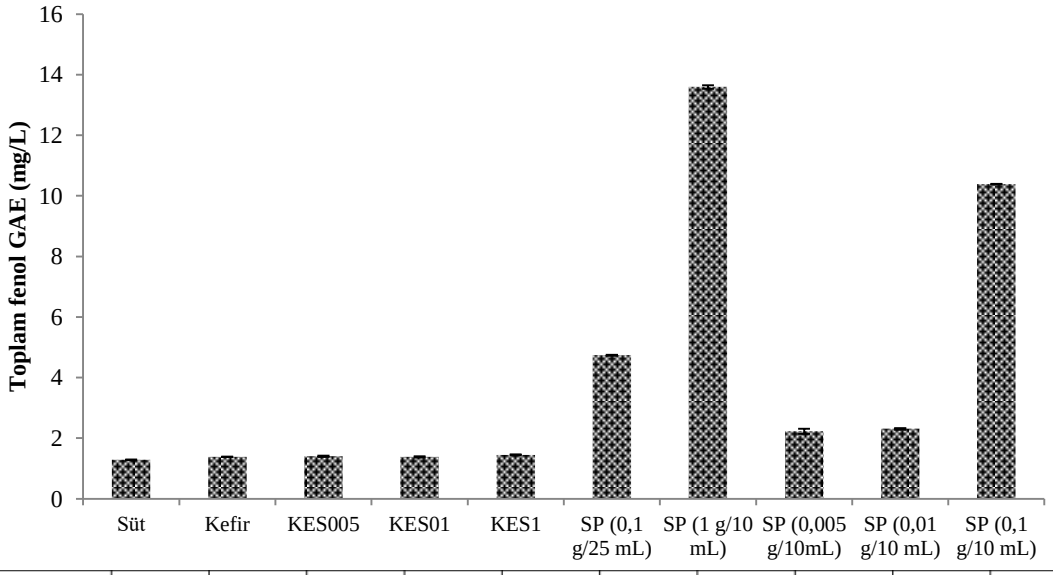
Şekil 4.3'te görüldüğü üzere sütün fermantasyonu ile birlikte fenolik bileşen içeriğinde artış olmuştur. Kefire *S. platensis* ilavesiyle fenolik bileşen miktarı çok az artmış ancak KES005, KES01 ve KES1 örnekleri arasında herhangi bir fark görülmemiştir. 0,1 g/25 mL konsantrasyondaki *S. platensis*'in fenolik bileşen içeriği 3,1 GAE (mg/L) olarak bulunmuştur.



TOPLAM FENOL	2,44±0,036	2,68±0,026	2,70±0,029	2,73±0,017	2,84±0,021

Şekil 4.4: Etanol ekstraksiyonu sonrası GAE cinsinden toplam fenol miktarları (mg/L)

Şekil 4.4'te verilen grafikte fermantasyon ve *S. platensis* ilavesi ile fenolik madde içeriğinde artış olduğu görülmektedir. KES005 ve KES01 örneklerindeki toplam fenol miktarları sırasıyla 2,7 ve 2,73 GAE (mg/L) olarak, KES1 örneğinde ise 2,84 GAE (mg/L) olarak bulunmuştur.



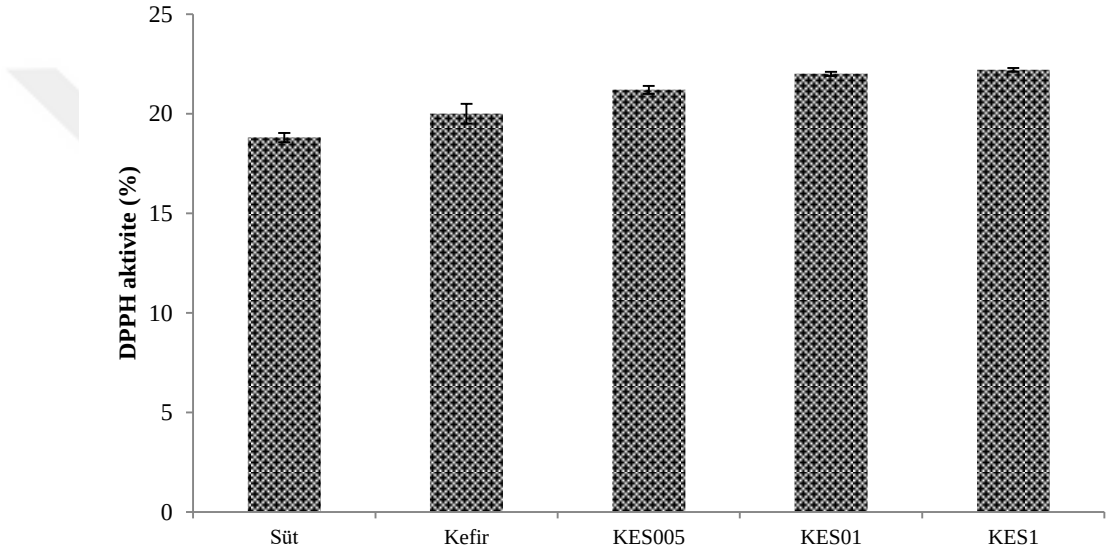
TOPLAM FENOL	1,3± 0,01	1,4± 0,01	1,4± 0,02	1,4± 0,02	1,5± 0,02	4,7± 0,01	13,6± 0,1	2,2± 0,09	2,3± 0,03	10,4± 0,01

Şekil 4.5: dH_2O ekstraksiyonu sonrası GAE cinsinden toplam fenol miktarları (mg/L) (SP: *S. platensis*)

Şekil 4.5'e göre fermantasyon sonrası toplam fenol miktarında bir miktar artış olmuş; ancak *S. platensis* ilavesiyle kefirin fenolik bileşen içeriğinde bir değişiklik gözlenmemiştir. 10 mL KES01 ve KES1 örneklerine eklenen *S. platensis* miktarları için toplam fenol değerleri 2,3 ve 10,38 GAE (mg/L) olarak; 1 g/10 mL konsantrasyonundaki *S. platensis* içinse 13,59 GAE (mg/L) olarak bulunmuştur.

4.8. DPPH ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ

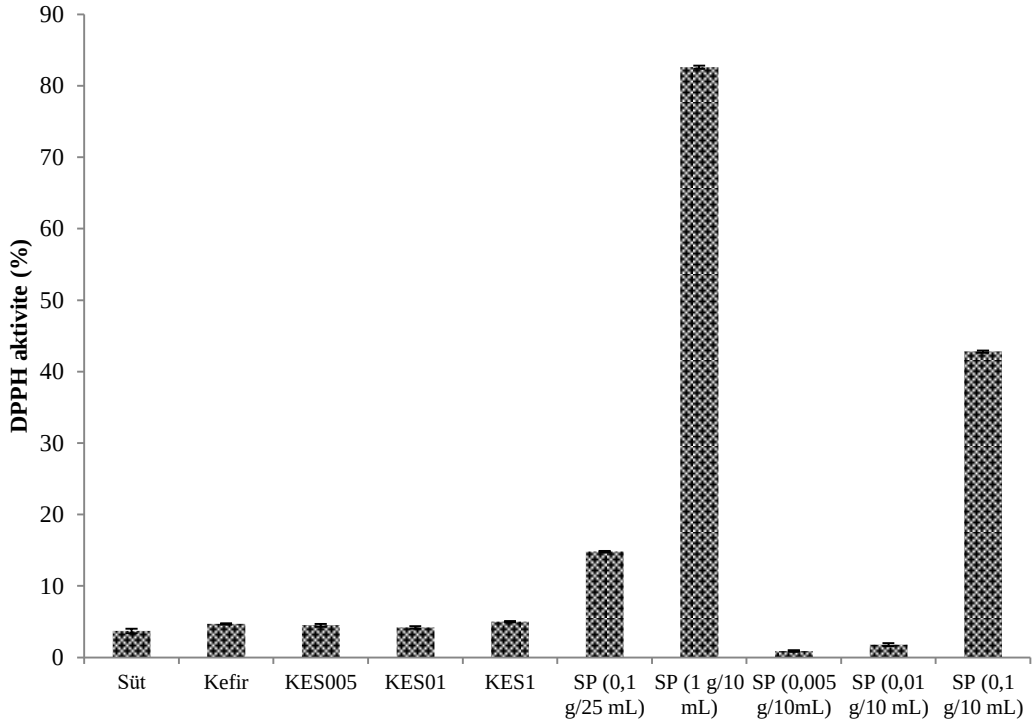
Örneklerin etanol ve dH_2O ekstraksiyonları sonrası analiz edilen DPPH aktivitelerinin sonuçları sırasıyla Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



DPPH AKTİVİTE	18,8±0,2	20±0,5	21,2±0,2	22±0,1	22,2±0,1

Şekil 4.6: Etanol ekstraksiyonu sonrası DPPH aktivite sonuçları (%)

Şekil 4.6'da sütün fermantasyonu ve kefire *S. platensis* ilavesinin DPPH aktivite yüzdesini bir miktar artırdığı görülmektedir. Fermantasyonla birlikte aktivite %18,8'den %20'ye yükselmiş, kefire eklenen %1 oranında *S. platensis*'le birlikte aktivite %22,2'ye ulaşmıştır.



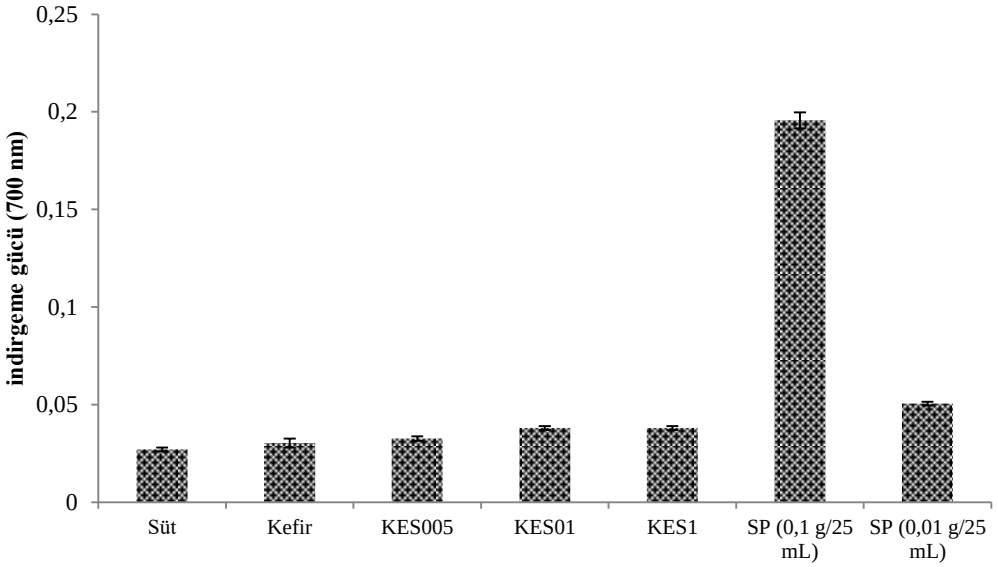
DPPH AKTİVİTE	3,7± 0,3	4,7± 0,1	4,5± 0,2	4,2± 0,2	5± 0,1	14,8± 0,1	82,6± 0,2	0,9± 0,1	1,8± 0,2	42,8± 0,2

Şekil 4.7: dH_2O ekstraksiyonu sonrası DPPH aktivite sonuçları (%) (SP: *S. platensis*)

Şekil 4.7'de verilen grafiğe göre *S. platensis* eklenmesi sonrası sade kefir, KES005, KES01 ve KES1 örnekleri arasında önemli bir fark görülmemiş; fermantasyon DPPH aktivitesini bir miktar artırmıştır. DPPH aktivite 1 g/10 mL konsantrasyondaki *S. platensis*'te %82,6 olarak, KES1 örneğine eklenen 0,1 g/10 mL konsantrasyonundaki *S. platensis*'te ise %42,8 olarak bulunmuştur.

4.9. İNDİRGEME GÜCÜ ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ

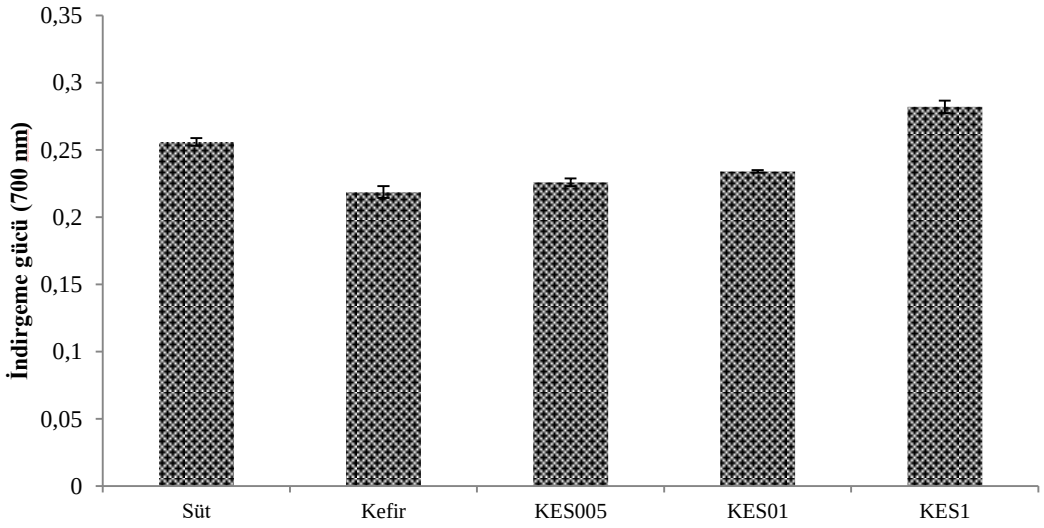
Örneklerin metanol:dH_2O ve etanol ekstraksiyonları sonrası yapılan indirgeme gücü analizlerinin sonuçları sırasıyla Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da, dH_2O ekstraksiyonu sonrası sonuçlar ise Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



İNDİRGEME GÜCÜ	0,027± 0,001	0,030± 0,002	0,033± 0,001	0,038± 0,001	0,038± 0,001	0,196± 0,004	0,051± 0,001

Şekil 4.8: Metanol:dH_2O ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları (SP: *S. platensis*)

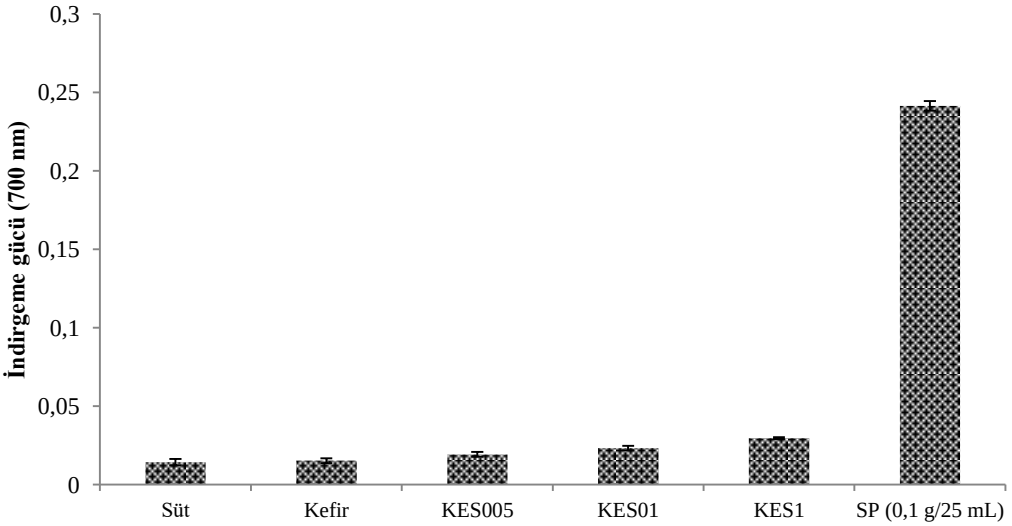
Şekil 4.8'de *S. platensis* ilavesinin antioksidan aktiviteyi az miktarda artırdığı görülmektedir. KES1 örneğine eklenen *S. platensis* miktarı baz alınarak 0,01 g/25 mL konsantrasyonda *S. platensis* ile yapılan analizde antioksidan aktivite KES1'e göre daha yüksek bulunmuştur.



İNDİRGEME GÜCÜ	0,256±0,003	0,219±0,005	0,226±0,003	0,234±0,001	0,282±0,005

Şekil 4.9: Etanol ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları

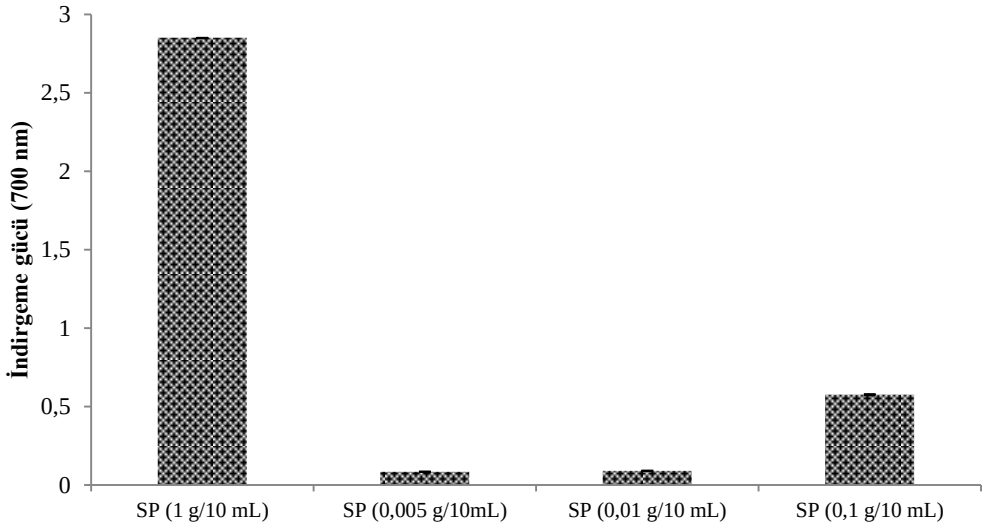
Şekil 4.9'da verilen grafiğe göre sütün fermantasyonuyla antioksidan aktivite bir miktar azalmış, kefire *S. platensis* ilavesiyle aktivitede artış gözlenmiştir.



İNDİRGEME GÜCÜ	0,014±0,002	0,015±0,002	0,019±0,002	0,023±0,002	0,030±0,001	0,241±0,003

Şekil 4.10: dH_2O ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları (SP: *S. platensis*)

Şekil 4.10'a göre *S. platensis* ilavesinin kefirin antioksidan aktivitesini artırdığı görülmüştür. Süt ve kefir örnekleri arasında bir fark bulunamamıştır.



İNDİRGEME GÜCÜ	2,850±0,001	0,085±0,002	0,091±0,001	0,575±0,004

Şekil 4.11: *Spirulina platensis* örneklerinin dH_2O ekstraksiyonu sonrası indirgeme gücü sonuçları (SP: *S. platensis*)

Şekil 4.11'de gösterilen, kefir örneklerine eklenen *S. platensis* miktar ve konsantrasyonlarına dayanarak yapılan analizlerde KES1 örneğine eklenen *S. platensis* miktarı için ayrıca yapılan analizde KES1 örneğine göre daha yüksek absorbans gözlenmiştir. *S. platensis*'in (1 g/10 mL) 700 nm'deki absorbansı 2,851 olarak bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Artan dünya nüfusuyla birlikte gelişen besin yetersizliği ve kaliteli besin kaynaklarına yönelimle birlikte *S. platensis* gibi mikroalglere duyulan ilgi artmış, bunun sonucunda ürün kalitesini artırmak amacıyla besin zenginleştirmesinde kullanımları da artış göstermiştir (102). Bir mavi-yeşil mikroalg olan *S. platensis*'in dondurma (130), kruvasan (131), meyve nektarı (100), ekmek (132) ve yoğurt (116) gibi gıdaların zenginleştirilmesinde kullanıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada ise kefir *S. platensis* ile zenginleştirilmiş ve bu zenginleştirmenin besin ögeleri ve antioksidan aktivite üzerindeki etkileri incelenmiştir.

5.1. DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRMESİ

Süt ürünlerinin *S. platensis* ile zenginleştirildiği önceki çalışmalarda, eklenen oranların %0,25 ile %1,5 arasında değiştiği görülmektedir (116,120,121). Çalışmada bu konsantrasyon aralığının da dahil olduğu daha geniş bir aralık kullanılmış ve duyusal analiz için KES örnekleri %0,05, %0,1, %0,5, %1 ve %2 oranlarında *S. platensis* eklenerek hazırlanmıştır. Yapılan bir çalışmada yoğurt örneklerine *S. platensis* (%0,5; w/v) eklenmesinin tadı önemli ölçüde etkilemediği gösterilmiştir (116). Başka bir çalışmada, dondurulmuş yoğurda papaya ekstraktı ve çeşitli konsantrasyonlarda *S. platensis* (%2-8) eklenmiş, genel kabul edilebilirlik ve diğer özellikler için en yüksek puanlar %6 *S. platensis* (w/v) ve %10 papaya ekstraktı içeren örneklerde bulunmuştur (118).

Duyusal analiz sonuçlarına göre kefire eklenen *S. platensis*'in artan miktarıyla birlikte ürünün tüketici beğenisi azalmaktadır. Yoğurdun *S. platensis*'le zenginleştirildiği bir çalışmada, sonuçlarımıza paralel olarak %0,5 konsantrasyonda *S. platensis* ile zenginleştirilmiş yoğurdun %1 konsantrasyona göre daha yüksek duyusal analiz sonuçları verdiği ve daha yüksek miktarlarda *S. platensis* ilavesinin tüketici kabul edilebilirliğini azalttığı tespit edilmiştir (14). Tüm bu sonuçlar çalışmamızla birlikte değerlendirildiğinde *S. platensis*'in düşük konsantrasyonlarda eklenmesinin (KES005 ve KES01) tüketici tarafından daha fazla kabul görebileceği, KES1'e meyve ekstraktı gibi tat ve lezzet zenginleştiricilerin eklenmesiyle tüketilebilirliğin artırılabileceği sonucuna varılabilir.

5.2. TİTRASYON ASİTLİĞİ VE pH

Sonuçlar sütün kefire fermantasyonu sırasında titrasyon asitliğinin arttığını ve pH'nın düştüğünü göstermiştir. Kefire *S. platensis* ilavesiyle ise pH'nın ve asitliğin bir miktar arttığı görülmüştür. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, kefirin titrasyon asitliği %0,71 olarak bulunmuştur (133). Codex Alimentarius'a ve Türk Gıda Kodeksi'ne göre kefirin laktik asit yüzdesi olarak ifade edilen minimum titrasyon asitliği %0,6'dır (71,134). Yapılan analiz sonucu sade kefirin titrasyon asitliği istenen değerin altında ve %0,56 olarak bulunmuş, %1 *S. platensis* ilavesi sonucu asitliğin artarak istenen değere ulaştığı görülmüştür. Titrasyon asitliğinin istenen değerin altında kalmasının kefirin depolama süresinin kısa olmasından (yaklaşık 1 gün) kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yoğurda *S. platensis* ilave edilerek depolama süresince yapısında meydana gelen değişikliklerin incelendiği bir çalışmada, sade yoğurdun titrasyon asitliğinin depolama süresi boyunca arttığı ve çalışmamızla benzer olarak *S. platensis* ilavesinin titrasyon asitliğini artırdığı görülmüştür (135).

5.3. PROTEİN VE AMİNO ASİT ANALİZLERİ

Spirulina platensis, iyi kalite protein kaynağı olarak bilinmekte ve kuru ağırlığının yaklaşık %65'i kadar protein içermektedir. Bu oran %70'e ulaşabilir. Ayrıca et ve balık (%15-25), soya (%35), yumurta (%12), yer fıstığı (%25) ve tahıllara (%8-14) kıyasla daha yüksek protein miktarına sahiptir. Bu, *S. platensis*'i bitkiler arasında içeriği en yüksek protein kaynaklarından biri yapar (136,137). Yapılan protein miktarı analizleri sonucunda, kefirin protein içeriğinde %1 oranında *S. platensis* ilavesi sonrası yaklaşık %37'lik bir artış olduğu görülmüştür. Aydemir'in (135) yaptığı çalışmada yoğurda %1 oranında *S. platensis* ilavesinin yoğurdun protein içeriğini yaklaşık %50 artırdığı bulunmuştur. Bu durum az miktarda eklense dahi kuru ağırlığının yarısından fazlasının proteinden oluşması nedeniyle ürünün protein içeriğine önemli katkı sağladığını göstermektedir.

Yapılan çalışmada *S. platensis*'in protein içeriği 100 g'da 56 g olarak bulunmuştur. Tablo 2.1'de yer alan bilgiye göre kuru ağırlıkta protein miktarı 63 g/100 g'dır (32). *S. platensis*'in besin içeriği, yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişebilir. Farklı ortam şartlarında üretilen *S. platensis*'lerin kimyasal bileşimleri biraz farklılık gösterebilse de tümünün genel olarak yüksek NPK'ye sahip olduğu bir gerçektir. Farklı bölgelerde yetiştirilen *S. platensis*'leri karşılaştıran bir çalışmada, Meksika ve Afrika

örneklerinin NPK değerlerinin sırasıyla %92 ve %85 olduğunu belirlenmiştir (138). Bu oranlar bitki kökenli bir besin kaynağı için oldukça yüksektir. Bu anlamda, özellikle besin yetersizliği yaşanan bölgelerde *S. platensis*, gıda takviyesi veya gıda katkı maddesi olarak PEM ve protein enerji kaybına (PEK) karşı etkili olabilir. Ancak farklı gruplar ve hastalıklar için spesifik dozajların belirlenmesi gerekir (139). Buna ek olarak, yaklaşık 3,3 g/100 g kaliteli protein içeren kefirle beraber kullanımı protein alımını artıracak ve hayvansal ve bitkisel kaynaklı proteinlerin birlikte tüketimiyle iyi bir protein ve amino asit örüntüsü sağlayacaktır (10).

Amino asit analizlerinde; serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanin, prolin, tirozin, fenilalanin, lizin ve DZAA (valin, izolöysin ve löysin) içeriğinin *S. platensis* ilavesiyle birlikte KES1 örneğinde arttığı görülmüştür. DZAA, insan vücudunda üretilemeyen ve günlük diyet ile alınması gereken elzem amino asitlerdir. Diğer amino asitlerin aksine, karaciğerden ziyade esas olarak iskelet kasında katabolize olurlar ve bu özellikleri nedeniyle takviye olarak alımlarının karaciğer hastalığı üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok çalışmaya konu olmuşlardır (140-142). Ayrıca egzersiz öncesi ve sonrası DZAA takviyesinin kas hasarını azalttığı ve kaslarda protein sentezini uyardığı da bilinmektedir (143). Lipit ve glikoz metabolizmasında ve protein sentezinde metabolik düzenleyiciler olarak görev alırlar ve meme sağlığı, süt kalitesi ve bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etki gösterirler (144). Egzersiz kaynaklı kas ağrısı ve hasarı üzerinde DZAA takviyesinin (9,6 g/gün) etkisinin araştırıldığı 15 erkek üzerinde yapılan plasebo kontrollü çift kör bir çalışmada, takviye sonucu serum DZAA ve β-hidroksi-β-metilbütiratın egzersizden hemen sonra ölçülen seviyelerinin önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Ayrıca kas hasarı ve travmasının belirteçleri olan serum kreatin kinaz, LDH ve aldolaz aktivitelerinin baskılandığı bulunmuştur (145). Yüksek protein ve posa içeren diyetle birlikte DZAA takviyesinin siroz üzerindeki etkilerinin araştırıldığı, 72 siroz hastasının dâhil olduğu bir çalışmada da DZAA grubunda kas kütlesinde artış olurken yağ kütlesinde azalma olduğu görülmüştür (146).

Tavsiye edilen günlük alım miktarları temel alınarak 70 kg yetişkin bir bireyin günlük DZAA gereksinimleri (35) hesaplandığında bir porsiyon 200 mL KES1 tüketimiyle valin, izolöysin ve löysin gereksinimlerinin karşılanma yüzdeleri sırasıyla %26,4, %26,5 ve %19,6 olmaktadır. Bu içeriğiyle KES1, bireylerin günlük diyetlerine eklenebilecek yüksek kaliteli potansiyel bir fonksiyonel içecektir.

5.4. YAĞ ASİTLERİ ANALİZİ

Yapılan analizlerde kefire *S. platensis* eklenmesi sonucu yağ asidi kompozisyonunda değişiklik gözlenmemiştir. Farklı *Spirulina* türlerinin yağ asidi kompozisyonlarının incelendiği bir çalışmada; *S. platensis*'te en fazla bulunan yağ asitlerinin sırasıyla palmitik asit, γ-linolenik asit ve linoleik asit olduğu görülmüştür (147). *Spirulina* yapısında 4,3 g/100 g yağ bulundurmaktadır (32). 100 g KES1 örneğinde ise 1 g *S. platensis* bulunmakta, bu da kefire eklenen 0,043 g yağ anlamına gelmektedir. Sonuç olarak kefir ve KES örnekleri arasında yağ asidi kompozisyonu bakımından bir fark olmamasının nedeni kullanılan miktarın az olmasıyla açıklanabilir.

5.5. MİNERAL ANALİZLERİ

Sütün fermantasyonuyla kalsiyum içeriği azalırken KES1 örneğine eklenen *S. platensis* kalsiyum içeriğini yaklaşık 8 mg/100 g artırmıştır. Bir porsiyon KES1 tüketimiyle sade kefire kıyasla 16 mg daha fazla kalsiyum alınmakta, bu da günlük gereksinimin (38) ancak %1,6'sını karşılayabilmektedir. Sütün fermantasyonuyla demir içeriğinin bir miktar azaldığı, kefire *S. platensis* eklendiğinde ise demir içeriğinin arttığı görülmüştür. KES1 örneğinde kefire göre 0,327 mg/100 g daha fazla demir bulunmakta ve bu miktar günlük gereksinimin kadınlarda %3,6'sını, erkeklerde ise %8,2'sini karşılayabilmektedir (36). *S. platensis*'in tek başına değerlendirildiğinde kalsiyum ve demir içeriği yüksek olsa da (32), düşük miktarda tüketimi günlük gereksinimlerin karşılanmasında yeterli olmamaktadır.

5.6. TOPLAM FENOL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ

Kefirde bulunan kazein kaynaklı amino asitlerin R-grupları, kefirin belirgin antioksidan aktivitesinden sorumludur. *Spirulina platensis* ise yapısında bulundurduğu yüksek miktarda klorofil, beta-karoten, fikoeritrin ve fikosiyanin gibi doğal pigmentler nedeniyle yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (148,149).

Etanol ekstraksiyonu yapılan örneklerde DPPH aktivite sütün fermantasyonuyla ve kefire eklenen *S. platensis* miktarı arttıkça kademeli olarak artmıştır. dH_2O ekstraksiyonu yapılan örneklerde ise kefir ve KES örnekleri arasında önemli bir fark görülmemiştir. Kefire *S. platensis* eklenmesinin, dH_2O:metanol ve etanol ekstraksiyonları sonrası yapılan analizlerle toplam fenol miktarını ve indirgeme gücünü artırdığı tespit edilmiştir. 10 mL KES1 örneğine eklenen *S. platensis* biyokütlesinin (0,1

g/10 mL) DPPH aktivite, indirgeme gücü ve toplam fenol analiz sonuçları, %1 oranında zenginleştirmeyle kefirin antioksidan aktivitesinde önemli ölçüde artış sağlanacağını göstermiştir. KES1 örneğine eklenen *S. platensis* biyokütlesinin metanol:dH_2O ekstraksiyonu sonrasında indirgeme gücü KES1 örneğine göre daha yüksek çıkmıştır. Farklı konsantrasyonlarda *S. platensis* biyokütlesine uygulanan su ekstraksiyonları sonrası yapılan toplam fenol, DPPH aktivite ve indirgeme gücü analizlerinde de KES örneklerine göre daha iyi sonuç alınmıştır. Bu durumun, aralarındaki yapısal farklılıklardan dolayı kefirin organik çözücülerle ekstrakte edildiğinde daha iyi sonuç vermesi, *S. platensis*'in ise dH_2O ekstraksiyonuna daha iyi cevap vermesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu yapısal farklılık kefir ve *S. platensis*'in birlikte analiz edilmesini zorlaştırmaktadır. *S. platensis* ilaveli kefirin antioksidan kapasitesini belirlemede en etkili yöntemi bulmak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Spirulina platensis'in antioksidan özelliklerini inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, kardiyomiyoblast hücrelerindeki yüksek plazma glukozu kaynaklı hücre ölümlerinde oksidatif stres üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (150). Başka bir çalışmada, *S. platensis* ekstraktının diyabetik sıçanlarda plazma hiperglisemi ve hiperinsülinemi parametrelerini iyileştirdiği görülmüştür (151). *S. platensis*'in fetüste florür kaynaklı tiroid hastalıkları ve nörogelişimsel bozukluklar üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, *S. platensis* takviyesinin beyin ve tiroid dokularında florüre karşı koruyucu etki sağladığını ve gebelik döneminde yüksek florür içeren suların kullanıldığı bazı bölgelerde tüketiminin yarar sağlayabileceği öne sürülmüştür (152). Bir başka çalışma, *S. platensis*'in antioksidan özelliklerinden dolayı karaciğer toksisitesi üzerinde hepatoprotektif etkiye sahip olduğunu göstermiştir (148). Bu araştırma sonuçları çalışmamızla birlikte değerlendirildiğinde kefire *S. platensis* eklenmesiyle geliştirilen yeni ürünün tüketime sunulabilecek doğal bir antioksidan kaynağı olduğu görülmektedir.

Fermente süt ürünlerinde probiyotik kültürlerin canlılığı pH, titrasyon asitliği, diğer mikroorganizmaların varlığı, sıcaklık, oksijen oranı, besin ve büyüme faktörü, gıda katkı maddeleri, mikroenkapsülasyon gibi yeni teknolojilerin uygulanması ve ürünlerin formülasyonu gibi çok sayıda faktörden etkilenir (121). Fermente Acidophilus-Bifidus-Thermophilus (ABT) sütlerine eklenen *S. platensis*, ABT starter

bakterilerinin canlılığının korunması üzerinde olumlu etki göstermektedir (119). Beheshtipour ve ark.'nın (14) yaptıkları çalışmada da %0,5 ve %1 oranlarında *S. platensis* eklenen yoğurtlarda 28 günlük depolama süresinin sonuna kadar canlı mikroorganizma sayısının 10^7 kob/mL'nin üzerinde olduğu görülmüştür. Bu bilgilere göre probiyotik süt ürünü olan kefire *S. platensis* eklenmesiyle, probiyotik mikroorganizmalarda fermantasyon ve depolama esnasında meydana gelebilecek azalmanın önüne geçilebilir. Ancak, optimum yararı sağlamak için eklenecek *S. platensis* miktarıyla ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır.

Gastrointestinal sindirim simülasyonu uygulanan kefirin biyolojik aktivitesinin sindirim esnasında değiştiği gözlenmiştir. Sindirim sonrası kefirin toplam fenolik madde miktarının 43,76 mg GAE/L' den 668,16 mg GAE/L'ye, DPPH aktivitesinin % 4,2'den % 63,06'ya, ACE inhibitör etkisinin % 9,91'den % 98,88'e yükseldiği ve sindirim işleminden önce kefirde antimikrobiyal etki görülmezken, sindirim sonrası *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür (153). Bu bakımdan *S. platensis*'le zenginleştirilen kefirin biyoyararlılığının tam anlamıyla anlaşılabilmesi için benzer bir sindirim simülasyonundan geçirilmesi yararlı olacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kefirin *S. platensis* ile zenginleştirilmesi sonucu protein, elzem amino asit, kalsiyum, demir, toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi artış göstermiştir. *S. platensis*'li kefir sindirilebilirliği yüksek protein içermesi, tüm elzem amino asitleri ihtiva etmesi, vitamin ve mineral kaynağı olmasıyla obezite, diyabet, hiperlipidemi, anti-inflamatuar hastalıklar, kanser, enfeksiyon hastalıkları, konstipasyon ve malnütrisyonun tedavisine yardımcı olarak kullanılabilir. İçerdiği antioksidanlarla organları vücutta üretilen ROS'lerin verdiği hasara karşı koruyabilir. Sağlıklı bireyler ve sporcular için de besin kalitesi yüksek bir ara öğün olma potansiyeli taşımaktadır. Ancak ürünün tüketici tarafından kabulü için lezzetinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Nitekim literatürde bu amaçla meyve püresi gibi aroma geliştirici ögelerin kullanıldığı ve olumlu sonuç alındığı çalışmalar mevcuttur.

Sonuç olarak kefirin *S. platensis*'le zenginleştirilmesi birçok yönden olumlu sonuçlanmış, besin ögesi örüntüsü gelişmiş ve biyolojik aktivite artmıştır. Ancak kefirle *S. platensis*'in sinerjistik etkisinin, kefire *S. platensis* ilavesinin kefir mikrobiyotası üzerindeki etkisinin, *S. platensis* ile zenginleştirilmiş kefirin biyolojik aktivitesinde sindirim sonucu meydana gelen değişikliklerin, antioksidan aktivite dışındaki diğer biyolojik aktivitelerin ve *S. platensis*'in kefire fermantasyon öncesi eklenmesinin tüketilebilirliği, besin ögesi bileşimini, biyolojik aktiviteyi ve kefirin mikroorganizma profilini nasıl etkileyeceğinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Suzery, M., Hadiyanto, Sutanto, H., Widiastuti, Y., Judiono. (2018). Improvement the yoghurt nutritional value, organoleptic properties and preferences by *Spirulina* (*Spirulina platensis*) supplementation. *Materials Science and Engineering*, 349, 012040.
2. Kılıç, C., Göksan, T., Ak, İ., Gökpınar, Ş. (2006). İki farklı *Spirulina platensis* suşunun büyüme özelliklerinin karşılaştırılması. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 23(1-2), 189–192.
3. Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D., Kuča, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Archives of Toxicology*, 90(8), 1817–1840.
4. Lupatini, A. L., Colla, L. M., Canana, C., Colla, E. (2017). Potential application of microalgae *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 724–732.
5. Seyidoğlu, N., Inan, S, Aydın, C. (2017). A prominent superfood: *Spirulina platensis*. *IntechOpen*, 1-27.
6. Magalhães-Guedes, K. T., Ferreira, C. D., Magalhães, K. T., Schwan, R. F., Costa, J. A. V., Nunes, I. L. (2017). Microorganisms in functional food supplementation: A review. *African Journal of Microbiology Research*, 11(8), 319–326.
7. Marles, R. J., Barrett, M. L., Barnes, J., Chavez, M. L., Gardiner, P., Ko, R., Mahady, G. B., Low Dog, T., Sarma, N. D., Giancaspro, G. I., Sharaf, M., Griffiths, J. (2011). United States pharmacopeia safety evaluation of *Spirulina*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 593–604.
8. Serban, M. C., Sahebkar, A., Dragan, S., Stoichescu-Hogea, G., Ursoniu, S., Andrica, F., Banach, M. (2016). A systematic review and meta-analysis of the impact of *Spirulina* supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical Nutrition*, 35(4), 842–851.
9. Ovando, C. A., de Carvalho, J. C., de Melo Pereira, G. V., Jacques, P., Soccol, V. T., Soccol, C. R. (2018). Functional properties and health benefits of bioactive peptides derived from *Spirulina*: A review. *Food Reviews International*, 34(1), 34–51.
10. Esmek, E. M., Güzeler, N. (2015). Kefir ve kefir kullanılarak yapılan bazı ürünler. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 19(4), 250–258.
11. Milli Eğitim Bakanlığı, Gıda Teknolojisi. (2016). Fermente Süt Ürünleri Üretimi. Ankara.
12. Yüksekdağ, Z. N., Beyatlı, Y. (2003). Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve genetik özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 01(02), 49–69.
13. Rodrigues, K. L., Caputo, L. R., Carvalho, J. C., Evangelista, J., Schneedorf, J. M. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(5), 404–408.
14. Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Haratian, P., Darani, K. K. (2012). Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology*, 235, 719–728.
15. Buono, S., Langellotti, A. L., Martello, A., Rinna, F., Fogliano, V. (2014). Functional ingredients from microalgae. *Food & Function*, 1669–1685.
16. Saranraj, P., Sivasakthi, S. (2014). *Spirulina platensis*-food for future: A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, 4(1), 26–33.
17. Ciferri, O, Tiboni, O. (1985). The biochemistry and industrial potential of Spirulina. *Annual Review of Microbiology*, 39, 503–526.
18. Kargın Yılmaz, H., Duru, M. D. (2011). Syanobakteri *Spirulina platensis*'in besin kimyası ve mikrobiyolojisi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1), 31–43.
19. Koru, E. (2012). Earth Food *Spirulina* (*Arthrospira*): Production and Quality Standards. İçinde Yehia El-Samragy (Ed.), *Food Additive. InTech*; 191–202.
20.Cyanobacteria structure. Erişim tarihi: 25.11.2021. Erişim site adı: https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/5c8c7b9ed4f2ef3300632940/t-5ffdfec7a0005e00aa69816e-cyanobacteria-structure.
21. Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, 1034, 1–33.
22. Batello, C., Marzot, M., Touré, A. H. (2004). Future is an Ancient Lake. FAO Interdepartmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture.
23. Ciferri, O. (1983). *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews*, 551–578.

24. Conk Dalay, M., Cirik, S., Koru, E. (2001). Türkiye Ege Bölgesi iklim koşullarında açık hava kültürleri için uygun *Spirulina platensis* (Stiz.) Geitl, 1930 suşunun tespiti. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18(3–4), 523–528.
25. Bezerra, R. P., Ortiz-Montoya, E. Y., Sato, S., Perego, P., de Carvalho, J. C. M., Converti, A. (2011). Effects of light intensity and dilution rate on the semicontinuous cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. A kinetic Monod-type approach. *Bioresource Technology*, 102, 3215–3219.
26. Ansari, S., Fatma, T. (2016). Cyanobacterial polyhydroxybutyrate (PHB): Screening, optimization and characterization. *PLoS One*, 11(6), e0158168.
27. Karray, A., Krayem, N., Saad, H. B., Sayari, A. (2021). *Spirulina platensis*, Punica granatum peel, and moringa leaves extracts in cosmetic formulations: an integrated approach of in vitro biological activities and acceptability studies. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(7), 8802–8811.
28. King, R. S., Hallett, P. M., Foster, D. (2015). Seeing into the infrared: a novel IR fluorescent fingerprint powder. *Forensic Science International*, 249, e21–e26.
29. Geries, L. S. M., Elsadany, A. Y. (2021). Maximizing growth and productivity of onion (Allium cepa L.) by *Spirulina platensis* extract and nitrogen-fixing endophyte Pseudomonas stutzeri. *Archives Microbiology*, 203, 169–181.
30. Cao, S., Zhang, P., Zou, T., Fei, S., Han, D., Jin, J., Liu, H., Yang, Y., Zhu, X., Xie, S. (2018). Replacement of fishmeal by spirulina *Arthrospira platensis* affects growth, immune related-gene expression in gibel carp (Carassius auratus gibelio var. CAS III), and its challenge against Aeromonas hydrophila infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 79, 265–273.
31. Dehghani, J., Adibkia, K., Movafeghi, A., Barzegari, A., Pourseif, M. M., Maleki Kakelar, H., Golchin, A., Omidi, Y. (2018). Stable transformation of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*: a promising microalga for production of edible vaccines. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(21), 9267–9278.
32. Belay, A. (2007). *Spirulina* (*Arthrospira*): Production and Quality Assurance. İçinde M.E. Gershwin, & A. Belay (Eds.), *Spirulina* in human nutrition and health. Boca Raton, FL, USA: CRC Press; 1–25.
33. Hoseini, S. M, Khosravi-Darani, K., Mozafari, M. R. (2013). Nutritional and medical applications of *Spirulina* microalgae. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(8), 1231–1237.
34. Henrikson, R. (1994). Microalga *Spirulina*, superalimento del futuro. (2ª ed.) Barcelona, España: Ronore Enterprises, 222.
35. Institute of Medicine. (2005). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Washington DC: The National Academies Press.
36. Institute of Medicine. (2001). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington DC: The National Academies Press.
37. Institute of Medicine. (1998). Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. Washington DC: The National Academies Press.
38. Institute of Medicine. (2011). Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington DC: The National Academies Press.
39. Institute of Medicine. (1997). Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Washington DC: The National Academies Press.
40. Institute of Medicine. (2006). Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. Washington DC: The National Academies Press.
41. Kulshreshtha, A. J. A., Jarouliya, U., Bhadauriya, P., Prasad, G., Bisen, P. (2008). *Spirulina* in health care management. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 9(5), 400–405.
42. Martínez-Galero, E., Pérez-Pastén, R., Perez-Juarez, A., Fabila-Castillo, L., Gutiérrez-Salmeán, G., Chamorro, G. (2016). Preclinical antitoxic properties of *Spirulina* (*Arthrospira*). *Pharmaceutical Biology*, 54(8), 1345–1353.
43. Ma, H., Xiong, H., Zhu, X., Ji, C., Xue, J., Li, R., Ge, B., Cui, H. (2019). Polysaccharide from *Spirulina platensis* ameliorates diphenoxylate-induced constipation symptoms in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 1090–1101.
44. Hwang, J. H., Lee, I. T., Jeng, K. C., Wang, M. F., Hou, R. C. W., Wu, S. M., Chan, Y. C. *Spirulina* prevents memory dysfunction, reduces oxidative stress damage and augments antioxidant activity in senescence-accelerated mice. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 57(2), 186–191.
45. Elbialy, Z. I., Assar, D. H., Abdelnaby, A., Abu Asa, S., Abdelhiee, E. Y., Ibrahim, S. S., Abdel-Daim, M. M., Almeer, R., Atiba, A. (2021). Healing potential of *Spirulina platensis* for skin wounds by

modulating bFGF, VEGF, TGF-ß1 and α-SMA genes expression targeting angiogenesis and scar tissue formation in the rat model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 11349.
46. Vidé, J., Bonafos, B., Fouret, G., Benlebna, B., Poupon, J., Jover, B., Casas, F., Jouy, N., Feillet-Coudray, C., Gailleta, S., Coudray, C. (2018). *Spirulina platensis* and silicon-enriched *Spirulina* equally improve glucose tolerance and decrease the enzymatic activity of hepatic NADPH oxidase in obesogenic diet-fed rats. *Food & Function*, 9(12), 6165–6178.
47. Asghari, A., Fazilati, M., Latifi, A. M., Salavati, H., Choopani, A. (2016). A review on antioxidant properties of *Spirulina*. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 3(1), 345–351.
48. Abdel-Daim, M., El-Bialy, B. E., Rahman, H. G. A., Radi, A. M., Hefny, H. A., Hassan, A. M. (2016). Antagonistic effects of *Spirulina platensis* against sub-acute deltamethrin toxicity in mice: Biochemical and histopathological studies. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 77, 79–85.
49. Nasirian, F., Dadkhah, M., Moradi-Kor, N., Obeidavi, Z. (2018). Effects of *Spirulina platensis* microalgae on antioxidant and anti-inflammatory factors in diabetic rats. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 11, 375–380.
50. Carrizzo, A., Conte, G. M., Sommella, E., Damato, A., Ambrosio, M., Sala, M., Scala, M. C., Aquino, R. P., de Lucia, M., Madonna, M., Sansone, F., Ostacolo, C., Capunzo, M., Migliarino, S., Sciarretta, S., Frati, G., Campiglia, P., Vecchione, C. (2019). Novel potent decameric peptide of *Spirulina platensis* reduces blood pressure levels through a PI3K/AKT/eNOS-dependent mechanism. *Hypertension*, 73(2), 449–457.
51. Hua, P., Yu, Z., Xiong, Y., Liu, B., Zhao, L. (2018). Regulatory efficacy of *Spirulina platensis* protease hydrolyzate on lipid metabolism and gut microbiota in high-fat diet-fed rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), E4023.
52. Zahran, W. E., Emam, M. A. (2018). Renoprotective effect of *Spirulina platensis* extract against nicotine-induced oxidative stress-mediated inflammation in rats. *Phytomedicine*, 1(49), 106–110.
53. Yousefi, R., Mottaghi, A., Saidpour, A. (2018). *Spirulina platensis* effectively ameliorates anthropometric measurements and obesity-related metabolic disorders in obese or overweight healthy individuals: A randomized controlled trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 40, 106–112.
54. Ramakrishnan, R. Anticancer properties of blue green algae *Spirulina platensis* – a review. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences*, 3(4), 159–168.
55. Ouhtit, A., Ismail, M. F., Othman, A., Fernando, A., Abdraboh, M. E., El-Kott, A. F., Azab, Y. A., Abdeen, S. H., Gaur, R. L., Gupta, I., Shanmuganathan, S., Al-Farsi, Y. M., Al-Riyami, H., Raj, M. H. G. (2014). Chemoprevention of rat mammary carcinogenesis by *Spirulina*. *The American Journal of Pathology*, 184(1), 296–303.
56. Śmieszek, A., Giezek, E., Chrapiec, M., Murat, M., Mucha, A., Michalak, I., Marycz, K. (2017). The influence of *Spirulina platensis* filtrates on Caco-2 proliferative activity and expression of apoptosis-related microRNAs and mRNA. *Marine Drugs*, 15(3), 65.
57. Abu-Taweel, G. M., Al-Mutary, M. G., Antonisamy, P., Arokiyaraj, S., Kim, H. J., Kim, S. J., Park, K. H., Kim, Y. O. (2019). *Spirulina* consumption effectively reduces anti-inflammatory and painrelated infectious diseases. *Journal of Infection and Public Health*, 12, 777–782.
58. Somchit, M. N., Mohamed, N. A., Ahmad, Z., Zakaria, Z. A., Shamsuddin, L., Fauzee, M. S. O., Kadir, A. A. (2014). Anti-inflammatory and anti-pyretic properties of Spirulina platensis and *Spirulina lonar*: A comparative study. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(5), 1277–1280.
59. Yang, L. L., Zhou, Q. J., Wang, Y., Gao, Y., Wang, Y. Q. (2012). Comparison of the therapeutic effects of extracts from *Spirulina platensis* and amnion membrane on inflammation-associated corneal neovascularization. *International Journal of Ophthalmology*, 5(1), 32–37.
60. Kepekçi, R. A., Polat, S., Çelik, A., Bayat, N., Demirörs Saygıdeğer, S. (2013). Protective effect of *Spirulina platensis* enriched in phenolic compounds against hepatotoxicity induced by CCl4. *Food Chemistry*, 141(3), 1972–1979.
61. Juszkiewicz, A., Basta, P., Petriczko, E., Machaliński, B., Trzeciak, J., Łuczkowska, K., Skarpańska-Stejnborn, A. (2018). An attempt to induce an immunomodulatory effect in rowers with *Spirulina* extract. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15(9).
62. Ngo-Matip, M. E., Pieme, C. A., Azabji-Kenfack, M., Moukette, B. M., Korosky, E., Stefanini, P., Ngogang, J. Y., Mbofung, C. M. (2015). Impact of daily supplementation of *Spirulina platensis* on the immune system of naïve HIV-1 patients in Cameroon: a 12-months single blind, randomized, multicenter trial. *Nutrition Journal*, 14(70).
63. Yakoot, M., Salem, A. (2012). *Spirulina platensis* versus silymarin in the treatment of chronic hepatitis C virus infection. A pilot randomized, comparative clinical trial. *BMC Gastroenterology*, 12(1), 32.

64. Zeinalian, R., Farhangi, M. A., Shariat, A., Saghafi-Asl, M. (2017). The effects of *Spirulina platensis* on anthropometric indices, appetite, lipid profile and serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in obese individuals: A randomized double blinded placebo controlled trial. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 4–11.
65. Chaouachi, M., Gautier, S., Carnot, Y., Bideau, N., Guillemot, P., Moison, Y., Collin, T., Vincent, S., Groussard, C. (2020). *Spirulina platensis* provides a small advantage in vertical jump and sprint performance but does not improve elite rugby players' body composition. *Journal of Dietary Supplements*, 1–16.
66. Aly, F. M., Kotb, A. M., Hammad, S. (2018). Effects of *Spirulina platensis* on DNA damage and chromosomal aberration against cadmium chloride-induced genotoxicity in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(11), 10829–10836.
67. Yogianti, F., Kunisada, M., Nakano, E., Ono, R., Sakumi, K., Oka, S., Nakabeppu, Y., Nishigori, C. (2014). Inhibitory effects of dietary *Spirulina platensis* on UVB-induced skin inflammatory responses and carcinogenesis. *Journal of Investigative Dermatology*, 134, 2610–2619.
68. Konícková, R., Vanková, K., Vaníková, J., Vánová, K., Muchová, L., Subhanová, I., Zadinová, M., Zelenka, J., Dvorák, A., Kolár, M., Strnad, H., Rimpelová, S., Ruml, T., Wong, R. J., Vítek, L. (2014). Anti-cancer effects of blue-green alga *Spirulina platensis*, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. *Annals of Hepatology*, 13(2), 273–283.
69. Kefayat, A., Ghahremani, F., Safavi, A., Hajiaghababa, A., Moshtaghian, J. (2020). *Spirulina* extract enriched for Braun-type lipoprotein (Immulina®) for inhibition of 4T1 breast tumors' growth and metastasis. *Phytotherapy Research*, 34(2), 368–378.
70. Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V., Soccol, C. R. (2015). Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*, 6(1177), 1–10.
71. Türk Gıda Kodeksi, Fermente Süt Ürünleri Tebliği. (2009). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tebliğ No: 2009/25.
72. Azizi, N. F., Kumar, M. R., Yeap, S. K., Abdullah, J. O., Khalid, M., Alitheen, N. B. (2021). Kefir and its biological activities. *Foods*, 10(6), 1210.
73. Nalbantoglu, U., Cakar, A., Dogan, H., Abaci, N., Ustek, D.,Sayood, K., Can, H. (2014) Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiology*, 41, 42–51.
74. Bellikci Koyu, E., Büyüktuncer Demirel, Z. (2018). Fonksiyonel bir besin: Kefir. *Journal of Nutrition and Dietetics*, 46(2), 166–175.
75. Ulaş Kadıoğlu, B. (2017). Probiyotik süt ürünü olarak kefirin sağlıklı beslenmedeki yeri. *Akademik Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 5(60), 135–145.
76. Tomar, O., Çağlar, A., Akarca, G. (2017). Kefir and its importance for health. *Afyon Kocatepe University Journal of Sciences and Engineering*, 17(2), 834–853.
77. de Oliveira Leite, A. M., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 349(2), 341–349.
78. Ötleş, S, Çağındı, Ö. (2003). Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2), 54–59.
79. Altay, F., Karbancioglu-Güler, F., Daskaya-Dikmen, C., Heperkan, D. (2013). A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, 167(1), 44–56.
80. Rosa, D. D., Dias, M. M. S., Grześkowiak, Ł. M., Reis, S. A., Conceição, L. L., Peluzio, M. D. C. G. (2017). Milk kefir: Nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 82–96.
81. Juers, D. H., Matthews, B. W., Huber, R. E. (2012). LacZ β-galactosidase: structure and function of an enzyme of historical and molecular biological importance. *Protein Science*, 21(12), 1792–1807.
82. Peluzio, M. Do C. G., de Moura e Dias, M., Martinez, J. A., Milagro, F. I. (2021). Kefir and intestinal microbiota modulation: Implications in human health. *Frontiers in Nutrition*, 8, 638740.
83. Vlachou, E., Ntikoudi, A., Govina, O., Lavdaniti, M., Kotsalas, N., Tsartsalis, A., Dimitriadis, G. (2020). Effects of probiotics on diabetic nephropathy: A systematic review. *Current Clinical Pharmacology*, 15(3), 234–242.
84. Sharifi, M., Moridnia, A., Mortazavi, D., Salehi, M., Bagheri, M., Sheikhi, A. (2017). Kefir: a powerful probiotics with anticancer properties. *Medical Oncology*, 34, 183.
85. Rafie, N., Hamedani, S. G., Ghiasv, R., Miraghajani, M. (2015). Kefir and cancer: A systematic review of literatures. *Archives of Iranian Medicine*, 18(12), 852–857.

86. Delikanlı Akbay, G. (2020). Kefirin antikarsinojenik rolü. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2), 73–82.
87. Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S. T., Nisa, M., Ahmad, H., Afreen, A. (2013). Kefir and health: A contemporary perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 422–434.
88. Kim, D. H., Chon, J. W., Kim, H., and Seo, K. H. (2015). Modulation of intestinal microbiota in mice by kefir administration. *Food Science and Biotechnology*, 24, 1397–1403.
89. Bellikçi-Koyu, E., Sarer-Yürekli, B. P., Akyon, Y., Aydın-köse, F., Karagözlü, C., Özgen, A. G., Brikmann, A., Nitsche, A., Ergunay, K., Yılmaz, E., Büyüktuncer, Z. (2019). Effects of regular kefir consumption on gut microbiota in patients with metabolic syndrome: A parallel-group, randomized, controlled study. *Nutrients*, 11(9), 2089.
90. Fathi, Y., Faghih, S., Zibaeenezhad, M. J., Tabatabaei, S. H. R. (2016). Kefir drink leads to a similar weight loss, compared with milk, in a dairy-rich non-energy-restricted diet in overweight or obese premenopausal women: a randomized controlled trial. *European Journal of Nutrition*, 55(1), 295–304.
91. Pražnikar, Z. J., Kenig, S., Vardjan, T., Bizjak, M. Č., Petelin, A. (2020). Effects of kefir or milk supplementation on zonulin in overweight subjects. *Journal of Dairy Science*, 103(5), 3961–3970.
92. Fathi, Y., Ghodrati, N., Zibaeenezhad, M. J., Faghih, S. (2017). Kefir drink causes a significant yet similar improvement in serum lipid profile, compared with low-fat milk, in a dairy-rich diet in overweight or obese premenopausal women: A randomized controlled trial. *Journal of Clinical Lipidology*, 11(1), 136–146.
93. Rizk, S., Maalouf, K., Baydoun, E. (2009). The antiproliferative effect of kefir cell-free fraction on HuT-102 malignant T lymphocytes. *Clinical Lymphoma & Myeloma*, 9(3), 198–203.
94. Bekar, O., Yılmaz, Y., Gülten, M. (2011). Kefir improves the efficacy and tolerability of triple therapy in eradicating Helicobacter pylori. *Journal of Medicinal Food*, 14(4), 344–347.
95. Yılmaz, İ., Dolar, M. E., Özpınar, H. (2019). Effect of administering kefir on the changes in fecal microbiota and symptoms of inflammatory bowel disease: A randomized controlled trial. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 30(3), 242–253.
96. Özsoy, B., Küçükgül, A., Özsoy, Ş. Y., Yumuşak, N. (2017). Investigation the protective effects of kefir in experimental *Diabetes Mellitus* and nonalcoholic liver fattened rats. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(2), 142–146.
97. Turan, I., Dedeli, O., Bor, S., İlter, T. (2014). Effects of a kefir supplement on symptoms, colonic transit, and bowel satisfaction score in patients with chronic constipation: A pilot study. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 25(6), 650–656.
98. O'Brien, K. V., Stewart, L. K., Forney, L. A., Aryana, K. J., Prinyawiwatkul, W., Boeneke, C. A. (2015). The effects of postexercise consumption of a kefir beverage on performance and recovery during intensive endurance training. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7446–7449.
99. Tu, M. Y., Chen, H. L., Tung, Y. T., Kao, C. C., Hu, F. C., Chen, C. M. (2015). Short-term effects of kefir-fermented milk consumption on bone mineral density and bone metabolism in a randomized clinical trial of osteoporotic patients. *PLoS ONE*, 10(12), e0144231.
100. Bahlol, H. E. M., El-Desouky, A. I., Sharoba, A. M., Morsy, O., Abd El-Mawla, E. M. (2018). Utilization of *Sprulina* algae to improve the nutritional value of kiwifruits and cantaloupe nectar blends. 4Th International Conference on Biotechnology Applications in Agriculture (ICBAA), Benha Unversity, Moshtohor and Hurghada, 315–324.
101. Morsy, O. M., Sharoba, A. M., El-Desouky, A. I., Bahlol, H. E. M., Abd El Mawla, E. M. (2014). Production and evaluation of some extruded food products using *Spirulina* algae. *Annals of Agricultural Science Moshtohor*, 52(4), 329–342.
102. Ak, B., Avşaroğlu, E., Işık, O., Özyurt, G., Kafkas, E., Etyemez, M., Uslu, L. (2016). Nutritional and physicochemical characteristics of bread enriched with microalgae *Spirulina platensis*. *International Journal of Engineering Research and Application*, 6(12), 30–38.
103. Abd El-Salam, A. M., Morsy, O. M., Abd El Mawla, E. M. (2017). Production and evaluation crackers and instant noodles supplement with *Spirulina* algae. *Current Science International*, 6(4), 908–919.
104. Saharan, V., Jood, S. (2021). Effect of storage on *Spirulina platensis* powder supplemented breads. *Journal of Food Science and Technology*, 58(3), 978–984.
105. Vijayarani, D., Ponnalaghu, S., Rajathivya, J. (2012). Development of value added extruded product using *Spirulina*. *International Journal of Health Sciences & Research*, 2(4), 42–47.
106. Niccolai, A., Venturi, M., Galli, V., Pini, N., Rodolfi, L., Biondi, N., D'Ottavio, M., Batista, A. P., Raymundo, A., Granchi, L., Tredici, M. R. (2019). Development of new microalgae-based sourdough "crostini": functional effects of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) addition. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12.

107. Golmakani, M, Moayyedi, M, Raissjalali, A, Pesaran, Y, Aghajani, A. (2015). Investigation of physicochemical, nutritional, textural, and sensory properties of Iranian yazdi cupcake enriched with *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). 12.
108. Bolanho, B., Egea, M., Morocho-Jácome, A. L., Campos, I., de Carvalho, J. C. M., Danesi, E. D. (2014). Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fibre. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(2), 171–179.
109. Onacık-Gür, S., Zbikowska, A., Majewska, B. (2018). Effect of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) addition on textural and quality properties of cookies. *Italian Journal of Food Science*, 30(1), 1–12.
110. Şahin, O. I. (2020). Functional and sensorial properties of cookies enriched with *Spirulina* and *Dunaliella* biomass. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3639–3646.
111. Abd El Baky, H. H., El Baroty, G. S., Ibrahem, E. A. (2015). Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from *Spirulina* and *Spirulina* biomass. *Nutrición Hospitalaria*, 32(1), 231–241.
112. Lucas, B. F., de Morais, M. G., Santos, T. D., Costa, J. A. V. (2018). *Spirulina* for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 270–276.
113. Uribe-Wandurraga, Z. N., Igual, M., García-Segovia, P., Martínez-Monzó, J. (2020). Influence of microalgae addition in formulation on colour, texture, and extrusion parameters of corn snacks. *Food Science and Technology International*, 26(8), 685–695.
114. Luo, A., Feng, J., Hu, B., Lv, J., Chen, C. Y. O., Xie, S. (2017). Polysaccharides in *Spirulina platensis* improve antioxidant capacity of Chinese-style sausage. *Journal of Food Science*, 82(11), 2591–2597.
115. Navacchi, M. F. P., de Carvalho, J. C. M., Takeuchi, K. P., Danesi, E. D. G. (2012). Development of cassava cake enriched with its own bran and *Spirulina platensis*. *Acta Scientiarum - Technology*, 34(4), 465–472.
116. Güldaş, M., İrkin, R. (2010). Influence of *Spirulina platensis* powder on the microflora of yoghurt and acidophilus milk. *Mljekarstvo*, 60, 237–243.
117. Nourmohammadi, N., Soleimanian-Zad, S., Shekarchizadeh, H. (2020). Effect of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) microencapsulated in alginate and whey protein concentrate addition on physicochemical and organoleptic properties of functional stirred yogurt. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(14), 5260–5268.
118. Dubey, R. P., Kumari, P. (2011). Preparation of low fat and high protein frozen yoghurt enriched with papaya pulp and *Spirulina*. *BioScience Trends*, 4, 182–184.
119. Varga, L., Szigeti, J., Kovács, R., Földes, T., Buti, S. (2002). Influence of a *Spirulina platensis* biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage (R1). *Journal of Dairy Science*, 85(5), 1031–1038.
120. Agustinia, T. W., Ma'ruf, W. F., Widayat, Suzery, M., Hadiyanto, Benjakul, S. (2016). Application of *Spirulina platensis* on ice cream and soft cheese with respect to their nutritional and sensory perspectives. *Jurnal Teknologi*, 78(4–2), 245–251.
121. Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Khosravi-Darani, K. (2013). Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* algae into probiotic fermented milks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(2), 144–154.
122. T.C. Millî Eğitim Bakanlığı. (2012). Duyusal Test Teknikleri. Ankara.
123. AOAC International. (1996). Official Methods of Analysis. Washington DC: AOAC International.
124. Xu, B. J. Chang, S. K. C. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science*, 72(2), 159–166.
125. Shalaby, E., Shanab, S. M. M. (2013). Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of Spirulina platensis. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 42(5), 556–564.
126. Altunkaya, A., Gökmen, V. (2008). Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*, 107(3), 1173–1179.
127. Aytekin, A. O., Morimura, S., Kida, K. (2011). Synthesis of chitosan–caffeic acid derivatives and evaluation of their antioxidant activities. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(2), 212–216.
128. Nourollahian, M., Rasoulian, B., Gafari, A., Anoushiravani, M., Jabari, F., Bakhshaee, M. (2020). Clinical comparison of the efficacy of *Spirulina platensis* and cetirizine for treatment of allergic rhinitis. *ACTA Otorhinolaryngologica Italica*, 40(3), 224–229.
129. Miczke, A., Szulińska, M., Hansdorfer-Korzon, R., Kręgielska-Narożna, M., Suliburska, J., Walkowiak, J., Bogdański, P. (2016). Effects of *Spirulina* consumption on body weight, blood pressure, and endothelial function in overweight hypertensive Caucasians: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(1), 150–156.

130. Malik, P., Kempanna, C., Paul, A. (2013). Quality characteristics of ice cream enriched with *Spirulina* powder. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2, 44–50.
131. Massoud, R., Khosravi-Darani, K., Nakhsaz, F., Varga, L. (2016). Evaluation of physicochemical, microbiological and sensory properties of croissants fortified with *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *Czech Journal of Food Sciences*, 34(4), 350–355.
132. Yaiche Achour, H., Doumandji, A., Sadi, S., Saadi, S. (2014). Evaluation of nutritional and sensory properties of bread enriched with *Spirulina*. *Annals. Food Science and Technology*, 15(2), 270–275.
133. Üstün-Aytekin, Ö., Şeker, A., Arısoy, S. (2020). The effect of *in vitro* gastrointestinal simulation on bioactivities of kefir. *International Journal of Food Science & Technology*, 55, 283–292.
134. Codex Standard 243. Codex Standard for Fermented Milks. (İnternette) 2003. Erişim 21.05.2020, http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/marco/Codex_Alimentarius/normativa/c414 odex/stan/CODEX_STAN_243.asp.
135. Aydemir, S. (2019). *Spirulina platensis* katılarak üretilmiş yoğurtların özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
136. Babadzhanov, A. S., Abdusamatova, N., Yusupova, F. M., Faizullaeva, N., Mezhlumyan, L. G., Malikova, M. K. (2004). Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. *Chemistry of Natural Compounds*, 40, 276–279.
137. Dillon, J. C., Phuc, A. P., Dubacq, J. P. (1995). Nutritional value of the alga *Spirulina*. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 77, 32–46.
138. Bourges, H., Sotomayor, A., Mendoza, E., Chavez, A. (1971). Utilization of the alga *Spirulina* as a protein source. *Nutrition Reports International*, 4, 31–43.
139. Siva Kiran, R. R., Madhu, G. M., Satyanarayana, S. V. (2015). *Spirulina* in combating Protein Energy Malnutrition (PEM) and Protein Energy Wasting (PEW) - A review. *J Nut Res*, 3(1), 62–79.
140. Tajiri, K., Shimizu, Y. (2013). Branched-chain amino acids in liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 19, 7620–7629.
141. Ooi, P. H., Gilmour, S. M., Yap, J., Mager, D. R. (2018). Effects of branched chain amino acid supplementation on patient care outcomes in adults and children with liver cirrhosis: A systematic review. *Clinical Nutrition ESPEN*, 28, 41–51.
142. Charlton, M. (2006). Branched-chain amino acid enriched supplements as therapy for liver disease. *Journal of Nutrition*, 136, 295–298.
143. Shimomura, Y., Murakami, T., Nakai, N., Nagasaki, M., Harris, R. A. (2004). Exercise promotes BCAA catabolism: Effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. *Journal of Nutrition*, 134, 1583–1587.
144. Zhang, S., Zeng, X., Ren, M., Mao, X., Qiao, S. (2017). Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(10).
145. Ra, S. G., Miyazaki, T., Kojima, R., Komine, S., Ishikura, K., Kawanaka, K., Honda, A., Matsuzaki, Y., Ohmori, H. (2018). Effect of BCAA supplement timing on exercise-induced muscle soreness and damage: a pilot placebo-controlled double-blind study. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 58(11), 1582–1591.
146. Ruiz-Margáin, A., Macías-Rodríguez, R. U., Ríos-Torres, S. L., Román-Calleja, B. M., Méndez-Guerrero, O., Rodríguez-Córdova, P., Torre, A. (2018). Effect of a high-protein, high-fiber diet plus supplementation with branched-chain amino acids on the nutritional status of patients with cirrhosis, *Revista de gastroenterologia de Mexico* (English), 83(1), 9–15. 83(1), 9–15.
147. Otleş, S., Pire, R. (2001). Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species. *Journal of AOAC International*, 84(6), 1708–1714.
148. Gad, A. S., Khadrawy, Y. A., El-Nekeety, A. A., Mohamed, S. R., Hassan, N. S., Abdel-Wahhab, M. A. (2011). Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and *Spirulina* in rats. *Nutrition*, 27, 582–589.
149. Abu Zaid, A. A., Hammad, D. M. M., Sharaf, E. M. (2015). Antioxidant and anticancer activity of *Spirulina platensis* water extracts. *International Journal of Pharmacology*, 11, 846–851.
150. Jadaun, P., Yadav, D., Bisen, P. S. (2017). *Spirulina platensis* prevents high glucose-induced oxidative stress mitochondrial damage mediated apoptosis in cardiomyoblasts. *Cytotechnology*, 70(2), 523–536.
151. Aissaoui, O., Amiali, M., Bouzid, N., Belkacemi, K., Bitam, A. (2017). Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 55, 1304–1312.
152. Banji, D., Banji. O. J., Pratusha, N. G., Annamalai, A. R. (2013). Investigation on the role of *Spirulina platensis* in ameliorating behavioural changes, thyroid dysfunction and oxidative stress in offspring of pregnant rats exposed to fluoride. *Food Chemistry*, 140, 321–331.

153. Şeker, A. (2017). Kefir içeceğinin biyoaktif bileşenlerinin *in vitro* gastrointestinal simülasyon ile belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.