

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**



**KEMİK SUYU ÜRETİMİNDE FARKLI PIŞIRME TEKNİĞİ
VE ORGANİK ASİT KULLANIMININ ÜRÜN KALİTESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Meryem DUMAN

Danışman

Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Meryem DUMAN tarafından, Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP danışmanlığında hazırlanan “KEMİK SUYU ÜRETİMİNDE FARKLI PİŞİRME TEKNİĞİ VE ORGANİK ASİT KULLANIMININ ÜRÜN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 11.1.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Sadettin TURHAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Furkan Türker SARICAOĞLU Bursa Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

22/06/2022
Meryem DUMAN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : KEMİK SUYU ÜRETİMİNDE FARKLI PİŞİRME TEKNİĞİ
VE ORGANİK ASİT KULLANIMININ ÜRÜN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 20/06/2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 12

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

22/06/2022
Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP

ÖZET

KEMİK SUYU ÜRETİMİNDE FARKLI PIŞIRME TEKNİĞİ VE ORGANİK ASİT KULLANIMININ ÜRÜN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Meryem DUMAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Ocak/2022

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP

Bu çalışmanın amacı kemik suyu üretiminde organik asit kullanımı ile farklı pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen ürünün ekstrakt kalitesi üzerine etkisini araştırmaktır. Çalışmada kullanılan organik asitler; sitrik asit ve laktik asit olup kullanılan yöntemler ise açık ve kapalı kazanda pişirme yöntemleridir. Açık kazan yöntemiyle gerçekleştirilen üretimde atmosferik basınçta 4 saat pişirme süresinde kemik suyu üretilimi gerçekleştirilmiştir. Kapalı kazan yönteminde ise 1 atm basınç altında 121°C sıcaklıkta 4 saat pişirme süresinde otoklavda üretim gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kemik sularında pH, kuru madde, kül, yağ, protein, mineral madde (Ca, P, Mg, K, Na, Fe), amino asit analizleri yapılarak sonuçları değerlendirilmiştir. Bileşim analiz sonuçlarına göre kemik suyuna organik asit ilavesinin besin değerini artırıcı etkisinin olduğu görülmüştür. Açık ve kapalı kazan yöntemiyle üretilen kemik suyunun toplam mineral madde değerleri mg/kg olarak sırasıyla 8268.1 ve 4103.4 tespit edilmiştir. Bu verilere göre açık kazan yöntemindeki artış 2 kat olarak belirlenmiştir. Asit uygulamasının ise toplam mineral madde içeriğinde 10-15 kat, Ca ve Mg değerlerinde 50-60 kat ve P değerlerinde ise 10-15 kat artışlara neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca asit uygulamasının standart amino asitlere etkisine bakıldığında sonuçlarda 2-3 kat artış olduğu görülmektedir. Glisin amino asiti uygulanan yöntemlerde en yüksek miktarda belirlenmiş olup bunu prolin amino asiti izlemektedir. Hidroksiprolin amino asitinin pişirme yöntemleri karşılaştırıldığında kapalı kazan yöntemiyle üretimde yaklaşık 1.5 kat artış görülürken asit uygulamalarında ise yaklaşık 1-1.5 kat artış olduğu görülmüştür. Kemik suyunda toplam esansiyel amino asit değeri açık ve kapalı kazan yöntemiyle üretimde mg/100 g olarak sırasıyla 473.93 ve 713.79 belirlenmiş olup 1.5 katlık artış tespit edilmiştir. Asit uygulama işlemi değerlendirildiğinde ise organik asit ilavesinin toplam esansiyel amino asit miktarını artırdığı tespit edilmiştir. Özellikle laktik asitin toplam esansiyel amino asiti yaklaşık 2.5 kat artırdığı görülmektedir. Yapılan bu çalışmayla kemik sularının besin karakterizasyonu üzerine pişirme yönteminin ve organik asit kullanımının $p < 0.05$ seviyesinde önemli etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Kemik, Kemik suyu, Kolajen, Organik asit

ABSTRACT

THE EFFECT OF DIFFERENT COOKING TECHNIQUES AND ORGANIC ACID USE ON PRODUCT QUALITY IN BONE WATER PRODUCTION

Meryem DUMAN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Food Engineering

Master, January/2023

Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP

The aim of this study is to investigate the effect of the use of organic acid in the production of bone broth and the effect of the product produced by using different cooking methods on the extract quality. Organic acids used in the study; citric acid and lactic acid and the methods used are open and closed boiler cooking methods. Bone broth was produced in 4 hours of cooking time at atmospheric pressure in the open boiler method. In the closed boiler method, production was carried out in an autoclave under 1 atm pressure and at 121°C for 4 hours of cooking time. pH, dry matter, ash, fat, protein, mineral substance (Ca, P, Mg, K, Na, Fe), amino acid analyzes were made in the obtained bone broths and the results were evaluated. According to the results of the composition analysis, it was observed that the addition of organic acid to the bone broth had a nutritional value-enhancing effect. Total mineral substance values of bone broth produced by open and closed boiler method were determined as 8268.1 and 4103.4 mg/kg, respectively. According to these data, the increase in the open boiler method was determined as 2 times. It has been determined that acid application causes 10-15 times increase in total mineral substance content, 50-60 times increase in Ca and Mg values and 10-15 times increase in P values. In addition, when the effect of acid application on standard amino acids is examined, it is seen that there is a 2-3 fold increase in the results. Glycine amino acid was determined in the highest amount in the applied methods, followed by proline amino acid. When the cooking methods of hydroxyproline amino acid are compared, it is seen that there is an increase of approximately 1.5 times in production with the closed boiler method, while an increase of approximately 1-1.5 times in acid applications. Total essential amino acid value in bone broth was determined as 473.93 and 713.79 mg/100 g in open and closed boiler production, respectively, and a 1.5-fold increase was detected. When the acid application process was evaluated, it was determined that the addition of organic acid increased the total amount of essential amino acids. In particular, lactic acid appears to increase the total essential amino acid approximately 2.5 times. In this study, it was determined that the cooking method and the use of organic acid had a significant effect on the nutritional characterization of bone broth at the $p<0.05$ level.

Keywords: Bone, Bone broth, Collagen, Organic acid

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, sabrı ve yol gösterici tutumuyla çalışmamı tamamlamama yardımcı olan çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP'e,

Her ihtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Gıda Yüksek Mühendisi Merve BOZDEMİR ve Gıda Yüksek Mühendisi Hülya ŞİMŞEK'e

Özellikle pandemi döneminde tezimi yazabilmem için önüme çıkan bütün engelleri aşmama yardımcı olan ne zaman umutsuzluğa kapılsam beni yüreklendiren değerli yol arkadaşım Veteriner Hekim Zafer KOÇ'a

Son olarak her koşulda yanımda olan beni destekleyen sevgili ailem; Muhsin DUMAN, Fatma DUMAN, kardeşlerim; Sümeyye DUMAN SARI, Ali Yasir DUMAN ve Muhammet Talha DUMAN'a sonsuz teşekkürler ederim.

Meryem DUMAN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hayvansal Yan Ürünler	3
2.2. Kemik	4
2.2.1. Kemik İliği	6
2.2.2. Kıkırdak	8
2.2.2.1. Kıkırdak Tipleri	8
2.2.3. Kolajen.....	9
2.2.3.1. Kolajen Tipleri	10
2.2.3.2. Kolajen Kaynakları	11
2.2.3.3. Kolajenin Fonksiyonları	12
2.2.4. Jelatin	12
2.2.4.1. Jelatin Üretimi	13
2.2.5. Mineral Maddeler	15
2.3. Organik Asitler	16
2.4. Kemik Suyu	18
2.4.1. Kemik Suyunun Bileşim Özellikleri	19
2.4.2. Kemik Suyu Üretimi ve Yapılan Çalışmalar	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	24
3.1. Materyal	24
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Kemik Suyu Üretimi	24
3.2.2. Kemik Suyu Numunelerine Uygulanan Analizler	28
3.2.2.1. pH	28
3.2.2.2. Kuru Madde	28
3.2.2.3. Kül	28
3.2.2.4. Protein	29
3.2.2.5. Yağ	29
3.2.2.6. Mineral Madde	29
3.2.2.7. Amino Asit	29
3.2.2.8. İstatistiksel Analiz	29

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1. Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları	30
4.1.1. Kemik Suyunun Bileşim Analizleri	30
4.1.2. İşlem Öncesi ve Sonrası pH	36
4.1.3. Mineral Maddeler	39
4.1.4. Amino Asitler	44
4.1.4.1. Nonpolar (Hidrofobik) R Gruplu Amino Asitler	44
4.1.4.2. Nötral ve Polar R Gruplu Amino Asitler	50
4.1.4.3. Negatif Yüklü (Asidik) R Gruplu Amino Asitler	55
4.1.4.4. Pozitif Yüklü (Bazik) R Gruplu Amino Asitler	58
4.1.5. Bazı Proteinlerin Yapısında Bulunan Amino Asitler	61
4.1.5.1. Hidroksiprolin	61
5. SONUÇ	64
KAYNAKÇA	69
EKLER	73
ÖZ GEÇMİŞ	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

atm	: Standart Atmosfer
ATP	: Adenozin Trifosfat
BSE	: Bovine Spongiform Encephalopathy (Sığır Süngerimsi Ensefalopati)
°C	: Santigrat Derece
dk	: Dakika
F	: F-testi
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
g	: Gram
GRAS	: Generally Recognized as Safe (Genellikle güvenilir kabul edilen)
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
KO	: Kareler Ortalaması
L	: Litre
MA	: Molekül Ağırlığı
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
pH	: Power of Hydrogen (Aktüel Asitlik)
SD	: Serbestlik Derecesi
SS	: Standart Sapma
USDA	: United States Department of Agriculture (ABD Tarım Bakanlığı)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kemiğin mikroskobik ortamdaki yapısı (Tunçay, 2013)	6
Şekil 2.2. Kemiğin anatomisi (Anonim, 2022)	7
Şekil 2.3. Kıkırdak doku ve çeşitleri (Onar ve Armutak, 2022)	8
Şekil 3.1. Açık kazan yöntemiyle kemik suyu numunelerinin hazırlanması	26
Şekil 3.2. Kapalı kazan yöntemiyle kemik suyu numunelerinin hazırlanması	27
Şekil 4.1. Kemik sularının bileşim özellikleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi	35
Şekil 4.2. Kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi	39
Şekil 4.3. Kemik sularının mineral madde değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi	43
Şekil 4.4. Kemik sularının nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etki	49
Şekil 4.5. Kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi	54
Şekil 4.6. Kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi	57
Şekil 4.7. Kemik sularının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi	61
Şekil 4.8. Kemik sularının hidroksiprolin değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi	63

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Kolajen ekstraksiyonunda kullanılan ham maddeler (Ata ve Tavman, 2019)	10
Tablo 2.2. Farklı yapıdaki kolajen tipleri (Ata ve Tavman, 2019)	11
Tablo 2.3. En yaygın kullanılan organik asitler ve bazı fiziko-kimyasal özellikleri (Gül ve Tekce, 2017)	16
Tablo 3.1. Kemik suyu numunelerinde yapılan analizlerin tablosu	28
Tablo 4.1. Değişik pişirme yöntemleri ve farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen bileşim özelliklerine ait Varyans analiz sonuçları	31
Tablo 4.2. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının bileşim özelliklerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (%) (Ortalama $\pm$ SS)	31
Tablo 4.3. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının bileşim özelliklerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (%) (Ortalama $\pm$ SS)	34
Tablo 4.4. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait Varyans analiz sonuçları ...	36
Tablo 4.5. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (Ortalama $\pm$ SS)	37
Tablo 4.6. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (Ortalama $\pm$ SS)	38
Tablo 4.7. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen mineral madde değerlerine ait Varyans analiz sonuçları	39
Tablo 4.8. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının magnezyum değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/kg) (Ortalama $\pm$ SS)	40
Tablo 4.9. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının magnezyum değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/kg) (Ortalama $\pm$ SS)	41
Tablo 4.10. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları	45
Tablo 4.11. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g) (Ortalama $\pm$ SS)	45
Tablo 4.12. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g) (Ortalama $\pm$ SS)	47
Tablo 4.13. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen bazı nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları	51

Tablo 4.14. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	51
Tablo 4.15. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	53
Tablo 4.16. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları	55
Tablo 4.17. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	55
Tablo 4.18. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	57
Tablo 4.19. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları	58
Tablo 4.20. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	59
Tablo 4.21. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	60
Tablo 4.22. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen hidroksiprolin değerlerine ait Varyans analiz sonuçları	61
Tablo 4.23. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının hidroksiprolin değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	62
Tablo 4.24. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının hidroksiprolin değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)	63

1. GİRİŞ

Üretim geçmişi tarih öncesi çağlara dayanan geleneksel bir gıda kaynağı olan kemik suyu, direkt olarak tüketilemeyen hayvansal kemiklerin suda uzun süre kaynatılarak ekstrakte edilmesiyle elde edilmektedir. Kemik suyu sığır, manda, hindi, kuzu, dana, bizon, geyik, tavuk ve balık kemiklerinin kaynatılmasıyla yapılabilmektedir. Kemik suyu üretiminde besleyici değerinin daha yüksek olması amacıyla hayvansal kemiklerden ilik içeren uzun kemiklerden olan uyluk kemiği (*os femur*) ve kol kemiği (*os humerus*) tercih edilmektir. Özellikle ilik içeren kemikleri (*os femur*, *os humerus*) suda uzun süre kaynatmak kemiğin yapısında bulunan vitamin, mineral, aminoasit, protein ve diğer eser miktardaki maddelerin kemik suyuna geçişini sağlayarak besleyici değeri yüksek sağlıklı bir gıda üretimi gerçekleştirilmektedir (Kara, 2017). Kemik suyunun bileşim özellikleri üretimde kullanılan hayvanın türü ve kemiğine, içerisine eklenen bileşenlere (sirke, sebzeler), pişirme yöntemi ve süresine göre değişiklikler göstermektedir.

Kemik suyunun standart bir üretimi olmamakla birlikte son yıllarda sağlıklı beslenme fikrinin yaygınlaşması ve paleolitik diyetle birlikte yeniden popülerlik kazanmıştır. Geleneksel olarak üretilen kemik suyunda değerli besinlerin suya geçişini kolaylaştırmak amacıyla sirke kullanılmaktadır. Sirkenin içeriği yapımında kullanılan bileşenlerin kaynağına bağlı olarak değişmekle birlikte aldehitler, fenolik asitler ve flavonoid bileşikleri içermektedir (Nafie et al., 2021). Sirke çeşitleri yemeklerde ve salata soslarında tatlandırıcı olarak salamura ürünlerde ise koruyucu olarak yaygın kullanımı olan bir gıdadır.

Kemik suyu toplumlarda uzun yıllardır cilt ve bağ doku yenileyici, yaraları iyileştirici özelliğiyle bilinmektedir (Aljumaily, 2011). Kemik suyuna bilinen bu faydalarından dolayı halk arasında sıvı altında denilmektedir.

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de nüfusun artışına paralel olarak et tüketimi artmaktadır. TÜİK'in yayınladığı kırmızı et üretim istatistikleri verilerine göre ülkemizdeki kırmızı et üretiminin 2021 yılında %9.3 oranında artarak 1 milyon 952 bin 38 ton olduğu tespit edilmiştir (TÜİK, 2022). Bunun sonucunda mezbahalarda kesimi gerçekleştirilen hayvan sayılarının artışıyla hayvansal yan ürünlerin ve atıkların miktarları da artış göstermektedir. Hayvansal yan ürünlerden sakatatlar insan tüketiminde kullanılabilirken kan, deri, tırnak, boynuz ve kemikler insan tüketiminde kullanılmayan ürünlerdir.

Kan ve kemikler un haline getirilerek hayvan yemlerinde kullanılmaktadır. Ancak özellikle kemikler oransal olarak önemli bir yan ürün olmakla birlikte et endüstrisinde yeterli düzeyde değerlendirilememektedir. Bu yan ürünlerin değerlendirilmesinde farklı alternatif yollar geliştirmek hem ekonomik açıdan hem de atık olan miktarların azaltılmasıyla doğaya katkısı açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı kemik suyu üretiminde farklı pişirme yöntemi ve organik asit kullanımının elde edilen ürünün besin içeriğinde değişikliklere sebep olup olmadığını araştırmaktır. Çalışmada pişirme yöntemi olarak açık kazan ve kapalı kazan yöntemi kullanılmıştır. Açık kazan yönteminde atmosferik basınç altında 4 saat pişirme süresinde kemik suyu üretimi gerçekleştirilmiştir. Kapalı kazan yönteminde ise dik tip laboratuvar buharlı sterilizatör (otoklav) kullanılarak 1 atm basınçta 121°C sıcaklıkta 4 saat pişirme işlemi uygulanmıştır. Organik asitlerden sitrik asit ve laktik asit kullanılmıştır. Elde edilen ürünler üzerinde fizikokimyasal ve kimyasal özellikler açısından incelemeler yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hayvansal Yan Ürünler

Teknolojik gelişmeler sonucu çoğu ölümcül hastalıklara tedavilerin bulunması ve toplu ölümlere neden olan savaşların da azalmasının etkisiyle dünya genelinde insan nüfusunda hızlı bir artış olmaktadır. Bu artışla doğru orantılı olarak toplumların gıdaya olan ihtiyaç ve talebi de artmaktadır. Hayvancılık sektörü artan nüfusun dengeli ve yeterli beslenmesi açısından önemli bir konuma sahiptir. Ayrıca hayvancılık ekonomik boyutu ele alındığında da farklı sektörlerle ham madde kaynağı olması, farklı iş kolları sağlayarak işsizlik oranını düşürmesi yönünden ülke ekonomisine de önemli katkısı olabilecek bir sektördür. Ülkemiz hayvancılığın gelişmesinde etkili olan bütün coğrafi şartları taşımaktadır.

Beslenme profili ülkeden ülkeye farklılık göstermekle birlikte yüksek protein kaynağı olan kırmızı et ülkemiz yemek kültüründe de önemlidir. Hayvansal proteinlerin kişi başı her gün 20 g, yılda ise 7.3 kg tüketilmesi gerekmektedir (Babatunde et al., 2017). Ancak ülkemizde kişi başı üretilen kırmızı et miktarı 13.59 kg olup dünyada üretilen kırmızı et ortalamasının çok altında kalmaktadır (Fidan, 2021). Ülkemiz kırmızı eti koyun, keçi, sığır ve mandadan sağlamaktadır. Dini ve kültürel nedenlerden dolayı ülkemizde domuz eti kırmızı et üretiminde yer almamaktadır.

Mezbalalarda kesimi gerçekleştirilen hayvanlarda insan tüketimine sunulacak olan kısımlar olmakla birlikte endüstriyel ve tarımsal alanlarda kullanılacak yan ürünler de ortaya çıkmaktadır. Elde edilen bu yan ürünlerin veriminin gelişmiş ülkelerde canlı hayvanın ortalama %10-15'ini oluşturduğu rapor edilmiş olsa da yan ürünler hayvanın ortalama üçte ikisini oluşturmaktadır (İrshad and Sharma, 2015).

Kesim sonrası karkasın dışında kalan insan tüketimine uygun kısım karkas olmayan et olarak adlandırılmakla birlikte insan tüketimine uygun olmayan kısım ise et dışı ürünler olarak adlandırılmış olup genel anlamda iki şekilde sınıflandırılmaktadır (Babatunde et al., 2017). Karkas olmayan etler karaciğer, kalp, böbrek, dil gibi hayvanın sakatat olarak adlandırılan kısımlarıdır ve yüksek oranda protein içermektedirler. Ülkemizde Dünya nüfusu düşünüldüğünde karkas olmayan etler yetersiz beslenme ve gıda kaynağı eksiklikleri giderme konusunda iyi bir kaynak olma özelliğindedir.

Et dışı ürünler (kemik, kan, deri, tüy, boynuz, toynak) direkt olarak insan tüketiminde kullanılmayan hayvansal yan ürünler olup farklı işleme yöntemleri kullanılarak insan yararına kullanılabilir hale getirilebilmektedir. Kan ve kemikler hayvan yemi üretiminde yaygın kullanılan yan ürünlerdir. Yem maliyeti yüksek olduğundan maliyeti azaltmak amacıyla hayvan atıklarının yem üretiminde kullanımı kırk yıldan fazla süredir uygulanmaktadır (Bhattacharya and Taylor, 1975; Sapkota et al., 2007).

Asya, Avrupa, Amerika ve Afrika dahil dünya kıtalarında özellikle son 20 yılda et ve et ürünlerine olan talebin artmasıyla hayvancılık sektörü de hızlı bir şekilde artış göstermektedir (Sans and Combris, 2015). Ancak hayvanlarda görülen zoonoz hastalıklar et üretimini ve hayvansal yan ürünlerin değerlendirilmesini kısıtlayabilmektedir. Sığırlarda görülen Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) ya da deli dana adı verilen hayvanların merkezi sinir sistemini bozarak saldırganlık, iştahsızlık, süt veriminde düşme gibi belirtilere sebep olan hastalığın ortaya çıkışı örnek verilebilir. 1988 yılında Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)'nin ortaya çıkışından önce dünya ülkelerinde hayvansal ürünlerin yemlere işlenmesi yaygın bir uygulamaydı. Ancak bu zoonoz hastalığın yayılımını önlemek amacıyla hayvansal yemlere katılan beyin, omurilik ve beyne bağlı sinirlerin yemlerde kullanımı yasaklanarak BSE'nin yayılımı kontrol altına alınmaya çalışılmıştır. Bu durum hayvansal yan ürünlerin değerlendirilmesini kısıtlandırmıştır.

2.2. Kemik

Kemik, kemik iliği ve kemik dokusuyla birlikte bu kısımları saran periosteumdan oluşan, iskelet sistemini oluşturan, iç organları koruyan organizmanın en dayanıklı yapılarıdır (Ratner et al., 2012). Latince tekil olarak “*os*” çoğul olarak “*ossa*” terimiyle ifade edilirler. Kemik rengi genelde sarımtırak beyaz renkte olup damar yoğunluğuna göre sarımtırak pembe renkte de olabilmektedir. Kemikler canlıların organlarının korunması, vücut hareketlerinin gerçekleşmesinde rol almaktadır. Ayrıca kan hücrelerinin üretimini sağlayan kemik iliğinin oluşmasından, farklı özelleşmiş dokuların üretim ve korunmasından da sorumludurlar.

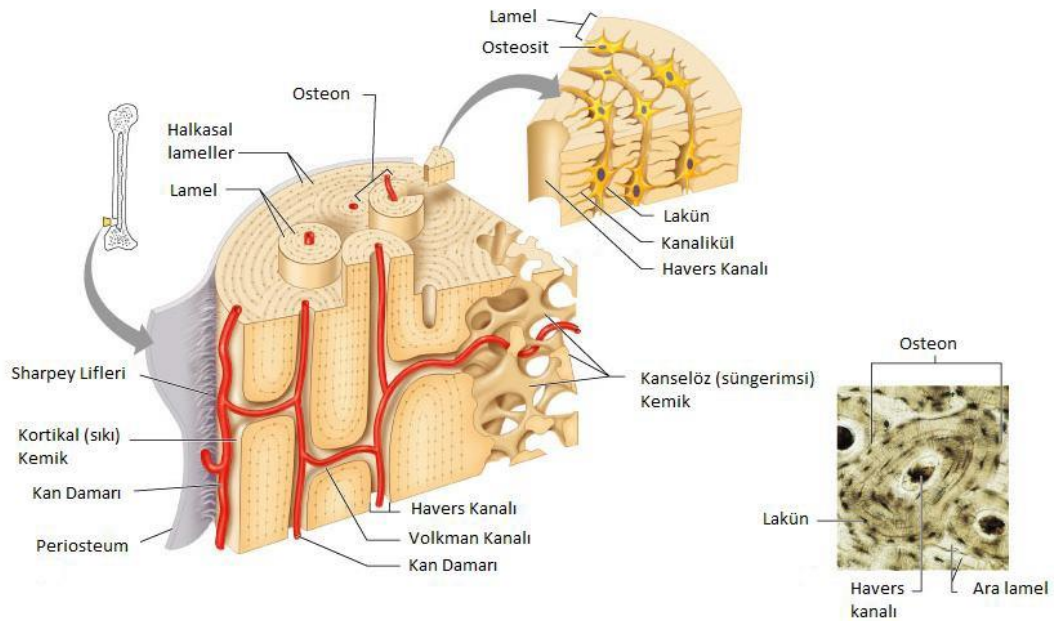
Kemiklerin histolojik olarak yapısı incelendiğinde inorganik ve organik maddeler içerdiği görülmektedir. Taze kemik bileşim olarak ortalama %30 organik madde, %45 inorganik madde ve %25 sudan oluşmaktadır (Kini and Nandeesh, 2012; William, 2009).

Organik maddeler kemiğin kuru ağırlığının %30-35'ini oluşturmaktadır ve bu kısmın %90-95'i suyla kaynatma işlemi uygulanınca jelatine dönüşen Tip I kolajen formundadır (İnsal ve Pişkin, 2017). Tip I kolajen kemiğin yapısında en fazla bulunan proteindir. Kemik dokusunun dışında deride, organ kapsüllerinde, dişlerde, tendo ve ligamentlerde, demet veya ipliklerinde görülmektedir. Yapısı çok sert olmakla birlikte kemiklerin kolay kırılmasını önleyen dokuların içerisinde ağ oluşturmuş olan bu kolajen ipliklerdir (İnceer, 2017). Kolajen olmayan önemli organik maddeler arasında kondroitin sülfat, hiyalüronik asit, keratin sülfat gibi glikozaminoglikanlar, osteopontin, osteonektin gibi glikoproteinler, koloni uyarıcı faktörler, trombosit kaynaklı ve insülin benzeri büyüme faktörleri bulunmaktadır (Buckwalter et al., 2010). İnorganik bileşenler ise kemik kuru ağırlığının %65'ini oluşturmakla birlikte bunun %95'ini hidroksiapatit kristalleri olarak bulunan fosfor ve kalsiyum iyonları oluşturmaktadır (İnsal ve Pişkin, 2017). Kemiğin yapısında bulunan diğer inorganik bileşenler sodyum, magnezyum, florür ve potasyumdur (Bayliss et al., 2012). İnorganik maddeler kemiğe sertlik ve dayanıklılık verir. Kemiğe sertlik sağlayan öncelikli inorganik madde ise kalsiyum fosfattır.

Kemikler morfolojik olarak incelendiğinde toplam iskeletin %80'ini kanselöz (süngerimsi) kemik ve %20'sini kortikal (sıkı) kemik oluşturmaktadır (Tunçay, 2013). Kortikal kemiğin gözenekli olan %10'luk kısmı ise şekillerine göre yassı kemikler (*ossa plana*), uzun kemikler (*ossa longa*) ve kısa kemikler (*ossa brevia*) olarak üç kısma ayrılmaktadır (Kara, 2017; Tunçay, 2013). Kürek kemiği (*scapula*), kalça kemiği (*os coxae*), kafa kemikleri yassı kemiklere, el bilek kemikleri (*ossa carpi*), ayak bilek kemikleri (*ossa tarsi*) kısa kemiklere, kol kemiği (*humerus*), uyluk kemiği (*femur*) uzun kemiklere örnektir (Hazıroğlu vd., 2019). Kanselöz kemikler ise %50-90 gözenekliliğe sahip olup genellikle uzun kemiklerin orta kısmında yer almaktadır (Salgado et al., 2004).

Kemiklerin mikroskobik ortamda yapısı incelendiğinde kemikleri iç ve dış kısımlarından saran periosteum (periost) ve endosteum (endost) adı verilen iki çeşit kemik zarı bulunmaktadır. Kemiğin dış kısmını saran periosteum, kalın bir tabaka olup sinir telleri, lenf ve sinir damarlarından oluşmaktadır (Topaloğlu vd., 2017). Periosteum kemiğin dış yüzeyin saran elastik ve fibröz ince bir zardır. Periosteumun zarar görmesi aynı şekilde kemiğinde zarar görmesi anlamına gelmektedir. Çünkü periosteum yapısı kemiğin büyümesi, beslenmesi ve onarımı için önemlidir.

Endosteum tabakası ise periosteum tabakasına göre daha ince olup kemiğin iç kısmında yer almaktadır. Kemik iliğini kemikten ayıran yapıdır. Kemikteki volkmann kanalları, havers kanalları, süngerimsi kemik iliğinin boşlukları da dahil olmak üzere tüm boşluklar endosteum ile kaplıdır (Topaloğlu vd., 2017). Kemik zarları kemiğin beslenmesi, büyüme, gelişmesi ve kemiklerin yenilenip onarılmasında görevlidirler (Topaloğlu vd., 2017). Havers sistemi kortikal (sıkı) osteonlara verilen isimdir. Bu sistem kortikal (sıkı) kemiğin içi kısmında dallanmış olarak yer alan yaklaşık olarak 400 mm boy ve 200 mm genişliğe sahip silindirik yapıdır (Tunçay, 2013). Havers kanalının etrafı hücreler, lameller ve sert matristen oluşmuş olup diğer kanallarla, periosteumla ve kemik iliğiyle bağlantısı volkmann kanalları ile sağlanmaktadır. Kemiklerin osteoklast olarak adlandırılan kemiğin yeniden şekillenmesinde görevli hücreler ile osteosit ve osteoblast adı verilen destek hücrelerinden oluştuğu görülmektedir (Kini and Nandeesh, 2012). Ayrıca osteoklastlar kemiği yıkıma uğratan, osteoblastlar kemik yapan hücrelerdir. Şekil 2.1.'de kemiğin mikroskobik yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Kemiğin mikroskobik ortamındaki yapısı (Tunçay, 2013)

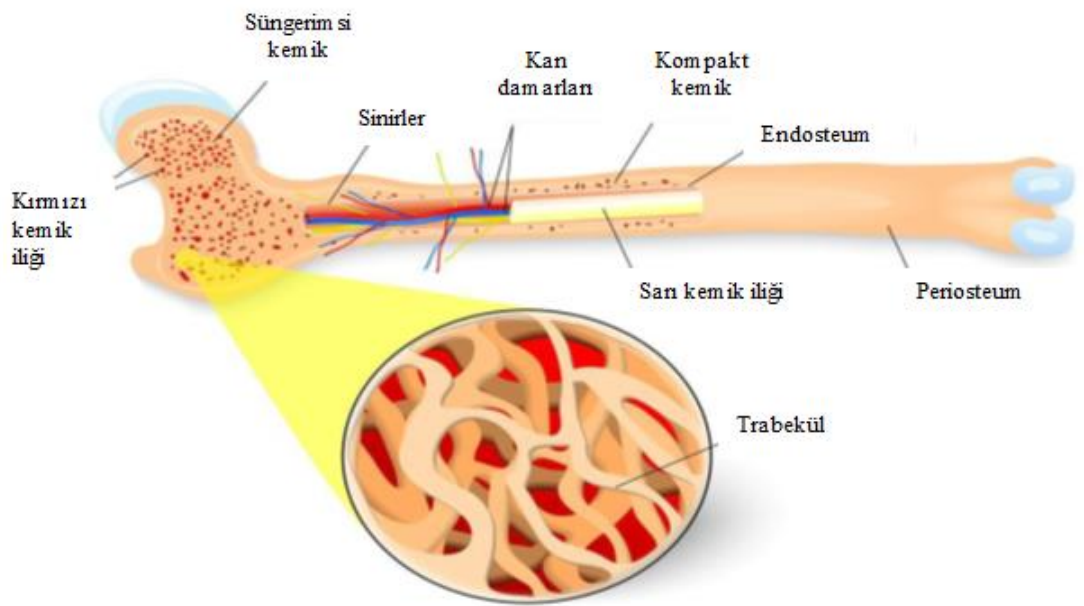
2.2.1. Kemik İliği

Kemik iliği kan damarlarınca zengin yumuşak ve süngerimsi bir yapıdır. Uzun kemiklerin orta kısmında yer alan boşluklarda, omur, göğüs, pelvis, kafatası kemiklerinin süngerimsi (*spongioz*) kısımlarında yer almaktadır (Özkavukcu, 2020).

Kemiklerde gelişme evresi döneminde kırmızı kemik iliği şeklinde bulunurken ilerleyen yaşlarda vücudun yağ dokusunun artmasıyla genellikle sarı kemik iliğine dönüşmektedir. Ancak göğüs kemiği (*sternum*), omur (*vertebra*) ve kalça kemiği (*iliumun*) yapısında ileri yaşlarda bile kırmızı kemik iliği bulunmaktadır (Anonim, 2015). Erginlerin uzun kemiklerinin diafizleri sarı kemik iliği içermektedir. Ağır kanamalı durumlarda sarı kemik iliği kırmızı kemik iliğine dönüşmektedir. Kemik iliği kan hücrelerinin yapımı, eritrositlerin yıkımı ve yıkım sonunda oluşan demir mineralinin depolanmasını sağlamaktadır.

Akyuvarlar, trombositler ve eritrositlerin çoğunluğu kırmızı kemik iliğinde oluşmaktadır. Trombositler kanın pıhtılaşmasında görev almaktadır. Olgun eritrositlerde bulunan hemoglobin vücudun ihtiyacı olan oksijeni karşılamaktadır. Akyuvarlar (beyaz kan hücreleri) ise bağışıklık sisteminin sağlıklı olması konusunda önem teşkil etmektedir.

İlikler olgun, progenitor ve kök hücreler olmak üzere üç farklı hücre yapısını içermektedir. Olgun hücreler olgunlaşmış kan hücresi olup kan dolaşımına katılmaktadırlar. Progenitor hücreler farklı özelliklerdeki hücrelerin oluşmasını sağlamaktadırlar. Kök hücreler ise kendilerini yenileyebilme özelliğine sahiptirler. Kemik iliğinde bulunan hematopoetik kök hücrelerin sayesinde kan hücrelerinin üretimi gerçekleştirilmektedir (Özkavukcu, 2020). Şekil 2.2.'de kemiğin anatomisi gösterilmektedir.



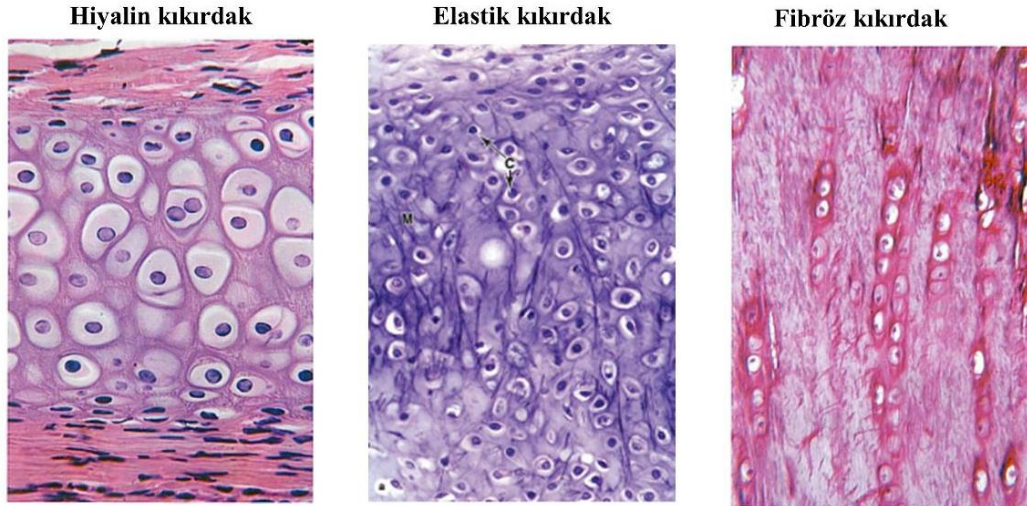
2.2.2. Kıkırdak

Kıkırdaklar kemiklerle birlikte hareket sisteminin pasif unsurları arasında yer alan, gırtlak, soluk borusu, burun gibi organlara desteklik sağlayan, esneme özelliğine sahip, sinir, kan ve damarları içermeyen yarı sert oluşumlardır. Kıkırdak dokusu temel olarak kondrosit hücrelerinden, fibrillerden ve şekilsiz ara maddelerden meydana gelmektedir. Embriyonal dönemdeyken gelişmiş omurgalıların iskelet sistemi kıkırdak dokudan oluşurken ilerleyen dönemlerde yerini kemik doku almaktadır (Onar ve Armutak, 2022).

Kıkırdak dokusunun burun, gırtlak, akciğerler ve kulak kepçesi gibi yumuşak dokulardan oluşan organlara desteklik sağlamak, embriyonal dönemde kemik ve iskeletin gelişimini gerçekleştirmek, büyüme çağında ise kemiklerin büyümesine yardımcı olmak gibi görevleri bulunmaktadır.

2.2.2.1. Kıkırdak Tipleri

Hiyalin, elastik ve fibröz olmak üzere üç tip kıkırdak dokusu bulunmaktadır. Bu kıkırdak türleri kıkırdakta bulunan bağ doku ipliklerinin dizilim, miktar ve türündeki değişimlerden kaynaklı oluşmaktadır. Şekil 2.3.'de kıkırdak tipleri gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Kıkırdak doku ve çeşitleri (Onar ve Armutak, 2022)

Hiyalin kıkırdak canlıların yapısında en fazla bulunan kıkırdak türüdür (Onar ve Armutak, 2022). Görünümü buzlu cam veya mavimsi beyaz renkte olup içeriği genellikle Tip II kolajenden oluşmaktadır.

Bükülme özelliği çok az olan hiyalin kıkırdak, yapısındaki fibrillerden kaynaklı basınca oldukça dirençlidir. Organizmalar embriyonal dönemdeyken iskelet sisteminin tamamı hiyalin kıkırdak şeklindedir. Ayrıca gırtlak ve burun kıkırdakları, kısa ve uzun kemiklerin taslakları, solunum yolları, kostaların uçları hiyalin kıkırdak tipindedir.

Elastik kıkırdak görünüm olarak sarımsı renkte olup yapısı elastin fibrilleri ve Tip II kolajenden oluşmaktadır. Ayrıca hiyalin kıkırdağın içerdiği bileşenler dışında çok sayıda elastik lif içermektedir (Onar ve Armutak, 2022). Kemikleşmeyen elastik kıkırdak bükülebilme özelliğine sahiptir. Memelilerde burun kanatlarında, dış kulakta, işitme kanal duvarında, gırtlak kapağında ve östaki borusunda bulunmaktadır.

Fibröz kıkırdak ise grimsi beyaz renkte olup Tip I kolajenden oluşmaktadır. Basınca oldukça dayanıklı yapıdadır. Organizmaların çene eklemlerinde, tendon ve kemiklerin bağlantı noktalarında, omurlar arası disklerde, diz ekleminde, eklem kıkırdaklarının dışında ve kalça kemiğinin birleşim noktalarında yer almaktadır.

2.2.3. Kolajen

Kolajen, deri ve kemik gibi bağ dokularında bulunan hayvansal proteinin yaklaşık %30'unu bünyesinde bulunduran sarmal, α -heliks yapıda genellikle lifli özellikte suda çözünmeyen ve tripeptit zincirinden oluşan bir proteindir.

Kolajen yapısına göre fibril, mikrofibril, lifli ve lifsiz olarak sınıflandırılan en az 29 farklı kolajen tipine sahiptir (Kuban, 2019). Memelilerde en fazla bulunan proteindir (Ata ve Tavman, 2019; Boran, 2011). Yağsız kuru kas kütlelerinin %1-9'u kolajendir (İlyasoğlu, 2002). Yapısında ondokuz farklı amino asiti içermektedir. En fazla miktarda ise glisin amino asiti bulunmaktadır. Kolajen dokuz esansiyel amino asitten sekizini (histidin, izolösin, lösin, lizin, sistein, fenilalanin, treonin ve valin) bünyesinde barındırmaktadır. Kolajeni diğer proteinlerden ayıran özelliği ise %12 prolin ve %9 oranında hidroksiprolin içermesidir ve bu değerler diğer proteinlerde çok daha az miktarda görülmektedir (Erge ve Zorba, 2016). Yapısındaki hidroksiprolin kolajenin kantitatif tayininde kullanılır ve termal stabilitesini belirlemektedir.

Canlı vücudundaki kolajenin çoğunluğu Tip I, Tip II ve Tip III kolajen grubundan oluşmaktadır. Tip I kolajen %90 oranında vücutta en çok bulunan kolajen tipidir. Kemikte, deride, tendonlarda ve bağ dokularında bulunmaktadır.

Tip II kolajen kıkırdak dokunun temel kolajeni olup kıkırdakta bulunan toplam proteinin yaklaşık %90-95 gibi yüksek bir oranını oluşturmaktadır. Tip III kolajen ise genellikle Tip I kolajenle birlikte bulunmakta ve hücreler arası matrisin temel bileşenini oluşturmaktadır. Yaralarda, kan damarlarında ve belirli tümörlerde bulunmaktadır (Kuban, 2019). Ayrıca Tip III kolajen cildin elastikiyetini ve sıkılığını sağlamaktadır.

Kolajenin ısıl tersinir jel oluşturma özelliği, köpük oluşturma, stabilizasyon, bağlama ve emülsifikasyon gibi fonksiyonel özellikleri bulunması nedeniyle gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Endüstride genellikle sığır ve domuzların yan ürünleri kolajen üretiminde kullanılmaktadır. Ülkemizde dini sebeplerden dolayı domuz yan ürünleri kolajen ekstraksiyonunda kullanılmamaktadır. Genellikle kolajen ekstraksiyonunda deri, kemik, kıkırdak ve tendonlar en sık kullanılan ham maddelerdir (Ata ve Tavman, 2019). Sığırlarda BSE (Bovine spongiform encephalopathy) veya deli dana hastalığı da denilen hastalığın ortaya çıktığı zamanlardan itibaren kolajen üretiminde alternatif kaynaklar aranmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda balık yan ürünlerinden özellikle kolajence zengin olan deri, yüzgeç ve pulları kolajen üretiminde alternatif bir kaynak olarak görülmektedir. Tablo 2.1.'de kolajen ekstraksiyonunda kullanılan ham maddeler verilmiştir.

Tablo 2.1. Kolajen ekstraksiyonunda kullanılan ham maddeler (Ata ve Tavman, 2019)

Kullanılan Materyaller		
Memeli Hayvanlarda	Kümes Hayvanlarında	Balıklarda
Sığır derisi	Tavuk ayağı	Deri
Sığır kemiği	Tavuk kemiği	Hava kesesi
Domuz testisi	Tavuk derisi	Pul
Domuz derisi		Balık kılçığı
Koyun kemikleri		Kıkırdak
		İskelet

2.2.3.1. Kolajen Tipleri

Canlı vücudunda bulunan ve literatürde yer alan en az yirmi farklı kolajen tipi bulunmaktadır (Ata ve Tavman, 2019). Vücutta bulunan kolajenlerin %80-90 gibi önemli kısmı Tip I, Tip II ve Tip III grubuna aittir. Diğer kolajen tipleri ise çok az miktarlarda bulunmakta olup özellikle kalp kası, bağırsak mukozası, bazal membran ve akciğer gibi spesifik organlarda bulunmaktadır (Ata ve Tavman, 2019; Kuban 2019).

Tip I kolajen vücudun yaklaşık %90'ı oranında en fazla bulunan, en dayanıklı olan kolajen tipidir. Özellikle kemiklerde, deride, tendonlarda, ligamentlerde ve bağ dokusunda bulunmaktadır. Tip II kolajen kıkırdak dokusunun başlıca kolajeni olup kıkırdaktaki toplam proteinin %90-95'ini oluşturmaktadır. Etki mekanizması itibariyle eklem hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Ata ve Tavman, 2019; Kuban, 2019). Tip III kolajen çoğunlukla Tip I kolajenle birlikte bulunan, ağ yapılı liflerden oluşan ekstraselüler matrisin ana bileşenidir. Ayrıca kan damarlarında, yara ve belirli tümörlerde bulunmaktadır (Kuban, 2019). Cildin elastikiyetini ve sıkılığını sağlamaktadır. Tablo 2.2.'de farklı kolajen yapılarına ait kolajen tipleri ve dağılımları gösterilmektedir.

Tablo 2.2. Farklı yapıdaki kolajen tipleri (Ata ve Tavman, 2019)

Familiya	Tip	Bulunduğu Yer
Fibril Oluşturan Kolajenler	I	Tendon, ligament, kemik, dermis
	II	Kıkırdak, camsı cisim
	III	Deri, retiküler lif
	V	Akciğer, plasenta, kornea
	XI	Camsı cisim, eklem kıkırdağı
Ağ Oluşturucu Kolajenler	VIII	Endorel hücreleri
	X	Hipertrofik kıkırdak
FACIT Kolajenler	IX	Kıkırdak, kornea, camsı cisim
	XII	Perikondrium, ligament, tendon
	XIV	Dermis, tendon, plasenta, akciğer
	XIX	Rabdomiyosarkom hücresi
	XX	Embriyonik deri, sternal kıkırdak, tendon
	XXI	Kan damarı duvarı
Ankraj Fibrilleri	VII	Oral mukoza, deri
Transmembran Kolajen	XIII	Epidermis, saç folikülü, endomisyum
	XVII	Derman-epidermal eklemler
Bazal Membran Kolajenler	IV	Bazal membran arası disk
Mikrofibriler Kolajen	VI	Deri, kıkırdak, plasenta, omurlar
	XV	Fibroblastlar, düz kas hücreleri
Multipleksin		böbrek
	XVI	Fibroblastlar, amniyon, keratinositler
	XVII	Karaciğer, akciğer

2.2.3.2. Kolajen Kaynakları

Ticari olarak kolajen ekstraksiyonu için genellikle sığır ve domuz gibi memelilerin yan ürünleri kullanılmaktadır. Ülkemizde domuz yan ürünlerinden elde edilen kolajen dini sebeplerden dolayı kolajen üretiminde tercih edilmemektedir. Kolajen ekstraksiyonda en fazla kullanılan ham maddeler hayvanların deri, kemik, tendon ve kıkırdaklarıdır (Ata ve Tavman, 2019).

Memeli hayvanlarda; sığır derisi ve kemiği, kümes hayvanlarında; tavuk ayağı ve kemiği, balıklarda ise balığın derisi ve hava keseleri değerlendirilmektedir. Genellikle sığır yan ürünlerinden üretilen kolajen kullanılsa da sığırlarda görülen şap (tabak) ve BSE (deli dana) hastalığı gibi hastalıklardan dolayı insan sağlığı açısından risk taşıdığından alternatif kolajen kaynağı arayışına girilmiştir. Bu kolajen kaynağı arayışı sadece ülkemizde değil tüm dünyada olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda balıktan kolajen üretiminin bulaşıcı hastalık riski taşımadığı tespit edilmiş olup FDA tarafından güvenli olarak kabul edilmiştir. Balık yan ürünlerinden özellikle deri, pul ve yüzgeç gibi kısımları kolajence zengin olduğunun belirlenmesi sonucu kolajen üretimi için alternatif bir kaynak olarak görülmektedir.

2.2.3.3. Kolajenin Fonksiyonları

Kolajen sahip olduğu özelliklerinden dolayı gıda, kozmetik, fotoğrafçılık, tıbbi malzemeler, sağlık ürünleri ve eczacılık gibi alanlarda geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Fonksiyonel özellikleri nedeniyle gıda katkı maddesi olarak en yaygın kullanıldığı alanlardan birisi gıda endüstrisidir. Gıda endüstrisinde emülsifikasyon, kontrollü şeker kristalizasyonu, ısıl tersinir jel oluşturma özelliği, köpük oluşturma ve stabilizasyon gibi fonksiyonları taşıması nedeniyle çok fazla kullanılmaktadır (Kuban, 2019). Beslenme endüstrisindeki uygulamalarına bakıldığında ise kolesterol, şeker ve yağ içermeyen bir protein kaynağı olduğundan tercih edilmektedir. Ayrıca kolajenin ham madde kaynaklarının fazla olması, biyouyumlu ve yapısının ayarlanabilir olması kolajen proteinin sahip olduğu avantajlardandır (Ata ve Tavman, 2019; Kuban, 2019). Bu özelliklerinin yanı sıra sindirimi iyileştirme, eklem ağrılarını azaltma, kas kütlesini koruma, cilt esnekliğini artırma gibi fonksiyonları da bulunmaktadır. Derinin esnek ve dayanıklı olmasını Tip I ve Tip III kolajen sağlamaktadır (Coşkun, 2013). Cilt yaşlandıkça zamanla esnekliğini kaybeder ve istenmeyen kırışıklıklar ortaya çıkar. Kolajenin cilt ve doku esnekliğini artırma özelliğinin keşfedilmesi sonucu özellikle kozmetik sanayisinde kolajene olan talep artmıştır.

2.2.4. Jelatin

Jelatin, kolajen molekülüne ısı uygulanması sonucu kontrollü koşullarda hidroliziyle yapısında yer alan alfa zincirlerinin parçalanmasıyla oluşan ve molekül ağırlığı 30 kDa'nın üzerinde olanlara denilmektedir (Boran, 2011).

30 kDa'nın altında olan moleküllere ise jelatin hidrolizatı denilmektedir ve bu parçalar tek başına jel oluşturma özelliğine sahip değildirler. Jelatinin %85-92 gibi önemli kısmını kolajen proteini oluşturmakta olup diğer kısımlarını tuzlar, mineraller ve nem oluşturmaktadır (Aykın, 2016; Erge ve Zorba, 2019). Aminoasit dağılımı ise alanin, prolin, glisin ve hidroksiprolinden oluşmaktadır. Jelatinin yapısında yer alan hidroksiprolin ve prolin aminoasitlerinin miktar ve dağılımları jelatinin jelleşme özelliğini belirleyen en önemli unsurlardandır. İçeriğinde hem hidrofobik hem de hidrofilik aminoasitleri içermesi sonucu amfifilik özellik göstermektedir (Aykın, 2016). Bundan dolayı jelatin su-yağ ara yüzeyinde adsorbe olarak polimerik ağ yapısını oluşturmaktadır.

Kolajene uygulanan ısıtma işlemi sonucunda proteinin özellikleri değişmekte ve jelatin oluşmaktadır. Jelatin kolejenin aksine iyi jelleşme özelliğine sahip olmakla birlikte ayrıca suda çözünür özellik gösterir. Bu özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde jelleştirici, kıvam artırıcı, su bağlayıcı, emülsifiye edici, köpük ve film oluşturucu olarak kullanılmaktadır (Erge ve Zorba, 2016). Gıda sanayinin dışında ilaç, kozmetik ve fotoğrafçılık gibi farklı endüstrilerde de kullanımı bulunmaktadır. Ayrıca fonksiyonel gıda maddelerinin mikroenkapsülasyon işleminde kaplama malzemesi olarak ve yenilebilir ambalaj materyalinde kullanılması ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır (Gómez-Guillén et al., 2007).

2.2.4.1. Jelatin Üretimi

Jelatinin hayvansal dokulardan üretilmesi işlemi çok eski tarihlere dayanmaktadır. Jelatinin ilk olarak zamk üretimi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Zamanla jelatin üretimi endüstride kullanılmaya başlanarak günümüzde gıda, ilaç, fotoğrafçılık sanayisi gibi pek çok alanda uygulama alanı bulmuştur.

Jelatin üretimi genel olarak sınırlandırmak gerekirse üç temel aşamada gerçekleştirilir. İlk aşamada kolajen içeren dokuların jelatin üretimine hazırlanması, ikinci aşama jelatin ekstraksiyonu üçüncü ve son aşama ise ekstraksiyon çözeltisinin süzülmesi, buharlaştırılması ve elde edilen kalıntının öğütülerek ambalajlanmasıdır (Boran, 2011). Daha ayrıntılı şekilde jelatin üretimi ise temizleme, ön işlem, ekstraksiyon, filtrasyon, konsantrasyon/evaporasyon, sterilizasyon ve kurutma aşamalarından oluşmaktadır (Erge ve Zorba, 2016). İlk aşama olan temizleme aşamasında deriler suyla yıkandıktan sonra %4-7'lik HCl çözeltisinde belirli bir süre tutulmaktadır.

İkinci aşama olan ön işlemden asidik veya bazik uygulama yöntemi son üründe istenen jelatin kalitesine, hayvanın yaşına, materyale ve materyaldeki çapraz bağ miktarına göre belirlenmektedir (Erge ve Zorba, 2016). Genç hayvanların kolajen kaynaklarına seyreltik asitle muamele uygulanır ve bunun sonucunda A tipi jelatin elde edilmektedir. Yaşlı hayvanların kaynaklarına ise derişik bazik çözeltisi uygulanarak B tipi jelatin elde edilmektedir. Üçüncü aşama olan ekstraksiyon işlemi nötral veya asidik koşullarda gerçekleştirilmektedir. Bu işlemde uygulanan ilk sıcaklık 50°C ile başlamakta olup kademe kademe 100°C'e kadar yükseltilmektedir (Erge ve Zorba, 2016). Ekstraksiyon işleminde uygulanan ilk sıcaklık kolajenin denatürasyon sıcaklığının üzerinde olup kolajende yer alan hidrojen bağlarının kopması sonucu jelatine dönüşüm gerçekleşmektedir. Sonrasında kirlilik unsurlarından arındırılmak amacıyla filtre edilmesinden sonra jelatin ekstraktı evaporasyon işlemi ile belirli bir viskoziteye ulaşmaya kadar konsantre edilmektedir. Son aşamada ise jel halinde ve koyulaştırılmış olan jelatine kurutma işlemi uygulanarak toz veya granül haline getirilmektedir. Elde edilen jelatinin kalitesi çözünürlük, koku, renk ve tat gibi fizikokimyasal özelliklerle reolojik özelliklere bağlıdır. Jelatinin ticari kalitesini ise jel kuvveti ve termal kararlılık en iyi şekilde göstermektedir. Jelatin üretiminde asıl amaç, suda çözünme özelliği olmayan kolajenin hidrolize edilerek daha küçük parçalara ayrılması sağlanarak suda çözünür hale getirilmesi ve iyi bir jelleşme özelliğine sahip jelatinin elde edilmesidir (Boran, 2011).

Dünyada yıllık jelatin üretimi her yıl artış göstermekle birlikte ve 2011 yılı istatistiki verilerine göre toplam üretimin yaklaşık 348.900 ton olduğu bildirilmiştir (Erge ve Zorba, 2016). Jelatine olan talebin artması ve hayvansal kaynakların da sınırlı olması nedeniyle jelatin üretiminde kullanılmak amacıyla farklı ham madde arayışları yoğunluk kazanmıştır. Son yıllarda jelatin üretiminde alternatif kaynak olarak balık ve kanatlı sanayi kaynaklı jelatinler üzerinde durulmaktadır. Jelatin üretiminde en büyük kaynak domuz derisi (%46) olup bunu sığır derisi (%29.4), sığır ve domuz kemiği (%23.1) izlemekte, balık jelatini ise toplam üretimin %1.5'dan az kısmını oluşturmaktadır (Erge ve Zorba, 2016; Aykın ve Erbaş, 2016). Günümüzde morina, mezgit, somon, istavrit, ton balığı, köpekbalığı, levrek ve uskumru gibi farklı balıkların derileri, kemikleri ayrıca yüzgeç, pul ve hava keseciği gibi yan ürünlerinden jelatin üretimi gerçekleştirilmektedir.

2.2.5. Mineral Maddeler

Mineral maddeler doğada yaygın olarak bulunan genellikle gıdalardaki C, H, O ve N gibi elementleri içermeyen diğer elementleri kapsayan inorganik bileşenlerdir. Mineraller sinir sinyallerinin iletilmesi, doku ve kemiklerin gelişimi, oksijenin taşınması, enzimlerin çalışması için gereklidirler.

Kalsiyum ve fosfor minerali başta olmak üzere minerallerin çoğunluğu iskelet ve dişlerin yapı taşlarıdır (Besler vd., 2015). Örneğin kemikteki inorganik maddenin %32.6'sını kalsiyum minerali, %15.2'sini ise fosfor minerali oluşturmaktadır (Kara, 2017). Kemiklerin içerdiği diğer inorganik maddeler ise; potasyum, sodyum, çinko, demir, kobalt, magnezyum, kükürt ve iz miktarda bakırdır. Kemik mineral kaynağı olmakla birlikte kemikte bulunmayan tek makromineral klordur. Özellikle kalsiyum minerali kemik ve dişlerin yapımı, kasların kasılması ve gevşemesi, sinir iletimi, normal kan basıncının sağlanması, kanın pıhtılaşması, hücrelerin bir arada tutulması için gereklidir. Yetişkinler için günlük ihtiyaç 1000 mg, çocuklarda 800 mg, ergenlik çağında 1300 mg, gebe ve emzikli kadınlarda 1300 mg'dır (Samur, 2008). Eksikliğinde çocuklarda raşitizm, yetişkin kadınlarda osteomalazi (kemik yumuşaması) ve yaşlılarda osteoporoz (kemik erimesi) görülmektedir. Fosfor minerali insan vücudunda kalsiyumdan sonra en fazla bulunan kimyasal elementtir (Besler vd., 2015). Kalsiyumla birlikte kemiklerin ve dişlerin oluşumunda görevli olup enzimlerin yapısında bulunurlar ve hücrelerin çalışması için gereklidirler. Vücudun enerji kaynağı olan ATP'nin bir bileşenidir. Fosfor 1-10 yaş arası çocuklar için 800 mg, 11-24 yaş için 1200 mg ve 24 yaş üzeri kişilerde 800 mg'dır (Samur, 2008). Potasyum minerali vücutta Ca ve P'dan sonra en fazla yer alan mineraldir. Potasyum ve sodyum gibi mineraller vücut sıvılarının dengesini sağlamakla görevlidirler. Magnezyumunun görevleri ise kas ve sinir sisteminin düzenli çalışması, kan basıncının düzenlenmesi, kemik ve dişlerin oluşumunugerçekleştirmektir. Günlük alınması gereken miktar yetişkinlerde 320-400 mg'dır (Samur, 2008). Demir minerali, vücutta besin öğelerinden enerji oluşumu için kullanılan oksijenin dokulara taşınması için gereklidir. Ülkemizde diyet beslenmenin tahıllara dayalı olması nedeniyle demir tüketimi kadınlarda 15-18 mg, erkeklerde ise 10 mg olacak şekilde önerilmektedir (Samur, 2008). Genel anlamda mineral maddeler vücudun çalışmasını düzenleyen enzimlerin bileşiminde yer alırlar ve vücudun savunma sisteminde kullanılırlar.

2.3. Organik Asitler

Organik asitlere yapılarında karboksil (COOH) grubu bulunduğundan dolayı karboksilli asitler de denilmektedir. Doğada birçok bitkide ve hayvanda saf olarak bulunmakla birlikte rumen veya kalın bağırsaklarda meydana gelen mikrobiyal fermentasyon sonucu son ürün olarak da ortaya çıkmaktadır (Güven, 2021). Bitkilerin yapısında bulunan organik asitlerin birçoğu serbest halde olduğu gibi tuz formunda veya esterleri şeklinde de bulunabilmektedir. Asidik özellik gösteren organik asitlerin bu özelliği yapılarındaki karboksil (COOH) grubundan kaynaklanmaktadır. Bulundukları ortamda asitliği artırarak antimikrobiyal etki göstermektedirler.

Her organik asitin farklı pH değeri olduğu için koruyuculuk etkileri de farklılıklar göstermektedir. Önemli derecede antimikrobiyal özellik gösteren organik asitler kısa zincirli asetik, propiyonik, formik ve bütirik asitler ile tartarik, malik, laktik ve sitrik asit gibi hidroksil grubunun alfa karbonuna bağlı olan karboksilik asitlerdir (Gül ve Tekce, 2017). En yaygın kullanılan organik asitler Tablo 2.3.'de verilmiştir.

Tablo 2.3. En yaygın kullanılan organik asitler ve bazı fiziko-kimyasal özellikleri (Gül ve Tekce, 2017)

Asit Adı	Kimyasal Adı	Formülü	MA	pH
Formik	Formik asit	HCOOH	46.03	3.75
Asetik	Asetik asit	CH ₃ COOH	60.05	4.76
Propiyonik	2-Propiyonik asit	CH ₃ CH ₂ COOH	74.08	4.88
Bütirik	Bütirik asit	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	88.12	4.82
Laktik	2-Hidroksipropionik asit	CH ₃ CH(OH)COOH	90.08	3.83
Sorbik	2,4-Hekzandionik asit	CH ₃ CH:CHCH:CHCOOH	112.14	4.76
Sitrik	2-Hidroksi-1,2,3-Propanetrikarboksil asit	COOHCH ₂ C(OH)(COOH)CH ₂ COOH	192.14	3.13
Tartarik	2,3-Dihidroksi-Bütanedioik asit	COOHCH(OH)CH(OH)COOH	150.09	2.93
Malik	Hidroksibütanedioik asit	COOHCH ₂ CH(OH)COOH	134.09	3.40

Organik asitler yapılarındaki karboksil grubu sayısına göre monokarboksilli, dikarboksilli ve trikarboksilli asitler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadırlar. Monokarboksilli asitlerin çoğunluğu yağları oluşturdıklarından dolayı yağ asitleri de denilmekte olup doymuş ve doymamış yapıda bulunabilirler.

Doymuş karboksilli asitlere asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit örnek verilebilir. Asetik asite sirke asiti denilmekle birlikte bitki ve meyve sularında bulunmaktadır. Asetik asit fermentasyonu tanım olarak mayaların şekerleri etanole dönüştürmesi sonucu sitrik asit bakterilerinin oksijen bulunan ortamdaki etanolü su ve asetik asite dönüştürmesi olayıdır (Çam ve Yıldırım, 2018). Ayrıca yağ asitlerinden başka bitkilerin yapısında bulunan önemli monokarboksilli asitler formik asit, laktik asit ve pirüvik asittir. Formik, asetik, propiyonik ve bütirik asitler yakıcı tatta olup uçucu özelliktedirler. Laktik asit düşük uçuculuk gösterdiği için uçucu asit olarak değerlendirilmez. Bu asit glikozis aşamasında oksijensiz şartlarda ara ürün olarak oluşmaktadır. Sütte laktik asit fermentasyonunda önemli olup laktik asite süt asiti de denilmektedir. Doymamış monokarboksilli asitler ise doymuş yapıda olan yağ asitlerine göre daha kuvvetlidirler. Yapılarındaki çift bağ sayılarına göre gruplara ayrılmış olup bir çift bağ olanlar palmitoleik asit, oleik asit, vaksenik asit ve erüsik asittir. Oleik asit saf haldeyken kokusuz ve renksiz olup tüm hayvansal ve bitkisel yağların yapısında gliserin esteri formunda bulunmaktadır. Yapısında iki çift bağ bulunan linoleik asit ve üç çift bağ olan linolenik asit, dört çift bağ olan arakidonik asittir.

Dikarboksilli asitler doymuş ve doymamış yapıda olanlar olarak iki gruba ayrılmaktadır. Doymuş dikarboksilli asitlerin yapısında iki tane karboksil grubu bulunmakta ve renksiz görünümde olmaktadır. Monokarboksilli asitlerle karşılaştırıldığında daha kuvvetli yapıda olup suda daha kısa sürede çözünmektedirler. Doymuş dikarboksilli asitler oksalik asit, malonik asit olup oksalik asit en basit yapıdaki dikarbon asitidir. Oksalik asit kalsiyum minerali ile kalsiyum oksalat tuzunu oluşturur ve bu yapı suda ve asetik asitte çözünmemektedir. Kalsiyum oksalat tuzunun böbreklerde birikmesi böbrek taşının öncül maddesini oluşturur. Doymamış dikarboksilli asit ise fumarik asittir. Trikarboksilli asitlerden doymuş yapıda olanlar sitrik asit, α -ketoglutarik asit, oksal asetik asit, malik asit ve tartarik asittir. Sitrik asit en bilinen trikarboksilik asittir. Bitkilerin yapısında yaygın olarak bulunan sitrik asite limon asitide denilmektedir. İzomeri olan izositrik asit meyve sularında güvenilirlik kriteri olarak kullanılmaktadır. Gıda enstüstrisinde kullanımı oldukça fazladır. Organik asitlerin canlı organizmada sentezlenip kullanılması ve metabolize olduktan sonra su ve karbondioksite kadar parçalanmalarından dolayı gıda maddelerine katılarak tüketilmesinde hiçbir risk bulunmamaktadır.

Ayrıca laktik asit, sitrik asit, asetik asit, askorbik asit, sorbik asit ve tuzları doğal gıda kaynaklı olmaları nedeniyle GRAS yani güvenli gıda katkı maddeleri olarak anılmaktadırlar (Öziş, 2014). Farklı pek çok kullanım alanına sahip organik asitler gıda maddelerinde karakteristik tat ve aroma oluşturmak, üretim aşamasında ve son üründe pH değerini kontrol altında tutmak, mikroorganizmaların gelişimini önlemek, ürünlerde meydana gelebilecek esmerleşme ve ransiditeyi önlemek gibi etki mekanizmasına sahiptirler. Laktik asitin gıda ürünlerinde tercih edilme nedenleri; aromayı artırmak, asitliği ayarlamak, antimikrobiyal etki göstermek, ürün rengini muhafaza etmek, ürüne özgü tat ve koku kazandırmaktır (Çelikyurt ve Arıcı, 2008). Gıda sektöründe kullanılan tüm organik asitlerin %60 gibi yüksek bir oranını oluşturan sitrik asitin kullanım amaçları ise emülgatör, asitlendirici, koruyucu ve mevcut aromayı geliştirmektir (Öziş, 2014).

2.4. Kemik Suyu

Kemik suyu, ülkemizde olduğu gibi dünyada da bilinen nesilden nesile aktarılacak günümüze kadar ulaşan lezzetler arasında önemli bir konuma sahiptir. Kemik suyunun dünya genelinde belirli bir üretim standardı olmamakla birlikte direkt olarak tüketilemeyen hayvansal yan ürünlerden olan özellikle ilikli kemiklerin (*os femur*, *os humerus*) açık kazan veya kapalı kazan yöntemi kullanılarak suda uzun süre pişirilerek ekstrakte edilmesi sonucu üretimi gerçekleştirilmektedir. İlik içeren kemikleri (*os femur*, *os humerus*) suda kaynatmak kemikte bulunan protein, aminoasitler, glukozamin, kondroitin sülfat, kolajen, vitaminler, mineraller ve diğer eser maddelerin kemiğin yapısından ayrılarak suya geçmesini sağlamaktadır. Bunun sonucunda kemik ve kemik iliğinin yapısındaki değerli maddelerin kemik suyuna geçmesiyle besleyici değeri yüksek gıda üretimi gerçekleşmektedir.

Kemik suyu toplumlarda uzun yıllardır cilt ve bağ doku yenileyici, yara iyileştirici özelliğiyle bilinmektedir (Aljumaily, 2011). Aljumaily (2011)'in tavşanlar üzerinde gerçekleştirdiği çalışma bu bilgiyi destekler niteliktedir. Ayrıca zengin bir amino asit, mineral ve protein kaynağı olduğu için yıllardır çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde de kullanılmaktadır (Mar-Solís et al.,2021). Kemik suyu yapısındaki kolajen ve jelatinle cildi yaşlanma ve kırışıklıklara karşı korumakta, saç ve tırnakları güçlendirmektedir. İçerdiği glutamin ve jelatin sayesinde bağırsak duvarının korunmasını ve bağışıklık sisteminin güçlenmesini sağlamaktadır.

Jelatin, glukozamin ve kondrotin hem kemiklerin güçlenmesini hem de eklemlerin esnekliği ve sağlığı için önemlidir. Kemik suyundaki glisin rahat uyumayı desteklemektedir. Mineral olarak kalsiyum ve fosforca zengin olan kemik suyu kemik erimesi riskine karşı kullanılması gereken gıdalardandır. Kemik suyu doygunluk hissi vermekle birlikte içerisindeki arjinin aminoasidi ise inflamasyon mekanizmalarını engelleyerek kilo almayı yavaşlatmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmaların bilinen faydalarını destekler nitelikte olması sonucu popülerliği artan kemik suyunun talep ve tüketimi de aynı doğrultuda artmaktadır.

Ülkemizde geleneksel olarak evlerde veya lokanta, restoran gibi işletmelerde üretilen kemik suyuna insanlar tarafından talebin artmasıyla endüstriyel olarak üretimi gerçekleştirilmeye başlanmıştır. Kemiklerin bu şekilde değerlendirilmesi et endüstrisi açısından karlı bir uygulamadır. Kasaplık hayvanların mezbahalarda kesiminden sonra büyükbaş ve küçükbaş hayvanların yaklaşık %65'ini oluşturan hayvansal yan ürünler ortaya çıkmaktadır. Bu yan ürünlerden sakatatlar çeşitli ön işlemlerden geçirildikten sonra insan gıdası olarak tüketilebilirken deri, kan, boynuz, tırnak ve kemikler gıda maddesi olarak tüketilememektedir. Kan ve kemikler çeşitli aşamalardan geçirilerek un haline getirilirler ve hayvan yemi katkısında kullanılırlar. Kemikler oransal olarak önemli bir yan ürün olmakla birlikte et endüstrisinde yeterli düzeyde değerlendirilememektedir. Kemiklerden elde edilen kemik suyu üretimi et endüstrisinin iyi bir alt kolu olabilme özelliğine sahiptir.

2.4.1. Kemik Suyunun Bileşim Özellikleri

Kemiğin yapısı incelendiğinde %45 inorganik maddelerden ve %30 organik maddelerden oluştuğu görülmektedir. Organik maddelerin %90-95'i su ile kaynatılınca jelatine dönüşebilen Tip I kolajen yapısındadır (İnsal ve Pişkin, 2017). Tip I kolajen kemikleri destekler, cilde gerginlik ve elastikiyet verir, dokuları bir arada tutar ve yaraların iyileşmesini sağlar. Kemikteki inorganik maddeler hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunan %32.6 oranında kalsiyum ve %15.2 oranında fosfordur. Ayrıca diğer inorganik maddeler sodyum, potasyum, bakır, kobalt, çinko, demir, magnezyum, kükürt, sitrat, magnezyum ve florür gibi minerallerdir. Kemikte bulunan bu minerallerin belirli bir kısmı kemik suyuna geçmektedir. Kemik suyu özellikle kalsiyum ve fosfor kaynağıdır.

Kalsiyumun insan vücudunun kasılma ve gevşemesi, sinir iletimi, normal kan basıncının sağlanması, kanın pıhtılaşması ve hücrelerin bir arada tutulması gibi yaşamsal önemi bulunmaktadır. Fosfor ise kalsiyumla birlikte kemiklerin ve dişlerin oluşumunda görevli olup hücre içi ve dışı sıvıların dengede tutulmasını sağlamaktadır.

Kemiklerin yüksek sıcaklıklarla kaynatılmasıyla üretilen kemik suyunun yapısında bulunan kolajen ısının etkisiyle denatüre olarak jelatine dönüşmektedir. Oluşan bu jelatinin bağırsak sağlığı ve sindirimini geliştirmek, eklemleri korumak ve eklem ağrılarını azaltmak, uyku kalitesini geliştirmek, cilt sağlığını iyileştirmek, kemikleri güçlendirmek, tokluk hissini sağlamak gibi birçok faydası bulunmaktadır. Kemik suyunda bulunan glutamin ise bağırsak geçirgenliğini iyileştirirken glikozaminoglikan da kronik iltihaplanma, kıkırdak yüzeylerini korumada etkilidir.

USDA besin veri tabanına göre ev yapımı bir fincan tavuk ve sığır kemik suyu 31-86 kalori, 0.2-2.9 g yağ, 4.7-6 g protein ve kalsiyum, demir, sodyum ve potasyum gibi değişen miktarlarda mineraller içerdiği bildirilmiştir (Grieger et al., 2018). Bununla birlikte, kemik suyunun bileşim özellikleri hayvan kaynağı ve kemik/etlerinin türüne, temel besinlerin hayvan dokusundan salınmasına yardımcı olabilecek bileşenlerin eklenmesine (sirke gibi) pişirme süresi ve yöntemine göre ayrıca son ürünle ilişkili herhangi bir işlemin (toz forma getirilmesi gibi) uygulanıp uygulanmamasına göre değişiklikler gösterebilmektedir (Alcock et al., 2018).

Kemik suyu kırmızı et kadar protein içermemekle birlikte içerdiği yapısındaki glisin ve prolin aminoasitlerinden dolayı kırmızı ete alternatif protein kaynağı olmaktadır. Yapısında bulunan glisin diğer aminoasitlerin yapımında önemli rol almaktadır. Prolin amino asiti artan kolajen üretimi yoluyla cilt sağlığı için faydalıdır ve bu nedenle yara iyileşmesi için çok önemlidir (Murakami et al., 2012). Arjininden üretilen nitrik oksit üretiminin korunan bir düzeyinin kardiyovasküler sağlığı iyileştirdiği, kas büyümesini sağladığı ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği bilinmektedir (Shaw and Flynn, 2019). Bu özellikler kandaki homosistein seviyesini düzenleyerek ateroskleroza (damar sertliği) ve kalp krizlerini önlemeye yardımcı olmaktadır (Bednarz et al., 2005). Hidroksilisin, hidroksiprolin ve glisin kolajenin anahtar bileşenlerdir ve kolajen tripeptit molekülünü oluşturmak için diğer kolajen amino asitleriyle etkileşime girdiği bilinmektedir (Shaw and Flynn, 2019). Ayrıca kemik suyunda bulunan proteinler güçlü anti-inflamatuar etki göstermektedir.

Kemik suyunun anti-inflamatuar etkisinin esansiyel amino asitlerden kaynaklandığı söylenebilir (Mar-Solís et al., 2021). Kemik suyu kondrotin, jelatin ve glukosamin içermektedir ve kemik suyunda karbonhidrat bulunmamaktadır.

2.4.2. Kemik Suyu Üretimi ve Yapılan Çalışmalar

Kemik suyunun üretimi çok eski tarihlere dayanmaktadır. Kemik suyu üretiminin Avrupa'da başladığı, Amerika'da geliştiği, Avustralya'da ise önemli derecede üretildiği bilinmektedir. Dünya genelinde üretiminin ise en fazla Asya ülkelerinde özellikle Tayland'da gerçekleştirilerek kemik suyu piyasasında önde geldiği bilinmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucu faydalarının bilimsel olarak kanıtlanmasıyla kemik suyuna talep artmış ve gıda endüstrisinde üretimi yapılmaya başlanmıştır. Kemik suyunun üretimi konusunda belirli bir standart bulunmamakta ve kişiden kişiye üretim şekli değişmektedir. Ev tipi geleneksel olarak kemik suyu üretim işlemi, üretimi yapan kişiye göre değişmekle birlikte genelleme yapmak gerekirse tercihen ilikli kemiklerin besin ve minerallerinin suyu geçişini artırmak amacıyla daha küçük parçalara kesilmesi işlemi ile başlamaktadır. Kesilen kemiklerin kanının arındırılması amacıyla yarım saat veya bir saat soğuk suda bekletme işlemi uygulanmaktadır. Sonrasında pişirme işlemi öncesi kemiklere eklenen su miktarına göre 2-3 çorba kaşığı elma sirkesi veya limon eklenmektedir. Elma sirkesi veya limonun üretim aşamasında eklenmesinin amacı kemiklerde bulunan değerli besinlerin ve mineral maddelerinin daha fazla çözünmesini sağlayarak kemik suyuna geçişini artırmaktır. Lezzetini artırmak amacıyla ise tercihen ilikli kemikler yarım saat fırınlanabilmektedir. Pişirme işlemi yapılacak kaba kemiklerin üstünü geçecek kadar yaklaşık 1 kg kemiğe 1.5 L soğuk su veya 1:2 oranında kemik:su eklenmektedir. Atmosfer basıncı altındaki kaplarda pişirme işlemi uygulanan kemiklerde pişirme süresi 8-24 saat arası değişmektedir. Kemiklerin pişirme işlemi uzun zaman aldığı için bu zamanı daha fazla kısaltmak amacıyla düdüklü tencere kullanımı tercih edilmektedir. Kemik suyu üretimi gerçekleştirildikten sonra buzdolabında 3-4 gün, buzlukta 3 ay saklanabilmektedir.

Kim vd. (2014)'ün yapmış oldukları çalışmada 500 g ağırlığındaki sığır kemiklerine 1500 mL su eklenerek otoklavda 121°C'de 3, 5, 8, 11, 15 saat ekstrakte edilmesi sonucu kemik suyu üretimi gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmada sığır kemik suyunun fiziksel özelliklerinin incelenmesi sonucu 3 saat ve 5 saat sonra ekstrakte edilen numuneler zayıf bir jel oluşturabilirken, daha sonraki zamanlarda ekstrakte edilen numunelerin jel oluşturma kapasitelerini kaybettiği görülmüş, fiziksel özelliklerinden bağımsız olarak ekstraksiyon süresi arttıkça ham protein ve toplam amino asit içeriği artmış, optimum kalsiyum konsantrasyonunun %0.04'ten az olduğu tespit edilmiştir.

Moon vd. (2015) atmosferik basınç ve yüksek basınç altında hazırlanan kemik sularının fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerini karşılaştırmak amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışmada sığır kemikleri atmosferik basınç ve yüksek basınç altında (121°C, 1.25 atm) 1, 2, 4, 6 ve 12 saat boyunca suda (kemik:su=1:2 oranında) kaynatılmıştır. Üretilen kemik sularında gerçekleştirilen analizlere göre yüksek basınçta üretilen kemik suyu örneklerinin belirli bir kaynama süresi boyunca katı, ham protein, ham kül, kolajen ve kondroitin sülfat değerleri atmosfer basıncında üretilen kemik suyu örneklerinin değerlerinden önemli ölçüde daha yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. Ayrıca atmosferik basınçla üretilen kemik suyu örneklerinin Ca ve Mg içerikleri yüksek basınçla üretilen kemik suyu örneklerine göre daha yüksekken P, Na ve K mineral içeriği yüksek basınçla üretilen kemik suyu örneklerinde daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Hsua vd. (2017)'nin yapmış oldukları çalışmada kemik suyunda esansiyel (Ca, Mg, Fe, Zn, Cu ve Cr) ve toksik (Pb, Cd ve Al) metaller açısından analizler yapılmıştır. Bu değerlendirmedeki hayvan kemikleri, yerli domuzların arka bacağı ve kaburga kemikleri ile sığır bacağı kemikleridir. Kemik suyu üretiminde kullanılacak kemikler ilk olarak iki dakika kaynar suda durulanmış ve sonrasında fazla yağ ve et kalıntısı çıkarılmıştır. İşlemden geçirilen kemikler daha sonra tartılarak (295-345 g, ortalama 303 g) 1:4 oranında kemik:deiyonize su eklenerek pişirme işlemine hazırlanmıştır. Pişirme işlemi yapılırken su kaynadıktan sonra belli bir kaynamaya (95-100°C) indirgenmiş ve kemik suyu örneklerinden 0.5, 2, 4, 8 ve 12 saatlerinde örnekler alınmıştır. Yapılan çalışma sonucunda kemik-et suyunda kalsiyum ve magnezyum seviyelerinin genellikle pişirme süresi ile ilişkili olduğu görülmüştür. Ancak kemik suyunda toksik metaller de dahil olmak üzere diğer elementlerin ekstraksiyonu hakkında çok az şey bilinmekte olup ticari kemik suyunda bulunan Pb ve Cd gibi ağır metallerin porsiyon başına birkaç mikrogram aralığında konsantrasyonlara sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anonymous (2001)'in yapmış olduğu kemik suyu üretiminde uyluk kemikleri kullanılmıştır. Uyluk kemikleri 50 mm boyutunda kesilerek kesilen kemiklerin kanının çıkması amacıyla kemik:su oranı 1:1 olacak şekilde 30-40°C sıcaklıktaki suda 0.5-1 saat suda bekletme işlemi uygulanmıştır. Daha sonra kemiklerin pişirme sıcaklığı protein, yağ ve mineral maddelerinin çıkışını artırmak amacıyla kaynama noktasına yükseltilmiştir. Kaynatma işlemiyle sıcaklık 110-120°C'ye çıkartılmış olup pişirme süresi kemiklerin boyutuna ve kullanılan ham maddeye bağılı olarak 5-10 saat arasında değişmektedir. Elde edilen ürüne tuz ilave edilerek emülsifikasyon işlemi uygulanması sonucu kemik suyu üretimi gerçekleştirilmiştir. Pişirme işlemi sonrası kemik parçalarını ve kaba et parçalarını temizlemek amacıyla süzme işlemi yapılmıştır. Filtreleme işlemi uygulandıktan sonra don yağı ayırma işlemi uygulanarak toplam katı madde miktarı %40-70 aralığında ürün elde edilmiştir. Anonymous (2001)'e göre elde edilen kemik suyu içeriğinin %66'sını katı faz oluşturmakta ve bu katı fazın %28'ini protein, %12'sini tuz ve %26'sını ise yağın oluştuğunu ifade etmiştir.

Chimegee ve Dashmaa (2018) sığır kemikleri ve at kemikleri ile içerisine sadece tuz eklenerek kemik suyu üretimi yapılmış olup sonuçlar karşılaştırılmıştır. At kemikleriyle üretilen kemik suyundaki protein ve mineral içerikleri (sırasıyla %1.92 ve %2.3) sığır kemik suyundan daha yüksek olarak belirlenmiştir. Sığır kemik suyundaki kalsiyum, magnezyum ve demir konsantrasyonları (85.3, 46.7 ve 23.3 mg/100 g) at kemik suyuna göre (66.6, 10.0 ve 12.3 mg/100 g) daha yüksek olarak tespit edilmiştir. 100 g konsantre sığır ve at kemiğı sularının toplam esansiyel amino asitleri %38 ve %27.4 olarak tespit edilmiş olup sığır kemik suyunun, at kemik suyuna göre daha fazla esansiyel amino asit içeriğine sahip olduğı belirlenmiştir. Sonuçlar, kemik suyunun mineral ve esansiyel amino asitlerin kaynağı olduğunu ve sağlığa yararlı birçok özelliğinin bulunduğunu göstermektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada kemik suyu üretimi için Samsun'da bulunan yerel kasaplardan ilikli uzun kemiklerden olan sığır uyluk kemiği (*os femur*) ve sığır ön kol kemiği (*os humerus*) materyal olarak seçilmiştir. Üretim aşamasında kullanılan organik asitler gıdada kullanıma uygun saflıkta olup Tekkim marka sitrik asit monohidrat (limon asiti)(%100) ve laktik asit (süt asiti)(%80) tercih edilmiştir. Açık kazan tipi üretim için geleneksel pişirme yöntemi gereçleri kullanılmış olup kapalı kazan tipi üretimde Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarında bulunan Nüve Steamart OT 90 L markalı dik tip laboratuvar buharlı sterilizatörü (otoklav) kullanılmıştır.

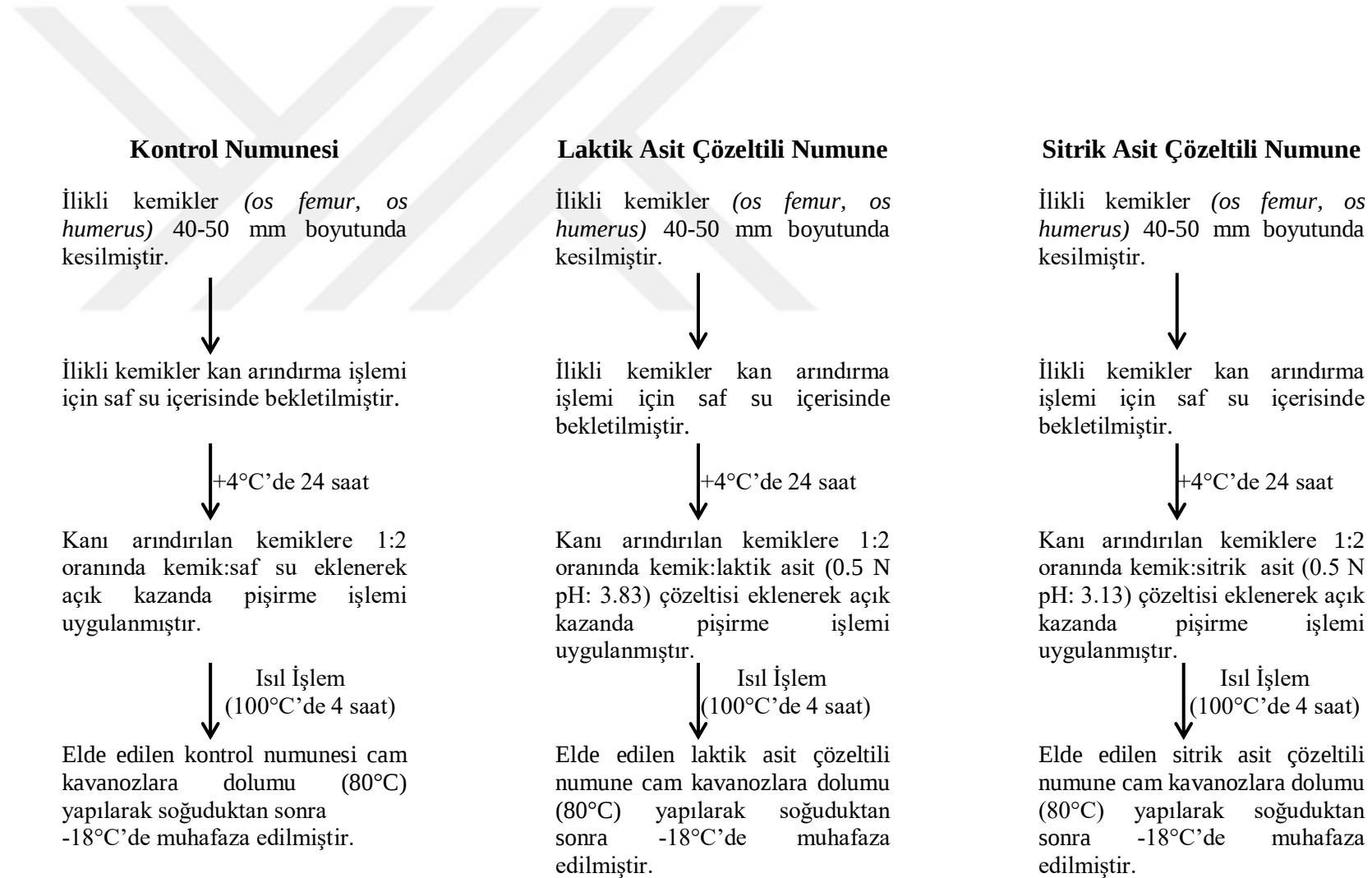
3.2. Yöntem

3.2.1. Kemik Suyu Üretimi

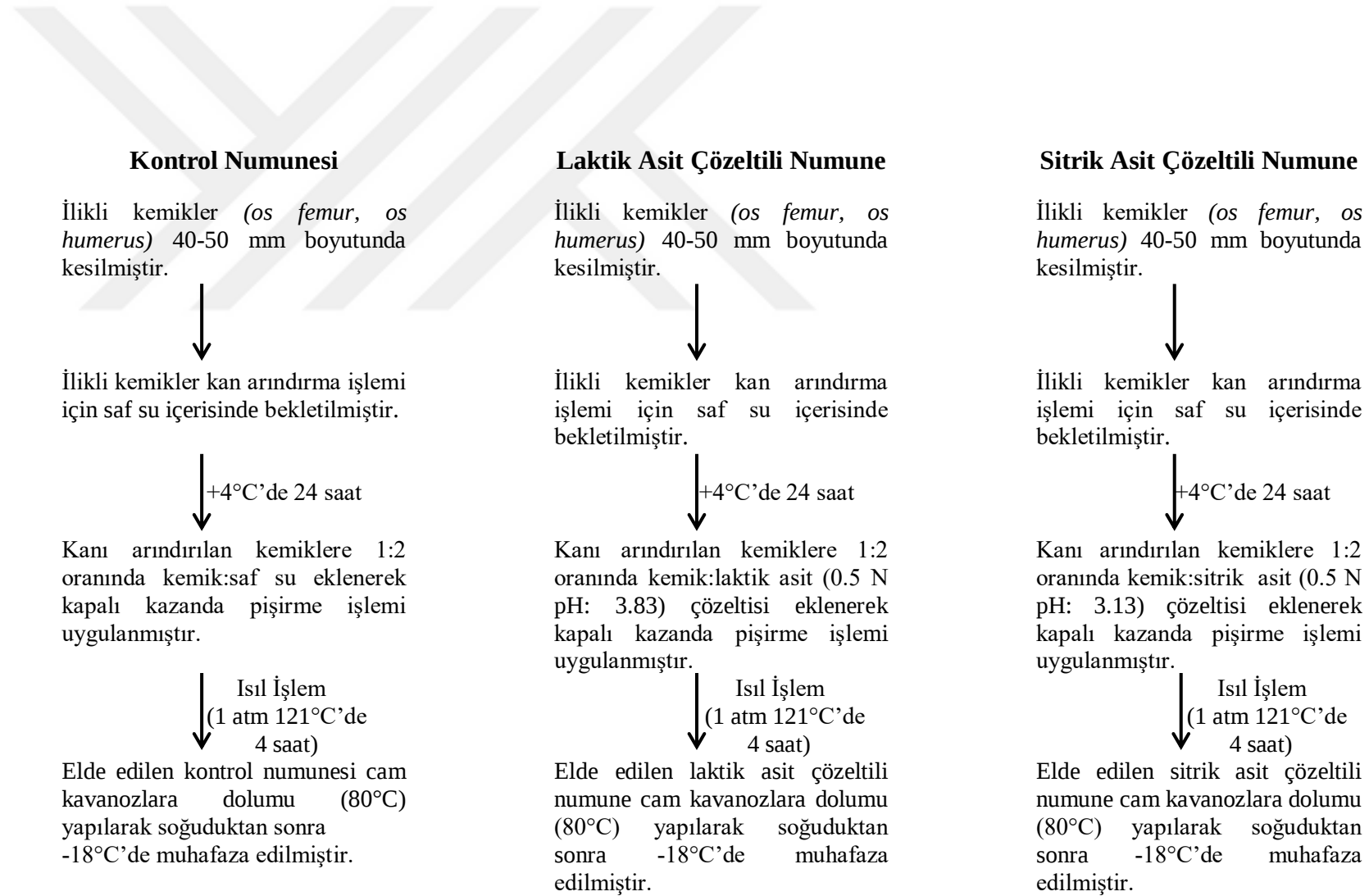
Kemik suyu üretimi, Anonymous (2001) tarafından açıklanan yöntem modifiye edilerek sığır kemikleriyle gerçekleştirilmiştir. Açık kazan ve kapalı kazan yöntemi kullanılarak kemik suları elde edilmiştir. İki farklı üretim yöntemi için 3-4 kg ilikli uzun kemik kullanılmıştır. Kemikler kasapta elektrikli testere ile 40-50 mm boyutunda kestirilmiştir. İlikli kemikler kan arındırma işlemi için saf su içerisinde 24 saat 4°C'de bekletilmiştir. 1:2 oranında kemik:su ilavesi yapılarak asit ilavesiz iki kontrol örneği, laktik asit ilaveli iki örnek ve sitrik asit ilaveli iki örnek olmak üzere toplam 6 örnek üzerinde çalışma yapılmıştır. Öncelikle açık kazan yönteminde kontrol numunesi ile sitrik asit ve laktik asit çözeltileri bulunan üç farklı kemik suyu örnekleri aynı anda ve 4 saat pişirilerek üretimi gerçekleştirilmiştir.

Kontrol numunesinin üretimini gerçekleştirmek için kanı giderilmiş kemikler 1:2 oranında kemik:saf su ilave edilerek 4 saat kaynatılmıştır. Aynı anda 0.5 N sitrik asit çözeltisi (pH 3.13) kemik suyu ile 0.5 N laktik asit çözeltisi (pH 3.83) kemik suyu açık kazanda 1:2 oranında (kemik:asit çözeltisi) 4 saat kaynatma işlemine tabi tutulmuştur. Dört saatlik kaynatma işlemi sonrasında oda sıcaklığında soğutulan örnekler 100 mL'lik cam kavonozlara alınarak -18°C'de muhafaza edilmiştir. Kapalı kazan yönteminde de temin edilen ilikli kemikler, kan giderme işlemi için 24 saat 4°C'de bekletilmiştir.

Sonrasında kontrol numunesi elde etmek için 1.5 L'lik kavonozlarda kontrol numuneleri 1:2 oranında kemik:saf su ilave edilerek Nüve Steamart OT 90 L markalı dik tip laboratuvar buharlı sterilizatöre (otoklav) yerleştirilerek 4 saat kaynatma işlemi uygulanması sonucu üretim gerçekleştirilmiştir. Ayrıca kanı giderilmiş ilikli kemiklerle sitrik asit ve laktik asit çözeltisi kemik suyu numunelerini hazırlamak için 1:2 oranında kemik:asit çözeltisi eklenerek otoklavda 4 saat pişirme işlemi uygulanmış olup organik asitli kemik suyu numuneleri elde edilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen kemik sularının akım şemaları Şekil 3.1. ve Şekil 3.2.'de gösterilmektedir. Bu kemik suyu numunelerinde pH, kuru madde, kül, yağ, protein, mineral madde (Ca, P, Mg, K, Na, Fe) ve amino asit (Asp, Glu, Ser, Gly, His, Arg, Thr, Ala, Pro, Tyr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, Trp, Hyp) analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Açık kazan yöntemiyle kemik suyu numunelerinin hazırlanması



Şekil 3.2. Kapalı kazan yöntemiyle kemik suyu numunelerinin hazırlanması

3.2.2. Kemik Suyu Numunelerine Uygulanan Analizler

Açık kazan ve kapalı kazan yöntemi kullanılarak üretilen kemik suyu numunelerinde gerçekleştirilen analizler Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kemik suyu numunelerinde yapılan analizlerin tablosu

Analizler	Açık Kazan Yöntemi			Kapalı Kazan Yöntemi		
	Kontrol Numunesi	Laktik Asit Çözeltili Numune	Sitrik Asit Çözeltili Numune	Kontrol Numunesi	Laktik Asit Çözeltili Numune	Sitrik Asit Çözeltili Numune
pH	+	+	+	+	+	+
Kuru Madde	+	+	+	+	+	+
Kül	+	+	+	+	+	+
Protein	+	+	+	+	+	+
Yağ	+	+	+	+	+	+
Mineral Madde (Ca, P, Mg, K, Na, Fe)	+	+	+	+	+	+
Amino Asit (Asp, Glu, Ser, Gly, His, Arg, Thr, Ala, Pro, Tyr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, Trp, Hyp)	+	+	+	+	+	+

3.2.2.1. pH

Kemik suyu örneklerinden 10'ar g alınarak pH metre (OHAUS, ST210) ile pH değerleri ölçülmüştür. pH metrede ölçüm işlemi yapılmadan önce 4.00 ve 7.00'lık tampon çözeltileri ile kalibre edilmiştir (Anonim, 2010).

3.2.2.2. Kuru Madde

Oda sıcaklığındaki kemik sularından önceden kurutulup darası alınmış kurutma kaplarına homojen olarak yaklaşık 10 ± 0.2 g örnek alınarak 105°C 'de örnekler sabit ağırlığa ulaşmıncaya kadar kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar oluşan ağırlık farkından yararlanılarak % kuru madde olarak belirlenmiştir (AOAC, 2006).

3.2.2.3. Kül

Önceden kurutulup darası alınmış krozelere yaklaşık 10 ± 0.2 g örnek alınarak kül fırınında kademeli olarak $550-600^{\circ}\text{C}$ 'de açık gri renk oluşuncaya kadar yakma işlemi uygulanmıştır. Ham kül miktarı numunelerde koyu renk lekeler kalmıncaya kadar yakma işleminden kaynaklı ağırlık kaybının % olarak hesaplaması işlemiyle gerçekleştirilmiştir (AOAC, 2002).

3.2.2.4. Protein

Kemik suyu numunelerindeki toplam ham protein oranının belirlenmesinde Kjeldahl metodu kullanılmıştır. Numunelerdeki azot içeriği % olarak belirlendikten sonra elde edilen sonuçlar 6.25 faktörü ile çarpılarak toplam ham protein miktarı % olarak ifade edilmiştir (AOAC, 2005).

3.2.2.5. Yağ

Soxhlet ekstraksiyon cihazı ve çözücü olarak petrol eteri çözgeni kullanılarak örnekteki yağın ekstrakte edilmesi sonucu yağ miktarı % olarak belirlenmiştir (Apriyanto, 1989).

3.2.2.6. Mineral Madde

Kemik suyu numunesindeki kalsiyum (Ca), fosfor (P), magnezyum (Mg), sodyum (Na), potasyum (P) ve demir (Fe) minerali içeriği optik emisyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir (Mar-Solís et al., 2021). Mineral madde miktarı mg/kg örnek olarak saptanmıştır (AOAC, 1988; AOAC, 2005).

3.2.2.7. Amino Asit

Aspartik asit (Asp), glutamik asit (Glu), serin (Ser), glisin (Gly), histidin (His), arjinin (Arg), treonin (Thr), alanin (Ala), prolin (Pro), tirozin (Tyr), valin (Val), metiyonin (Met), izolösin (Ile), lösin (Leu), fenilalanin (Phe), lizin (Lys) amino asitleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi-ultraviyole dedektörü mor (HPLC-UV) tekniği ile triptofan (Trp) amino asiti yüksek performanslı sıvı kromatografisi-floresans dedektörü (HPLC-FLD) yöntemiyle ve hidroksiprolin (Hyp) amino asiti için ise TSE 6236 ISO 3436 yöntemi kullanılarak mg/100g örnek olarak sonuçlar tespit edilmiştir (Damm et al., 2010; Mar-Solís et al., 2021).

3.2.2.8. İstatistiksel Analiz

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen denemeler tam şansa bağlı deneme planına göre iki tekerrürlü olarak kurulmuştur. Elde edilen veriler SPSS Statistics 21 programı aracılığı ile varyans analizine tabi tutulmuş ve farklı çıkan sonuçlar Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

4.1.1. Kemik Suyunun Bileşim Analizleri

Gıda maddesindeki su uzaklaştırıldıktan sonra geriye kalan kuru maddeye toplam kuru madde denilmektedir. Toplam kuru madde denilmesinin nedeni kuru maddenin bir kısmının suda çözünmeyen bir kısmının ise suda çözünen özellikteki maddelerden dolayı iki ögeden oluşmasından kaynaklanmaktadır. Toplam kuru maddede protein, yağ, polisakkaritler, mineral maddeler, vitaminler, şekerler ve organik asitler bulunmaktadır.

Bir gıdanın kül içeriği organik maddelerin yanmasından sonra geriye kalan inorganik kalıntıdır. Organik maddeler yakıldıklarında karbondioksit ve su oluşmakta olup geriye mineralleri içeren inorganik kısım kalmaktadır. Kül, gıdanın ilk anda içerdiği inorganik maddelerin tümünü belirleyememektedir. Çünkü maddelerin birbirleriyle kimyasal reaksiyonları sonucu veya buharlaşmayla inorganik madde miktarında azalmalar olabilmektedir.

Yağ bileşeni gıda maddelerinin ana bileşenlerinden birisidir ve enerji kaynakları, esansiyel yağları içermektedir. Genel olarak yağlar gliserinin yağ asitleriyle birleşmesi sonucu meydana gelmiş organik bileşenlerdir. Yağ bileşeni gıdanın aroma, doku, tat ve görünüm gibi fiziksel özelliklerini belirlemede en önemli besin maddelerinden birisidir.

Gıda maddelerindeki azotun çoğunluğunun proteinlerde bulunması ve oranının sabit olmasından kaynaklı azot miktarının belirlenmesi sonucu gıdalardaki protein miktarı da belirlenmiş olmaktadır. Et suyunda yaygın olarak bulunan proteinler küresel/sferoprotein proteinleridir ve bu proteinler tuzlu-seyreltik asitlerde çözünmektedirler (Pratama et al., 2019). Ayrıca tuz konsantrasyonu, sıcaklık, asit çözücüler ve bazların etkisinde fibriler proteinlere kıyasla daha kolay değişime uğramaktadırlar. Kaynatma işleminin uygulanması gıdadaki protein seviyelerini azaltabilmektedir. Çünkü yüksek sıcaklıklar kullanılarak yapılan işlem protein denatürasyonuna neden olarak pıhtılaşmaya veya çözünürlüğün azalmasına etki etmektedir. Proteinlerin ısınması sonucu enzim aktivitesi kaybı, denatürasyon, çözünürlük ve hidrasyondaki değişiklikler, renk bozulması, amino asit kalıntılarının türetilmesi, peptit bağlarının kırılması ve duyuşsal olarak aktif olan bileşiklerin oluşumu meydana gelebilmektedir.

Bu proteinleri ısıtırken meydana gelen reaksiyonlar protein yapısına zarar verebilir böylece protein seviyeleri düşebilmektedir (Pratama et al., 2019). Ancak protein yapısında ve işlevselliğinde ısı kaynaklı değişikliklerle ilgili mevcut bilgilerin çoğu süt proteinleri üzerine yapılan çalışmalara dayanmaktadır. Et proteinlerinin ısıya maruz kalmasının bu proteinlerin işlevselliğini nasıl etkilediği değerlendirilmiş olup kemikten türetilen protein stokları üzerine gerçekleştirilen çalışmaların seyrek olduğu görülmüştür (Poulsen et al., 2019).

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) ve iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı sonucu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının bileşim özelliklerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Değişik pişirme yöntemleri ve farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen bileşim özelliklerine ait Varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Kuru Madde			Protein		Kül		Yağ	
	SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Piştirme Yöntemi (A)	1	12.93	46.46*	3.57	2294.25*	1.36	99.89*	0.01	0.63*
Asit İlavesi (B)	3	23.97	86.09*	4.69	3009.50*	1.87	137.76*	11.78	421.69*
AxB	3	88.85	319.06*	1.35	869.42*	0.42	31.04*	3.10	110.97*
Hata	6	0.278		0.002		0.014		0.028	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.1.'de görüldüğü üzere pişirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının bileşim özellikleri üzerine etkisinin p<0.05 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

Açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik sularının bileşim özelliklerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının bileşim özelliklerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (%)(Ortalama±SS)

Piştirme Yöntemi	n	Kuru Madde	Protein	Kül	Yağ
Açık Kazan	6	15.23±6.40a	2.45±1.29b	1.22±0.91a	5.51±1.49a
Kapalı Kazan	6	13.16±2.09b	3.54±0.86a	0.55±0.33b	5.58±1.94a

± Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.2.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun kuru madde değeri %15.23 bulunurken kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun kuru madde değeri %13.16 olarak tespit edilmiştir. Açık kazanda üretilen kemik suyunun kuru madde değerinin kapalı kazanda üretilene göre yüksek olmasının nedeni olarak açık kazanda buharlaşmanın daha fazla olması sonucu kuru madde miktarının oransal olarak daha fazla olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca kemik sularının kalitesini etkileyen önemli parametrelerden biri olan kuru madde değerleri incelendiğinde üretim yönteminin değişmesinin kuru madde değerleri arasındaki farklılığa etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu da belirlenmiştir.

Tablo 4.2.'de yer alan protein sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun protein değeri %2.45 bulunurken kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun protein değeri %3.54 olarak tespit edilmiş olup açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının protein değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde sıcaklık farkının daha fazla olduğu kapalı kazan yönteminde protein değerlerinin yüksek çıkması ısıya maruz kalan proteinlerin işlevselliğini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Kim vd. (2014) kaynama süresi arttıkça kemik suyundaki protein içeriğinin kademeli olarak artacağını ifade etmiştir. Yapılan çalışmadaki değerler ile literatürdeki değerler karşılaştırıldığında belirlenen sonuçların kısmen benzerlik ve kısmen de farklılıkları olduğu görülmektedir. Wu ve Tan (2007), yaptıkları çalışmada kapalı kazanda (otoklavda) pişirme yöntemi (121°C 'de 3 saat) ile kaz bacaklarından elde edilen kemik suyu örneklerinin protein miktarını %3.21 olarak belirlemişlerdir. Mar-Solís vd. (2021)'in sığır femur kemiklerini 1:4 oranında kemik:beyaz sirke asitli ortamda 100°C 'de 8 saat pişirme işlemi uygulaması sonucu ürettiği kemik suyunun protein miktarını %2.48 olarak belirlemiştir. Moon vd. (2015), yaptıkları çalışmada sığır kemiklerinin 4 saat pişirilmesi sonucunda açık kazanda üretimi gerçekleştirilen kemik suyu örneklerinde belirledikleri protein miktarı %0.53, kapalı kazan yöntemiyle üretilen kemik suyu örneklerinde protein miktarı %4.37 olarak tespit edilmiştir. Shaw ve Flynn (2019)'un dana, tavuk ve hindi kemiklerinden hazırladığı kemik sularının ortalama protein değeri %2.32 olarak belirlenmiştir. Yoon vd. (2015)'in sığır kemikleriyle elde ettikleri kemik suyunda ham protein miktarı %2.08 olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca Kim vd. (2014)'ün sığır kemikleri (500 g) ve 1500 mL su ekleyerek 3 ile 15 saat arasında otoklavda 121°C'de üretimini gerçekleştirdikleri kemik suyunda ekstraksiyon süresinin artmasıyla ham protein miktarının arttığı belirlenmiştir.

Tablo 4.2.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun kül değeri %1.22 bulunurken kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun kül değeri %0.55 olarak tespit edilmiş olup açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının kül değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Açık kazan yöntemiyle üretimde kapalı kazanla üretime göre kül değerlerinde 2 kat artışın olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın nedeninin kuru madde değerinde olduğu gibi buharlaşmanın açık kazanda daha fazla olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu değerler ile literatürdeki değerler karşılaştırıldığında belirlenen sonuçların kısmen benzerlik ve kısmen de farklılıkları olduğu görülmektedir. Wu ve Tan (2007), yaptıkları çalışmada otoklavda pişirme (121°C'de 3 saat) ile kaz bacaklarından elde edilen kemik suyu örneklerinin kül miktarını depolamanın başlangıcında %0.81 olarak belirlemişlerdir. Yoon vd. (2015)'in sığır kemikleriyle elde ettikleri kemik suyunda kül miktarı %0.02 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.2.'deki yağ değeri sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun yağ değeri %5.51 bulunurken kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun yağ değeri %5.58 olarak tespit edilmiş olup açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının yağ değerleri arasındaki farklılığın önemli ($p<0.05$) olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre kemik suyu üretim yönteminin değişmesinin % yağ değerlerinde herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Bileşim analizleri sonucu belirlenen miktarlar araştırmacıların sonuçlarının bazıları ile benzerlik bazıları ile ise farklılık göstermiştir. Bunun nedeni olarak tür farklılıkları, kemiklerin elde edilişleri, pişirme sıcaklıkları ve kemiklerin üzerinde kalan et kırıntıları gibi etkilere kaynaklandığı düşünülmektedir.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının bileşim özelliklerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının bileşim özelliklerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (%) (Ortalama $\pm$ SS)

Asit Uygulaması	n	Kuru Madde	Protein	Kül	Yağ
Kontrol	4	11.84 $\pm$ 4.46c	2.05 $\pm$ 1.34c	0.09 $\pm$ 0.03b	5.45 $\pm$ 1.09b
Laktik Asit	4	16.72 $\pm$ 6.43a	4.16 $\pm$ 0.55a	1.35 $\pm$ 0.69a	3.88 $\pm$ 0.34c
Sitrik Asit	4	14.02 $\pm$ 1.67b	2.80 $\pm$ 0.01b	1.20 $\pm$ 0.52a	7.31 $\pm$ 0.89a

$\pm$ Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.3.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile sitrik asitli ve laktik asitli kemik suyu numunelerinin kuru madde değerleri sırasıyla %11.84, %14.02 ve %16.72 olarak belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin kuru madde değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Organik asit ilavesinin kemik suyunun kuru madde miktarını artırdığı belirlenmiştir. Organik asit ilavesinin kuru madde miktarında olumlu yönde etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.3.'de protein sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asit ve sitrik asit çözeltili kemik suyu numunelerinin protein değerleri sırasıyla %2.05, %4.16 ve %2.80 olarak belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin protein değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Organik asit ilavesinin kemik suyunun protein miktarını artırdığı belirlenmiştir. Özellikle organik asitlerden laktik asit çözeltisi içeren ilikli kemiklerin protein miktarı kontrol numunesiyle karşılaştırıldığında protein değerinde yaklaşık 2 kat olacak şekilde bir artışın olduğu görülmektedir.

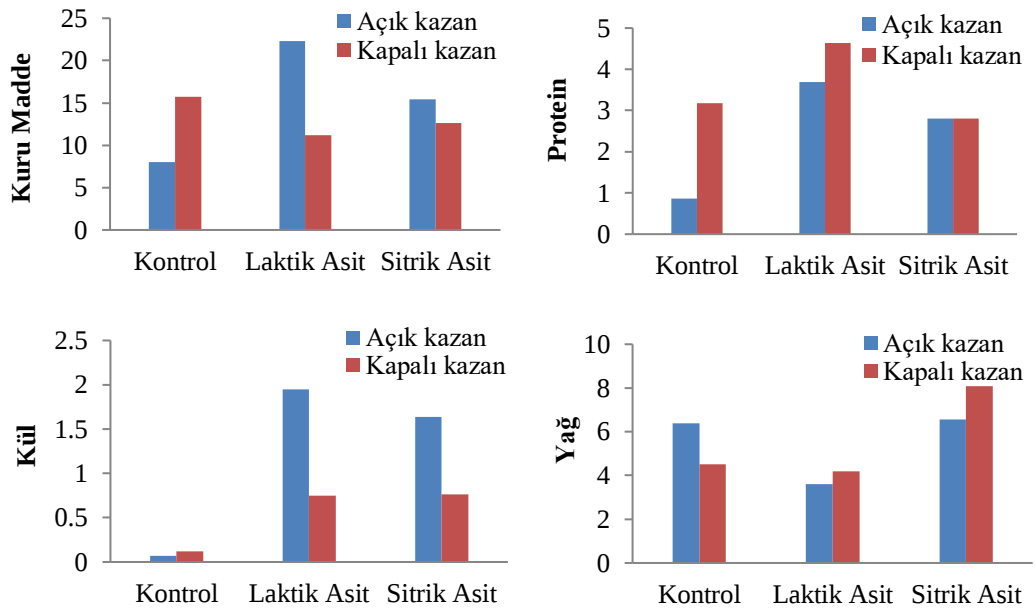
Tablo 4.3.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin kül değerleri sırasıyla %0.09, %1.35 ve %1.20 olarak belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin kül değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Kemik suyu üretiminde iki farklı organik asit kullanımı kendi içerisinde karşılaştırıldığında % kül değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ancak organik asit içeren kemik suları ile asit bulunmayan kemik sularının kül değerleri karşılaştırıldığında yaklaşık 10 kat gibi çok yüksek oranda bir artışın olduğu görülmektedir. Organik asit ilavesinin kemiklerde bulunan inorganik bileşenleri daha fazla çözdüğü ve bu nedenle kemik suyunun kül miktarını artırdığı düşünülmektedir.

Ayrıca yapılan çalışmanın amaçlarından birisi de uygulanan yöntemlerle mineral madde geçişinin artırılmasıdır. Elde edilen sonuçlar bu hipotezi desteklemektedir.

Tablo 4.3.'deki sonuçlara göre organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin yağ değerleri sırasıyla %5.45, %3.88 ve %7.31 olarak belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin yağ değerleri üzerinde önemli ($p<0.05$) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Nafie vd. (2021)'in 35 mL, 52 mL ve 70 mL hurma sirkesi ilave ederek üretimini gerçekleştirdikleri kemik suyu numunelerinde 52 mL ve 70 mL hurma sirkesi ilavesinin yağ içeriğini artırdığını tespit etmişlerdir. Et suyundaki yağın artış nedeni olarak ise bağlayıcının karbonhidrat bazlı hurma sirkesinin kullanılmasından ve kaynatma işlemi sırasında kemik suyundaki yağ içeriğinin zarar görmemesinden kaynaklı olduğunu ifade etmişlerdir.

Tüm bu sonuçlara göre bileşen analizleri arasındaki farklılıkların kemik suyu üretiminde kullanılan yöntem ve organik asit ilavesine dayandığı söylenebilmektedir. Ayrıca çalışmada belirlenen değerler araştırmacıların çalışmalarında elde ettikleri sonuçlardan genel olarak yüksek tespit edilmiştir. Bu çalışmanın amaçlarından birisi de uygulanan işlemler ile kemiklerden kemik suyuna daha fazla bileşenlerin geçişinin artırılmasıdır. Bulunan sonuçlar bu hipotezi de destekler niteliktedir.

Kemik suyu numunelerinin bileşim özellikleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyon grafiği Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kemik sularının bileşim özellikleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyonun etkisi

Şekil 4.1. incelendiğinde kuru madde miktarı açık kazan yöntemiyle üretilen laktik asit çözeltili kemik suyu numunesinde diğer yöntem ve uygulamalara göre en fazla olarak tespit edilmiştir. Protein miktarı ise kapalı kazan yöntemiyle üretilen laktik asitli numunede daha fazla tespit edilmiştir. Kül miktarı açık kazan yöntemiyle üretilen laktik asitli numune daha fazla olarak belirlenmiştir. Yağ interaksiyon grafiğine bakıldığında ise kapalı kazan yöntemiyle üretilen sitrik asitli numunenin daha fazla olduğu tespiti yapılmıştır. Bu sonuçlara göre kemik suyunun bileşim değerleri kullanılan yöntem ve organik asit ilaveli olup olmamasına göre birbirinden farklılık göstermekle birlikte tüm bileşinlerin aynı anda en fazla olduğu yöntem ve uygulama olmadığı görülmüştür.

4.1.2. İşlem Öncesi ve Sonrası pH

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) kullanılarak iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımıyla üretimi gerçekleştirilen kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait Varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	İşlem Öncesi pH		İşlem Sonrası pH	
		KO	F	KO	F
Piştirme Yöntemi (A)	1	0.007	1.790*	0.291	195.360*
Asit İlavesi (B)	3	32.400	8291.650*	39.378	26398.676*
AxB	3	0.017	4.280*	0.094	63.223*
Hata	6	0.004		0.001	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.4.'de görüldüğü üzere pişirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının işlem öncesi ve sonrası pH değerleri üzerine etkisinin p<0.05 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

Açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.5. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (Ortalama±SS)

Pişirme Yöntemi	n	İşlem Öncesi pH	İşlem Sonrası pH
Açık Kazan	6	3.82±2.60a	4.21±2.67b
Kapalı Kazan	6	3.77±2.48b	4.52±2.94a

± Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.5.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun işlem öncesi pH değeri 3.82 bulunurken kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun işlem öncesi pH değeri 3.77 olarak tespit edilmiş olup işlem sonrası pH değeri 4.21 bulunurken kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun işlem sonrası pH değeri 4.52 olarak tespit edilmiştir. Açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının işlem öncesi pH değerleri arasındaki farklılık önemli (p<0.05) bulunmuştur. Ayrıca işlem sonrası pH değerleri arasındaki farklılığında önemli (p<0.05) olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada pH değerlerinin düşük olma nedeninin, üretim aşamasında kemik sularına eklenen asidik ürünlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Forrest vd. (1975) işlem sırasındaki uygulamaların pH değerini değiştirebileceğini belirtmişlerdir. Ulusal Standardizasyon Ajansı'na göre kemik-et suyunun normal pH'sının 4.6-6.5 arasında olduğu bildirilmiştir (Nafie et al., 2021). Wu ve Tan (2007), yaptıkları çalışmada otoklavda pişirme (121°C'de 3 saat) ile kaz bacaklarından elde edilen kemik suyu örneklerinin pH değerini depolama işlemi yapılmadan önce 7.59 olarak belirlemişlerdir. Kara, (2017)'nin yapmış olduğu bir çalışmada ise üretimini gerçekleştirdikleri kemik suyu tozlarının nötre yakın pH (6.64-6.83) değerlerinde olduğu belirlenmiştir.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (Ortalama $\pm$ SS)

Asit Uygulaması	n	İşlem Öncesi pH	İşlem Sonrası pH
Kontrol	4	7.08 $\pm$ 0.14a	7.98 $\pm$ 0.38a
Laktik Asit	4	2.15 $\pm$ 0.01b	2.60 $\pm$ 0.11b
Sitrik Asit	4	2.16 $\pm$ 0.03b	2.50 $\pm$ 0.06c

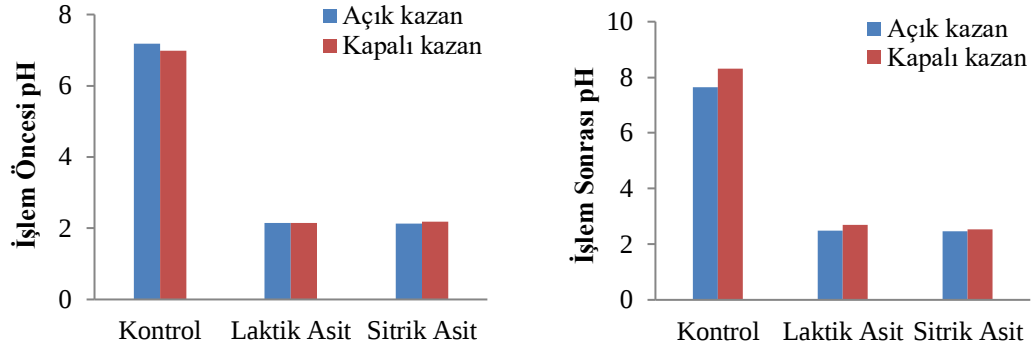
$\pm$ Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.6.'daki test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin işlem öncesi pH değerleri sırasıyla 7.08, 2.15 ve 2.16 olarak, işlem sonrası pH değerleri sırasıyla 7.98, 2.60 ve 2.50 olarak belirlenmiştir. Farklı asit ilavelerinin işlem öncesi ve sonrası pH değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Ancak organik asit ilaveli kemik sularının işlem öncesi pH değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark tespit edilmemişken işlem sonrası pH değerleri arasındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir.

Hsua vd. (2017) yapmış oldukları çalışmada domuz bacak kemiklerine 20 mL sofrasirkesi ve 1 L deiyonize su ekleyerek 8-8.5 saat kaynatma işlemi uygulamışlardır. Elde edilen kemik suyunun pH değerleri işlem boyunca 5-6 pH seviyelerinde tespit edilmiştir. Sirke ekleme seviyesi ne kadar yüksek olursa kemik suyunun pH'sı o kadar düşük olmaktadır (Nafie et al., 2021). Eklenen sirkenin pH değerlerine göre de elde edilen kemik suyu numunelerinin pH'larında değişiklikler olabilmektedir. pH değeri işlenen ürünün renginin, dokusunun ve aromasının duyu kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir (Ket et al., 2009).

Çalışmadaki sonuçlara göre organik asit ilavesinin kemik suyunun pH değerini düşürdüğü asitlilik derecesini artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca Tablo 4.5. ve Tablo 4.6.'daki sonuçlar incelendiğinde işlem sonrası pH değerinin her iki tabloda da arttığı görülmektedir. Bunun nedeninin ise ısı işlem sonucu parçalanmış proteinlerden bazı karakterli ürünlerin oluşmasıyla pH değerini artırdığı düşünülmektedir.

Kemik suyu numunelerinin numunelerinin işlem öncesi ve sonrası pH değeri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyon grafiği Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Kemik sularının işlem öncesi ve sonrası pH değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının etkisi

Şekil 4.2.'deki interaksiyon grafiklerinde görüldüğü üzere organik asit ilavesiz kontrol numunelerinde belirlenen pH değerleri işlem öncesi nötre yakın değerlerde tespit edilmiş olup işlem sonrası pH değerleri artarak kemik suları bazik karakter göstermektedir. Organik asit ilaveli örneklerin pH değerleri ise işlem öncesi ve sonrasında pH 2-3 aralığında belirlenmiştir.

4.1.3. Mineral Maddeler

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) kullanılarak iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımıyla üretimi gerçekleştirilen kemik sularının mineral madde değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen mineral madde değerlerine ait Varyans analiz sonuçları

Mineraller	Değişim Kaynakları	Varyasyon Kaynakları			
		Pişirme Yöntemi(A)	Asit İlavesi(B)	AxB	Hata
Mg	SD	1	3	3	6
	KO	208.66	82845.23	1322.07	1.19
	F	175.67*	69747.76*	1113.06*	
Ca	SD	1	3	3	6
	KO	9784275.91	21851226.80	2627777.30	24.06
	F	406668.13*	908212.08*	109219.45*	
P	SD	1	3	3	6
	KO	15856203.00	21230802.25	4334392.75	230.00
	F	68940.01*	92307.84*	18845.79*	
K	SD	1	3	3	6
	KO	5971.49	13660.18	11693.35	1.39
	F	4281.38*	9793.94*	8383.78*	
Na	SD	1	3	3	6
	KO	170.93	37125.99	682.85	0.47
	F	362.24*	78677.60*	1447.10*	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.7.'de görüldüğü üzere pişirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının mineral madde değerleri üzerine etkisinin $p<0.05$ seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) üretimi gerçekleştirilen kemik sularının mineral madde değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının magnezyum değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/kg)(Ortalama $\pm$ SS)

Pişirme Yöntemi	n	Magnezyum $\pm$ SS	Kalsiyum $\pm$ SS	Fosfor $\pm$ SS	Potasyum $\pm$ SS	Sodyum $\pm$ SS
Açık Kazan	6	170.7 $\pm$ 130.5a	3589 $\pm$ 2815a	4045 $\pm$ 2940a	132.2 $\pm$ 99.6a	331.2 $\pm$ 96.9a
Kapalı Kazan	6	162.3 $\pm$ 128.9b	1784 $\pm$ 1366b	1746 $\pm$ 1256b	87.5 $\pm$ 14.3b	323.6 $\pm$ 75.6b

$\pm$ Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Tablo 4.8.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun mineral değerleri mg/kg olarak, magnezyum 170.7, kalsiyum 3589, fosfor 4045, potasyum 132.2, sodyum 331.2 bulunurken, kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun mg/kg olarak magnezyum değeri 162.3, kalsiyum 1784, fosfor 1746, potasyum 87.5, sodyum 323.6 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca demir minerali için de analiz yapılmış olup 2.5 mg/kg sınır değerinin altında kaldığı için sonucu belirlenememiştir. Açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının mineral madde değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Açık kazanda üretilen kemik suyunun toplam mineral madde miktarı 8268.1 mg/kg ve kapalı kazanda üretilen kemik suyunun toplam mineral madde değeri 4103.4 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre açık kazanda üretilen kemik sularının toplam mineral değerlerinin kapalı kazanda üretilen kemik sularının toplam mineral değerlerine göre yaklaşık 2 kat olacak şekilde daha fazla mineral madde içerdiği tespit edilmiştir. Minerallerden özellikle fosfor mineralinde yaklaşık 2.5 kat, kalsiyum mineralinde yaklaşık 2 kat ve potasyum mineralinde ise yaklaşık 1.5 kat bir artışın olduğu görülmektedir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde de sonuçların bir kısmı benzerlik ve bir kısmı ise farklılıklar göstermektedir.

Chimegee ve Dashmaa (2018)'in sığır kemikleri ile ürettikleri kemik suyundaki kalsiyum, magnezyum ve demir minerallerinin konsantrasyon değerleri sırasıyla 85.3, 46.7 ve 23.3 mg/100 g olarak tespit etmişlerdir.

Moon vd. (2015)'in yapmış oldukları çalışmada dana kemikleri (kemik:su=1:2, w/w) atmosferik basınç ve yüksek basınç (121°C, 1.25 atm) altında 1, 2, 4, 6 ve 12 saat pişirme işlemi uygulanarak kemik suyu örnekleri hazırlanmıştır. Atmosferik basınçta elde edilen kemik suyu numunelerinin Ca ve Mg içerikleri yüksek basınçta üretilen kemik suyu numunelerine göre daha yüksekken P, Na ve K içerikleri yüksek basınçta üretilen kemik sularında daha yüksek olarak belirlenmiştir. P içeriği 4 saat pişirme işleminde en yüksek olacak şekilde belirlenmiş olup 4 saatten sonra önemli ölçüde azalma görülmüştür. Na ve K miktarları ısıtma süresi arttıkça artmıştır. Kalsiyum miktarı pişirme süreleri eşit olan örneklerde atmosferik basınçla üretilen kemik sularında daha fazla olarak tespit edilmiştir. Mg içeriğinin ise genellikle düşük olduğu ısıtma süresinin değişmesinin bile miktarını önemli ölçüde değiştiremediği görülmüştür.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının mineral madde değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.9.'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının magnezyum değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/kg)(Ortalama±SS)

Asit Uygulaması	n	Mg	Ca	P	K	Na
Kontrol	4	4.3±1.5c	77.2±6.5c	275.5±25.5c	65.9±4.5c	230.7±12.9c
Laktik Asit	4	279±12a	4587.5±1826.7a	3806.2±2272.8b	176.2±97.5a	423.4±14.4a
Sitrik Asit	4	216±28b	3396.2±1294.7b	4604.7±1734.6a	87.5±15.7b	328.1±11.6b

± Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

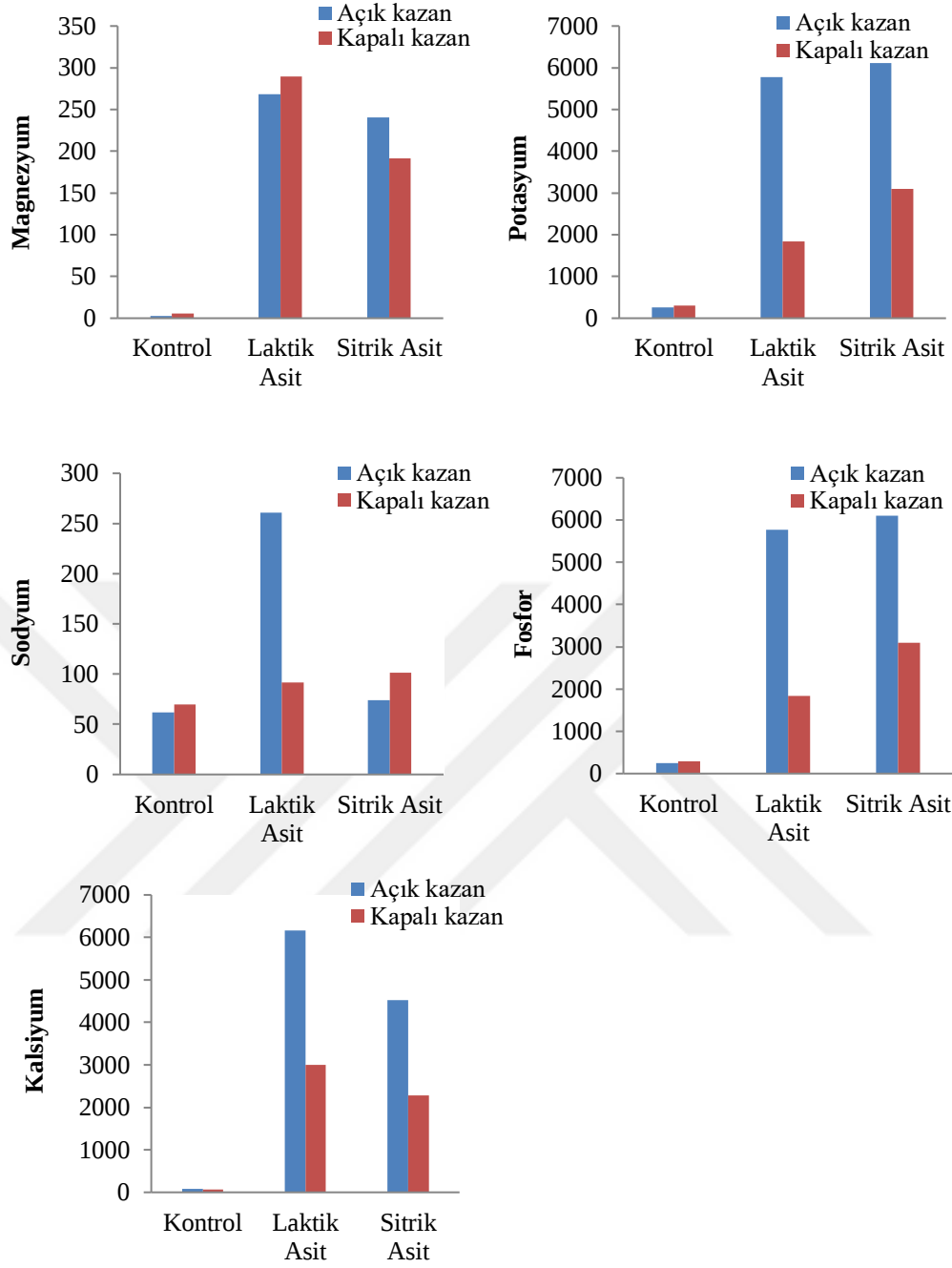
Tablo 4.9.'da Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin mineral madde değerleri mg/kg olarak sırasıyla magnezyum 4.3, 279 ve 216, kalsiyum 77.2, 4587.5 ve 3396.2, fosfor 275.5, 3806.2 ve 4604.7, potasyum 65.9, 176.2 ve 87.5, sodyum 230.7, 423.4 ve 328.1 olarak belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin mineral madde değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

Demir minerali sınır değeri olan 2.5 mg/kg'ın altında kaldığı için belirlenememiştir. Asit uygulaması sonucu toplam mineral değerleri kontrol numunesinde 653.6 mg/kg, laktik asit çözeltili numunede 9272.3 ve sitrik asit çözeltili numunede ise 8632.5 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğine organik asit uygulamasının mineral madde miktarını yaklaşık 13.5 kat artırdığı belirgin olarak görülmektedir. Buna göre organik asitin kemikte bulunan mineralleri daha fazla çözerek ekstrakta geçen miktarını artırdığını söylemek mümkündür. Asit ilavesiz kontrol numunesinde en fazla belirlenen mineral maddesi fosforken ikinci sırada sodyum minerali gelmektedir. Laktik asit çözeltili numunede en fazla belirlenen mineral kalsiyumken ikinci sırada fosfor minerali yer almaktadır. Sitrik asit çözeltili numunede mineral madde sıralaması ise laktik asit çözeltili numunenin tam tersidir ve en yüksek değer fosfor mineraliyken ikinci sırada kalsiyum minerali gelmektedir. Mineral madde sonuçları tek tek incelendiğinde asit ilavesiz numuneye göre asit ilaveli örneklerde çok yüksek oranlarda mineral değerlerinde artış olanlar görülmüştür. Özellikle magnezyum, kalsiyum ve fosfor mineralindeki artışlar çok fazladır. Magnezyum, kalsiyum ve fosfor minerallerinin kontrol numunelerine göre sitrik asit çözeltili numunelerdeki yaklaşık artış oranları sırasıyla 50, 43.5 ve 6.5 katken, laktik asit çözeltili numunelerdeki artış oranları sırasıyla 65,5 ve 13.5 kat olarak tespit edilmiştir.

Mar-Solís vd. (2021)'in sığır uyluk kemiklerini 100°C'de 8 saat pişirme işlemi uygulayarak ürettiği beyaz sirke asitli kemik suyunun 100 mL'deki toplam mineral miktarı 25.01 mg olarak belirlenmiştir. Na, Ca, P, K ve Mg minerallerinin değeri her 100 mL kemik suyu için 1 mg'dan büyük miktarlarda bulunmuştur. Yapılan çalışmada Na mineralinin değeri 12.58 mg/100 mL ile kemik suyunda en fazla tespit edilen mineral olmakla birlikte Ca minerali 6.41 mg/100 mL olarak ikinci sırada en fazla belirlenen mineral olmuştur.

Hsu vd. (2017)'nin yaptıkları çalışmada ise kemik suyuna asit ilavesinin Fe ve Zn metalleri hariç diğer metallerin miktarını artırdığı belirlenmiştir. Özellikle kalsiyum ve magnezyum için istatistiksel değer farklılıkları anlamlı olarak belirlenmiştir. En yüksek artışın kalsiyum için 2. saatte alınan numunede belirlendiği tespit edilmiş olup magnezyum için zamanla artan bir eğilim olduğu tespit edilmiştir.

Kemik suyu numunelerinin mineral madde değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyon grafikleri Şekil 4.3.'de verilmiştir



Şekil 4.3. Kemik sularının mineral madde değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının etkisi

Şekil 4.3. incelendiğinde magnezyum minerali kapalı kazanda laktik asit çözeltili numunede, potasyum minerali açık kazanda sitrik asit çözeltili numunede, sodyum minerali açık kazanda laktik asit çözeltili numunede, fosfor minerali açık kazanda sitrik asit çözeltili numunede, kalsiyum minerali ise açık kazanda laktik asit çözeltili numunede en fazla olarak belirlenmiştir. Şekil 4.3.'e göre genelleme yapılacak olursa açık kazan yöntemi ve organik asit kullanımının mineral madde geçişini artırdığını söylemek mümkündür.

4.1.4. Amino Asitler

Proteinlerin yapı taşı olan amino asitler karbon (C) atomu, amino (NH₂) grubu, karboksil (COOH) grubu ve bir radikal (R) grubundan oluşmaktadır. Proteinlerin yapısına katılan standart amino asitler olarak bilinen 20 çeşit amino asit bulunmakla birlikte bu amino asitlerin R grubunun farklı olması farklı amino asitleri oluşturmaktadır. Standart amino asitler; glisin, alanin, valin, lösin, izolösin, prolin, fenilalanin, tirozin, triptofan, serin, treonin, sistein, metiyonin, asparajin, glutamin, aspartat, glutamat, lizin, arjinin ve histidindir.

Standart amino asitlerin R grupları dikkate alınarak farklı birçok sınıflandırma şekilleri bulunmaktadır. Ancak bu sınıflandırma yöntemlerinden en yaygın kullanılanı ve kimyasal açıdan da en kapsamlı olanı değişken grubun yani R grubunun özellikle polarite veya biyolojik pH'da suyla etkileşme eğilimleri esas alınarak gerçekleştirilen sınıflandırmadır (Gökalp vd., 2002). Bu sınıflandırmaya göre standart amino asitler nonpolar (hidrofobik), nötral ve polar, negatif yüklü (asidik) ve pozitif yüklü (bazik) R gruplarına sahip amino asitler olarak 4 grupta sınıflandırılmışlardır (Gökalp vd., 2002).

4.1.4.1. Nonpolar (Hidrofobik) R Gruplu Amino Asitler

Nonpolar R gruplu amino asitlerden valin, alanin, lösin, izolösin ve prolin alifatik yapıda R grupları, triptofan ve fenilalanin aromatik yapıda R grupları, metiyonin ise kükürt bulunduran R grubu içermektedir.

Nonpolar gruplu amino asitler polar gruplu amino asitlere göre suda çözünme özelliği yönünden karşılaştırıldığında çözünürlüğünün çok daha düşük olduğu görülmektedir (Gökalp vd., 2002). Grubun en fazla hidrofilik özellik gösteren amino asiti alanin olup valin, lösin, alanin ve izolösin amino asitleri protein yapılarında hidrofilik etkileşimlerin oluşmasında en önemli faktörlerdendir.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) kullanılarak iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımıyla üretimi gerçekleştirilen kemik sularının nonpolar R gruplu amino asit değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.10.'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları

Amino Asitler		Varyasyon Kaynakları			
		Piştirme Yöntemi(A)	Asit İlavesi(B)	AxB	Hata
Alanin	SD	1	3	3	6
	KO	38420	77760	12773	22.75
	F	1688*	3418*	561*	
Prolin	SD	1	3	3	6
	KO	62496	214720	29284	13.67
	F	4572*	15711*	2142*	
Valin	SD	1	3	3	6
	KO	2640	6813	1002	1.50
	F	1760*	4542*	668*	
Metiyonin	SD	1	3	3	6
	KO	784	77.2	248	0.75
	F	1045*	103*	331*	
İzolösin	SD	1	3	3	6
	KO	1837	4728	388	1.10
	F	1664*	4282*	352*	
Lösin	SD	1	3	3	6
	KO	3234	13252	1974.3	0.92
	F	3528*	14456*	2153*	
Fenilalanin	SD	1	3	3	6
	KO	1875	4835	453	0.50
	F	3750*	9671*	906*	
Tryptofan	SD	1	3	3	6
	KO	4.08	11.58	0.58	0.08
	F	49*	139*	7*	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.10.'da görüldüğü üzere piştirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının nonpolar R gruplu amino asit değerleri üzerine etkisinin p<0.05 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

İki farklı piştirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) üretimi gerçekleştirilen kemik sularının nonpolar R gruplu amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.11.'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Değişik piştirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

Piştirme Yöntemi	n	Alanin	Prolin	Valin	Metiyonin
Açık Kazan	6	259.17±160.74b	405.50±260.18b	75.00±47.39b	6.67±4.93b
Kapalı Kazan	6	372.33±102.00a	549.33±172.98a	104.67±29.70a	22.83±10.34a

± Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.11. (Devamı)

Piştirme Yöntemi	n	İzolösın	Lösın	Fenılalanın	Triptofan
Açık Kazan	6	48.75±33.69b	106.83±67.64b	61.33±39.16b	2.50±1.22b
Kapalı Kazan	6	73.50±30.22a	139.67±38.94a	86.33±24.14a	3.67±1.86a

± Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.11.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyundaki nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerlerini mg/100 g olarak alanin 259.17, prolin 405.50, valin 75.00, metiyonin 6.67, izolösın 48.75, lösın 106.67, fenılalanın 61.33 ve triptofan 2.50 belirlenmiştir. Kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik sularında ise alanin 372.33, prolin 549.33, valin 104.67, metiyonin 22.83, izolösın 73.50, lösın 139.67, fenılalanın 86.33, triptofan 3.67 mg/100 g olarak tespit edilmiş olup açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının nonpolar R gruplu amino asit değerleri arasındaki farklılık önemli (p<0.05) bulunmuştur. Hem açık kazan hem de kapalı kazan yönteminde en fazla belirlenen prolin amino asiti olup bunu alanin amino asiti izlemektedir. Belirlenen toplam nonpolar R gruplu amino asit değeri ise açık kazan yönteminde 965.75 mg/100 g, kapalı kazan yönteminde ise 1352.33 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Kapalı kazan yöntemindeki bu artışın sıcaklığın daha yüksek olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Moon vd. (2015)'in yaptıkları çalışmada atmosferik basınç ve yüksek basınç altında (121°C, 1.25 atm) sığır kemik sularında 1, 2, 4, 6 ve 12 saat kaynatma işlemi uygulanmıştır. Yapılan analiz sonucunda hem atmosferik basınç hem de yüksek basınç yöntemiyle üretilen kemik suyunda en fazla alanin amino asiti tespit edilmiş olup 4 saatlik piştirme süresindeki değerleri sırasıyla 1.63 mg/100 g ve 3.28 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Ayrıca aynı piştirme süresinde belirlenen toplam amino asit miktarının atmosferik basınçta üretimde 9.46 mg/100 g iken yüksek basınçta üretimde 17.90 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Nonpolar R gruplu amino asitlerin toplam miktarının ise atmosferik basınçla üretimde 3.6 mg/100 g ve yüksek basınçla üretimde 6.79 mg/100 g olduğu görülmüştür. Bu çalışmada toplam serbest amino asitlerin miktarı yüksek basınçta hazırlanan kemik suyu numunelerinde daha fazla tespit edilmişken yüksek basınç ve atmosferik basınç yöntemlerinde ısıtma süresi uzadıkça amino asit miktarının da arttığı tespit edilmiştir.

Shaw ve Flynn (2019)'in yaptığı çalışmada elde ettiği sığır, hindi ve tavuk kemik sularının amino asit içerikleri karşılaştırıldığında toplam amino asitlerin en yüksek olarak belirlendiği kemik suyu hindi kemiklerinden elde edilen kemik suyudur. Yapılan çalışmada sığır kemik suyundaki nonpolar amino asitlerden değeri en yüksek çıkan amino asit 2.21 mg/g değeri ile prolin amino asiti olduğu belirlenmiştir. Tavuk, hindi ve sığır kemiklerinden ürettikleri kemik sularındaki prolin değerleri karşılaştırıldığında ise en yüksek değer tavuk kemik suyunda olduğu tespit edilmiştir.

Kim vd. (2014)'ün sığır kemiklerine 1:3 oranında kemik:su ekleyerek 3 ile 15 saat arasında 121°C'de otoklavda pişirme işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon süresi arttıkça toplam amino asit içeriğinin arttığı belirlenmiştir. Amino asit miktarının özellikle 3 ve 5 saat aralığında hızla arttığı sonrasında hafif bir artış gösterdiği görülmüştür. Nonpolar R gruplu amino asit sonuçları incelendiğinde en yüksek değerde prolin amino asiti olduğu ve 3 saat sonunda 3901.73 mg/kg, 5 saat sonunda 6086.25 mg/kg ve 15 saat sonunda 7402.13 mg/kg değerlerinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada 3 saat pişirme işleminde belirlenen toplam amino asit içeriği 30788.92 mg/kg iken 4 saatlik pişirme işleminde ise 47407.13 mg/kg olarak tespit edilmiş olup toplam amino asit miktarının 15 saat pişirme işleminde (54228.94 mg/kg) en fazla olduğu görülmüştür.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının nonpolar amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

Asit Uygulaması	n	Alanin	Prolin	Valin	Metiyonin
Kontrol	4	185.75±137.70c	264.50±192.85c	52.25±37.82c	11.50±9.81c
Laktik Asit	4	463.00±47.36a	724.25±56.31a	134.00±10.46a	19.75±18.23a
Sitrik Asit	4	298.50±12.79b	444.25±4.64b	83.25±3.40b	13.00±0.00b

± Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.12. (Devamı)

Asit Uygulaması	n	İzolösin	Lösin	Fenilalanin	Triptofan
Kontrol	4	31.87±24.97c	67.25±48.21c	39.75±28.58c	2.50±0.58b
Laktik Asit	4	99.00±15.60a	182.25±8.42a	109.25±8.38a	5.00±1.15a
Sitrik Asit	4	52.50±2.64b	120.25±0.96b	72.50±6.40b	1.75±0.50c

± Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

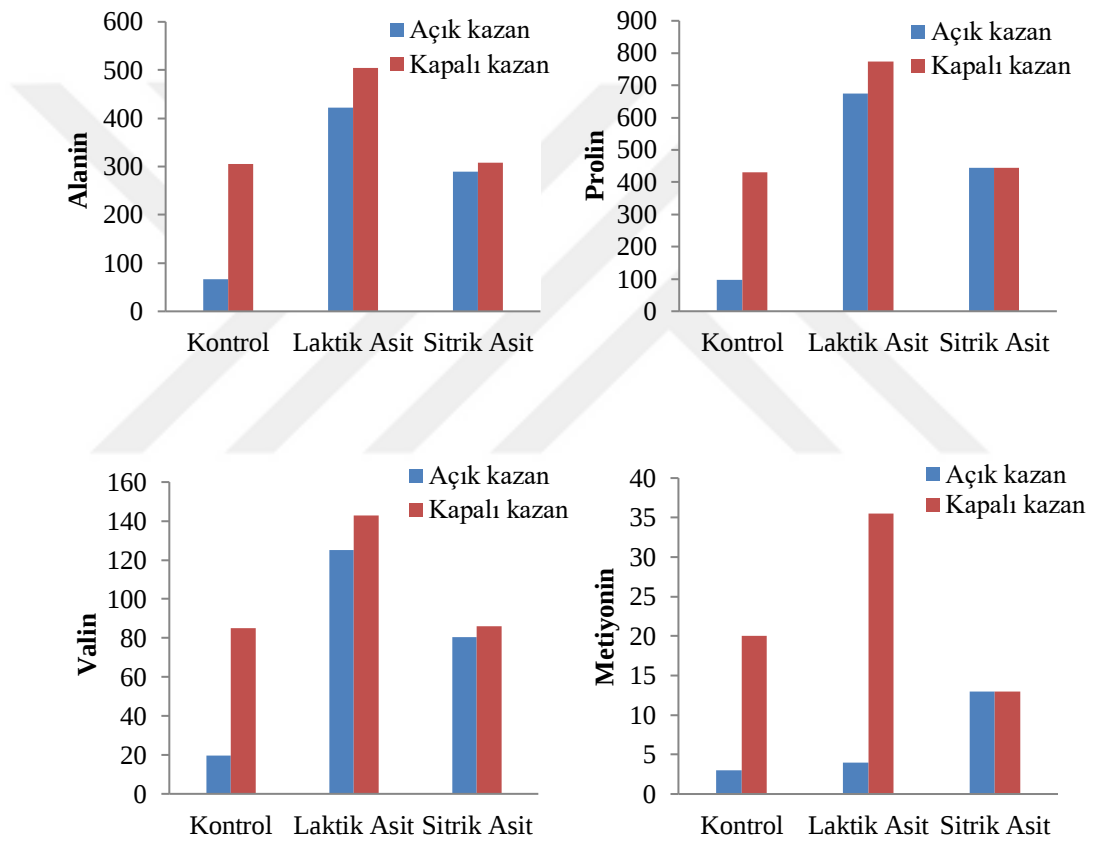
Tablo 4.12.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin amino asit değerleri mg/100 g olarak sırasıyla alanin 185.75, 463.00 ve 298.50, prolin 264.50, 724.25 ve 444.25, valin 52.25, 134.00 ve 83.25, metiyonin 11.50, 19.75 ve 13.00, izolösin 31.87, 99.00 ve 52.50, lösin 67.25, 182.25 ve 120.25, fenilalanin 39.75, 109.25 ve 72.50, triptofan 2.50, 5.00 ve 1.75 belirlenmiştir. Ayrıca farklı organik asit ilavelerinin nonpolar R gruplu amino asit değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Tablo 4.12'deki sonuçlar değerlendirildiğinde kontrol ve organik asit ilaveli örneklerde en fazla prolin amino asiti belirlenmiş olup bunu alanin amino asitinin izlediği görülmektedir. Belirlenen toplam nonpolar R gruplu amino asit değeri ise kontrol numunesinde 655.37 mg/100 g, sitrik asit çözeltili numunede 1086 mg/100 g ve laktik asit çözeltili numune ise 1736.50 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Özellikle laktik asit çözeltisi içeren kemik suyunda nonpolar R gruplu amino asitler en yüksek değerde tespit edilmiştir. Organik asit ilavesinin nonpolar amino asit miktarında yaklaşık 1.5-2 kat kadar artışa neden olduğu görülmektedir.

Mar-Solis vd. (2021)'in sığır uyluk kemiklerini 1:4 oranında beyaz sirke asitli su ile 100°C'de 8 saat pişirme işlemi uygulayarak ürettiği kemik suyunun 100 mL'deki toplam amino asit miktarı 232.86 mg olarak belirlenmiş olup toplam nonpolar R gruplu amino asit değeri ise 49.48 mg/100 mL'dir. Nonpolar R gruplu amino asitlerin miktarları ise mg/100 mL olarak alanin 2.59, prolin 3.36, valin 14.18, metiyonin 9.29, izolösin 3.09, lösin 4.66, fenilalanin 7.05, triptofan 5.26 belirlenmiştir.

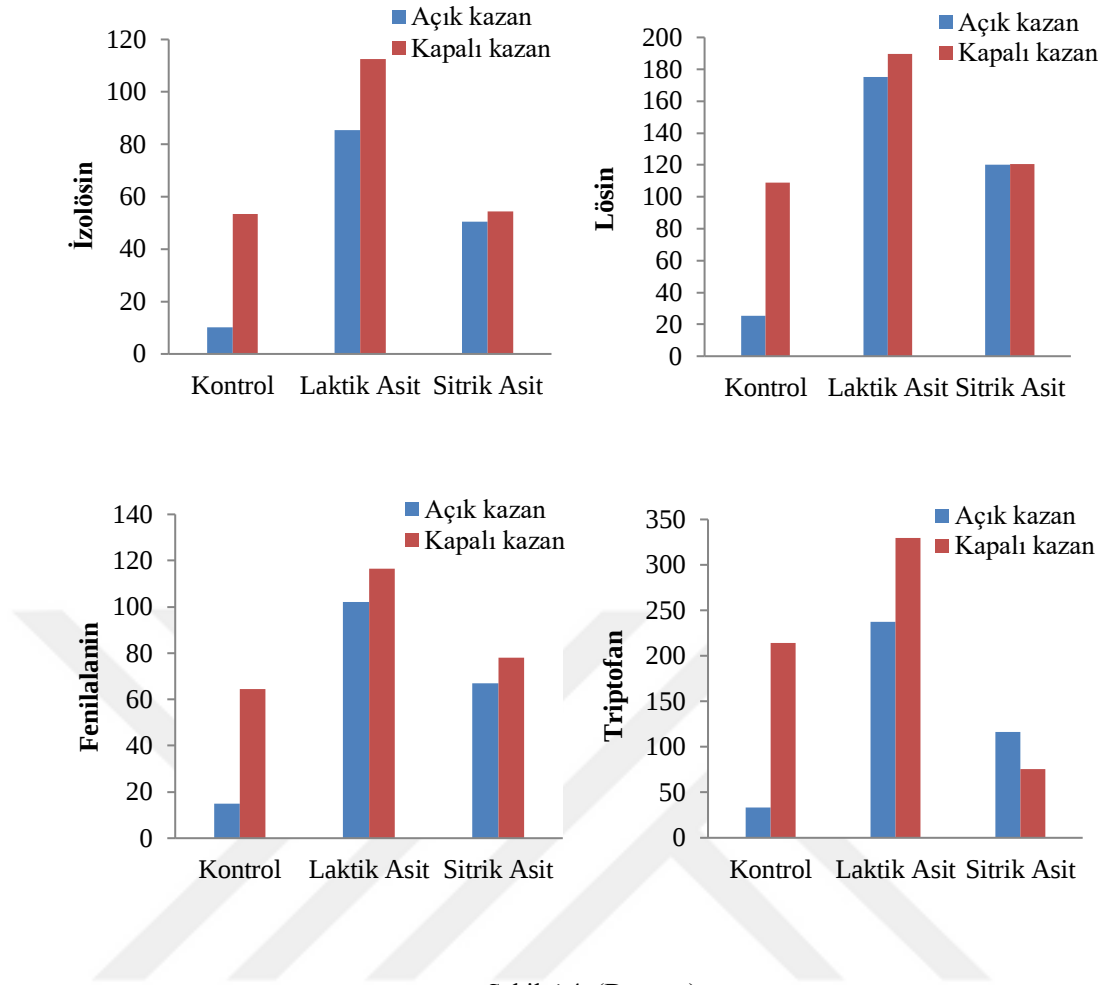
Alcock vd. (2018)'in yaptıkları çalışmada standardize ederek sığır kemiklerini kullanarak sirke ilavesiz üretimini gerçekleştirdiği kemik suyunda prolin amino asitinin değeri 1000 mg/kg, lizin değeri 343 mg/kg ve lösin değeri 370 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Alcock vd. (2018)'in elma sirkesi ilaveli üretimini gerçekleştirdikleri kemik suyunda da prolin, lizin ve lösin amino asitlerinin değerleri belirlenmiş olup sirke ilavesinin amino asit içeriğini belirgin farkla etkilemediği kanısına varılmıştır. Ancak kemik tipinin farklılık göstermesi amino asit içeriğini değiştiren kemik suyundan yağın çıkarılmasının da amino asit içeriğini azalttığı ifade edilmiştir. Ayrıca kemik suyu üretiminde pişirme süresinin artmasının amino asit ekstraksiyonunu artırdığı belirlenmiştir.

Kemik suyu numunelerinin nonpolar R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyon grafiği Şekil 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Kemik sularının nonpolar (hidrofobik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etki



Şekil 4.4. (Devamı)

Şekil 4.4. incelendiğinde genelleme yapılacak olursa kapalı kazan yöntemiyle ve laktik asit kullanımında tüm nonpolar R gruplu amino asit değerleri en yüksek değerde tespit edilmiştir.

4.1.4.2. Nötral ve Polar R Gruplu Amino Asitler

Nötral ve polar R gruplarına sahip amino asitler; glisin, serin, treonin, sistein, tirozin, asparajin ve glutamindir. Bu gruptaki amino asitlerin suda çözünme özellikleri nonpolar R gruplu amino asitlerin sudaki çözünürlüğünden çok daha fazladır (Gökalp vd., 2002). Polar gruplu amino asitlerin R grupları suyla hidrojen bağı oluşturan nötral polar fonksiyonel gruplar içermektedir. Tirozin fenolik hidroksil grubu ve sistein tiol hidroksil grubu taşımalarından dolayı polar amino asitler içerisinde en polar özellik gösteren amino asitlerdendir (Gökalp vd., 2002). Glisin amino asiti ise sınır amino asit olduğu için bazen nonpolar amino asitler içerisinde de sınıflandırıldığı görülmektedir.

Glutamin ve asparajin amino asitleri glutamik asit ve aspartik asitin amidleridir. Bu amino asitler kolayca asit ve bazlarla hidrolize olarak glutamik asit ve aspartik asite dönüşebilirler.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) kullanılarak iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımıyla üretimi gerçekleştirilen kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.13.'de verilmiştir.

Tablo 4.13. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen bazı nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Serin			Treonin		Tirozin		Glisin	
	SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Piştirme Yöntemi (A)	1	4033	1423*	1677	2011*	533.6	800.3*	212800	15383*
Asit İlavesi (B)	3	5502	1941*	2190	2625*	785	1177*	373975	27034*
AxB	3	1578	557*	173	207*	84	126*	72198	5219*
Hata	6	2.83		0.83		0.67		13.83	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.13.'de görüldüğü üzere pişirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının nötral ve polar R gruplu amino asit değerleri üzerine etkisinin p<0.05 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) üretimi gerçekleştirilen kemik sularının nötral ve polar amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.14.'de verilmiştir.

Tablo 4.14. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

Piştirme Yöntemi	n	Serin	Treonin	Tirozin	Glisin
Açık Kazan	6	54.67±39.41b	23.02±20.79b	21.83±14.14b	576.67±351.31b
Kapalı Kazan	6	91.33±35.81a	46.67±22.67a	35.17±12.19a	843.00±234.66a

± Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.14.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun amino asit değerleri mg/100 g olarak serin 54.67, treonin 23.02, tirozin 21.83, glisin 576.67 belirlenmiştir.

Kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun amino asit değerleri ise serin 91.33, treonin 46.67, tirozin 35.17, glisin 843.00 mg/100 g olarak tespit edilmiş olup açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının nötral ve polar amino asit değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Tablo 4.14.'deki sonuçlara göre kapalı kazan yöntemiyle üretimde amino asit değerlerinde yaklaşık 1.5-2 kat artışların olduğu görülmektedir. Hem açık kazan hem de kapalı kazan yöntemiyle üretimde glisin amino asitinin değeri en yüksek (sırasıyla 576.67 mg/100 g ve 843.00 mg/100 g) olarak tespit edilmiş olup diğer amino asitlerle karşılaştırıldığında miktar olarak aralarında dikkat çekici bir farkın olduğu görülmektedir.

Moon vd. (2015)'in yaptıkları çalışmada atmosferik basınç ve yüksek basınç altında (121°C , 1.25 atm) sığır kemik sularında yapılan analiz sonucunda yüksek basınç yöntemiyle üretilen kemik suyu numunelerinde en yüksek miktarda alanin ve glisin amino asiti tespit edilmiş olup dört saatlik pişirme süresinde alanin değeri 3.28 mg/100 g ve glisin değeri 2.28 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Nötral ve polar R gruplu amino asitlerin toplam miktarının ise atmosferik basınçla üretimde 1.47 mg/100 g ve yüksek basınçla üretimde 4.09 mg/100 g olduğu görülmüştür.

Shaw ve Flynn (2019)'in yaptığı çalışmada elde ettiği sığır ve tavuk kemik sularında tüm amino asit içerikleri incelendiğinde glisin amino asiti sırasıyla 3.70 ve 4.06 mg/g değeri ile en yüksek miktarda belirlenen amino asittir. Çoğu protein kaynağının glisin konsantrasyonlarının yüksek olduğu bilinmektedir. Toplam nötral ve polar R gruplu amino asit değeri ise tavuk kemik suyunda 6.04 mg/g değeri ile en fazla olarak tespit edilmişken bunu 5.65 mg/g değeri ile hindi kemik suyu izlerken sığır kemik suyunun değeri ise 5.25 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Kim vd. (2014) sığır kemiklerine 1:3 oranında kemik:su ekleyerek 3 ile 15 saat arasında 121°C 'de otoklavda pişirme işlemi uygulaması sonucu elde edilen kemik sularında amino asit analiz sonuçları incelendiğinde toplam amino asitler içerisinde ve tüm pişirme sürelerinde en fazla olarak belirlenen amino asitin glisin olduğu tespit edilmiştir. Glisin amino asitinin analiz sonuçlarına göre 3 saat pişirme süresi sonunda 7224.11 mg/kg, 5 saat pişirme süresi sonunda 10878.21 mg/kg ve 15 saat pişirme süresi sonunda 12184.48 mg/kg olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresi arttıkça amino asitin miktarının da artış gösterdiği görülmektedir.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.15.'de verilmiştir.

Tablo 4.15. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

Asit Uygulaması	n	Serin	Treonin	Tirozin	Glisin
Kontrol	4	39.75±40.14c	19.27±19.89c	14.24±11.85c	428.50±32043c
Laktik Asit	4	113.00±27.71a	61.75±15.88a	42.25±9.57a	1035.25±127.31a
Sitrik Asit	4	66.25±4.85b	23.50±5.32b	29.00±1.82b	665.75±14.43b

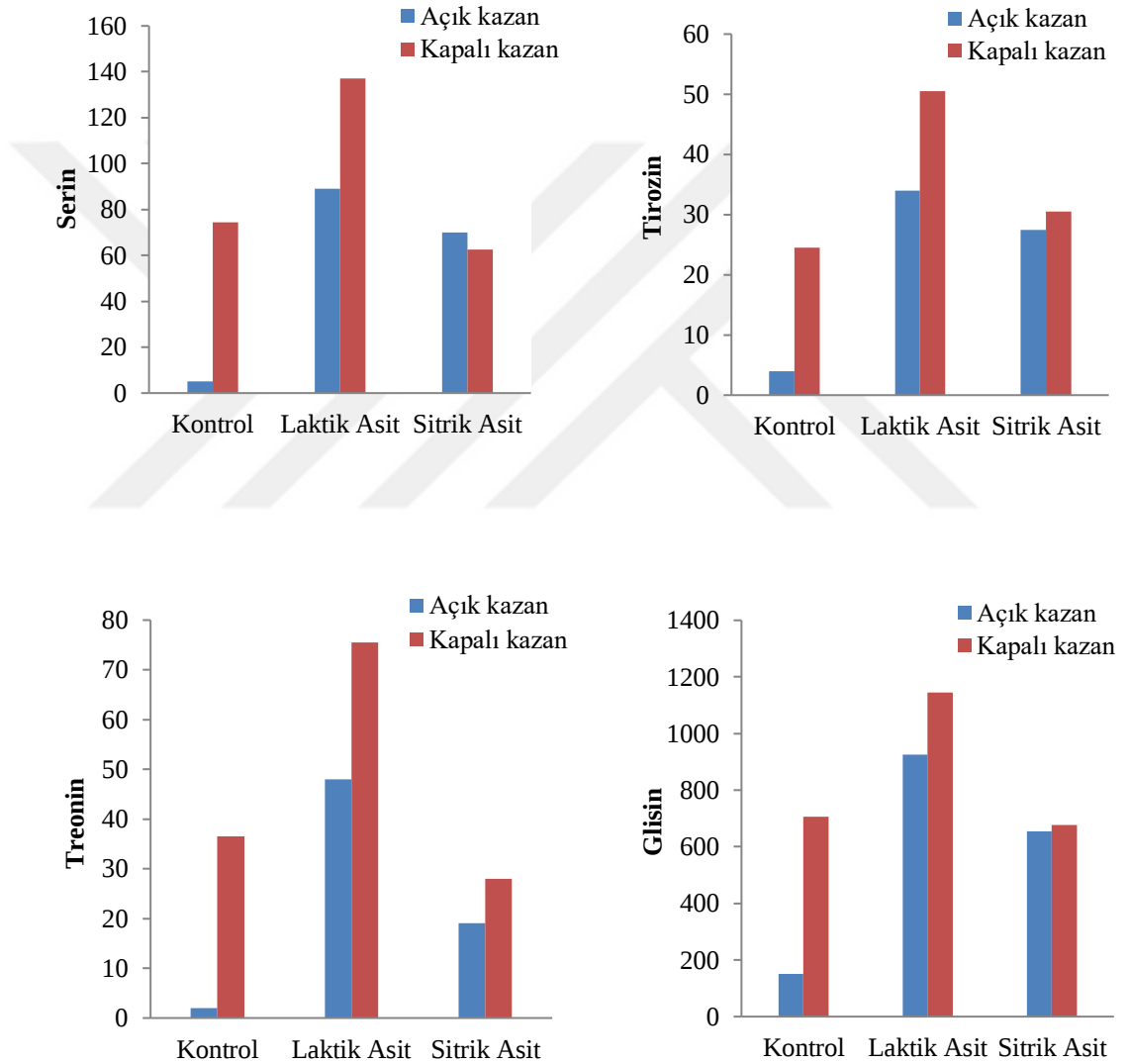
± Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.15.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin amino asit değerleri mg/100 g olarak sırasıyla serin 39.75, 113.00 ve 66.25, treonin 19.27, 61.75 ve 23.50, tirozin 14.24, 42.25 ve 29.00, glisin 428.50, 1035.25 ve 665.75 olarak belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin nötral ve polar amino asit değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Tablo 4.15.'deki sonuçlara göre glisin amino asitinin değerleri kontrol, laktik asit ve sitrik asit çözeltisi numunelerde en fazla olarak tespit edilmiştir. Nötral ve polar R gruplu amino asitlerin en yüksek olduğu uygulamanın ise laktik asitli çözeltisi kullanılarak üretimi gerçekleştirilen kemik sularında olduğu görülmektedir.

Mar-Solís vd. (2021)'in sığır uyluk kemiklerini 1:4 oranında beyaz sirke asitli su ile 100°C'de 8 saat pişirme işlemi uygulayarak ürettiği kemik suyunun 100 mL'deki toplam amino asit miktarı 232.86 mg olarak belirlenmiş olup %54.56'sının esansiyel amino asitlere ve %44.43'ünün ise esansiyel olmayan amino asitlere karşılık geldiği tespit edilmiştir. Esansiyel olmayan asitlerde en fazla bulunan amino asitlerin glutamik asit, aspartik asit ve glisinin (sırasıyla 50.14, 16.74 ve 15.01 mg/100 mL kemik suyu) olduğu bildirilmiştir. Ayrıca nötral ve polar gruptaki aminoasitlerin değerleri mg/100 mL olarak serin 6.82, treonin 14.75, tirozin 5.26, glisin 15.01 tespit edilmiştir.

Alcock vd. (2018)'in yapmış oldukları çalışmaya göre standardize ederek üretimi gerçekleştirilen sirke ilavesiz kemik suyunda glisin amino asitinin değeri 1633 mg/kg ve elma sirkesi ilaveli değerinin ise 1598 mg/kg olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

Kemik suyu numunelerinin nötral ve polar R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyon grafiği Şekil 4.5.'de verilmiştir. Şekil 4.5.'e göre kapalı kazan yöntemi ve laktik asit çözeltili kemik suyu numunelerinde amino asit değerleri en yüksek değerde tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Kemik sularının nötral ve polar R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksyonunun etkisi

4.1.4.3. Negatif Yüklü (Asidik) R Gruplu Amino Asitler

Aspartik asit ve glutamik asit negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asitleri içermektedir. Bu gruptaki amino asitler ikinci bir karboksil grubu içermektedirler ve net negatif yüke sahiptirler (Gökalp vd., 2002).

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) kullanılarak iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımıyla üretimi gerçekleştirilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.16.'da verilmiştir.

Tablo 4.16. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aspartik Asit		Glutamik Asit	
		KO	F	KO	F
Piştirme Yöntemi (A)	1	10034.08	1104.67*	51745.33	800.18*
Asit İlavesi (B)	3	15824.08	1742.10*	31072.75	480.51*
AxB	3	7343.08	808.41*	18017.58	278.62*
Hata	6	9.08		64.67	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.16.'da görüldüğü üzere pişirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerleri üzerine etkisinin p<0.05 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) üretimi gerçekleştirilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.17.'de verilmiştir.

Tablo 4.17. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

Piştirme Yöntemi	n	Aspartik Asit	Glutamik Asit
Açık Kazan	6	106.00±88.28b	213.33±138.99b
Kapalı Kazan	6	163.83±38.53a	344.67±19.91a

± Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.17.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun aspartik asit değeri 106.00 mg/100 g ve glutamik asit değeri 213.33 mg/100 g olarak belirlenmiştir.

Kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun aspartik asit değeri 163.83 mg/100 g ve glutamik asit değeri 344.67 mg/100 g olarak tespit edilmiş olup açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Tablo 4.17.'deki sonuçlara göre glutamik asit değerinin her iki yöntemde de en yüksek olduğu görülmektedir. Ancak her iki yöntem sonuçları karşılaştırıldığında ise kapalı kazan yönteminde negatif yüklü R gruplu amino asit değerlerinin yaklaşık 1.5 kat artışla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Moon vd. (2015)'in atmosferik basınç ve yüksek basınç altında (121°C , 1.25 atm) sığır kemik sularında farklı saatlerde kaynatma işlemi uygulayarak elde ettikleri kemik sularında gerçekleştirilen analiz sonucunda atmosferik basınçla üretilen kemik suyunda en fazla alanin amino asiti tespit edilmiş olup bunu glutamik asit ve aspartik asit amino asiti izlemektedir. Çalışmada dört saatlik pişirme süresinde toplam belirlenen negatif yüklü R gruplu amino asit miktarı atmosferik basınçla üretimde 1.75 mg/100 g ve yüksek basınçla üretimde ise 2.96 mg/100 g olarak tespit edilmiştir.

Kim vd. (2014)'in sığır kemikleri (500 g) kullanarak 5 saat pişirme süresinde otoklavda 121°C 'de 1500 mL su eklenmesi sonucu üretimini gerçekleştirdikleri kemik suyu numunesinde aspartik asit ve glutamik asit değerleri sırasıyla 2077.11 ve 4150.71 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Shaw ve Flynn (2019)'in yaptığı çalışmada elde ettiği üç farklı kemik suyunda tüm amino asitler içerisinde glutamik asit değeri hindi kemik suyunda en fazla olarak belirlenirken sığır ve tavuk kemik suyunda ise glisinden sonra en fazla belirlenen amino asittir.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.18.'de verilmiştir.

Tablo 4.18. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

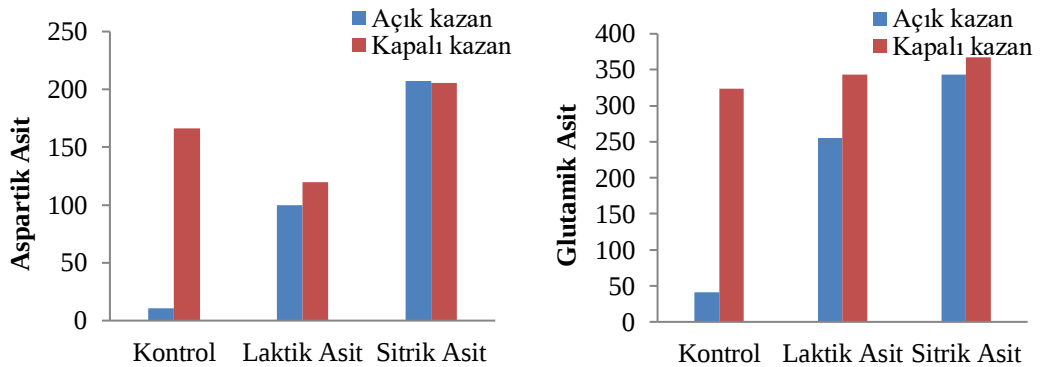
Asit Uygulaması	n	Aspartik Asit	Glutamik Asit
Kontrol	4	88.50±90.07c	182.50±162.83c
Laktik Asit	4	109.75±11.38b	299.25±50.56b
Sitrik Asit	4	206.50±4.04a	355.25±17.91a

± Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.18.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin amino asit değerleri mg/100g olarak sırasıyla aspartik asit 88.50, 109.75 ve 206.50, glutamik asit değerleri sırasıyla 182.50, 299.25 ve 355.25 belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin negatif yüklü (asidik) değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Tablo 4.18.'deki sonuçlara göre organik asit ilavesinin negatif yüklü amino asit miktarını yaklaşık 1-1.5 kat artırdığı görülmüştür. Ancak diğer amino asitlerde laktik asit ilavesinin etkisi en fazla istisna olarak aspartik asit ve glutamik asitte sitrik asitin etkisi en fazla olarak tespit edilmiştir.

Mar-Solís vd. (2021)'in sığır uyluk kemiklerini beyaz sirke asitli su ile 100°C'de 8 saat pişirme işlemi uygulayarak ürettiği kemik suyunda bulunan negatif yüklü (asidik) gruptaki amino asitlerin değerleri aspartik asitin 16.74 mg/100 mL ve glutamik asitin 50.15 mg/100 mL olarak belirlenmiştir.

Kemik suyu numunelerinin negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyon grafiği Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Kemik sularının negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyonunun etkisi

Şekil 4.6. incelendiğinde aspartik asit değeri açık kazan yöntemiyle üretimde ve sitrik asit çözeltili kemik suyu numunelerinde en yüksek miktarda belirlenmiştir. Ancak kapalı kazan yöntemiyle ve sitrik asit çözeltili kemik suyunda da sonucun en yüksek değere çok yakın olduğu görülmektedir. Glutamik asite ait interaksiyon şekli incelendiğinde ise kapalı kazan yönteminde ve sitrik asit çözeltili kemik suyu numunesinde bu amino asit en fazla olarak belirlenmiştir.

4.1.4.4. Pozitif Yüklü (Bazik) R Gruplu Amino Asitler

Lizin, arjinin ve histidin pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asitlerdir. Bu amino asitlerin tamamı 6 karbon içermekte olup pH 7.0'de net pozitif yüklü R grubuna sahiptirler (Gökalp vd., 2002).

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) kullanılarak iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımıyla üretimi gerçekleştirilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.19.'da verilmiştir.

Tablo 4.19. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerlerine ait Varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Lizin			Arjinin		Histidin	
	SD	KO	F	KO	F	KO	F
Pişirme Yöntemi (A)	1	17864.08	486.10*	30704.08	19392.05*	259.47	91.59*
Asit İlavesi (B)	3	40964.25	1114.67*	41412.33	26155.19*	1352.52	477.36*
AxB	3	12430.58	338.25*	15214.33	9609.05*	96.52	34.01*
Hata	6	36.75		1.58		2.83	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.19.'da görüldüğü üzere pişirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerleri üzerine etkisinin p<0.05 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) üretimi gerçekleştirilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.20.'de verilmiştir.

Tablo 4.20. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

Piştirme Yöntemi	n	Lizin	Arjinin	Histidin
Açık Kazan	6	129.17±91.91b	96.50±83.42b	20.70±18.79b
Kapalı Kazan	6	206.33±113.82a	197.67±125.27a	30.12±15.15a

± Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.20.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun amino asit değerleri mg/100 g olarak lizin 129.17, arjinin 96.50 ve histidin 20.70 belirlenmiştir.

Kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun amino asit değerleri mg/100 g olarak lizin 206.33, arjinin 197.67 ve histidin 30.12 tespit edilmiş olup açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) amino asit değerleri arasındaki farklılık önemli (p<0.05) bulunmuştur. Tablo 4.20.'deki sonuçlara göre kapalı kazan yönteminde belirlenen amino asit değerleri yaklaşık 1.5-2 kat fazla tespit edilmiştir.

Moon vd. (2015)'in atmosferik basınç ve yüksek basınç altında (121°C, 1.25 atm) sığır kemik sularında dört saatlik piştirme süresinde toplam belirlenen pozitif yüklü R gruplu amino asit miktarı atmosferik basınçla üretimde 0.92 mg/100 g ve yüksek basınçla üretimde ise 2.01 mg/100 g olarak tespit edilmiştir.

Shaw ve Flynn (2019)'in yaptığı çalışmada sığır kemikleri ile elde ettiği kemik suyunda pozitif yüklü amino asitlerden değeri en yüksek olanın 1.47 mg/g değeri ile arjinin amino asiti olduğu belirlenmiştir.

Kim vd. (2014)'in sığır kemikleri kullanarak 5 saat piştirme süresinde 121°C'de otoklavda üretimini gerçekleştirdiği kemik suyunda lizin, arjinin ve histidin değerleri sırasıyla 1637.55, 3996.62 ve 474.07 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) amino asit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.21.'de verilmiştir.

Tablo 4.21. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

Asit Uygulaması	n	Lizin	Arjinin	Histidin
Kontrol	4	123.75±104.21b	147.25±132.50b	10.05±11.52c
Laktik Asit	4	283.50±53.59a	248.75±52.26a	45.75±4.64a
Sitrik Asit	4	96.00±24.12c	45.25±9.60c	20.25±1.50b

± Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

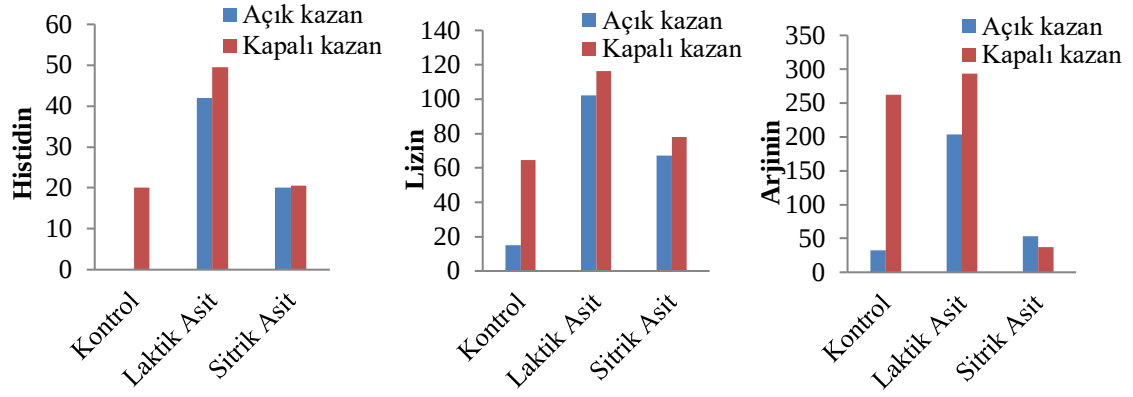
Tablo 4.21.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin amino asit değerleri mg/100 g olarak sırasıyla lizin 123.75, 283.50 ve 96.00, arjinin 147.25, 248.75 ve 45.25, histidin 10.05, 45.75 ve 20.25 belirlenmiştir.

Farklı asit ilavelerinin pozitif yüklü (bazik) değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Tablo 4.21'deki sonuçlara göre laktik asit çözültüli numunelerde pozitif yüklü R gruplu amino asit değerleri en yüksek olarak tespit edilmiştir. En fazla belirlenen amino asit lizin olup bunu arjinin amino asiti izlemektedir. Lizin ve arjinin amino asitlerinin miktarları tüm uygulamalarda histinin amino asitinin değerleriyle karşılaştırıldığında belirgin farkla fazla olduğu görülmektedir.

Mar-Solís vd. (2021)'in sığır uyluk kemiklerine beyaz sirkeli çözültü ilavesiyle elde ettikleri kemik suyunda bulunan pozitif yüklü (bazik) gruptaki amino asitlerin değerleri mg/100 mL olarak lizin 15.08, arjinin 17.28 ve histidin 43.98 tespit edilmiştir.

Alcock vd. (2018)'in yapmış oldukları çalışmaya göre standardize ederek üretimi gerçekleştirilen sirke ilavesiz kemik suyunda pozitif yüklü (bazik) gruptaki amino asitlerden lizin amino asitinin değeri 343 mg/kg ve elma sirkesi ilaveli değerinin ise 328 mg/kg olduğu tespit edilmiştir.

Kemik suyu numunelerinin pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyon grafiği Şekil 4.7.'de verilmiştir. Şekil 4.7.'ye göre amino asitler kapalı kazan yönteminde ve laktik asit çözültüli kemik suyunda en yüksek değerlerde tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. Kemik sularının pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asit değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyonunun etkisi

4.1.5. Bazı Proteinlerin Yapısında Bulunan Amino Asitler

Standart amino asitler nonpolar (hidrofobik), nötral ve polar, negatif yüklü (asidik) ve pozitif yüklü (bazik) R gruplarına sahip amino asitler olarak 4 grupta sınıflandırılmışlardır (Gökalg vd., 2002).

Ancak bu gruptaki amino asitlerin dışında bazı proteinlerin hidrolizatlarında yüksek miktarda belirlenen ve tabiatda nadir bulunan amino asitlerde vardır. Bu amino asitlerden hidroksiprolin kolajenin yapısında %12 miktarında ve bazı bitkisel proteinlerde bulunmakta olup prolin amino asitinin derivatıdır (Gökalg vd., 2002).

4.1.5.1. Hidroksiprolin

Hidroksiprolin kolajenin yıkımı sonucunda ortaya çıkan modifiye bir amino asittir. Kolajenin yüksek miktarda hidroksiprolin amino asitini içermesinden dolayı bağ doku tespitinde hidroksiprolin tayini yaygın olarak kabul edilmiştir.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) ve iki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımıyla üretimi gerçekleştirilen kemik sularının hidroksiprolin değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 4.22.'de verilmiştir.

Tablo 4.22. Değişik pişirme yöntemleri (açık kazan ve kapalı kazan) ve farklı asit uygulamaları (laktik asit ve sitrik asit) kullanılarak üretilen kemik sularında belirlenen hidroksiprolin değerlerine ait Varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Piştirme Yöntemi (A)	1	27266.29	2524.98*
Asit İlavesi (B)	3	16809.56	1556.64*
AxB	3	17528.06	1623.18*
Hata	6	10.79	

*p<0.05 seviyesinde önemli

Tablo 4.22.'de görüldüğü üzere pişirme yöntemi, asit ilavesi ve interaksiyonlarının hidroksiprolin değeri üzerine etkisinin $p<0.05$ seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

İki farklı pişirme yöntemi (açık kazan ve kapalı kazan) üretimi gerçekleştirilen kemik sularının hidroksiprolin değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.23.'de verilmiştir.

Tablo 4.23. Değişik pişirme yöntemleri kullanılarak üretilen kemik sularının hidroksiprolin değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama $\pm$ SS)

Piştirme Yöntemi	n	Hidroksiprolin
Açık Kazan	6	227.82 $\pm$ 113.96b
Kapalı Kazan	6	323.16 $\pm$ 27.55a

$\pm$ Standart sapma, a-b: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Tablo 4.23.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde açık kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun hidroksiprolin değeri 227.82 mg/100 g bulunurken kapalı kazan yöntemiyle üretimi gerçekleştirilen kemik suyunun hidroksiprolin değeri 323.16 mg/100 g olarak tespit edilmiştir.

Açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle gerçekleştirilen kemik sularının hidroksiprolin değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Tablo 4.23.'deki sonuçlara göre kapalı kazan yönteminde hidroksiprolin değeri yaklaşık 1.5 kat kadar fazla tespit edilmiştir.

Shaw ve Flynn (2019)'in yaptığı çalışmada elde ettiği sığır, hindi ve tavuk kemik sularının hidroksiprolin amino asit içerikleri karşılaştırıldığında 0.28 mg/g değeri ile sığır kemik suyunda en fazla belirlenirken bunu tavuk kemik suyu izlemektedir.

Kim vd. (2014)'in sığır kemikleri kullanarak 3-15 saatleri arasında 121°C'de otoklavda üretimini gerçekleştirdiği kemik suyunda glisin amino asitinden sonra en fazla miktarda belirlenen amino asit hidroksiprolindir. Ekstraksiyon süresi arttıkça hidroksiprolin miktarı da artmakta olup 3 saat pişirme süresinde 4014.42 mg/kg, 5 saat pişirme süresinde 5946.90 mg/kg ve 15 saat pişirme süresinde 6705.63 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

İki farklı organik asit (laktik asit ve sitrik asit) kullanımı ve organik asit ilavesiz kemik suyu üretimi gerçekleştirilen kemik sularının hidroksiprolin değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma analiz test sonuçları Tablo 4.24.'de verilmiştir.

Tablo 4.24. Farklı asit uygulamaları kullanılarak üretilen kemik sularının hidroksiprolin değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (mg/100g)(Ortalama±SS)

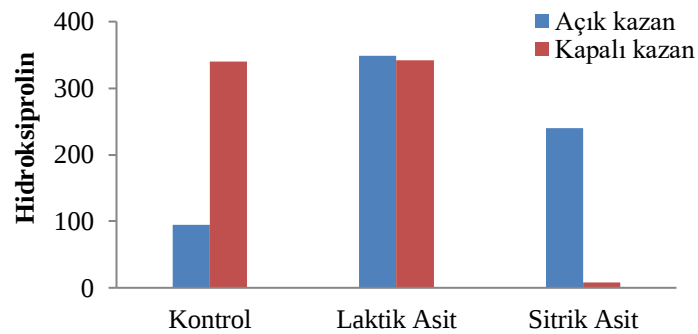
Asit Uygulaması	n	Hidroksiprolin
Kontrol	4	217.27±141.43c
Laktik Asit	4	345.34±4.47a
Sitrik Asit	4	263.86±27.78b

± Standart sapma, a-b-c: Aynı sütundaki farklı harfle işaretlenmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4.24.'de Duncan test sonuçları incelendiğinde organik asit ilavesiz kemik suyu numunesi ile laktik asitli ve sitrik asitli kemik suyu numunelerinin hidroksiprolin değerleri sırasıyla 217.27 mg/100 g, 345.34 mg/100 g ve 263.86 mg/100 g olarak belirlenmiş olup farklı asit ilavelerinin hidroksiprolin değerleri üzerinde önemli (p<0.05) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Tablo 4.24.'deki sonuçlara göre laktik asit çözeltili kemik suyunda hidroksiprolin değeri en yüksek olarak tespit edilmiştir. Ayrıca organik asit ilavesinin hidroksiprolin amino asiti değerini yaklaşık 1-1.5 kat artırdığı görülmektedir.

Alcock vd. (2018)'in yaptıkları çalışmada standardize edilerek üretimi gerçekleştirilen sığır kemiklerinin kullanıldığı sirke ilavesiz kemik suyunda hidroksiprolin değeri 918 mg/kg ve elma sirkesi ilaveli kemik suyunda hidroksiprolin değeri 908 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Kemik suyu numunelerinin hidroksiprolin değeri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyon grafiği Şekil 4.8.'de verilmiştir. Şekil 4.8.'e göre açık kazan yöntemiyle ve laktik asit çözeltili kemik suyu numunesinde hidroksiprolin değeri en fazla olarak belirlenirken bu değer kapalı kazan yöntemiyle üretilen kontrol ve laktik asit çözeltili kemik suyu numunelerinde de yaklaşık aynı değerlerde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.8. Kemik sularının hidroksiprolin değerleri üzerine pişirme yöntemi x asit uygulamasının interaksiyonunun etkisi

5. SONUÇ

Sığır uyluk (*os femur*) ve kol (*os humerus*) kemikleriyle hazırlanan kemik suyu örneklerinde gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre kemik suyunun üretim yönteminin değişmesi ve organik asit ilavesinin bileşim özellikleri üzerine etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir.

Kemik sularının kalitesini etkileyen önemli parametrelerden birisi olan kuru madde sonuçları incelendiğinde üretim yönteminin değişmesinin kuru madde değerleri arasındaki farklılığa etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür. Açık kazan yöntemiyle üretilen kemik suyu numunlerinde kuru madde değeri daha fazla olarak tespit edilmiştir. Bunun nedeninin kullanılan yöntemde buharlaşmanın daha fazla olmasından kaynaklı kuru madde miktarının oransal olarak daha fazla olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca organik asit ilavesinin kemik suyunun kuru madde miktarını artırdığı belirlenmiştir. Özellikle organik asitlerden laktik asit kullanımının etkisinin daha fazla kuru madde miktarı elde edilmesine etkisi olduğu görülmektedir. İnteraksiyon grafiğine göre ise açık kazanda üretilen laktik asit çözeltili kemik suyu numunesinde kuru madde miktarı kullanılan diğer yöntem ve uygulamalara göre en fazla olarak tespit edilmiştir.

Protein sonuçları incelendiğinde kapalı kazan yöntemiyle elde edilen kemik suyu numunelerinde protein miktarları daha yüksek değerde tespit edilmiştir. Bu sonuca göre sıcaklık farkının daha fazla olduğu kapalı kazan yönteminde ısıya maruz kalan proteinlerin işlevselliği olumlu yönde etkilenmiştir sonucuna varılmaktadır. Ayrıca organik asit ilavesinin kemik suyunun protein miktarını artırdığı belirlenmiştir. Özellikle laktik asit çözeltili ilikli kemiklerin protein miktarı kontrol numunesiyle karşılaştırıldığında protein değerinde yaklaşık 2 kat olacak şekilde bir artışın olduğu görülmektedir. İnteraksiyon grafiğine göre ise kapalı kazanda üretilen laktik asitli numunede protein miktarı daha fazla olarak tespit edilmiştir.

Kül miktarı analiz sonuçlarına göre açık kazan yöntemiyle üretimde kapalı kazanla üretime göre iki kat artışın olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın nedeninin kuru madde değerinde olduğu gibi buharlaşmanın açık kazanda daha fazla olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca organik asit içeren kemik suları ile asit bulunmayan kemik sularının kül değerleri karşılaştırıldığında yaklaşık 10 kat gibi çok yüksek oranda bir artışın olduğu görülmektedir.

Organik asit ilavesinin kemiklerde bulunan inorganik bileşenleri daha fazla çözdüğü ve bu nedenle kemik suyunun kül miktarını artırdığı düşünülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmanın amaçlarından birisi de uygulanan yöntemlerle mineral madde geçişinin artırılmasıdır. Elde edilen sonuçlar bu hipotezi destekler niteliktedir. İnteraksiyon grafiğine göre ise açık kazanda üretilen laktik asitli numune kül değeri daha fazla olarak belirlenmiştir.

Yağ değeri sonuçları incelendiğinde kemik suyu üretim yönteminin değişmesinin analiz sonuçlarına herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Farklı organik asit ilavelerinin yağ değerleri üzerinde önemli ($p<0.05$) bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Yağ interaksiyon grafiğine bakıldığında ise kapalı kazan yöntemiyle üretilen sitrik asitli numunenin daha fazla olduğu görülmüştür.

Bu sonuçlara göre kemik suyunun bileşim değerleri kullanılan yönteme ve organik asit ilaveli olup olmamasına göre farklılık göstermekte olup tüm bileşimlerin aynı anda en fazla olduğu yöntem ve uygulama olmadığı görülmüştür. Bileşim analizleri sonucu belirlenen miktarlar literatürdeki sonuçların bazıları ile benzerlik bazıları ile ise farklılık göstermektedir. Genellikle yapılan çalışmada belirlenen değerler araştırmacıların çalışmalarında elde ettikleri sonuçlardan yüksek tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak pişirme sıcaklıkları, tür farklılıkları, kemiklerin üzerinde kalan et kırıntıları, pişirme sularına ilave kimyasal maddeler ve kemiklerin elde ediliş yöntemleri gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmanın amaçlarından birisi de uygulanan işlemler ile kemiklerden kemik suyuna daha fazla bileşimlerin geçişinin artırılmasıdır. Bulunan sonuçlar bu hipotezi de destekler niteliktedir.

Yapılan çalışmada açık ve kapalı kazan yöntemiyle üretimde işlem öncesi ve sonrası pH değerleri üzerine etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde pH değerlerinin düşük olma nedeninin, üretim aşamasında kemik sularına eklenen asidik ürünlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Organik asit ilavesinin ise kemik sularının işlem öncesi pH değerlerine istatistiki olarak önemli bir fark oluşturmazken işlem sonrası pH değerlerine etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Organik asit ilavesiz kontrol numunelerinde belirlenen pH değerleri işlem öncesi nötre yakın değerlerde tespit edilmişken işlem sonrası pH değerleri artarak kemik suları bazik karakter göstermektedir.

Organik asit ilaveli örneklerin pH değerleri ise işlem öncesi ve sonrasında yaklaşık 2-3 pH aralığında belirlenmiş olup işlem sonrasında az da olsa değerlerde bir artışın olduğu görülmektedir. Isıl işlem sonucu parçalanan maddelerden bazik karakterli ürünlerin oluşması bu artışların nedeni olarak düşünülmektedir.

Açık kazanda üretilen kemik suyunun toplam mineral madde miktarı 8268.1 mg/kg ve kapalı kazanda üretilen kemik suyunun toplam mineral madde değeri 4103.4 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre açık kazanda üretilen kemik sularının toplam mineral değerlerinin kapalı kazanda üretilen kemik sularının toplam mineral değerlerine göre yaklaşık 2 kat olacak şekilde daha fazla mineral madde içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Demir minerali sınır değer olan 2.5 mg/kg'ın altında kaldığı için belirlenememiştir. Minerallerden özellikle fosfor mineralinde yaklaşık 2.5 kat, kalsiyum mineralinde yaklaşık 2 kat ve potasyum mineralinde ise yaklaşık 1.5 kat bir artışın olduğu görülmektedir. Mineral maddelerden fosfor açık kazan yöntemiyle üretimde en fazla belirlenen mineral maddedir. Fosfor mineralinden sonra ikinci sırada en fazla olarak belirlenen mineral maddesi kalsiyumdur. Organik asit uygulamasının mineral madde miktarını yaklaşık 13.5 kat artırdığı belirgin olarak görülmektedir. Asit ilavesiz kontrol numunesinde en fazla belirlenen mineral maddesi fosforken ikinci sırada sodyum minerali gelmektedir. Laktik asit çözeltili numunede en fazla belirlenen mineral kalsiyumken ikinci sırada fosfor minerali yer almaktadır. Sitrik asit çözeltili numunede mineral madde sıralaması ise laktik asit çözeltili numunenin tam tersidir ve en yüksek değer fosfor mineraliyken ikinci sırada kalsiyum minerali gelmektedir. Mineral madde sonuçları tek tek incelendiğinde asit ilavesiz numuneye göre asit ilaveli örneklerde çok yüksek oranlarda artış olan mineraller görülmektedir. Özellikle magnezyum, kalsiyum ve fosfor mineralindeki artışlar çok fazladır. Asit uygulama işlemi magnezyum ve kalsiyum değerlerinde 50-60, fosfor değerlerin de ise 10-15 katlık artışlara neden olmuştur. Buna göre organik asitin kemikte bulunan mineralleri daha fazla çözerek ekstrakta geçen miktarını artırdığını söylemek mümkündür.

Standart amino asitlerin sonuçları incelendiğinde hem açık kazan yöntemi hem de kapalı kazan yönteminde en yüksek değerde belirlenen amino asit glisindir. Glisin amino asiti açık kazan yönteminde 576.67 mg/100 g ve kapalı kazan yönteminde ise 843.00 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Glisin amino asitini her iki yöntem için de prolin amino asiti izlemektedir.

Açık kazan ve kapalı kazan yöntemiyle üretimde belirlenen toplam standart amino asit değeri sırasıyla 2207.64 mg/100 g ve 3308.12 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre kapalı kazan yönteminde yaklaşık 1.5 kat daha fazla standart amino asit tespit edilmiş olup bunun nedeninin sıcaklığın daha fazla olması ve yüksek basınç etkisinde kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Asit ilavesiz kontrol grubunda ve organik asitli kemik suyu numunelerinde de glisin amino asiti en yüksek değerde tespit edilmiştir. Kontrol, laktik asit ve sitrik asit çözültü kemik sularında glisin değerleri sırasıyla mg/100 g olarak 428.50, 1035.25 ve 665.75 olarak belirlenmiştir. Asit uygulama yönteminde de glisin amino asitinden sonra en yüksek belirlenen amino asit prolindir. Asit uygulamalarında belirlenen toplam standart amino asit değerleri kontrol, laktik asit ve sitrik asit çözültülerinde sırasıyla mg/100 g olarak 1709.18, 3975.75 ve 3593.75 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre organik asit ilavesinin toplam standart amino asit değerlerini yaklaşık 2-2.5 kat kadar artırdığı tespit edilmiş olup bu durumun asitin etkinliğinden kaynaklı kemiğin yapısında bulunan proteinleri daha fazla çözmesi sonucu olduğu düşünülmektedir.

Proteinler, yirmi çeşit amino asitten oluşmaktadır. Bu amino asitlerden izolösin, lösin, lisin, valin, fenilalanin, metiyonin, treonin, histidin ve triptofan çocuklar ve yetişkinler için esansiyel amino asitlerdir. Yapılan bu çalışmada açık kazan yöntemiyle üretilen kemik suyunda toplam esansiyel amino asit değeri mg/100 g olarak 473.94 belirlenmiş olup kapalı kazan yöntemiyle üretimde ise 713.79 mg/100 g tespit edilmiştir. Kapalı kazan yönteminin toplam esansiyel amino asit miktarını yaklaşık 1.5 kat artırdığı tespit edilmiştir. Asit uygulama işlemi değerlendirildiğinde ise kontrol numunesinde 358.19 mg/100 g olarak belirlenen toplam esansiyel amino asit miktarı laktik asit çözültü kemik suyunda 940.25 mg/100 g ve sitrik asit çözültü kemik suyunda ise 483.00 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Laktik asitin toplam esansiyel amino asiti belirgin farkla yaklaşık 2.5 kat artırdığı görülmüştür.

Hidroksiprolin kolajeni oluşturan amino asitler içerisinde yer alan bağ dokuya özgü bir amino asittir. Bu nedenle hidroksiprolin tayini değerleri kolajen proteini miktarıyla ilgili bilgi sahibi olmamızı sağlamaktadır.

Hidroksiprolin analiz sonuçlarına göre pişirme yöntemleri karşılaştırıldığında kapalı kazan yöntemiyle üretimde yaklaşık 1.5 kat artış görülürken asit uygulamalarında ise yaklaşık 1-1.5 kat artış olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmayla kemik suyunun bileşim özelliklerine pişirme yönteminin ve organik asit kullanımının önemli bir etkisinin olduğu görülmüştür. Ayrıca kemik suyunun başta anti-inflamatuvar özelliklere sahip esansiyel amino asitler olmak üzere amino asitler açısından zengin bir besin olduğu belirlenmiştir. Bu özelliklere sahip olsada hayvansal proteinlere kıyasla önemli ölçüde daha iyi bir kaynak olmadığı anlaşılmaktadır. Mineral maddelerden ise özellikle kalsiyum ve fosfor kaynağı olduğu görülmüştür. Kemik suyunun üretiminde ve besin içeriğinin değerlendirilmesinde araştırılması gereken pek çok nokta bulunmaktadır. Çalışmaların artarak devam etmesi kemik suyunun bileşim özelliklerinin daha fazla bilinmesine yardımcı olacaktır. Ayrıca kemik suyunun üretiminin yaygınlaştırılması et endüstrisinde önemli bir yan ürün olan ilikli kemiklerin değerlendirilmesi açısından önemli olup ülke ekonomisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Alcock R.D., Shaw G.C. and Burke L.M. (2018). Bone Broth Unlikely to Provide Reliable Concentrations of Collagen Precursors Compared to Supplemental Sources of Collagen Used in Collagen Research. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism. <https://doi.org/10.1123/ijsnem.2018-0139>
- Aljumaily M.A. (2011). The Effect of Concentrated Bone Broth as a Dietary Supplementation on Bone Healing in Rabbits. Annals of the College of Medicine, Mosul 2011; 37:42-47.
- Anonymous (2001). Preparation of bone stock, Retrieved Jan 12, 2020, from <https://meatupdate.csiro.au/infosheets/Preparation%20of%20Bone%20Stock.pdf>
- Anonim (2010). Gıdalarda Gravimetrik Analizler 2. Milli Eğitim Bakanlığı Gıda Teknolojisi, 43 syf.
- Anonim (2011). Gıdalarda Nem ve Kuru Madde Tayini. Milli Eğitim Bakanlığı Gıda Teknolojisi, 29 syf .
- Anonim (2015). Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlığı. Hayvanlarda Hareket Sistemi. Erişim: 20 Eylül 2021, http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller/Hayvanlarda%20Hareket%20sistemi.pdf
- Anonim (2022). Kemik Dokusu. Erişim: 10 Mart 2022, <https://veteriner.erciyes.edu.tr/Uploads/files/kemik%20doku.pdf>
- AOAC (2010). Official Methods of Analysis. Association of Association Official Analytical Chemists, Washington DC.
- Apriyanto A. (1989). Analisa Pangan. Bogor : Institut Pertanian Bogor Press.
- Ata, Ö. ve Tavman, Ş. (2019). Comparison of Collagen Extraction Methods. Gıda 2019; 44 (3): 383-395.
- Aydın, F.M. (2019). Fındık Zarının Et Emülsiyonlarının Özellikleri Üzerine Etkisi ve Sosis Üretiminde Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Samsun.
- Aykın, E. ve Erbaş, M. (2016). Farklı Kaynaklardan Üretilen Jelatinin Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. GIDA 41 (3): 179-186.
- Bednars B., Jaxa-Chamiec T., Maciejewski P., Szpajer M., Janik K., Gniot J., Kawka-Urbanek T., Drozdowska D., Gessek J. and Laskowski H. (2005). Efficacy and safety of oral L-arginine in acute myocardial infarction. Results of the multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled ARAMI pilot trial. Kardiol Pol. 2005;62:421-7.
- Besler, H.T., Rakıcıoğlu, N., Ayaz, A., Demirel, Z., Özel, H., Samur, G., Yıldız, E., Bilgiç, P., Dikmen, D., Göktaş, Z., Kızıl, M., Ünal, R., Fisunoğlu, M., Güleç, A., Ede, G., Erçim, R., Kabasakal, A., Yılmaz, D., Yürük, A. (2015). Türkiye'ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara. Erişim: 15 Mayıs 2021, <http://tekinakpolat.com/wpcontent/uploads/2017/12/turkiye-beslenme-rehberi.pdf>
- Boran, G. (2011). Bir Gıda Katkısı Olarak Jelatin: Yapısı, Özellikleri, Üretimi, Kullanımı ve Kalitesi. Gıda (2011) 36 (2): 97-104.
- Buckwalter, J.A., Glimcher, M.J., Cooper, R.R., Recker, R. (2010). Bone biology. J Bone Joint Surg Am. 77:1256-1275.

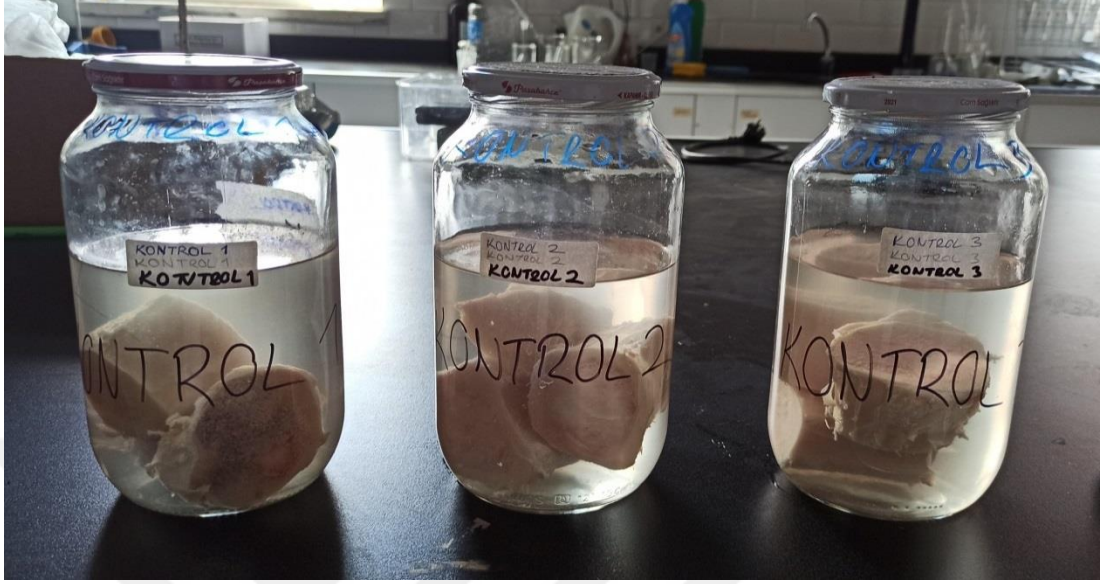
- Chimegee, N. and Dashmaa, D., (2018). The Daily Value of Micronutrients in NewlyProducedBeefandHorseConcentrated Bone Broths. Mong.J.Agric.Sci. (2018) Vol.23 (01).
- Coşkun, A. (2013). Kolajen Gençliğe Giden Yol Ondan Geçiyor. Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Bilim ve Teknik, s: 60-63, Mart 2013.
- Çelikyurt G. ve Arıcı M. (2008). Gıda koruyucusu olarak mikrobiyel kaynaklı organik asitler ve önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi 21-23 Mayıs, Erzurum.
- Damm, M., Holzer M., Radspieler, G., Marsche, G. and Kappe, O. (2010). Microwave-assisted high-throughput acid hydrolysis in silicon carbide microtiter platforms. A rapid and low volume sample preparation technique for total amino acid analysis in proteins and peptides. Journal of Chromatography A, 1217 (2010) 7826–7832.
- Dedetaş, N. (2016). Sporopollenin Ekzin Kapsül ile Balık Yağı Enkapsülasyonuna Ultrases Teknolojisinin Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, İstanbul.
- Erge, A. ve Zorba, Ö. (2016). Jelatin ve Fizikokimyasal Özellikleri. Akademik Gıda 14(4) (2016) 431-440.
- Forrest, JCED., Aberle, H.B. Hendrik H.B., Judge M.D. and Merkel RA. (1975). Principles of Meat Science. WH. Freeman and Co. San Frasco, USA.
- Gómez-Guillén, M.C., Ihl M., Bifani V., Silva, A. And Montero, P. (2007). Edible Films Made from TunaFish Gelatin with Antioxidant Extracts of Two Different Murta Ecotypes Leaves (*Ugni molinae*). Food Hydrocolloid, 2007; 21, 1133-1143.
- Gökalg, H.Y., Nas, S. ve Certel, M. (2002). Biyokimya-I “Temel Yapılar ve Kavramlar” (Üçüncü Baskı). Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 001, Denizli.
- Grieger, L., RDN., CDE., CPT. and CHWC. (2018). Does Bone Broth Live Up to the Hype? Health Connection. October 2018.
- Gül, M. ve Tekce, E., (2017). Organik Asitler: Organik Asitler ve Hayvan Beslemede Kullanım Alanları. Türkiye Klinikleri, J Anim Nutr&Nutr Dis-Special Topics, 3 (1): 57-63
- Güven, Ş. (2021). Tam Yağlı Süte Organik Asit, Bitkisel Ekstrakt ve Prebiyotik Karışımı İlave Edilmesinin Süt Emme Dönemindeki Siyah Alaca Buzağılarda Performans, Dışkı ve Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Hatay.
- Hadjidakis, D. J. and Androulakis I.I. (2006). Bone Remodeling. Annals New York Academy of Sciences. 2016; 1092: 385–396.
- Hazıroğlu, R.M., Çakır, A., Yıldız, B., Yıldız, H., Oto, Ç., Orhan, İ.Ö. ve Ekim, O. (2019). TemelVeterinerAnatomi. Erişim: 13 Ocak 2022, <https://ets.anadolu.edu.tr/storage/nfs/LBV101U/ebook/LBV101U-11V1S1-10-0-1-SV1-ebook.pdf>
- Hsua, D.J., Leea, C.W., Tsaib, W.C. and Chienc, Y.C. (2017). Essential and Toxic Metals in Animal Bone Broths.Food & Nutrition Research, Vol. 61, 1347478.
- İlyasoğlu, H. (2002). Et Ürünlerinde Hidroksiprolin Tayini Metotlarının Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği, İstanbul.
- İnceer, N. (2017). Sığırlarda Uzun Kemik Kırıklarının Etiyolojisi ve Sağaltım Yöntemlerinin Etkinliği Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahi Yüksek Lisans Programı, Aydın.

- İnsal, B. ve Pişkin, İ. (2017). Kemik Dokusunun Fizyolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı. Etlik Veteriner Mikrobiyol Dergisi, 2017; 28 (1): 28-32, Ankara.
- Kara, Y. (2017). Püskürtmeli Kurutma Yöntemi ile Kemik Suyu Tozu Üretimi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli.
- Ket, S., Huang, Y., Decker, E.A., Hultin, H.O. (2009). Impact of citric on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle. *E-journal Meat Sci.* 82: 113-118.
- Kim, B.S., Kim, G. W., and Jae-Yong Shim, J.Y. (2014). Influence of Process Conditions on the Quality Characteristics of Beef-Bone Broth. *Food Engineering Progress*. Vol. 18, No. 1. pp. 15~19 (2014.02).
- Kini, U. and Nandeesh, B.N. (2012). Physiology of Bone Formation, Remodeling, And Metabolism. Fogelman I. et al. eds. *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging*. Springer Press. Berlin-Heidelberg pp.30-55.
- Kuban, B. (2019). Tavuk Ayaklarından Kolajen ve Glikozaminoglikanların Ekstraksiyonu ve Kemik Suyu İçinde Kullanımının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- Mar-Solís, L.M., Soto-Domínguez, A., Rodríguez-Tovar, L.E., Rodríguez-Rocha, H., García-García, A., Aguirre-Arzola, V.E., Zamora-Ávila, D.E., Garza-Arredondo, A.J. and Castillo Velázquez, U. (2021). Analysis of the Anti-Inflammatory Capacity of Bone Broth in a Murine Model of Ulcerative Colitis. *Medicina* 2021, 57, 1138. <https://doi.org/10.3390/medicina57111138>
- Murakami, H.; Shimbo, K.; Inoue, Y.; Takino, Y.; Kobayashi, H. (2012). *Amino Acids*, 42, 2481-9.
- Moon, S.H., Kim, J., Hwang, K.T. and Cha, Y.B. (2015). Physicochemical and Sensory Characteristics of Beef-Bone Broths Prepared under Atmospheric Pressure and Overpressure. *Korean Journal of Food Science and Technology* Vol. 47, No. 6, pp. 725-732.
- Nafie, L., Sipahelut, G.M. And Armadio, H. (2021). Pengaruh Level Cuka Lontar pada Pembuatan Kaldu Tulang Sapi Coklat (*Brown Broth*) terhadap Kualitas Fisiko Kimia dan Organoleptik. *Jurnal Peternakan Lahan Kering* Volume 3 No. 1 (Maret 2021), 1324-1333 ISSN :2714-7878.
- Onar, V. ve Armutak, E.İ. (2022). Temel Anatomi ve Histoloji Bilgisi. İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi, Ön Lisans Programı. http://auzefkitap.istanbul.edu.tr/kitap/laborantveveterinersaglik_ao/tahistoloji.pdf. Erişim Tarihi: 24 Haziran 2022.
- Öziş, G. (2014). Bazı Organik Asit ve Tuzlarının Fermente Sucuğun Bazı Özellikleri Üzerindeki Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bolu.
- Özkavukcu, S. (2020). Kemik İliği Yapısı Miyeloretiküler Bağ Dokusu. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/83800/mod_resource/content/0/Kemik%20ili%C4%9Fi%20yap%C4%B1s%C4%B1.pdf. Erişim: 22 Mayıs 2021.
- Poulsen, C.L.N., Clausen, M.R., Gregersen, S.B. and Bertram, H.C. (2019). Effect of Long-Term Heat Exposure on Rheological and Intrinsic Water Characteristics of Bone-Derived Beef Stocks. *Magn Reson Chem.* 2019; 57:700-706.

- Pratama, R.I., Lana, A.P., Rostini, I. and Rizal, A., (2019). Composition of Volatile Flavor Compounds from Mackerel Head Broth and Mackerel Bone Broth, *Scomberomorus Commerson* (Lacepède, 1800). *World News of Natural Sciences* 25 (2019) 199-219.
- Reece, William O. and Rowe, Eric W. (2017). *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. Emeritus Department of Biomedical Sciences College of Veterinary Medicine Iowa State University of Science and Technology. Fifth edition. USA.
- Samur, G. (2008). Vitaminler, Mineraller ve Sağlığımız. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Şubat 2008 Ankara. file:///C:/Users/MERYEM%20DUMAN/Downloads/_Ekutuphane_kitaplar_B%202.pdf
- Salgado, A.J., Coutinho, O.P. and Reis, R.L. (2004). Bone tissue engineering: State of the art and future trends, *Macromolecular Biosciences*, 4, 743-765, 2004.
- Shaw, M.H. and Flynn, N.E. (2019). Amino Acid Content of Beef, Chicken and Turkey Bone Broth. *Journal of Undergraduate Chemistry Research*, 2019, 18(4), 15.
- TÜİK. (2022). Türkiye İstatistik Kurumu resmi web sitesi, Hayvancılık istatistikleri. URL: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kirmizi-Et-Uretim-Istatistikleri-2020-2021-45671>
- William OR. (2009). *Functional anatomy and physiology of domestic animals*. Fourth edition. p. 179-198.
- Wu, L.R. and Tan, F.J. (2007). Preparation And Qualities of Autoclaved Goose Bone Broth During Refrigerated Storage. Department of Animal Science, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan, 91201, ROC.
- Yoon, J.Y., Choi, S., Jeong, H.S., Park, Y.I., Kim, D. and Joo, N. (2015). A Comparative Study on Quality and Physicochemical Characteristics of Segmental Bone Korean Beef Broth. *Korean J. Food Nutr.* Vol. 28. No. 3, 470~477 (2015) <http://dx.doi.org/10.9799/ksfan.2015.28.3.470>

EKLER

(Ek-1) Otoklavda Kontrol Numunesinin Üretimi



(Ek-2) Otoklavda Sitrik Asitli Numunenin Üretimi



(Ek-3) Otoklavda Laktik Asitli Numunenin Üretimi



(Ek-4) Açık Kazan Yöntemiyle Kontrol, Sitrik Asitli ve Laktik Asitli Numunelerin Üretimi



ÖZ GEÇMİŞ

Meryem DUMAN, Trabzon/Sürmene Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi’nden 2017 yılında mezun oldu. 2019 yılında OMÜ LEE Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans programına girdi. Orta/iyi derecede İngilizce bilmektedir. 2020 yılından itibaren Altınordu İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü’nde gıda mühendisi olarak görev yapmaktadır.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : [0000-0002-1315-1380](https://orcid.org/0000-0002-1315-1380)

Yayınlar:

1. Duman, M. ve Gençcelep, H. (2021). Kemik Suyu Üretimi ve Sağlık Üzerine Etkileri. 3. Uluslararası Tarım ve Gıda Etiği Kongresi, Online/Çevrimiçi (Sözlü Bildiri).

