



**T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HATAY BÖLGESİNDE ÜRETİLEN SÜT ÜRÜNLERİNİN
K2 VİTAMİNİ İÇERİKLERİNİN SAPTANMASI**

MUSTAFA ÇÖMEZ

**KİMYA ANABİLİMDALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY
AĞUSTOS-2021**



T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HATAY BÖLGESİNDE ÜRETİLEN SÜT ÜRÜNLERİNİN
K2 VİTAMİNİ İÇERİKLERİNİN SAPTANMASI

Mustafa ÇÖMEZ
ORCID: 0000-0002-0550-6276

KİMYA ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Şana SUNGUR
ORCID: 0000-0001-7370-8972

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
AĞUSTOS-2021

11.08.2021

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

İmzası

Mustafa ÇÖMEZ

ÖZET

HATAY BÖLGESİNDE ÜRETİLEN SÜT ÜRÜNLERİNİN K2 VİTAMİNİ İÇERİKLERİNİN SAPTANMASI

K vitamini, eskiden sadece pıhtılaşma faktörlerinin üretiminde rol oynayan bir vitamin olarak bilindiği ve eksikliğine de nadiren rastlanıldığı için ihmal edilen bir vitamin olmuştur. Bununla birlikte, son araştırmalar, özellikle K2 vitamininin sağlıklı kemik oluşumunda, kemik erimesini önlemede, kalp sağlığını korumada ve hatta akciğer, karaciğer ve prostat gibi çeşitli kanserlere karşı koruyucu etki göstermede önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Daha da önemlisi, araştırmalar K2 vitamininin tüm dünyayı etkileyerek toplu ölümlere neden olan COVID-19 üzerinde bile etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada peynir, süt, yoğurt, yumurta, kefir, tereyağı ve margarin gibi çeşitli süt ürünlerinin K2 vitamini içeriği yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlenmiştir. En yüksek toplam K2 vitamini içerikleri sıkma (503.40 ng g^{-1}), testi (487.94 ng g^{-1}) ve ezme (439.19 ng g^{-1}) peynirlerinde tespit edilmiştir. Ayrıca peynirlerin K2 vitamini içeriğini artırmak için optimum koşullar belirlenmiştir.

2021, 48 sayfa

Anahtar Kelimeler: K2 vitamini, menakinon, süt ürünleri, peynir, HPLC

ABSTRACT

DETERMINATION OF VITAMIN K2 CONTENT OF DAIRY PRODUCTS PRODUCED IN HATAY REGION

In the past, vitamin K was only known as a vitamin that plays a role in the production of coagulation factors and has been a neglected vitamin because its deficiency was rarely encountered. However, recent studies have shown that vitamin K2 plays an important role in building healthy bones, preventing bone resorption, protecting heart health, and even having a protective effect against various cancers such as lung, liver and prostate. More importantly, studies have shown that vitamin K2 is effective even on COVID-19, which causes mass deaths by affecting the whole world. In this study, vitamin K2 content of dairy products such as cheese, milk, yogurt, eggs, kefir, butter and margarine was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The highest total vitamin K2 contents were found in weave (503.40 ng g⁻¹), cara (487.94 ng g⁻¹) and crushing (439.19 ng g⁻¹) cheese. Then, optimum conditions were determined to increase the vitamin K2 content of cheeses.

2021, 48 pages

Keywords: Vitamin K2, menaquinones, dairy products, cheeses, HPLC

TEŞEKÜRLER

Mesleki ve akademik hayatımda önemli kararlar almam gerektiğinde sürekli yanımda olan ve varlığı ile benim için önemli bir rol model oluşturan, gerek doktora tez konumunun belirlenmesinde gerek araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmalarına ışık tutan ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. ŞANA SUNGUR'A sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince, tüm laboratuvar çalışmalarında her türlü yardımını esirgemeyen MUAZ KÖROĞLU ve ZEKİ AYDIN' a çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak yanımda bulunan ve beni destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKÜRLER	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Vitamin Kaynakları ve Fonksiyonları	1
1.2. K Vitamini	10
1.2.1. K vitaminin Keşfi	10
1.2.2. Etki mekanizması	10
1.2.3. K vitamini Yetersizliği	11
1.2.4. K vitamini günlük gereksinimi	12
1.2.5. K vitamininin Sağlığa Etkisi	12
1.3. Peynir Teknolojisi	14
1.4. Hatay Bölgesinde Tüketilen Peynir Türleri	16
1.5. Sütü Pıhtılaştırıcı Enzimler	20
1.5.1. Hayvansal Kaynaklı Pıhtılaştırıcılar	20
1.5.2. Bitkisel Kaynaklı Pıhtılaştırıcılar	21
1.5.3. Mikrobiyal Pıhtılaştırıcılar	22
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Materyal	27
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	27
3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	28
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Örneklerin Temin Edilmesi	28
3.2.2. Peynir Üretimi	29
3.2.3. Gıdaların Ekstraksiyonu	29
3.2.4. Kalibrasyon Doğrularının Oluşturulması	30
3.2.5. Gözlenebilme Sınırı (LOD), Belirlenebilme Sınırının (LOQ) ve Geri Kazanım Yüzdesinin Belirlenmesi	30
3.2.6. MK-4 ve MK-7 Analizi	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TAŞIŞMA	32
4.1. MK-4 ve MK-7'ye Ait Kalibrasyon grafiği	32
4.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD), Belirlenebilme Sınırı (LOQ), Geri Kazanım Yüzdesi, MK-4 ve MK-7 Piklerinin Alıkonma Sürelerinin Belirlenmesi	33
4.3. Peynir Örneklerinin Ekstraksiyon Sonuçlarının Karşılaştırılması	34
4.4. Numunelerdeki MK-4 ve MK-7 Miktarlarının Belirlenmesi ile ilgili Tartışmalar	35
4.5. Süt Pıhtılaştırıcı Enzimlerin Peynirlerin K2 Vitamini İçeriği Üzerine Etkisi ..	37
4.6. Fermantasyon Süresinin Peynirlerin K2 Vitamini İçeriği Üzerine Etkisi	38
4.7. Bekletilme Süresinin Peynirlerin K2 Vitamini İçeriği Üzerine Etkisi	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	41

KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	47



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. A Vitamini.....	2
Şekil 1.2. B1 Vitamini.....	3
Şekil 1.3. B2 Vitamini.....	3
Şekil 1.4. B3 Vitamini.....	4
Şekil 1.5. B5 Vitamini.....	5
Şekil 1.6. B6 Vitamini.....	5
Şekil 1.7. B7 Vitamini.....	6
Şekil 1.8. B9 Vitamini.....	6
Şekil 1.9. B12 Vitamini.....	7
Şekil 1.10. C Vitamini.....	8
Şekil 1.11. D Vitamini.....	8
Şekil 1.12. E Vitamini.....	9
Şekil 1.13. K Vitamini Formları.....	10
Şekil 4.1. MK-4'e ait kalibrasyon doğrusu.....	32
Şekil 4.2. MK-7'ye ait kalibrasyon doğrusu.....	33
Şekil 4.3. MK-4 ve MK-7'ye ait pikler.....	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Vitaminlerin sınıflandırılması.....	1
Çizelge 1.2. Yaş aralıklarına göre tavsiye edilen günlük K vitamini miktarı.....	12
Çizelge 1.3. Bitkisel kaynaklı süt pıhtılaştırıcıları.....	21
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve katalog numaraları.....	27
Çizelge 3.2. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar.....	28
Çizelge 4.1. MK-4 ve MK-7'ye ait LOD, LOQ değerleri ve alıkonma süreleri.....	33
Çizelge 4.2. Peynir örneklerinin ekstraksiyon sonuçlarının karşılaştırılması.....	34
Çizelge 4.3. Süt ve süt ürünlerinin MK-4, MK-7 ve toplam K2 vitamini içerikleri. 35	
Çizelge 4.4. Farklı süt pıhtılaştırıcı enzimlerle fermente edilmiş peynirlerin K2 vitamini içerikleri.....	37
Çizelge 4.5. Farklı sürelerde fermente edilen peynirlerin K2 vitamini içeriği.....	39
Çizelge 4.6. Bekletilme süresinin peynirlerin K2 vitamini içeriği üzerine etkisi.....	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	Derece (Celsius)
µg	Mikrogram
Ca	Kalsiyum
mg	Miligram
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
Na ₂ SO ₄	Sodyum sülfat

KISALTMALAR

UVA	Ultraviyole Işını A
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FAD	Flavin Adenin Dinükleotit
FMN	Flavin Mono nükleotit
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

1. GİRİŞ

Vitaminler gıdalar içerisinde doğal olarak bulunan, büyük çoğunluğu ile dış kaynaklı, vücudumuzun metabolik faaliyetlerinde düzenleyici olarak görev alan organik bileşiklerdir. Protein, karbonhidrat ve yağlara nazaran vücudun vitamin ihtiyacı çok daha azdır. Vitaminler her ne kadar vücudun enerji ihtiyacını karşılamasalar da enerji sağlayan birçok mekanizmada görev alırlar. Genellikle ısıcağa ve soğuğa dayanıklı bileşiklerdir. Vitaminler yapılarına göre değil biyolojik ve kimyasal aktivitelerine göre sınıflandırılırlar (Samur, 2008).

Vitaminler suda çözünenler ve yağda çözünenler olmak üzere iki gruba ayrılır. Sudaki çözünürlüklerindeki farklılıklardan dolayı, bazı temel biyolojik özelliklerde de farklılıklar gösterirler. Suda çözünen vitaminler vücutta yeterince depolanmaz ve fazla alındıklarında idrarla atılırlar. Yağda çözünen vitaminler ise vücutta depolanır ve fazla alındıklarında (özellikle de A ve D vitaminleri) vücutta birikir ve “hipervitaminoz” adı verilen vitamin fazlalığına yol açabilirler (Friedrich, 2013).

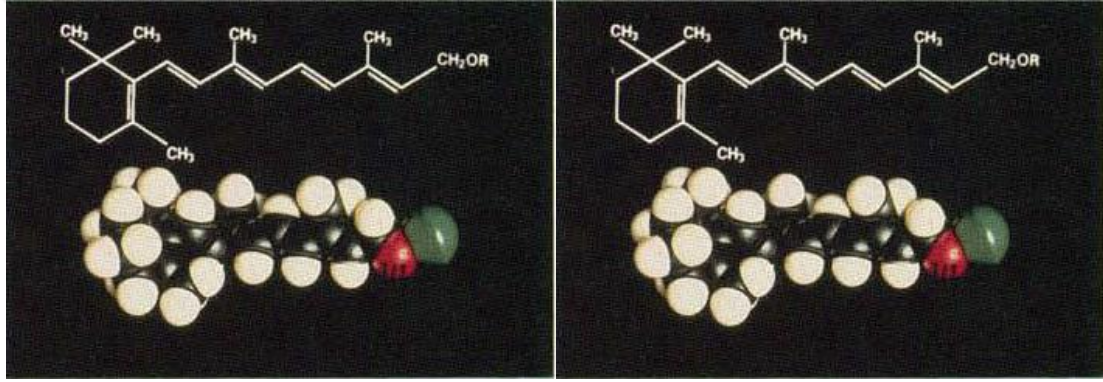
Çizelge 1.1.Vitaminlerin sınıflandırılması

Yağda çözünenler	Suda çözünenler
A vitamini	Tiamin (B1)
D vitamini	Riboflavin (B2)
E vitamini	Niasin (B3)
K vitamini	Pantetonik asit (B5)
	Pridoksin (B6)
	Biyotin (B7)
	Folik asit (B9)
	Kobalamin (B12)
	C vitamini (askorbik asit)

1.1.Vitamin Kaynakları ve Fonksiyonları

A vitamini (Retinol): Karaciğerde depolanan ve yağda çözünen bir vitamindir. Besinlerde iki tip A vitamini bulunur. Birincisi retinol adı ile de bilinir ve et, balık, kümes hayvanları, süt ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdalarda bulunur. İkincisi provitamin A

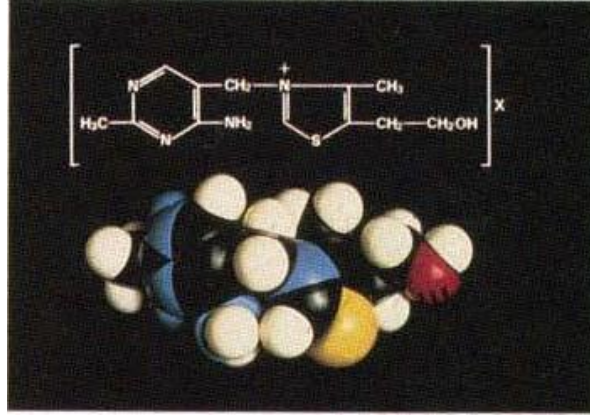
olarak bilinir ve meyve, sebze gibi bitkisel gıdalarda bulunur. A vitamini görme açısından önemlidir. Dişlerin, kemiklerin, yumuşak dokuların sağlıklı bir şekilde korunmasında, cilt güzelliğinin sağlanmasında ve mukus zarlarının düzenlenmesinde rol oynar. Doğal olarak tereyağı, yumurta sarısı, alabalık, ciğer, balık yağında bulunur. Provitamin A ise, balkabağı, brokoli, havuç, ıspanak, karalâhana, maydanoz ve kırmızıbiberde bulunur. Günlük ihtiyaçlar retinol eşdeğeri olarak 0-12 aylık bebeklerde 375 µg, 1-3 yaş grubu çocukta 400 µg, 7-10 yaş grubu çocukta 700 µg, 11-14 yaş grubu çocukta 800 µg, 15-18 yaş grubu çocukta 1000 µg, yetişkin erkeklerde 1000 µg, kadınlarda 800 µg'dır. Eksikliğinde gece körlüğü, korneada sertleşme ve büyümede durma görülür (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.1. A Vitamini

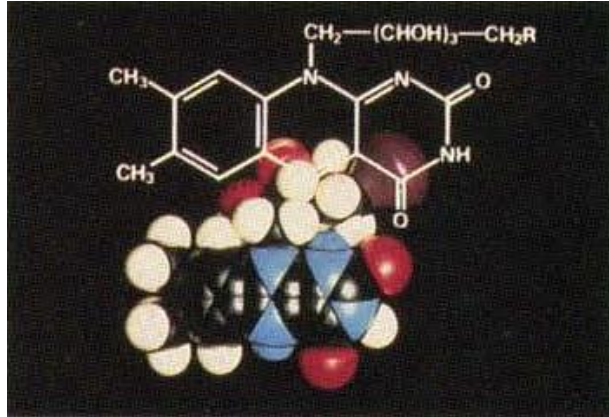
Provitamin A

B1 vitamini (Tiamin): İlk bulunan B vitamini olması nedeniyle B1 olarak adlandırılmıştır. Enerji üretiminde görevli metabolik döngüde kilit rol oynar. Karbonhidratların sindirimini kolaylaştırır. Sinir sistemini düzenler. Vücudumuzdaki dokuların sağlıklı olarak büyümesinde yardımcı olur. Karaciğer, et, süt, ceviz, fındık ve kuru baklagillerde bol miktarda bulunur. Vücutta depolanmadığı için günlük olarak yiyeceklerle alınması gerekir ve her 1000 kalori için kişinin 0.4 mg B1 vitamini alması gerekir. Eksikliğinde Beriberi hastalığı oluşur. Merkezi ve prifer sinir sistemi ve kalp fonksiyonlarında, dolaşım sisteminde, gastrointestinal sistemde bozukluklar oluşur (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.2. B1 Vitamini

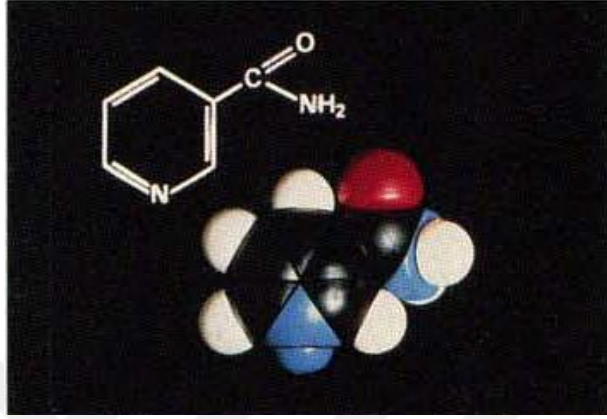
B2 vitamini (Riboflavin): Enerji metabolizmasında görev alan flavin adenin dinükleotit (FAD) ve flavin mono nükleotit (FMN) enzimlerinin yapısında görev alır. Glutatyonların yenilenmesinde rol oynar. A vitamini ile birlikte çalışarak organ sağlığının korunmasında yardımcı olur. Karaciğer, badem, pirinç, bira mayası ve mantarda doğal olarak bol miktarda vardır. Riboflavin için önerilen doz erkeler için 1.7 mg, bayanlar için ise 1.3 mg'dır. Eksikliğinde korneada yangı, göz bebeğinde bulanıklık, ağız ve bağırsak mukozasında yarılma görülür (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.3. B2 Vitamini

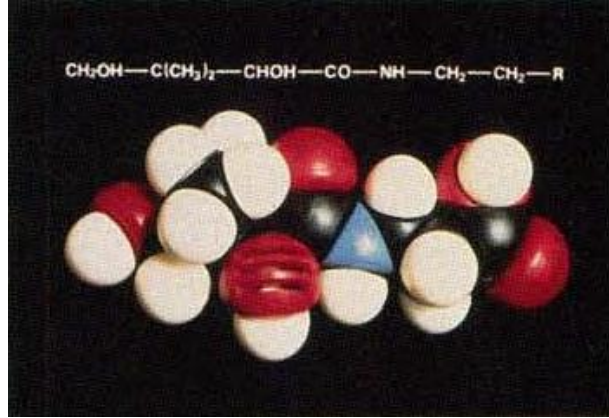
B3 vitamini (Niasin): Kandaki yüksek kolesterolü düşürerek yüksek kan basıncını düzenler. Dil, deri ve sindirim sisteminin sağlıklı kalmasını sağlar. Niasin, vücutta 50'den fazla kimyasal reaksiyonda görev alan nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP)'nin yapısında bulunmaktadır.

Karaciğer, yumurta, balık ve yer fıstığı niasin bakımından zengindir. Günde en az 15-20 mg niasin alınması önerilmektedir. Eksikliğinde deride ve mide-bağırsak sisteminde hastalıklar oluşabilir. B3 vitamini eksikliği çok sık görülmemektedir (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



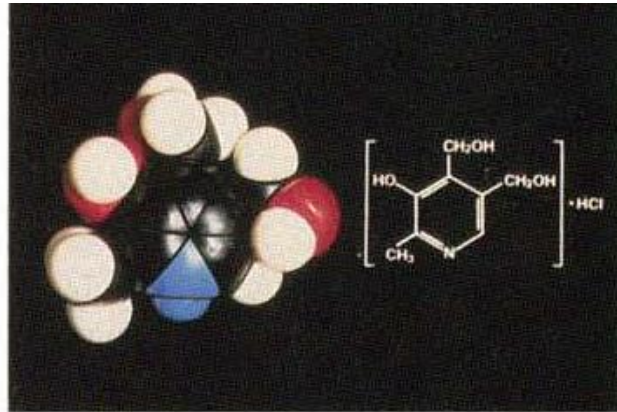
Şekil 1.4. B3 Vitamini

B5 vitamini (Pantetonik asit): Hücre çoğalmasını ve merkezi sinir sisteminin gelişmesini sağlar. Ciltteki glutatyon oranını artırır. Glutatyon, cildi UVA ışınları, hava kirliliği gibi çevresel faktörlerden koruyan güçlü bir antioksidandır. Bu sayede ciltte yaşlılık etkileri ve kırışıklar azalır, cilt bariyeri güçlenir ve cilt kendini daha hızlı bir sürede onarır. Antistres özelliği sayesinde ruhsal sağlık açısından önemlidir. Sindirim sisteminin işleyişine katkı sağlar. Sakatat, tavuk, yumurta ve kırmızı ette bulunur. Günlük 6-10 mg arasında alınması gerekir. Eksikliğinde yorgunluk, depresyon, sinirlilik, uyku bozukluğu, mide ağrıları görülebilir. B5 vitamini eksikliği de çok sık görülmemektedir (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.5. B5 Vitamini

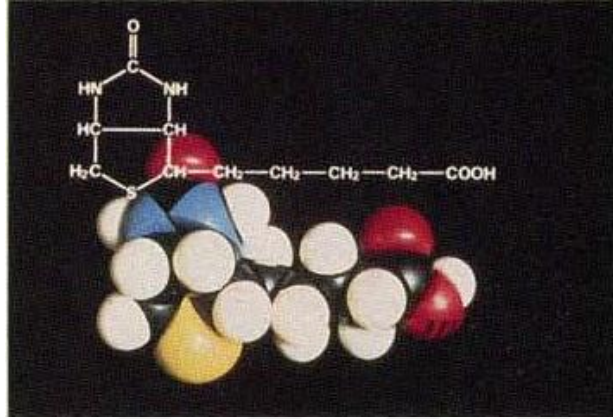
B6 vitamini (Piridoksin): Doku, protein ve aminoasitlerin yıkımında ve yapımında gereklidir. Vücuttaki sodyum ve fosforun dengelenmesinde görev alır. Hormonal dengenin sağlanmasında ve immün sistem fonksiyonlarının düzenlenmesinde de rol oynar. İnsan vücudundaki 60'dan fazla enzimin çalışması için B6 vitaminine ihtiyaç vardır. Tahıllar, baklagiller, kabuklu yemişler, muz, patates, karnabaharda bol miktarda bulunur. Günlük duyulan ihtiyaç 1.5-2 mg arasındadır. Eksikliğinde kramplar, büyümede yetersizlik ve kansızlık oluşabilir (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.6. B6 Vitamini

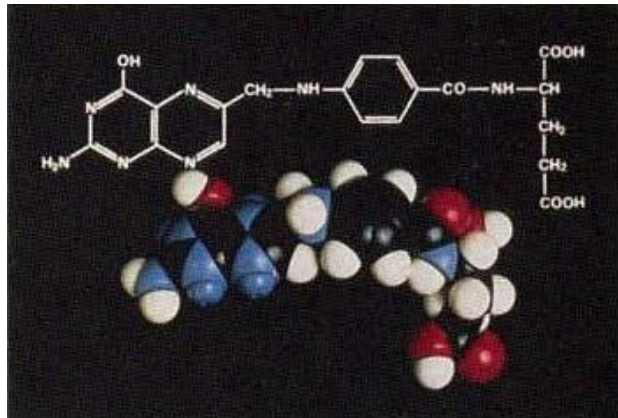
B7 vitamini (Biyotin): Vücutta yağ asitleri, aminoasitler, glikoz metabolizması için gereken bir koenzim gibi davranır. Biyotin en önemli fizyolojik görevi karboksilasyondur. Saç, tırnak ve saç sağlığının korunmasında önemli rol oynar. Karaciğer, maya, ceviz, badem, fındık, havuç, soğan, salatalık, karnabaharda bulunur.

Yetişkinlerin günde 20-30 µg alması önerilir. Eksikliğinde iştahsızlık, kas ağrıları, depresyon, kol ve bacaklarda cilt iltihapları görülebilir (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



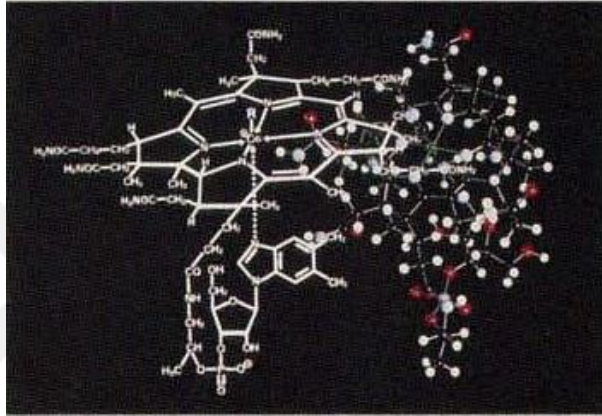
Şekil 1.7. B7 Vitamini

B9 vitamini (Folik asit): Aminoasitlerin birbirine dönüşmesinde, nükleik asitlerin yapımında ve özellikle yeni doğanlarda kırmızı kan hücrelerinin yapımı ve çoğalmasında etkilidir. Vücutta görev yapabilmesi için C vitaminine ihtiyaç vardır. Baklagiller, yeşil yapraklı sebzeler, maya ve tahıllarda bol miktarlarda bulunur. Günlük 400 µg alınması önerilmektedir. Eksikliğinde büyüme ve hücre bölünmesi olumsuz yönde etkilenir. Hemoglobin düzeyi düşer (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



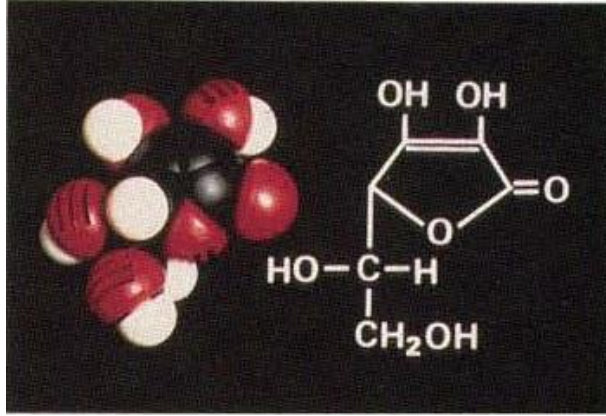
Şekil 1.8. B9 Vitamini

B12 vitamini (Kobalamin): Eritrosit yapımında kullanılır. Sinir hücreleri, alyuvarlar ve DNA'ların sağlığı için gereklidir. Folik asitle birlikte etki yaparlar. Tansiyonun dengelenmesi, kemik erimesinin önlenmesi, sarıgöz hastalığı riskinin azaltılması ve kolesterolün düşürülmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Sığır eti, süt, peynir, yumurta ve balıkta bulunur. Eksikliğinde sinir hücrelerinin fonksiyonları bozulur. Bu da his kaybı, ağrı, karıncalanma gibi nörolojik semptomlara yol açar (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.9. B12 Vitamini

C vitamini (Askorbik asit): İnsan vücudunun direncini artırır. Enfeksiyonlara ve soğuk algınlığına karşı koruyucudur. Kan yapımı için gerekli olan demir ve folik asidin kana geçmesine yardımcı olarak kansızlığı önler. Antioksidan bir vitamindir. Turunçgillerde, çilek, böğürtlen, kuşburnu, lahana, patates, ıspanak, marulda bulunur. Günde 75-90 mg C vitaminine ihtiyaç duyulur. Eksikliğinde skorbüt adı verilen diş etlerinde ve diğer organlarda kanamalarla kendini gösteren hastalık, yorgunluk, eklem ağrıları görülür (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.10. C Vitamini

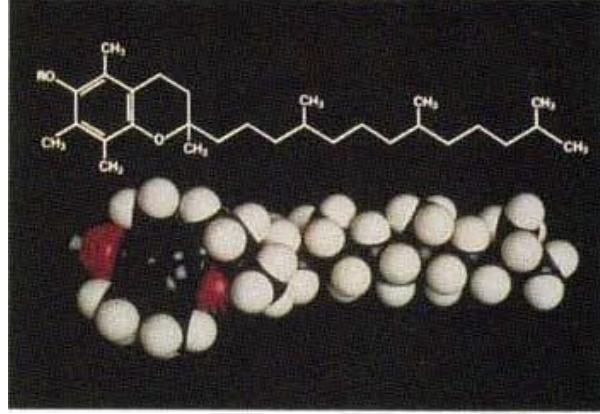
D vitamini: Güneş ışınlarına maruz kalınca aktif hale gelir. Kalsiyumun emiliminde ve kemiklerde depolanmasında görev alır ve kandaki fosfor ve kalsiyum düzeyini belirler. Balık, balık yağı, tereyağı, yumurta sarısı ve güneş ışınlarında bulunur. Günlük ihtiyaç 10 µg'dır. Eksikliğinde gençlerde raşitizm, yetişkinlerde ise osteomalasi adı verilen kemiklerde deformasyon oluşur. D vitamini suda çözünmediği için fazlası idrarla atılamaz. Bu yüzden de fazla almak da zararlıdır (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).



Şekil 1.11. D Vitamini

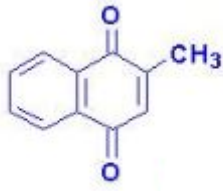
E vitamini (Tokoferol): Kandaki oksijeni alıp dokulara taşımak vasıtasıyla yorgunluğu önler. Antioksidandır ve hücre zarını korur. Kas ve sinir dokularının sağlıklı kalmasında rol alır. Damarlarda akışkanlığı sağlayarak damar tıkanıklığını önler. Bitkisel yağlar, margarin, yeşil bitkiler, süt, yumurta ve karaciğerde doğal olarak bulunur. Günlük ihtiyaç erkeklerde 10 mg, kadınlarda 8 mg, çocuklarda 3-10 mg arasındadır. Çok fazla

görülmemekle birlikte, eksikliğinde hücre metabolizması bozular (Ası, 1999; Samur, 2008; Friedrich, 2013).

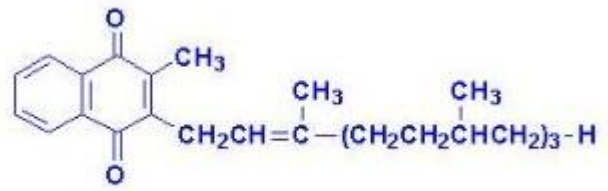


Şekil 1.12. E Vitamini

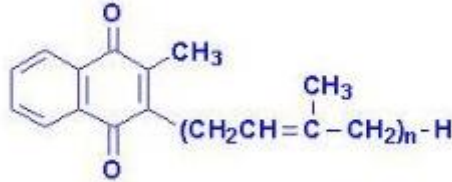
K Vitamini: Bütün K vitaminleri 2-metil-1,4 naftakinon (menadion) omurga yapısına sahiptir ve yağda çözünürler. Üçüncü karbon atomuna bağlı yan zincirin bileşimi bakımından farklılık gösterirler. Filokinon (2-metil-3-fetil-1,4naftokinon)K1 vitamini olarak isimlendirilir. Ispanak, karalahana, brokoli gibi koyu yeşil yapraklı sebzelerde ve soya, zeytin, kanola gibi bitkisel yağlarda bulunur (Finnan ve ark., 2017). K2 vitamini menakinon olarak adlandırılır. Fermente gıdalarda ve hayvansal ürünlerde bulunur (Hubicka ve ark., 2020). Menakinonlar MK-n ile ifade edilir, (n) izoprenoit yan zincirinin uzunluğunu belirler. MK-4 ile MK-13 arasında farklı formları bulunmaktadır. Menakinonlar mikrobiyal fermentasyonun bir sonucu olarak oluşmasına rağmen, MK-4 hayvan dokularında filokinon veya menadiondan dönüştürülebilir (Finnan ve ark., 2017).



Menadion



Filokinon (K1 vitamini)



Menakinon (K2 vitamini)

Şekil 1.13. K Vitamini Formları

1.2. K Vitamini

1.2.1. K vitaminin Keşfi

K vitamini Danimarkalı biyokimyacı Henrik Dam'ın kolesterol üzerine yaptığı deneysel çalışmalar sonucunda keşfedilmiştir. Suni diyetle beslenen civcivlerin bağırsaklarında, deri altında ve beyinlerinde kanamalar olduğunu ve kanın pıhtılaşma süresinin uzadığını tespit etmiştir. Saf kolesterol vererek kanamayı durdurmak istemiş ama durduramamış ve bu iç kanamaların beslenmeye bağlı olmadığını açıklamıştır. 1943 yılında gıdalarda kolesterolün yanında kanamayı durduran başka bir madde daha olduğuna karar vererek bu maddeyi izole etmiştir. 1943 yılında Edward Adelbert Doisy ile birlikte K vitamini keşiflerinden dolayı Nobel Fizik ödülünü kazanmıştır.

1.2.2. Etki mekanizması

Yağda çözünen vitaminler grubunda yer alan K vitamini, safra tuzu ve pankreatik lipaz varlığında mide-bağırsak sisteminden absorblanmaktadır. Sonrasında akciğer, dalak

ve karaciğere ulaşmakta ancak vücutta uzun süre kalmamaktadır. Bununla birlikte, K vitamini birçok biyokimyasal tepkimede kofaktör görevi yapmaktadır. Bunlardan en önemlisi karboksilasyon reaksiyonlarıdır. Karaciğerde sentezlenen proteinlerden FII, FVII, FIX, FX'in çalışabilmesi için yapılarında bulunan glutamik asit rezidülerinin karboksillenerek γ -karboksiglutamata dönüştürülmesi gerekmektedir. Karboksilasyon adı verilen, glutamik asidin γ -karboksiglutamata dönüşmesi olayı γ -glutamilkarboksilaz enzimi tarafından katalizlenmektedir. K vitamini ise bu enzimin kofaktörü olarak görev almaktadır. Bu olay sırasında K vitamininin indirgen formu (kinol) yükseltgenerek epoksit (kinon) formuna dönüşmektedir (Namıduru ve Tarakçıoğlu, 2011).

1.2.3. K vitamini Yetersizliği

K vitamini besinlerde yoğun olarak bulunduğu ve bağırsak florası tarafından üretildiğinden K vitamini yetersizliğine çok az rastlanır. Ancak bütün canlı organizmalarda K vitamini yetmezliğinin ana sebebi vücudun değişik bölgelerindeki kanamalar, pıhtılaşma zamanında artış ve düşük protrombin düzeyleridir. Besinlerde yeterli miktarlarda K vitamininin bulunmaması, bağırsak florasının düzenli olarak çalışmaması emilimdeki yetersizlikler karaciğer bozuklukları ve yağ absorbanslarının düşük olduğu yerlerde görülür. Bunların haricinde yeni doğan bebeklerde bağırsak florası tam gelişmediğinden K vitamini yetersizliği görülebilir ve kanamalar meydana gelebilir.

K vitamini yetersizliğinin görülebileceği durumlar;

- Çölyak hastalığı,
- Kan sulandırıcı ilaç kullanımı (varfarin, antibiyotikler, kumarin...vs),
- Karaciğer ve safra yollarında oluşabilecek hastalıklar,
- Kistikfibrozis,
- Yeni doğan bebekler,
- Anne sütündeki K vitamini yetersizliği.

1.2.4. K vitamini günlük gereksinimi

Hem yiyeceklerden hem de diğer kaynaklardan günlük alınması gereken K vitamini miktarı yaş gruplarına göre Çizelge 1.2’ de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. Yaş aralıklarına göre tavsiye edilen günlük K vitamini miktarı

Yaş aralığı	Tavsiye edilen doz (µg/kg)
0-6 ay	1
7-12 ay	10
1-3yaş	15
4-6yaş	20
7-10yaş	30
Adolesan kız	55
Adolesan erkek	65
Yetişkin kadın	55-65
Yetişkin erkek	70-80
Gebelik dönemi	65
Laktasyon dönemi	65

1.2.5. K vitamininin Sağlığa Etkisi

K vitamininin en yaygın olarak bilinen görevi kanın pıhtılaşmasını sağlamasıdır (Booth, 2009). Bununla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalar, kemik sağlığını güçlendirdiğini, kemik erimesini önlediğini ortaya koymuştur (Capozzi ve ark., 2020; Sato ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020). Ayrıca, K vitamininin inflamasyon ve kan lipidlerini düşürdüğünü, insülin direncini ve glikoz toleransını iyileştirdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Yoshida ve ark., 2008; Manna ve Kalita, 2016; Özdoğan ve ark., 2017).

Osteokalsin, K2 vitamini tarafından kontrol edilen kalsiyum düzenleyici bir proteindir. K vitamini varlığında osteokalsin normal kemik mineral bölümüne bağlanan osteokalsin karboksilasyon adı verilen bir işlem geçirmektedir. Ancak, K2 vitamini eksikliğinde, bu işlevi gerçekleştirememekte ve serbest kalsiyum kemik dokusundan atılmakta bu da osteoporoza yol açmaktadır.

Düzenli K2 kullanımının omurga kırıklarını % 60, kalça kırığını % 77 ve diğer kırıkları % 81 önlediği ortaya konmuştur (Cockayne ve ark., 2006). Kemik erimesi olan 241 hastaya günde 45 µg K2 vitamini verildiğinde kemik yoğunluğunun korunduğu görülmüştür (Shiraki ve ark., 2000). Günde 180 µg K2 vitamini alan kişiler üzerinde yapılan bir çalışmada, bel omurundaki yaşa bağlı kemik yoğunluğundaki azalmanın gerilediği saptanmıştır (Knapen ve ark., 2013). Düzenli K2 vitamini kullanımının, romatizmal eklem iltihabı hastalarında iltihabı azalttığı belirlenmiştir (Ebina ve ark., 2013; Xu ve ark., 2021).

Kalsiyum sağlık açısından gerekli olsa da, anormal kalsiyum metabolizması osteoporoz ve kalp damar hastalıklarına yol açabilmektedir. K2 vitamini vücutta kalsiyumu düzenleyen önemli bir faktördür. Yapılan çalışmalar, az miktardaki K2'nin bile damarlardan kalsiyumu uzak tuttuğunu, tehlikeli kalsifiye plak oluşumunu engellediğini ve vasküler dokuda kalsiyumu düzenleyen proteinleri kontrol ederek kalp hastalığı ile mücadele ettiğini ortaya koymuştur (Gast ve ark., 2009; Palmer ve ark., 2020).

K2 vitamininin kemik kaybına karşı etkinliğini inceleyen bir çalışmada, tesadüfen karaciğer kanseri riskini büyük ölçüde azalttığı saptanmıştır. Japonya'da, viral enfeksiyonlardan karaciğer sirozu olan 40 kadın üzerinde yapılan çalışmada, 19 kişilik kontrol grubunda 9 kişide karaciğer kanseri gelişirken, 21 kişilik MK-4 grubunda sadece 2 kişide kanser gelişmiştir. Bu çalışma ile, K2 vitamininin karaciğer kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu ortaya konmuştur (Habu ve ark., 2004). Karaciğer kanseri teşhisi konulmuş 61 hasta üzerinde yapılan bir diğer çalışmada, cerrahi müdahaleden sonra hastalara günde 45 mg MK-4 verilmiş ve kansersiz sağ kalım oranının ciddi miktarda arttığı tespit edilmiştir (Mizuta ve ark., 2006). Ayrıca, K2 vitamini kullanımının akciğer (Yoshida ve ark., 2003), pankreas (Showalter ve ark., 2010), yumurtalık (Shibayama-Imazu ve ark., 2003, 2006, 2008), mide (Tokitave ark., 2006), meme (Wu ve ark., 1993) ve lökosit (Yaguchi, 1997) kanser hücrelerinin büyümesini önlediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. 11000 hasta üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, K2 vitamini alımının arttırılması ile ilerlemiş prostat kanserinde gerileme kaydedilmiştir (Nimptsch ve ark., 2008). Bu konuda gerçekleştirilen son çalışmalarla da, K2 vitamininin kayda değer bir antikanser aktivite sergilediği gösterilmiştir (Duan ve ark., 2020).

K vitamininin beyinde sfingolipid sentezinde ve periferik ve merkezi sinir sistemlerinde de önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Ferland, 2012; Ramazan ve ark., 2019). Ayrıca, K vitamininin Alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlattığını ortaya konulmuştur (Hadipour ve ark., 2020). Daha da önemlisi D3, K2 ve magnezyum takviyelerinin birlikte kullanılmasının Covid-19 hastalarında ölüm oranını düşürdüğü gösterilmiştir (Goddek, 2020). Başka bir çalışmada ise, K vitamini eksikliği tanısı konulan Covid-19 hastaları arasında hastalığın daha şiddetli geçtiği belirtilmiştir (Anastasi ve ark., 2020).

1.3. Peynir Teknolojisi

Peynir inek, koyun ve keçi sütünden yapılabildiği gibi bu sütlerin karışımından da yapılabilir. Peynir yapımı ana hatlarıyla üç aşamada gerçekleşmektedir.

1. Sütün mayalanma aşaması
2. Peynir altı suyunun ayrılması
3. Olgunlaşmaya bırakılması

Sütün mayalanma aşaması: İlk olarak peynir yapılacak süt, taze olmalı ve içerisinde yabancı madde bulunmamalıdır. Çünkü sütte bulunan antibiyotikler, bakteri içeriği ve koruyucu maddeler sütün pıhtılaşmasını önler ve peynir kalitesini etkiler. Süt 10 °C'nin altında her hangi bir sıcaklıkta bekletilir. Peynir kısa süre içerisinde tüketilecekse sütün pastörize edilmesi gerekir. Türkiye'de peynir sütünün pastörize edilme şartları 63-65 °C'de 30 dak veya 72-75 °C'de 15-20 saniyedir. Sütün pastörize edilmesinin amaçları vardır. Bunlar;

- Hijyenik amaç: Zararlı organizmaları ortadan kaldırmaktır.
- Teknik amaç: Diğer mikro organizmaların sayısının azaltılmasını sağlamaktır.

Ancak pastörize edilmemiş sütlerden de peynir yapılmaktadır. Past rizasyondan sonra sütün ısısı 28-32  C'ye soğutularak süte laktik asit fermentasyonunu arttıracak kültürler ilave edilir. Bu kültürler hem mayanın etkisini arttırmakta hem de ürüne özgü tat, aromave yapı kazandırmaktadır. Sütün enzimatik yolla pıhtılaştırılmasında hayvansal (rennin, pepsin ve tripsin), bitkisel (papain, ricin, ficin, bromelin), mikrobiyel (Mucor picullus, kimozin, Mucor miehei, Bacillus subtilus, Bacillus cereus) kaynaklı enzimlerden yapılmış mayalar kullanılır. Rennin peynir mayası geviş getiren hayvanların henüz süt emme çağında olan yavrularının (buzağı, kuzu, oğlak ve malak) midelerinin dördüncü kısmından (şırdan)  z mleme yoluyla elde edilen bir enzimdir. Peynir mayaları sıvı, toz ve tablet halinde bulunmaktadır. Daha sonra 28-32  C'ye soğutulan süte mayanın kuvvetine göre 1.5-2.5 saatte pıhtı oluşacak şekilde maya ilave edilir.

Peynir altı suyunun ayrılması: Mayalanma sonucunda pıhtılaşan süt kesim olgunluğuna geldiğinde peynir altı suyunun ayrılması ve pıhtıya istenilen şeklin verilmesi için üretilmek istenen peynir türüne göre pıhtı kesim bıçakları yardımıyla değişik boyutlarda kesilir. Kesim işlemi değişik şekillerde yapılabilir. Bu işlemlerin amacı pıhtıdan peynir suyunun çıkışını sağlamaktır. Pıhtı ne kadar küçük kırılırsa peynir suyu da o kadar kolay ayrılır. Sert veya yarı sert peynir yapımı için pıhtı küçük, yumuşak peynir yapımında ise pıhtı b   k kesilir. İstenilen b   kl kte kesilen ve karıştırılan teleme cendere bezi veya torbalara elle bastırılarak peynir suyunun akması sağlanır. Süzme işlemi askıya alma, sonrada kalıplara döküldükten sonra kalan peynir suyunu uzaklaştırmak, peynire şekil vermek ve kabuk oluşumu kolaylaştırmak amacıyla presleme yapılarak süzme işlemi tamamlanır. Peynir altı suyunda ayrılacak pıhtı peynir çeşitlerine göre zaman zaman kuru tuzlama işlemi uygulanmakta zaman zamanda salamura suyuna koyulmaktadır. Tuzlama işlemi, peynirin istenmeyen zararlı mikroorganizmalara karşı koruyarak dayanıklılığını artırmaktadır. Eğer tuzlama işlemi yapılmazsa peynirler kısa süre içerisinde fazla olgunlaşarak bozulur.

Olgunlaşmaya bırakılması: Ham peynirin türüne göre tat, renk, koku, yapı ve görünüm kazanabilmesi çeşitli koşul ve sürelerde, özel odalarda, mahzenlerde, mağaralarda ve soğuk hava depolarında depolanmasıyla gerçekleştirilen fiziksel

mikrobiyolojik ve enzimatik etkileşimlerle ortaya çıkan biyokimyasal olaylar zinciridir. Olgunlaşma sırasında yağlar hidrolize olmakta, uçucu yağ asitleri ortaya çıkmakta, laktoz ve organik tuzlar fermente olarak asitlik derecesi değişmektedir (Ünsal, 1997).

1.4. Hatay Bölgesinde Tüketilen Peynir Türleri

Hatay’da peynirler kullanılan sütün türüne (inek, koyun, keçi), işlenmesine (çiğ, ısıtılarak veya pastörize), yağ oranına (yağlı, yağsız), süte katılan enzimlere, bakterilere ve mayaya göre farklılık göstermektedir. Bu nedenle aynı peynir türleri farklı tatlara ve hoş kokulara sahip olabilmektedir. Bölgede tüketilen peynir çeşitleri ve yapılış aşamaları şu şekildedir:

Beyaz peynir: Çiğ süt pastörizasyon için 72 °C’de 2 dakika bekletildikten sonra 32 °C’ye gelinceye kadar soğutulur, soğutulan süte bir çay kaşığı sıvı maya sulandırılarak ilave edilir ve birkaç dakika karıştırıldıktan sonra bir saat mayalanmaya bırakılır. Sonra bir bıçak yardımıyla kalıplar halinde kesilerek cendere adı verilen bez torbalara koyulup yarım saat beklemeye alınır. Daha sonra delikli kalıplara tülbentler yerleştirildikten sonra dökülür. Üzerine ağırlık konularak bir gün buzdolabında bekletilir. Ertesi gün peynirler dolaptan çıkarılarak kalıplar halinde kesilir ve bir kilogram suya 150 gr tuz ekleyerek hazırlanan salamuraya konur ve ağzı kapaklarla kapatılarak olgunlaşması için beklenir.

Antakya sürk çökeleği: Asitliği ilerlemiş inek sütünün veya yayık altı ayranının kaynatılmasıyla elde edilen çökeleğe yabani kekik, tuz, biber salçası, çörekotu ve isteğe bağlı farklı baharatlar ilave edilerek hamur haline gelinceye kadar yoğrulur. Bu hamurdan 100-200 gr ağırlığında parçalar alınarak elle konik şekiller verilir ve açık havada bir kaç gün bekletilir. Daha sonra tekrar yoğrularak taze tüketilmek için strej film ile kaplanır. Eğer taze tüketilmeyecekse sürkün rengi koyulaşana kadar kurutulur ve kuruyan sürkler buzdolabında saklanır.

Küflü peynir: Çökelek büyük bir tepsiye konularak tuz, kimyon ve isteğe bağlı diğer baharatlar eklenerek iyice yoğrulur ve elma büyüklüğünde parçalara ayrılarak

yuvarlak şekiller verilip şekillendirilen parçalar buğday sapından yapılmış tepsiye konulup iki gün süre ile kurutulur. Kurutulduktan sonra yuvarlaklar samanlı kâğıda sarılarak kavanoza veya testiye yerleştirilip yaklaşık 10 gün küflenmeye bırakılır. 10 günün sonunda çökelek kalıpları kâğıtlardan alınır. Üzerin deki oluşmuş küfler temizlenerek havadar ve gölge bir yerde bir gün süre ile bekletilir. Aynı işlem bir kez daha tekrar edildikten sonra çökelek kalıpları mavimsi ve kahverengi tonları arasında bir renk alır. Çökelek kalıpları alınır. Üzerine ince bir tabaka oluşturacak şekilde zeytinyağı sürülerek yarım saat bekletilir. Daha sonra tekrar samanlı kâğıda sarılıp 10 gün daha bekletilerek servis edilir. Bu zaman sürecinde çökeleğin dıştan içe doğru küflendiği görülür. Çökeleğin tamamının küflenmesi için gereken süre yaklaşık 40 gündür.

Künefelik Peynir: Künefe ve irmik helvası yapımında kullanılır. Taze, yağlı inek sütünden yapılır. Sert yapıya sahip olması için mayalanma sırasında içerisine kalsiyum klorür (CaCl_2) konur. Ayrıca tuzlama işlemi yapılmaz ve preslemek için herhangi bir ağırlık kullanılmaz. Uzun ömürlü olmadığından az miktarda üretilir.

Köy Peyniri: Salamura edilmiş beyaz peyniri andırır. Ancak beyaz peynire göre az yağlı, az tuzlu ve yumuşak bir peynirdir. Tuzlanarak yaklaşık bir yıl bozulmadan varlığını korur.

Ezme (Yaprak) Peyniri: İnek sütü ile yapılan köy peynirinden elde edilir. Peynirler küp küp kesilerek kaynayan su içerisinde 5 dakika bekletilir. Mermerin üzerine çıkarılan peynirler tek sıra halinde dizilir ve üzerine ağır bir tahta konularak yaprak haline gelinceye kadar bekletilir. Yaprak haline gelen peynirler 1-2 saat salamura bekletildikten sonra suyu süzülerek tüketime hazır hale gelir.

Çökelek: Yoğurt kazanlarda kesilinceye kadar ısıtılır. Kesilen yoğurt 1 saat dinlendirildikten sonra tülbent yardımıyla baskı uygulayarak süzülür. Daha sonra tuzlanarak tüketime hazır hale getirilir.

Cara (Testi) peyniri: Çökelek, ezme peynir, kuru kekik, çörekotu ve tuz, bir leğen içerisinde iyice harmanlanarak cara adı verilen testiye sırasıyla bir kata peynir bir kata

Çökelek gelecek şekilde basılır. Bu basma işlemi çok önemlidir ve hiç hava boşluğu kalmaması gerekir. Testinin ağzı bezle bağlandıktan sonra baş aşağı konularak suyunun geçmesi için bir kaç gün beklenir ve testinin ağzına eritilen tereyağı dökülerek üzeri hamurla sıvanır. En üstü tülbentle kapatılarak testi baş aşağı çevrilir ve serin, nemli bir yerde toprağa gömülerek 6 ay olgunlaşmaya bırakılır.

Dil peyniri: Taze inek ya da koyun sütü pastörize edildikten sonra 32 °C'ye soğutulan süte sulandırılmış maya ilave edilerek 1 saat dinlendirilir. Pıhtı tamamen oluştuğunda özel peynir kesme aparatlarıyla kesilerek özel dil peyniri kalıplarına dökülür ve baskı uygulanarak 3-4 saat dinlendirilir. Kalıplardan çıkarılan peynirler ince parçalar halinde kesilip sıcak su içerisinde 2-3 dakika bekletildikten sonra tuzlanır ve aralarına parşömen kâğıdı koyularak üst üste istiflenir.

Kaşar peyniri: Taze sütler yaklaşık 30-40 °C arasında mayalanarak 1-2 saat teleme haline gelinceye kadar beklenir. Sonra bıçak yardımıyla pirinç tanesi büyüklüğüne gelinceye kadar parçalanır. Tülbent üzerine alınıp telemenin suyu ile katı kısmın birbirinden ayrılması için tülbentin içerisinde sıkıştırılarak üstü kapalı bir şekilde 3-4 saat dinlenmeye bırakılır. Sonra tekrar dilimlenerek 65-75 °C sıcaklığındaki suyun içerisine aktarılarak hamur halini alana kadar bekletilir. Daha sonra hamura tuz ilave edilerek kalıplara dökülür ve bir gün dinlendirilir. Ertesi gün alt ve üstleri tekrar tuzlanarak yaklaşık bir hafta olgunlaşmaya bırakılır.

Nohut ile yapılan mayadan peynir yapımı: Nohut sütün pıhtılaştırılmasın da doğrudan kullanılabilir. Bir beherin içerisine 15 adet nohut konulur. Üzerine 38-40 °C'ye kadar soğutulmuş pastörize veya kaynatılmış süt eklenir ve 24 saat güneş almayan bir yerde dinlendirilir. Sonra fermente olması için bırakılan nohutlu sütün içerisindeki nohutlar çıkarılarak tekrar buzdolabında 24 saat dinlendirilir. Toplamda 48 saatlik dinlenme sonunda bu sıvı tülbentten geçirilir. Tülbentte kalanlar nohut mayasıdır ve pastörize edilen süte ilave edilerek mayanın süte karışması sağlanır. 12 saat dinlenmeye bırakılır. Süre sonunda tülbent yardımıyla peynir süzülür ve üzerine baskı uygulayarak bu şekilde 2 saat bekletilir. Elde edilen ürün tatlı ve kahverengimsi renktedir.

Sarımsaklı peynir: Beherde kaynatılan süt içerisine limon, tuz, sarımsak tozu ve rek otu ilave edilerek süt kesilinceye kadar dinlendirilir. Daha sonra tülbent yardımıyla suyu süzülür ve olgunlaşması için dinlendirilir.

Örgü peynir: Baskıdan alınan ham peynir parçalanır ve yaklaşık 80 °C'ye kadar ısıtılan tuzlu sıcak su içerisinde bekletilir. Süre sonunda ezilip sakız kıvamına gelen peynir elde uzatılarak sa örgüsü şeklinde örülür. Salamuraya konularak olgunlaşmaya bırakılır.

Misket peyniri: Mayalanan peynir suyu szldkten sonra misket şeklinde yuvarlanır. Salamura suyunda olgunlaşması sağlanır. Diğer peynirlere göre tuz oranı az, hafif yağlı ve yumuşak peynirlerdir.

Snme peyniri: Kendine has lezzeti olan ip şeklinde, yağlı ve az tuzlu peynirlerdir. Pastörize süt mayalandıktan sonra 2-3 saat bekletilir. Sonra kalıplaşan peynir kesilerek özel odalarda eğşimeye bırakılır. Daha sonra peynir altı suyu kaynatılarak içerisine atılır ve eriyip hamur haline gelmesi sağlanır. Hamur haline gelen peynirler uzatılarak şekil verilir. Salamuraya yatırılarak 1 saat olgunlaşmaya bırakılır.

Lavaş peyniri: Snme peyniri ile yapım teknikleri benzer olup sadece şekil ve büyüklükleri bakımından farklılık gösterirler.

İncir sütü telemesi: Bir behere 250 ml keçi sütü konularak ısıtılır ve içerisine ham incir ve 3 ml kadar incir sütü konularak karıştırılır. Mayalanma başlayınca bırakılır. Mayalandıktan sonra içerisindeki incirler çıkarılır. Kısa sürede tüketilmesi gerekir. Bekletilirse acıyabilir. Bu işlem kuru incir ile de yapılmaktadır fakat kuru incirler içerisinden çıkarılmaz. Bu işleme incir uyutması adı verilmektedir.

Yabani enginar çiçeği ve meyvesinden peynir üretimi: Öncelikle yabani enginarın iek lifleri ve meyvesi birbirinden ayrılır. Meyveler küçük parçalara ayrılarak iek lifleri ile birlikte, 100 ml saf suda  gün süre ile bekletilir. Sonra su tülbent

yardımıyla bir beher içerisine süzülür. Taze sağılmış 500 ml keçi sütü 72 °C’ de pastörize edildikten sonra 40 °C’ye kadar soğutulur ve beher içerisine eklenerek 5 dakika karıştırılır. Daha sonra 12 saat pıhtılaşması için dinlenmeye bırakılır. Bu süre sonunda oluşan pıhtı tülbent yardımıyla süzülür. Tuzlanarak olgunlaşmaya bırakılır. Elde edilen ürün koyu gri renkte olup, fesleğene benzeyen bir kokuya sahiptir.

1.5. Sütü Pıhtılaştırıcı Enzimler

Sütü pıhtılaştırıcı enzimler kaynaklarına göre, hayvanlardan, bitkilerden ve mikroorganizmalardan elde edilen aspartil proteazlardır. Asidik ortamlarda optimum aktivite gösteren bu enzimler sütün pıhtılaşmasını sağlamalarının yanı sıra peynirin olgunlaşması, kalitesi ve verimi üzerinde de büyük etkiye sahiptir.

1.5.1. Hayvansal Kaynaklı Pıhtılaştırıcılar

Hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcılar; kimozen (rennin), pepsin, tripsin ve kimotripsindir (Çakmakçı ve ark., 2017). Bu pıhtılaştırıcı enzimler hayvan midelerinden ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen zimojen enzimler olup pH’ı düşük ortamlarda aktifleşirler. Henüz süt emen hayvanların midelerinin temizlenip, uygun şartlarda kurutulmasından sonra ekstraksiyon işlemi yapılarak rennet elde edilmektedir. Rennet içerisinde pepsin, kimozen az miktarda kimotripsin, tripsin ve lipaz enzimlerinin bulunduğu bir enzim karışımıdır. Peynir yapımında en yaygın buzağı renneti kullanılır. Bu nedenle standart kabul edilir. Buzağı rennetinin içerisinde temel olarak kimozen ve pepsin proteazları bulunur. Buzağı ve sığır rennetleri farklı oranlarda kimozen ve pepsin içermektedir. Bu enzimlerin miktarları hayvanın yaşına, cinsine ve beslenme şekline bağlı olarak farklılık göstermektedir. Yeni doğan hayvanlarda bu oran %88-94 kimozen, %6-12 pepsin iken; yetişkin hayvanlarda %90-94 pepsin ve %6-10 kimozen olarak değişmektedir. Rennette bulunan kimozen miktarı hayvanın doğumundan sonra geçen süreye bağlı olarak azalırken pepsin oranı artış göstermektedir (Guinee ve ark., 1992; Rogelj ve ark., 2001). Bu sebeple yeni doğanların midelerinden özütlenen enzimler peynir yapımında daha çok tercih edilmektedir.

1.5.2. Bitkisel Kaynaklı Pıhtılaştırıcılar

Bitkisel kaynaklı enzimler bitkilerin kök, sap, tohum, çiçek, meyve ve yaprak gibi değişik bölgelerinden elde edilmektedir. Bitkisel enzimleri diğer enzimlerden ayıran en önemli özellikleri optimum pH ve sıcaklık değerlerinin yüksek oluşu ve yüksek ısı işlem görmüş sütlerde bile etki edebilmeleridir. Bu enzimlerin pıhtılaşma aktiviteleri, proteolitik aktivitelerine kıyasla oldukça düşüktür. Bu da peynir üretiminde düşük verime, istenmeyen acılık ve yumuşamaya sebep olduğundan bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcıların kullanımı peynir endüstrisinde çok yaygın değildir (Çakmakçı ve ark., 2017).

Çizelge 1.3. Bitkisel kaynaklı süt pıhtılaştırıcıları

Latince adı	Türkçe adı
<i>Cyonaracardunculus</i>	Carda (yabani enginar)
<i>Benincasecerifera</i>	Kül kabağı
<i>Curcurbitapepo</i>	Helvacı kabağı
<i>Ficuscarica</i>	İncir ağacı ve yaprağı
<i>Carica papaya</i>	Nohut
<i>Cynarascolymus</i>	Enginar
<i>Lens esculat</i>	Mercimek
<i>Pbaseolusvulgaris</i>	Fasulye
<i>Pisim sativum</i>	Bezelye
<i>Ananas sativa</i>	Ananas
<i>Urticadiocia</i>	Büyük ısırganotu
<i>Malvasylvestris</i>	Yabani ebegümeci
<i>Lupinus sp.</i>	Acı bakla
<i>Caloropisprocera</i>	Sodam elması
<i>CirsiumandCarlinaspp.</i>	Deve diken
<i>Euphorbialathyris</i>	Sütleğen
<i>Gundeliatournefortii</i>	Kenger otu
<i>Physalisperuviana</i>	Altın çilek
<i>Solanumdulcamara</i>	Yaban yasemini

1.5.3. Mikrobiyal Pıhtılaştırıcılar

Peynir üretiminde mikrobiyal pıhtılaştırıcılar uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Bu enzimler ilk yıllarda peynirde erime, acı tat gibi bir takım problemler oluşmasına neden olmuştur. Bununla ilgili çalışmalar devam etmiş ve 1960'ın sonlarına doğru buzağı rennetine en yakın özelliklere sahip mikrobiyal enzimler kullanılmaya başlamıştır. Aynı zamanda mikrobiyal enzimlerin elde edilmesi daha ekonomik olduğundan en fazla kullanılan pıhtılaştırıcıdır. Mikrobiyal pıhtılaştırıcılar, mikroorganizmalardan direk olarak elde edilen preolitik enzimlerden oluşan peynir mayaları (fungalrennet) ve rennin enzimi üretiminde görevli genetik materyalin (kimoziin geni) başka uygun konakçılara aktarılması sonucu elde edilen peynir mayaları (rekombinantkimoziin) olarak gruplandırılabilirler (Çakmakçı ve ark., 2017).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Koivu-Tikkanen ve arkadaşları (2000) hayvansal kaynaklı gıdalardaki K1 ve K2 vitaminlerinin miktarlarını incelemişlerdir. K1 ve toplam K2 vitamini miktarlarını sırasıyla domuz karaciğerinde 12 ve 66 ng g⁻¹, sığır karaciğerinde 58 ve 80 ng g⁻¹, sığır etinde 6.7 ve 34.3 ng g⁻¹, domuz etinde 0 ve 32 ng g⁻¹, tavuk etinde 0 ve 600 ng g⁻¹, gökkuşağı alabalığında 5.6 ve 34.4 ng g⁻¹, yoğurtta 2.1 ve 4.9 ng g⁻¹, tam yağlı sütte 2.17 ve 81.83 ng g⁻¹, yarı sert peynirde 19.1 ve 474.9 ng g⁻¹, inek sütünden yapılan peynirde 25.8 ve 52.2 ng g⁻¹ olarak belirlemişlerdir.

Schurgers ve Vermeer (2000) et, balık, meyve, sebze, süt ürünleri, yağlar gibi çok çeşitli gıdaların K1 ve K2 vitamini içeriklerini incelemişlerdir. Et ürünlerinin K1 ve MK-4 içeriklerini sırasıyla 0.2 - 10.9 µg/100g ve 0.1 - 369 µg/100g arasında, balıklarda 0.1-2.2 µg/100g ve 0.2-1.7 µg/100g arasında, meyve ve sebzelerde 0.1-817 µg/100g ve 0-0.4 µg/100g arasında, yağlarda 2.9- 93.2 µg/100g ve 0-15 µg/100g arasında bulmuşlardır. Ürünlerin MK-4 dışında MK-5, MK-6, MK-7, MK-8 ve MK-9 içeriklerine de bakmışlar ancak süt ürünleri dışındaki ürünlerde genellikle saptayamamışlardır. Süt ürünlerinde K1 ve toplam K2 vitamini içeriklerini sırasıyla yoğurtlarda 0-0.4 µg/100g ve 0.1-0.9 µg/100g arasında, peynirlerde 0.3-10.4 µg/100g ve 24.8-76.3 µg/100g arasında, yumurtalarda 1.9-2.3 µg/100g ve 29.1-33.5 µg/100g arasında belirlemişlerdir.

Elder ve arkadaşları (2006) ABD’de tüketime sunulan et, süt, peynir, yumurta ve hazır gıdalardaki K vitamini miktarlarını incelemişlerdir. Gıdalardaki toplam K1 ve K2 vitamini içeriklerini sırasıyla çiğ kıymada 0.5 - 3.7 µg/100g ve 1.1 - 9.3 µg/100g arasında, sığır etinde 1.0 -8.3 µg/100g ve 5.0 - 6.1 µg/100g arasında, hamburgerlerde 1.1-23.4 µg/100g ve 1.1 - 5.6 µg/100g arasında, tavuk parçalarında 2.3 - 23.5 µg/100g ve 5.5 - 13.4 µg/100g arasında, tacoda 7.7- 22.4 µg/100g ve 0.7 - 6.0 µg/100g arasında, peynirlerde 1.0 - 2.5 µg/100g ve 3.1- 6.2 µg/100g arasında, yumurtalarda 0.4 - 0.9 µg/100g ve 0.4- 15.5 µg/100g arasında, sütlerde 0.2 - 0.3 µg/100g ve 0.3 - 1.0 µg/100g arasında belirlemişlerdir.

Kamao ve arkadaşları (2007), öncelikle Japonya’nın Saitama bölgesinde tüketilen tahıl, bakliyat, sebze, alg, deniz ürünleri, et, yumurta, süt ve süt ürünleri gibi çeşitli gıdalardan oluşan toplam 58 gıda maddesinin K vitamini içeriği incelemişlerdir. K1

vitamini açısından yeşil sebzelerin ve alglerin zengin olduğunu ve en yüksek K1 vitamini içeriğini ıspanak ve brokolide (sırasıyla 498 ve 307 $\mu\text{g}/100\text{g}$) tespit ettiklerini belirtmişlerdir. MK-4'ün en fazla hayvansal gıdalarda, MK-7'nin ise natto gibi fermente soya fasulyesi ürünlerinde (939 $\mu\text{g}/100\text{g}$) bulunduğunu ifade etmişlerdir. Sonrasında 20-23 yaşları arasındaki 125 kadının günde 230 μg K vitamini alacak şekilde bu gıdaları tüketmelerini sağlamışlar ve ardından kanlarındaki K vitamini miktarlarını belirlemişlerdir. Sonuç olarak, K vitamini içeriği yüksek gıdaları tüketen kadınların kemik sağlıklarının korunduğunu ortaya koymuşlardır.

Hojo ve arkadaşları (2007) İsviçre, Fransa ve Norveç peynirlerinin K1, MK-4 ve MK-9 içeriklerini incelemişlerdir. En yüksek K1 içeriklerini Norveç'in jarlsberg peyniri (60 ng g^{-1}) ile İsviçre'nin appenzeller (58 ng g^{-1}) ve gruyere (58 ng g^{-1}) peynirlerinde, en yüksek MK-4 içeriklerini İsviçre'nin gruyere (96 ng g^{-1}) ve emmental (86 ng g^{-1}) peynirlerinde, en yüksek MK-9 içeriklerini de Norveç'in jarlsberg peyniri (652 ng g^{-1}) ile İsviçre'nin emmental (314 ng g^{-1}) peynirinde bulmuşlardır.

Manoury ve arkadaşları (2013) farklı ülkelerde tüketime sunulan 62 fermente süt ürününün K2 vitamini içeriklerini incelemişlerdir. Ürünlerdeki toplam K2 vitamini içeriklerini rokfor peynirlerinde 52.3 – 724.8 ng g^{-1} arasında, çedarpeynirlerinde 51.3 – 429.2 ng g^{-1} arasında, mezofilik fermente süttten yapılan peynirlerde 1.9 – 526.2 ng g^{-1} arasında, yarı sert peynirlerde 162.1 – 428.7 ng g^{-1} arasında, yumuşak peynirlerde 108.4 – 463.2 ng g^{-1} arasında belirlemişler ancak termofilik fermente süttten yapılan peynirlerde K2 vitaminini tespit edememişlerdir.

Qureshi ve arkadaşları (2013) Norveç'in gamalost peynirinin K1 ve K2 vitamini içeriklerinin olgunlaşma süresine (0, 10, 20, 30, 60 gün) bağlı olarak değişimini incelemişlerdir. K1 vitamini içeriğinin hemen hemen aynı kaldığını (0.16 - 0.18 $\mu\text{g}/100\text{g}$), toplam K2 vitaminin ise başlangıça oranla arttığını ama artışın düzenli olmadığını belirlemişlerdir. 0, 10, 20, 30 ve 60. günde analiz edilen peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerini sırasıyla 38.20, 56.20, 51.06, 56.93, 52.64 $\mu\text{g}/100\text{g}$ olarak bulmuşlardır.

Fu ve arkadaşları (2017) ABD'de tüketime sunulan süt ürünlerinin K vitamini içerikleri incelemişlerdir. Yumuşak peynir, rokfor peyniri, yarı yumuşak peynir ve sert peynirin toplam K vitamini içeriklerini sırasıyla 506 ± 63 , 440 ± 41 , 289 ± 38 ve 282 ± 5.0 $\mu\text{g}/100\text{g}$ olarak belirlemişlerdir. Fermente edilmemiş peynirlerin K vitamini içeriklerinin çok daha düşük olduğunu (98 ± 11 $\mu\text{g}/100\text{g}$) belirtmişlerdir. % 4, % 2, % 1

yağlı ve yağsız sütlerin toplam K vitamini içeriklerini sırasıyla 38.1 ± 8.6 , 19.4 ± 7.7 , 12.9 ± 2.0 , 7.7 ± 2.9 $\mu\text{g}/100$ g olarak bulmuşlardır. İnceledikleri süt ürünlerinin K vitamini içeriklerini yüksek bulduklarını ve yağ içeriği ile K vitamini miktarı arasında pozitif bir ilişki saptadıklarını ifade etmişlerdir.

Chollet ve arkadaşları (2017) iki farklı kültür kullanarak (RMK101 ve RMK 105) İsviçre'nin emmental peynirlerinin farklı olgunlaşma sürelerinde (1, 30, 90, 180 gün) toplam K2 vitamini içeriklerini incelemişlerdir. Her iki başlangıç kültürünün de *Lb. delbrueckii* sp. *lactis* ve *Str. Thermophilus*'in farklı suşlarını içerdiğini belirtmişlerdir. RMK101 kullanılan peynirlerin toplam K2 vitamini içerikleri olgunlaşma süresinin artması ile artmıştır. 1, 30, 90 ve 180. günde analiz edilen peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerini sırasıyla 67.5, 118.5, 284, 508 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak bulmuşlardır. RMK105 kullanılan peynirlerin toplam K2 vitamini içerikleri de olgunlaşma süresinin artması ile 90. güne kadar artmış ancak sonrasında azalmıştır. 1, 30, 90 ve 180. günde analiz edilen peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerini sırasıyla 80.5, 124.5, 375.5, 350.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak bulmuşlardır.

Vermeer ve arkadaşları (2018) Avrupa ülkelerinde üretilen çeşitli peynirlerin K2 vitamini içerikleri üzerine yağ miktarı, olgunlaşma süresi ve üretildikleri coğrafi bölgenin etkisini incelemişlerdir. Sert peynirlerin menakinon içeriğinin yumuşak peynirlere kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Dört hafta bekletilen Gouda peynirinin (% 50 yağlı) toplam K2 vitamini içeriğini 473 ng g^{-1} olarak, 13 hafta bekletildiğinde 656 ng g^{-1} olarak, 26 hafta bekletildiğinde ise 729 ng g^{-1} olarak bulmuşlardır. 4, 13 ve 26 hafta bekletilen Miller peynirinin (% 30 yağlı) toplam K2 vitamini içerikleri sırasıyla 436, 474 ve 451 ng g^{-1} olarak saptanmıştır. Benzer şekilde 4, 13 ve 26 hafta bekletilen Slankie peynirinin (%20 yağlı) toplam K2 vitamini içeriklerini sırasıyla 333, 270, 387 ng g^{-1} olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, çeşitli Avrupa ülkelerinde üretilen peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerini şu şekilde belirlemişlerdir: Fransız peynirlerinde 111 - 801 ng g^{-1} arasında, İngiliz peynirlerinde 235 - 494 ng g^{-1} arasında, İtalyan peynirlerinde 3 - 153 ng g^{-1} arasında, İsveç peynirlerinde 65.3 - 433 ng g^{-1} arasında, Norveç peynirlerinde 415 - 542 ng g^{-1} arasında, Yunan peynirinde 117 ng g^{-1} olarak belirlemişlerdir.

Tarvainen ve arkadaşları (2019) fermente edilmiş 17 gıda maddesinin K vitamini içeriğini incelemişlerdir. En yüksek MK-7 içeriğini natto da (902 $\mu\text{g}/100\text{g}$), en yüksek K1 içeriğini de kimchide (42 $\mu\text{g}/100\text{g}$) olarak tespit etmişlerdir. Kefirde (5 $\mu\text{g} / 100\text{g}$)

MK-9 belirlemişlerdir. İki Çin fermente soya fasulyesi ezmesinin önemli miktarlarda MK-6 (5–36 µg/100g), MK-7 (12–86 µg/100g) ve MK-8 (22–44 µg/100g) içerdiğini belirtmişlerdir.

Ma ve arkadaşları (2019) MK-7 alımının osteoporoz ve kardiyovasküler kalsifikasyonu azalttığını ifade ederek gıdaların MK-7 içeriklerini arttırmaya çalışmışlardır. Bu amaçla, soya proteini izolatu, süt proteini izolatu, tam badem ezmesi, tam fıstık ezmesi, tam tahıllı buğday, kepekli pirinç, kepekli sorgum, mısır şurupları, sükroz, inülin, gliserol, fruktoz ve glikozu katkı maddesi olarak kullanmışlardır. Soya proteini ve gliserol kombinasyonunun MK-7 üretimi için en uygun olduğunu belirlemişlerdir.

Walther ve arkadaşları (2021) peynirlerdeki K2 vitamini içeriklerini araştırmak için, inek, keçi ve koyun sütünden yapılan 10 peynir çeşidinden 121 peynir numunesi test etmişlerdir. Peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerinin 23 ile 1312 µg kg⁻¹ arasında değiştiğini belirlemişlerdir. MK-n içeriğinin kullanılan bakteri çeşitlerinden ve sıcaklıktan etkilendiğini ifade etmişlerdir. Bazı peynir çeşitleri için mevsimsel değişkenlik gözlemlendiğini, yağ içeriğinin ise toplam MK-n ile negatif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal maddeler kullanılmadan önce herhangi bir saflaştırma işleminden geçirilmemiştir. Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve katalog numaraları Çizelge 3.1. de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve katalog numaraları

Kimyasal madde	Firma adı	Katalog numarası
Hidroklorik asit (HCl)	Merck	109057
2-Propanol (C ₃ H ₈ O)	Merck	109634
Hekzan (C ₆ H ₁₄)	Merck	818874
Çinko klorür (ZnCl ₂)	Isolab	996.026.1000
Asetik asit (CH ₃ COOH)	Merck	100056
Sodyum asetat (C ₂ H ₃ NaO ₂)	Fluka	32319
Metanol (CH ₃ OH)	Merck	106009
Diklorometan (CH ₂ Cl ₂)	Isolab	914.013.2501
Sodyum sülfat (Na ₂ SO ₄)	Merck	106643
Deniz kumu (SiO ₂)	Merck	107711
Dietil eter (C ₂ H ₅) ₂ O	Merck	100921
K2 vitamini MK-4 standardı	SigmaAldrich	V-031
K2 vitamini MK-7 standardı	SigmaAldrich	V-044

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Deneyisel çalışmalarda kullanılan cihazlar Çizelge 3.2' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar

Cihaz	Marka	Model
Analitik terazi	Sartorius	BL210S
Sıcak su banyosu	Mipro	MSB
Rotaryevaporatör	Buchi	R serisi
Ultra saf su cihazı	New Human	Power I Model
Santrüfuj cihazı	Hettich	EBA 8 S
Isıtıcı	IKA	RH basic 2
HPLC cihazı	Shimadzu	LC20 A

3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- K2 vitamini MK-4çözeltisi:** MK-4'ün 5, 25, 50, 75, 100 ng ml⁻¹'lik standart çözeltileri metanolde hazırlandı.
- K2 vitamini MK-7 çözeltisi:** MK-7'nin 5, 25, 50, 75, 100 ng ml⁻¹'lik standart çözeltileri metanolde hazırlandı.
- Çinko klorür – asetat çözeltisi:** 13.7 g çinko klorür, 4.2 g sodyum asetat, 3 g asetik asit alınıp hacmi metanol ile 50 ml'ye tamamlandı.
- Kalsiyum klorür çözeltisi:** 5,54 gram CaCl₂ hassas terazide tartılarak 100 ml'lik balon jöjeye konuldu üzerine biraz saf su ilave edildi ve iyice çözünene kadar çalkalandı ve balon jöje 100 ml olana kadar üzerine saf su ilave edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Temin Edilmesi

Hatay bölgesinde inek, keçi ve koyun sütünden üretilmiş 16 çeşit peynir, inek, koyun, keçi sütü, yoğurt, margarin, tereyağı, köy yumurtası, çiftlik yumurtası ve bıldırcın yumurtası yerel peynir ve süt ürünleri satan dükkânlardan temin edilmiştir.

3.2.2. Peynir Üretimi

Peynir üretimi laboratuvar şartlarında gerçekleştirilmiştir. 5 L süt 75°C'ye kadar ısıtılıp bu sıcaklıkta 15 saniye tutulmuştur. Ardından buzlu suda 34°C'ye hızlıca soğutulmuştur. Soğutulan süte 10 ml sütü pıhtılaştırıcı ezim ve 2 ml CaCl_2 ilave edilip, hafifçe karıştırılmıştır. Ağzı kapatılıp, kalınca bir havlu ile sarılmış ve 1.5 saat bekletilmiştir. Oluşan pıhtılar cendere bezinden süzölmüş ve üzerine ağırlık konularak bir gün süre ile buzdolabında bekletilmiştir. Ertesi gün çıkarılan peynirler kalıplar halinde kesilerek 1 kg suya 150 g kaya tuzu eklenerek hazırlanan salamuraya yatırılmış ve olgunlaşmaya bırakılmıştır (Ünsal, 1997).

3.2.3. Gıdaların Ekstraksiyonu

Gıda örneklerinin ekstraksiyonun da iki farklı yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde, hassas bir şekilde tartılan 2 gramlık numuneler küçük parçalara bölünerek 100 ml'lik beherlere konulmuştur. Beherlere aktarılan numunelere 10 ml ultra saf su eklenerek iyice karışmaları sağlanmıştır. Sonra üzerlerine 10 ml % 37'lik HCl eklenip sıcak su banyosunda 100 °C'de 30 dakika bekletilmişlerdir. Buz banyosu aracılığıyla oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra üzerlerine 10 ml 2-propanol ve 2 ml hekzan eklenerek menakinonlar ekstrakte edilmiştir. Ardından 10 dakika süreyle satüfüjlendikten sonra 0.45 µm'lik naylon filtreden süzüldükten sonra HPLC cihazına verilerek MK-4 ve MK-7 analizleri gerçekleştirilmiştir (Manoury ve ark., 2013).

İkinci yöntemde, hassas bir şekilde tartılan 3 gramlık numuneler küçük parçalara ayrılarak 1'er gram deniz kumu ile homojenize edilmiştir. Sonra üçer kez 10'ar ml aseton ile karıştırılıp, süzülmüşlerdir. Ardından ikişer kez 40'ar ml dietil eterle ekstrakte edilmişlerdir. Na_2SO_4 aracılığıyla suları uzaklaştırıldıktan sonra eter fazları düşük basınç altında uçurulmuştur. Kalıntılar 5'er ml hekzan ile çözüldükten sonra, 20'şer ml hekzan ile yıkanan Sep-Pak Vac silika kartuşlardan geçirilmişlerdir. Ardından HPLC cihazına verilerek MK-4 ve MK-7 analizleri gerçekleştirilmiştir (Kamao ve ark., 2007).

3.2.4. Kalibrasyon Doğrularının Oluşturulması

MK-4 ve MK-7'nin metanoldeki 5.0 – 100.0 ng ml⁻¹ konsantrasyonları arasında standart çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden yararlanılarak kalibrasyon doğruları oluşturulmuştur.

3.2.5. Gözlenebilme Sınırı (LOD), Belirlenebilme Sınırının (LOQ) ve Geri Kazanım Yüzdesinin Belirlenmesi

Yirmişer adet şahit numunelerine ait ölçümlerin standart sapmaları hesaplanarak LOD ve LOQ değerleri aşağıdaki formüller aracılığıyla belirlenmiştir.

$$LOD = \frac{3s}{m} \quad (3.1)$$

$$LOQ = \frac{10s}{m} \quad (3.2)$$

s = Şahit numuneye ait ölçümlerin standart sapması

m = Doğrunun eğimi

Geri kazanım yüzdesi ise, bilinen derişimdeki standardın gerçek örneğe eklenmesi yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır (Kenan, 2019).

$$\% R = \frac{C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}}{C_{\text{eklenen}}} \quad (3.3)$$

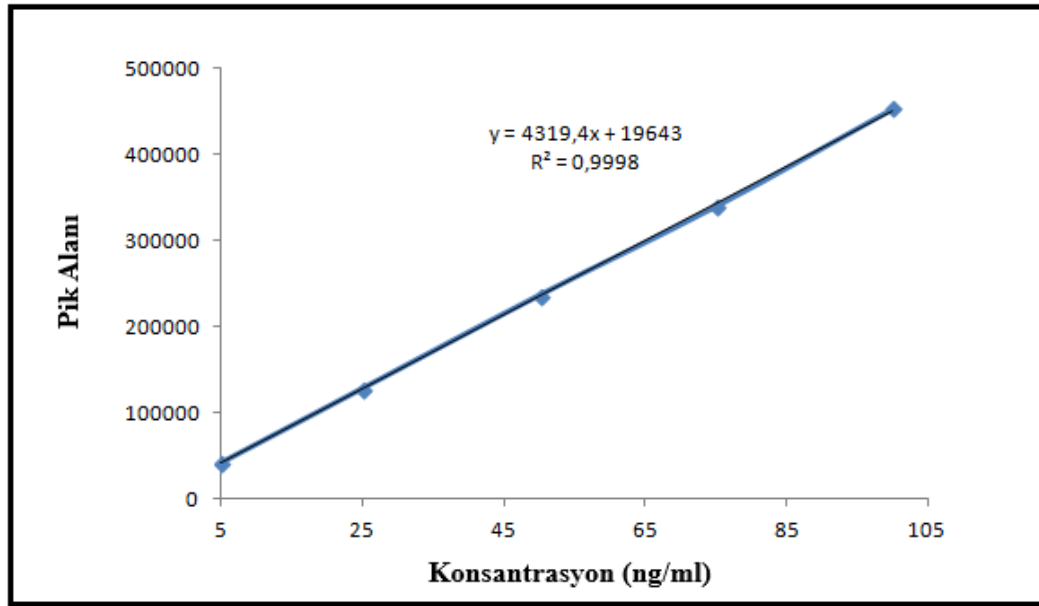
3.2.6. MK-4 ve MK-7 Analizi

HPLC analizi, Shimadzu LC20 A (Kyoto, Japonya) cihazında gerçekleştirilmiştir. C-18 ters faz kolonu (5 μ m, 250 x 4.6 mm) kullanılmıştır. Hareketli faz, 5 ml çinko korür – aseat çözeltisi, 895 ml metanol ve 100 ml diklorometanın karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Kolon sıcaklığı 30 °C ve akış hızı 1 ml dak⁻¹ olacak şekilde ayarlanmıştır. Floresans dedektör kullanılmış olup eksitasyon ve emisyon dalga boyları sırasıyla 243 nm ve 430 nm'ye ayarlanmıştır. Kolon ile dedektör arasına da çinko metali (200 mesh) ile doldurulmuş ikinci bir kolon (50 x 2 mm) yerleştirilmiştir. Tüm analizler üçer kez tekrarlanmıştır.

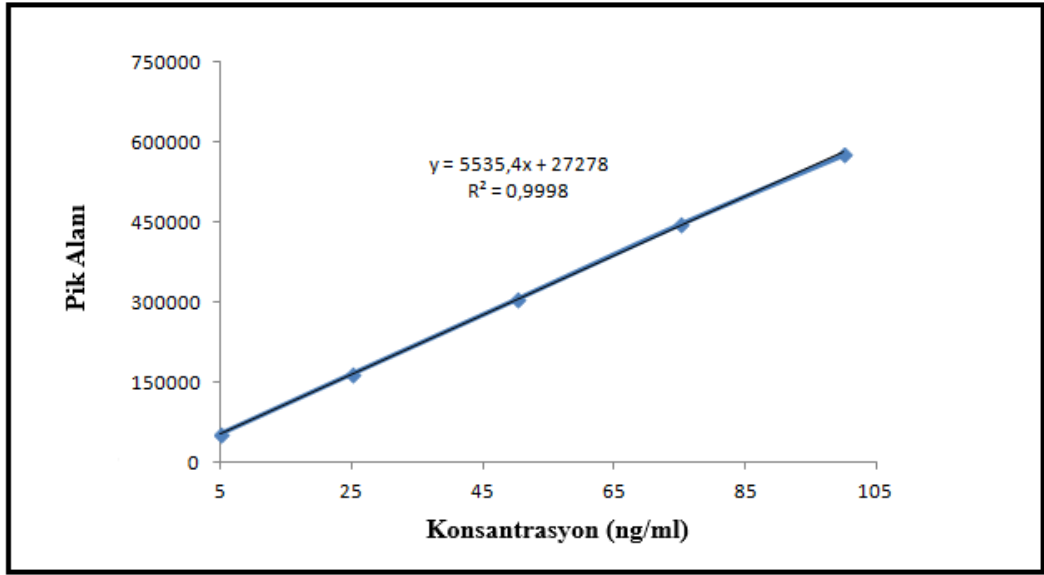
4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TAŞTIŞMA

4.1. MK-4 ve MK-7'ye Ait Kalibrasyon grafiği

MK-4 ve MK-7 için elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.1 ve 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. MK-4'e ait kalibrasyon grafiği



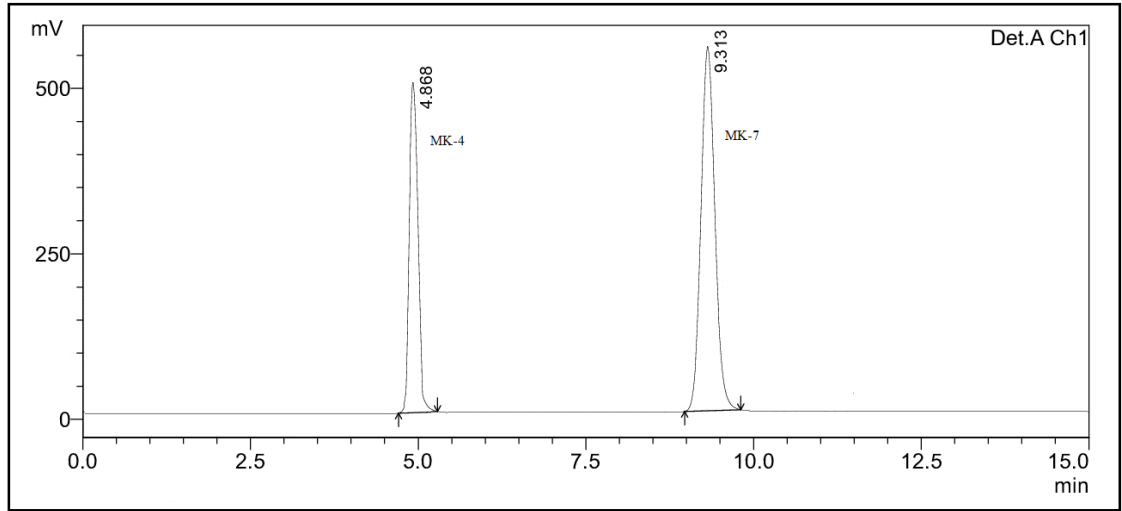
Şekil 4.2. MK-7'ye ait kalibrasyon grafiği

4.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD), Belirlenebilme Sınırı (LOQ), Geri Kazanım Yüzdesi, MK-4 ve MK-7 Piklerinin Alıkonma Sürelerinin Belirlenmesi

MK-4 ve MK-7 için LOD, LOQ, geri kazanım yüzdesi değerleri ve piklerin alıkonma süreleri Çizelge 4.1' de verilmiştir. Materyal ve yöntem kısmında belirtilen HPLC analiz koşullarında hazırlanan standart çözeltiler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada MK-4'ün 4.868 dakikada, MK-7'nin ise 9.313 dakikada geldiği saptanmıştır. MK-4 ve MK-7'ye ait pikler Şekil 4.3' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. MK-4 ve MK-7'ye ait LOD, LOQ değerleri ve alıkonma süreleri

Bileşik	Alıkonma Süresi (dak)	Geri Kazanım (%)	LOD (ng ml ⁻¹)	LOQ (ng ml ⁻¹)
MK-4	4.868	95.4	1.65	5.44
MK-7	9.313	93.5	1.79	5.91



Şekil 4.3. MK-4 ve MK-7'ye ait pikler

4.3. Peynir Örneklerinin Ekstraksiyon Sonuçlarının Karşılaştırılması

Literatürde peynir örneklerinin ekstraksiyonu ile ilgili olarak sıkça kullanılan 2 farklı yöntem bulunduğu için, (Manoury ve arkadaşları tarafından geliştirilen I. yöntem ve Kamao ve arkadaşları tarafından geliştirilen II. yöntem) öncelikle her iki yöntem de denenerek elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Çizelge 4.2' de karşılaştırma sonuçları gösterilmiştir. Çizelge 4.2' den de görüleceği gibi, her iki yöntemle de elde edilen MK-7 değerleri çok farklı olmamakla birlikte, MK-4 değerleri oldukça farklı bulunmuştur. I. yöntemle elde edilen MK-4 değerlerinin çok daha yüksek olması nedeniyle, peynir örneklerinin ekstraksiyonunda I. yöntem kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, I. yöntemle MK-4'ün çok daha başarılı bir şekilde ekstrakte edilebildiğini göstermiştir.

Çizelge 4.2. Peynir örneklerinin ekstraksiyon sonuçlarının karşılaştırılması

Numune	I. Yöntem		II. Yöntem	
	MK-4	MK-7	MK-4	MK-7
Misket peyniri	208.42 ± 0.62	24.11 ± 0.10	27.02 ± 0.10	22.09 ± 0.10
Testi peyniri	464.54 ± 1.53	23.40 ± 0.09	40.65 ± 0.12	21.88 ± 0.10
Sürk peyniri	170.29 ± 0.44	23.39 ± 0.08	61.88 ± 0.14	21.83 ± 0.10
Ezme peyniri	414.46 ± 1.28	24.73 ± 0.11	121.39 ± 0.35	22.18 ± 0.10
Sıkma peyniri	470.30 ± 1.58	33.10 ± 0.12	98.66 ± 0.17	29.97 ± 0.11

4.4. Numunelerdeki MK-4 ve MK-7 Miktarlarının Belirlenmesi ile ilgili Tartışmalar

Yerel dükkanlardan alınan 16 çeşit peynir, süt, yoğurt, tereyağı, margarin, yumurta ve kefir örneklerinde belirlenen MK-4, MK-7 ve toplam K2 vitamini içerikleri Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Süt ve süt ürünlerinin MK-4, MK-7 ve toplam K2 vitamini içerikleri

Örnekler	MK-4 (ng g ⁻¹)	MK-7 (ng g ⁻¹)	Toplam K2 Vitamini (ng g ⁻¹)
İnek sütü	274.76 ± 1.02	24.72 ± 0.11	299.48 ± 1.02
Keçi sütü	182.35 ± 0.58	24.68 ± 0.10	207.03 ± 0.59
Koyun sütü	129.58 ± 0.36	24.84 ± 0.11	154.42 ± 0.38
Sünme peyniri	57.73 ± 0.17	18.45 ± 0.06	76.18 ± 0.18
Sıkma peynir	470.30 ± 1.58	33.10 ± 0.12	503.40 ± 1.58
Kaşar peyniri	186.84 ± 0.59	26.78 ± 0.11	213.62 ± 0.60
Misket peyniri	208.42 ± 0.62	24.11 ± 0.10	232.53 ± 0.63
Testi peyniri	464.54 ± 1.53	23.40 ± 0.09	487.94 ± 1.53
Künefeli peynir	187.96 ± 0.59	26.18 ± 0.10	214.14 ± 0.60
Beyaz peynir	129.13 ± 0.35	23.41 ± 0.09	152.54 ± 0.36
Sürk peyniri	170.29 ± 0.44	23.39 ± 0.08	193.68 ± 0.45
Dil peyniri	241.28 ± 0.72	25.64 ± 0.10	266.92 ± 0.73
Ezme peynir	414.46 ± 1.28	24.73 ± 0.11	439.19 ± 1.28
Lavaş peyniri	331.35 ± 0.88	27.20 ± 0.11	358.55 ± 0.89
Küflü peynir	158.19 ± 0.40	30.17 ± 0.11	188.36 ± 0.41
Keçi peyniri	299.39 ± 1.02	26.13 ± 0.10	325.52 ± 1.02
Tulum peyniri	272.47 ± 0.72	25.44 ± 0.09	297.91 ± 0.72
Taze köy peyniri	170.32 ± 0.44	32.27 ± 0.11	202.59 ± 0.45
Çökelek	380.30 ± 1.05	23.41 ± 0.08	403.71 ± 1.05
Yoğurt	169.80 ± 0.43	24.00 ± 0.10	193.80 ± 0.44
Tereyağı	100.25 ± 0.20	41.64 ± 0.12	141.89 ± 0.23
Margarin	75.01 ± 0.15	39.05 ± 0.11	114.06 ± 0.19
Yumurta	147.97 ± 0.36	23.89 ± 0.08	171.86 ± 0.37
Çiftlik yumurtası	210.96 ± 0.63	28.22 ± 0.11	239.18 ± 0.64
Köy yumurtası	195.32 ± 0.59	24.32 ± 0.08	219.64 ± 0.59
Kefir	90.68 ± 0.16	26.96 ± 0.10	117.64 ± 0.19

Elde edilen sonuçlara göre, inek sütünün MK-4 içeriğinin (274.76 ± 1.02 ng g⁻¹) koyun (129.58 ± 0.36 ng g⁻¹) ve keçi (182.35 ± 0.58 ng g⁻¹) sütlerinin MK-4 içeriklerine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. MK-7 içerikleri ise birbirlerine oldukça yakın bulunmuştur.

Analiz edilen peynir örnekleri arasında en yüksek MK-4 içerikleri sıkma peynir ($470.30 \pm 1.58 \text{ ng g}^{-1}$), cara peyniri ($464.54 \pm 1.53 \text{ ng g}^{-1}$) ve ezme peynirinde ($414.46 \pm 1.28 \text{ ng g}^{-1}$) tespit edilmiştir. Sünme peynirinde ($57.73 \pm 0.17 \text{ ng g}^{-1}$) ve beyaz peynirde ($129.13 \pm 0.35 \text{ ng g}^{-1}$) ise en düşük MK-4 değerleri saptanmıştır. İncelenen peynir örneklerinin MK-7 içeriklerinin çok farklı olmadığı ve 18.45 ve 33.10 ng g^{-1} arasında değiştiği belirlenmiştir.

Tereyağının hem MK-4 ($100.25 \pm 0.20 \text{ ng g}^{-1}$) hem de MK-7 ($41.64 \pm 0.12 \text{ ng g}^{-1}$) içerikleri margarininkilerden ($75.01 \pm 0.15 \text{ ng g}^{-1}$ ve $39.05 \pm 0.11 \text{ ng g}^{-1}$) daha yüksek bulunmuştur. MK-7 içeriklerinde ise gözle görülür bir fark tespit edilememiştir.

Analiz edilen yumurta örneklerinin MK-4 içeriklerinin yumurta ($147.97 \pm 0.36 \text{ ng g}^{-1}$) < köy yumurtası ($195.32 \pm 0.59 \text{ ng g}^{-1}$) < çiftlik yumurtası ($210.96 \pm 0.63 \text{ ng g}^{-1}$) şeklinde değiştiği belirlenmiştir. MK-7 içerikleri arasında ise yine belirgin bir farklılık tespit edilememiştir.

Yoğurdun MK-4 içeriği ($169.80 \pm 0.43 \text{ ng g}^{-1}$) kefirinkine kıyasla ($90.68 \pm 0.16 \text{ ng g}^{-1}$) oldukça yüksek bulunmuştur. Aksine yoğurdun MK-7 içeriğinin daha düşük olduğu ancak çok da büyük bir fark olmadığı gözlenmiştir.

Literatürde Fransa, İtalya, Norveç, Yunanistan, İsveç, İngiltere, Finlandiya ve Hollanda gibi farklı ülkelerde tüketilen çeşitli peynir ve süt ürünlerinin K2 vitamini içeriklerinin saptanmasına yönelik birçok çalışma bulunmaktadır (Schurgers ve Vermeer, 2000; Koivu-Tikkanen ve ark., 2000; Manoury ve ark., 2013; Fu ve ark., 2017; Vermeer ve ark., 2018). Bununla birlikte, ülkemizde süt ve süt ürünlerinin K2 vitamini içerikleri ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Oysa ülkemizde süt ve süt ürünleri çok fazla hem üretilmekte hem de tüketilmektedir. Özellikle Hatay Bölgesinde yaşayan insanların büyük bir çoğunluğu markalı ürünler yerine yerel dükkânlarda satılan süt ve süt ürünlerini tercih etmektedir.

Yabancı ülkelerde yapılan çalışmalara göre, toplam K2 vitamini içerikleri Fransız peynirlerinde $111 - 801 \text{ ng g}^{-1}$ arasında, İngiliz peynirlerinde $235 - 494 \text{ ng g}^{-1}$ arasında, İtalyan peynirlerinde $3 - 153 \text{ ng g}^{-1}$ arasında, İsviçre peynirlerinde $65.3 - 433 \text{ ng g}^{-1}$ arasında, Norveç peynirlerinde $415 - 542 \text{ ng g}^{-1}$ arasında, Yunan peynirlerinde $103 - 587 \text{ ng g}^{-1}$ arasında, Hollanda peynirlerinde $248 - 763 \text{ ng g}^{-1}$ arasında, Finlandiya peynirlerinde $78-494 \text{ ng g}^{-1}$ arasında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise incelenen peynirlerin toplam K2 vitamini içeriği 76.18 ile 503.40 ng g^{-1} arasında belirlenmiştir. Finlandiya (7 ng g^{-1}) ve

Hollanda (9 ng g^{-1}) yoğurtlarının toplam K2 vitamini içeriği oldukça düşükken, Yunan yoğurdunun (282 ng g^{-1}) ve bizim yoğurdumuzun (193.80 ng g^{-1}) toplam K2 vitamini içeriğinin çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Finlandiya'da tüketilen yumurta ve tereyağının toplam K2 vitamini içerikleri sırasıyla 330 ve 150 ng g^{-1} olarak belirlenmiştir. Margarin örneklerinde ise K2 vitamini tespit edilememiştir. Bizim çalışmamızda yumurta, tereyağı ve margarin örneklerinin toplam K2 vitamini içerikleri sırasıyla 210.23 , 141.89 ve 114.06 ng g^{-1} olarak bulunmuştur. Sonuçlar arasındaki farklılıkların, hayvansal ürünlerin farklı coğrafyalarda ve farklı yöntemlerle üretilmesinden, sütün mayalanması sırasında kullanılan süt pıhtılaştırıcı enzimlerin farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.5. Süt Pıhtılaştırıcı Enzimlerin Peynirlerin K2 Vitamini İçeriği Üzerine Etkisi

Peynir yapımında kullanılan süt pıhtılaştırıcı enzimlerin, peynirlerin K2 vitamini içeriği üzerindeki etkilerini görmek amacıyla peynirler hem ticari hem de bitkisel süt pıhtılaştırıcı enzimler kullanılarak üretilmiştir. Farklı süt pıhtılaştırıcı enzimlerle fermente edilen peynirlerin K2 vitamini içerikleri Çizelge 4.4' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı süt pıhtılaştırıcı enzimlerle fermente edilmiş peynirlerin K2 vitamini içerikleri

Süt Pıhtılaştırıcı Enzimin Türü	MK-4 (ng g^{-1})	MK-7 (ng g^{-1})	Toplam K2 Vitamini (ng g^{-1})
Kimozin	288.20 ± 0.98	23.75 ± 0.07	311.95 ± 0.98
M.miehei	265.37 ± 0.80	24.05 ± 0.07	289.42 ± 0.80
M.pusillus	228.67 ± 0.62	23.98 ± 0.06	252.65 ± 0.62
Şırdan	192.62 ± 0.56	23.83 ± 0.06	216.45 ± 0.56
Yabani enginar	169.43 ± 0.44	24.68 ± 0.08	194.11 ± 0.45
Sirke	168.23 ± 0.42	27.46 ± 0.09	195.69 ± 0.43
Sarımsak	403.09 ± 1.05	23.69 ± 0.06	426.78 ± 1.05
Nohut	182.13 ± 0.56	41.34 ± 0.10	223.47 ± 0.57
İncir sütü	306.10 ± 0.97	33.97 ± 0.11	340.07 ± 0.98
Nohut + incir sütü	140.70 ± 0.42	29.85 ± 0.09	170.55 ± 0.43
M.miehei+ incir sütü	170.60 ± 0.43	24.05 ± 0.07	194.65 ± 0.43

Ticari süt pıhtılaştırıcı enzimler (kimozin, M.miehei, M.pusillus, şırdan) kullanılarak üretilen peynirler arasında kimozin ile fermente edilen peynirin en yüksek MK-4 içeriğine ($288.20 \pm 0.98 \text{ ng g}^{-1}$) sahip olduğu grlmştır. En düşük MK-4 içeriği ise şırdan ile fermente edilen peynirde ($192.62 \pm 0.56 \text{ ng g}^{-1}$) tespit edilmiştir. MK-7 içeriklerinde ise kayda değer bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Bitki bazlı pıhtılaştırıcılar kullanılarak üretilen peynirler arasında en yüksek MK-4 içeriğine sarımsak ($403.09 \pm 1.05 \text{ ng g}^{-1}$) ve incir sütü ($306.10 \pm 0.97 \text{ ng g}^{-1}$) ile fermente edilen peynirlerin sahip olduğu bulunmuştur. Ancak incir sütü, nohut ve M.miehei gibi süt pıhtılaştırıcı enzimlerle karıştırıldığında elde edilen peynirlerin MK-4 içeriklerinde azalma olduğu grlmştır. Çizelge 4.4' den de görüleceği gibi, süt pıhtılaştırıcı enzim tipinin peynirlerin MK-7 içerikleri üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır.

İncir sütü ve sarımsak gibi bitki bazlı süt pıhtılaştırıcı enzimlerle fermente edilen peynirlerin K2 vitamini içeriği diğerlerine kıyasla daha yüksek bulunmasına rağmen, bu peynirler kalıp haline getirilememiştir. Bu peynirler lor şeklinde elde edilmiştir. Bu nedenle, çalışmanın geri kalan kısmında M.miehei ve kimozin ticari süt pıhtılaştırıcı enzimleri kullanılmıştır.

4.6. Fermantasyon Süresinin Peynirlerin K2 Vitamini İçeriği zerine Etkisi

Fermantasyon süresinin peynirlerin K2 vitamini içeriği üzerine etkisini görmek için peynirler farklı sürelerde fermente edilerek üretilmiştir. Farklı sürelerde üretilen peynirlerin MK-4 ve MK-7 içerikleri izelge 4.5' de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı sürelerde fermente edilen peynirlerin K2 vitamini içeriği

Süt pıhtılaştırıcı enzim türü	Zaman (saat)	MK-4 (ng g ⁻¹)	MK-7 (ng g ⁻¹)	Toplam Vitamin K2 (ng g ⁻¹)
M.miehei	1	211.56 ± 0.60	25.31 ± 0.06	236.87 ± 0.60
	2	263.79 ± 0.78	25.16 ± 0.06	288.95 ± 0.78
	3	233.61 ± 0.62	25.33 ± 0.06	258.94 ± 0.62
	4	191.64 ± 0.57	24.68 ± 0.05	216.32 ± 0.57
	5	184.31 ± 0.45	25.00 ± 0.05	209.31 ± 0.45
Kimoziin	1	197.91 ± 0.58	24.22 ± 0.04	222.13 ± 0.58
	2	291.44 ± 0.80	25.94 ± 0.06	317.38 ± 0.80
	3	197.83 ± 0.58	22.15 ± 0.04	219.98 ± 0.58
	4	172.54 ± 0.42	25.97 ± 0.06	198.51 ± 0.42
	5	168.15 ± 0.38	26.17 ± 0.07	194.32 ± 0.39

Peynirlerin MK-4 içeriği 2 saatlik fermentasyondan sonra maksimuma ulaşmış, ardından fermentasyon süresinin artmasıyla MK-4 içeriği azalmıştır. Peynirlerin MK-7 içeriği süt pıhtılaştırıcı enzimin türünden etkilenmediği gibi fermentasyon süresinden de etkilenmemiştir.

4.7. Bekletilme Süresinin Peynirlerin K2 Vitamini İçeriği Üzerine Etkisi

Bekletilme süresinin peynirlerin K2 vitamini içeriği üzerine etkisini incelemek için peynirler 3 ay süreyle bekletilmiş ve ardından K2 vitamini içerikleri belirlenmiştir. Bekletilen peynirlerin K2 vitamini içerikleri Çizelge 4.6’ da gösterilmiştir. İki ay bekletilen peynirlerin MK-4 içeriklerinin arttığı, ancak üç ay sonra MK-4 içeriklerinin azaldığı belirlenmiştir. MK-7 içeriklerinde önemli bir fark gözlenmemiştir.

Çizelge 4.6. Bekletilme süresinin peynirlerin K2 vitamini içeriği üzerine etkisi

Süt Pıhtılaştırıcı Enzim Türü	Bekletilme Süresi (Ay)	MK-4 (ng g ⁻¹)	MK-7 (ng g ⁻¹)	Toplam Vitamin K2 (ng g ⁻¹)
M.miehei	1	268.89 ± 0.78	25.74 ± 0.06	294.63 ± 0.78
	2	297.76 ± 0.80	23.47 ± 0.06	321.23 ± 0.80
	3	272.21 ± 0.78	21.59 ± 0.05	293.80 ± 0.78
Kimoziin	1	288.51 ± 0.62	24.77 ± 0.06	313.28 ± 0.62
	2	323.17 ± 0.79	23.55 ± 0.06	346.72 ± 0.79
	3	295.66 ± 0.76	25.12 ± 0.06	320.78 ± 0.76

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kalp damar hastalıkları ve kanser gibi ölümcül hastalıklar her geçen gün artmaktadır. Tüketilen gıdaların içerdiği koruyucular, katkı maddeleri ve boyalar sağlığa zararlı kimyasallar içermektedir. Kuşkusuz böyle bir zamanda, hem sağlık açısından faydalı hem de doğal bir vitamin içeren gıdaların bulunmasının son derece önem arz etmektedir. Son yıllarda, özellikle K2 vitamininin, kemik erimesi, kalp hastalıkları, eklem iltihabı, böbrek taşı, diyabet, hatta kanser gibi birçok hastalığı önlediğini gösteren çalışmalar ortaya konmuştur. Sağlık açısından son derece yararlı olan K vitamininden yeterince yararlanabilmek için, hangi gıdalarda ve hangi miktarlarda bulunduğunun bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Yurt dışında gıdaların K vitamini içeriğinin belirlenmesine yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmaların sayısı git gide artmaktadır. Tahılların, baklagillerin, meyve ve sebzelerin, balıkların, etlerin, peynir, süt, yumurta, tereyağı gibi hayvansal gıdaların, sosların, baharatların K vitamini içerikleri incelenmiştir. Bununla birlikte, ülkemizde bu konuda gerçekleştirilmiş herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Hatay, peynir çeşitliliği açısından son derece zengin bir bölgedir. Beyaz peynir, cara (testi) peyniri, çökelek, dil peyniri, ezme peyniri, kaşar peyniri, köy peyniri, künefelik peynir, lavaş peyniri, misket peyniri, sünme peyniri, sürk (baharatlı çökelek), sıkma peyniri, küflü peynir, tulum peyniri gibi keçi, koyun ve inek sütlerinden yapılan oldukça geniş bir peynir çeşitliliği mevcuttur.

Bu çalışma kapsamında, Hatay bölgesinde üretilen peynirler başta olmak üzere süt, yumurta, yoğurt, margarin, tereyağı, kefir gibi çeşitli gıdaların MK-4, MK-7 ve toplam K2 vitamini içerikleri belirlenmiştir. Hatay'da üretilen 16 farklı çeşit peynirden toplam K2 vitamini içeriği yönünden en zengin olanların sıkma peynir ($503.40 \pm 1.58 \text{ ng g}^{-1}$), testi peyniri ($487.94 \pm 1.53 \text{ ng g}^{-1}$) ve ezme peynir ($439.19 \pm 1.28 \text{ ng g}^{-1}$) olduğu belirlenmiştir. İncelenen peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerinin 76.18 ile 503.40 ng g^{-1} arasında değiştiği görülmüştür. Süt örnekleri içerisinde toplam K2 vitamini miktarının inek sütünde ($299.48 \pm 1.02 \text{ ng g}^{-1}$) en fazla olduğu, ardından keçi sütünün ($207.03 \pm 0.59 \text{ ng g}^{-1}$), ardından da koyun sütünün ($154.42 \pm 0.38 \text{ ng g}^{-1}$) geldiği saptanmıştır. Yumurta örneklerinde de en zengin toplam K2 vitamini içeriğine çiftlik yumurtasının ($239.18 \pm 0.64 \text{ ng g}^{-1}$), sonra köy yumurtasının ($219.64 \pm 0.59 \text{ ng g}^{-1}$), daha sonra da normal yumurtanın ($171.86 \pm 0.37 \text{ ng g}^{-1}$) sahip olduğu bulunmuştur. Tereyağının (141.89

$\pm 0.23 \text{ ng g}^{-1}$) toplam K2 vitamini içeriğinin margarinden ($114.06 \pm 0.19 \text{ ng g}^{-1}$), yoğurtta da ($193.80 \pm 0.44 \text{ ng g}^{-1}$) kefirde ($117.64 \pm 0.19 \text{ ng g}^{-1}$) daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Peynirlerin K2 vitamini içeriğini arttırabilmek amacıyla, laboratuvar ortamında peynir üretilerek, süt pıhtılaştırıcı enzimlerin, fermentasyon ve bekletilme sürelerinin K2 vitamini içeriği üzerine etkileri incelenmiştir. Ticari süt pıhtılaştırıcı enzimler (kimozen, M.miehei, M.pusillus, şırdan) kullanılarak üretilen peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerinin 216.45 ile 311.95 ng g^{-1} arasında değiştiği saptanmış ve en yüksek değer kimozen ile fermente edilen peynirde tespit edilmiştir. Bitki bazlı süt pıhtılaştırıcılar (yabani enginar, sirke, nohut, sarımsak, incir sütü) kullanılarak üretilen peynirlerin toplam K2 vitamini içerikleri ise 194.11 ile 426.78 ng g^{-1} arasında bulunmuş ve en yüksek değer sarımsak ile fermente edilen peynirde saptanmıştır. Süt pıhtılaştırıcılar karıştırıldığında peynirlerin toplam K2 vitamini içeriklerinde azalma meydana gelmiştir. En yüksek K2 vitamini içeriklerine sarımsak ve incir sütü ile fermente edilen peynirlerde ulaşılmasına rağmen, bu peynirler kalıp haline getirilemediği, lor kıvamında oldukları için, fermentasyon ve bekletilme sürelerinin K2 vitamini içeriği üzerine etkileri ticari süt pıhtılaştırıcı enzimler kullanılarak üretilen peynirler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hem M.miehei hem de kimozen kullanılarak üretilen peynirlerin toplam K2 vitamini içerikleri 2 saatlik fermentasyondan sonra maksimuma ulaşmış, ardından fermentasyon süresinin artması ile azalmaya başlamıştır. 3 ay boyunca bekletilen peynirlerin toplam K2 vitamini içerikleri de ikinci ayda maksimuma ulaşmış, ardından azalmıştır.

Laboratuvar koşullarında üretilen peynirlerin toplam K2 vitamini içerikleri, piyasada satılan bazı peynirlere göre daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar, optimum koşullar sağlandığında peynirlerin K2 vitamini içeriklerinin arttırılabileceğini göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile süt ve süt ürünlerinin MK-4, MK-7 ve toplam K2 vitamini içerikleri belirlenmiştir. Böylelikle, sağlık açısından son derece faydalı olan K2 vitamininin hangi gıdalarda daha fazla miktarlarda bulunduğu ortaya konmuştur. Yukarıda da bahsedildiği gibi, yurt dışında sadece süt ve süt ürünlerinin değil, tahıl, baklagil, meyve, sebze, balık, et, sos, baharat gibi birçok gıdanın K vitamini içerikleri incelenmiştir. Bu bağlamda, gerçekleştirilen çalışmanın benzer çalışmaların yapılmasına ışık tutacağı ve bir örnek teşkil edeceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Anastasi E, Lalongo C, Labriola R, Ferraguti G, Lucarelli M, Angeloni A. 2020. Vitamin K deficiency and covid-19. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation** in press.
- Ası T. 1999. Taplolarlabiyokimya, **Ankara Üniversitesi**, Ankara
- Booth SL. 2009. Roles for vitamin K beyond coagulation. **AnnuRev. Nutr.** 29: 89–110
- Capozzi A, Giovanni S, Stefano L. 2020. Calcium, vitamin D, vitamin K2, and magnesium supplementation and skeletal health. **Maturitas** 140: 55-63
- Chollet, M.,Guggisberg, D., Portmann, R., Risse, M. C., &Walther, B. (2017). Determination of menaquinoneproductionbyLactococcusspp. andpropionibacteria in cheese. **International DairyJournal**, 75, 1-9.
- Cockayne, S.,Adamson, J., Lanham-New, S., Shearer, M. J., Gilbody, S., &Torgerson,D. J. (2006). Vitamin K andthe prevention of fractures: systematicreviewand meta-analysis of randomizedcontrolledtrials. **Archives of internalmedicine**, 166(12), 1256-1261.
- Çakmakçı, S., Cantürk, A., & Çakır, Y. (2017). Peynir üretimi için sütü pıhtılaştıran enzimlere genel bir bakış ve güncel gelişmeler. **Akademik Gıda**, 15(4), 396-408.
- DuanF, Mei C, Yang L, Zheng J, Lu H, Xia Y, Hsu S, Liang H, Hong L. 2020. Vitamin K2 promotes PI3K/AKT/HIF-1 α -mediated glycolysis that leads to AMPK-dependent autophagic cell death in bladder cancer cells. **Scientific Reports** 10(1): 7714.
- Ebina K., Shi K, Hirao M. 2013. Vitamin K2 administration is associated with decreased disease activity in patients with rheumatoid arthritis **Modern Rheumatology** 23(5): 1001-1007.
- Elder, S. J.,Haytowitz, D. B., Howe, J., Peterson, J. W., &Booth, S. L. (2006). Vitamin K contents of meat, dairy, andfastfood in the US diet. **Journal of Agricultural AndFoodChemistry**, 54(2), 463-467.
- Ferland G. 2012. Vitamin K and the nervous system: An overview of its actions. **Advances in Nutrition** 3(2): 204–212.
- Finnan EG, Harshman SG, Haytowitz DB, Booth SL. 2017. Mixed dishes are an unexpected source of dietary vitamin K. **Journal of Food Composition and Analysis** 64: 127-131.
- Friedrich, W. (2013). 7 Vitamin B2: Riboflavin and Its BioactiveVariants. In Vitamins (pp. 403-474). **De Gruyter**.
- Fu X, Harshman SG, Shen X, Haytowitz DB, Karl JP, Wolfe BE, Booth SL. 2017. Multiple vitamin K forms exist in dairy foods. **Curr Dev Nutr** 1: e000638.
- Gast, G. C. M., de Roos, N. M., Sluijs, I., Bots, M. L., Beulens, J. W., Geleijnse, J. M., & van der Schouw, Y. T. (2009). A high menaquinone intake reduces the

incidence of coronary heart disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19(7), 504-510.

- Goddek S. 2020. Vitamin D3 and K2 and their potential contribution to reducing the COVID-19 mortality rate. **International Journal of Infectious Diseases**99: 286–290.
- Guinee, T. P., & Wilkinson, M. G. (1992). Rennet coagulation and coagulants in cheese manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, 45(4), 94-104.
- Habu, D., Shiomi, S., Tamori, A., Takeda, T., Tanaka, T., Kubo, S., & Nishiguchi, S. (2004). Role of vitamin K2 in the development of hepatocellular carcinoma in women with viral cirrhosis of the liver. **Jama**, 292(3), 358-361.
- Hadipour E, Tayarani-Najaran Z, Fereidoni M. 2020. Vitamin K2 protects PC12 cells against A β (1-42) and H₂O₂-induced apoptosis via p38 MAP kinase pathway. **Nutritional Neuroscience**, 23(5): 343-352.
- Hojó, K., Watanabe, R., Mori, T., & Taketomo, N. (2007). Quantitative measurement of tetra hydro menaquinone-9 in cheese fermented by propionibacteria. **Journal of dairy science**, 90(9), 4078-4083.
- Kamao, M., Suhara, Y., Tsugawa, N., Uwano, M., Yamaguchi, N., Uenishi, K., Ishida, H., Sasaki, S., Okano, T. (2007). Vitamin K content of food and dietary vitamin K intake in Japanese young women. **Journal of nutritional science and vitaminology**, 53(6), 464-470.
- Kenan, E., 2019. Çiğ ve farklı yöntemlerle pişirilmiş balıklardaki fosforlu bileşiklerin seviyelerinin incelenmesi. **Mustafa Kemal Üniversitesi. Yüksek lisans Tezi**
- Knapen, M. H. J., Drummen, N. E., Smit, E., Vermeer, C., Theuvsen, E. 2013. There year low-dose menaquinone-7 supplementation helps decrease bone loss in healthy post menopausal women. **Osteoporosis International**, 24(9), 2499-2507.
- Koivu-Tikkanen TJ, Ollilainen V, Piironen VI. 2000. Determination of phyloquinone and menaquinones in animal products with fluorescence detection after postcolumn reduction with metallic zinc. **J. Agric. Food Chem.** 48: 6325-6331.
- Manna P, Kalita J. 2016. Beneficial role of vitamin K supplementation on insulin sensitivity, glucose metabolism, and the reduced risk of type 2 diabetes: **A review. Nutrition** 32(7-8): 732–739.
- Manoury E, Jourdon K, Boyaval P, Fourcassie P. 2013. Quantitative measurement of vitamin K2 (menaquinones) in various fermented dairy products using a reliable high-performance liquid chromatography method. **J. Dairy Sci.** 96(3): 1335-1346.
- Mizuta T, Ozaki I, Eguchi Y, Yasutake T, Kawazoe S, Fujimoto K, Yamamoto K. 2006. The effect of menatetrenone, a vitamin K2 analog, on disease recurrence and survival in patients with hepatocellular carcinoma after curative treatment: a pilot study. **Cancer** 106: 867–872.

- Namıduru, S: E., veTarakçıoğlu, M. 2011. K vitamin veosteoporoz. **Gaziantep Medical Journal**, 17(1), 1-7.
- Nimptsch K, Rohrmann S, Linseisen J. 2008. Dietary intake of vitamin K and risk of prostate cancer in the Heidelberg cohort of the European prospective investigation into cancer and nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition** 87(4): 985-992.
- Ozdogan Y, Gokustun KK, Turk OP. 2017. Effect of vitamin K on insulin resistance. **Ankara Journal of Health Sciences** (1-2-3): 37-47.
- Qureshi, T. M., Vermeer, C., Vegarud, G. E., Abrahamsen, R. K., & Skeie, S. (2013). Formation of biogenic amines and vitamin K contents in the Norwegian autochthonous cheese Gama lost during ripening. **Dairy Science & Technology**, 93(3), 303-314.
- Palmer CR, Blekkenhorst LC, Lewis JR, Ward NC, Schultz CJ, Hodgson JM, Croft KD, Sim M. 2020. Quantifying dietary vitamin K and its link to cardiovascular health: a narrative review. **Food & Function** 11(4): 2826-2837.
- Ramazani E, Fereidoni M, Tayarani-Najaran Z. 2019. Protective effects of vitamin K2 on 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells through modulation of Bax and caspase-3 activation. **Molecular Biology Reports** 46: 5777–5783.
- Rogelj, I., Perko, B., Francky, A., Penca, V., & Pungerčar, J. (2001). Recombinant lamb chymosin as an alternative coagulating enzyme in cheese production. **Journal of Dairy Science**, 84(5), 1020-1026.
- Samur, G. Şubat-2008 “**Vitaminler, mineraller ve sağlığımız**”, Ankara
- Sato T, Inaba N, Yamashita T. 2020. MK-7 and its effects on bone quality and strength. **Nutrients** 12: 965.
- Schurgers, L. J., & Vermeer, C. (2000). Determination of phyloquinone and menaquinones in food. **Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis**, 30(6), 298-307.
- Shibayama-Imazu T, Sakairi S, Watanabe A, Aiuchi T, Nakajo S, Nakaya K. 2003. Vitamin K2 selectively induced apoptosis in ovarian TYK-nu and pancreatic MIA PaCa-2 cells out of eight solid tumor cell lines through a mechanism different from geranyl geraniol. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology** 129(1): 1-11.
- Shibayama-Imazu T, Sonoda I, Sakairi S, Aiuchi T, Ann WW, Nakajo S, Itabe H, Nakaya K. 2006. Production of superoxide and dissipation of mitochondrial transmembrane potential by vitamin K2 trigger apoptosis in human ovarian cancer TYK-nu cells. **Apoptosis** 11(9): 1535-1543.
- Shibayama-Imazu T, Fujisawa Y, Masuda Y, Aiuchi T, Nakajo S, Itabe H, Nakaya K. 2008. Induction of apoptosis in PA-1 ovarian cancer cells by vitamin K2 is associated with an increase in the level of TR3/Nur77 and its accumulation in mitochondria and nuclei. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology** 134(7): 803-812.

- Shiraki, M., Shiraki, Y., Aoki, C., & Miura, M. (2000). Vitamin K₂ (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis. *Journal of bone and mineral research*, 15(3), 515-521.
- Showalter SL, Wang Z, Costantino CL. 2010. Naturally occurring K vitamins inhibit Pancreatic cancer cell survival through a caspase-dependent pathway. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 25(4), 738-744.
- Sousa, M. J., Ardö, Y., McSweeney, P. L. H. 2001. Advances in the study of proteolysis During cheese ripening. **International Dairy Journal**, 11(4-7), 327-345.
- Tarvainen M, Fabritius M, Yang B. 2019. Determination of vitamin K composition of fermented food. **Food Chemistry** 275: 515-522.
- Tokita H, Tsuchida A, Miyazawa K, Ohyashiki K, Katayanagi S, Sudo H, Enomoto M, Takagi Y, Aoki T. 2006. Vitamin K₂-induced antitumor effects via cell-cycle arrest and apoptosis in gastric cancer cell lines. **International Journal of Molecular Medicine** 17(2): 235-243.
- Ünsal A. 1997. **Sütünyunca**. YKY Basımevi, İstanbul.
- Vermeer C, Raes J, Hoofd CV, Knapen MHJ, Xanthouleas S. 2018. Menaquinone content of Cheese. **Nutrients** 10: 1-9.
- Xu W, Chen S, Wang X, Tahara K, Wu H, Tanaka S, Sugiyama K, Sawada T, Hirano T. 2021. Suppressive effect of vitamin K₂ against mitogen-activated peripheral blood mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics** 59(1):55-62.
- Walther, B., Guggisberg, D., Schmidt, R. S., Portmann, R., Risse, M. C., Badertscher, R., & Chollet, M. (2021). Quantitative analysis of menaquinones (vitamin K₂) in various types of cheese from Switzerland. **International Dairy Journal**, 112, 104853.
- Wu FY, Liao WC, Chang HM. 1993. Comparison of antitumor activity of vitamins K₁, K₂ and K₃ on human tumor cells by two (MTT and SRB) cell viability assays. **Life Sciences** 52(22): 1797-1804.
- Yaguchi M, Miyazawa K, Katagiri T, Nishimaki J, Kizaki M, Tohyama K, Toyama K 1997. Vitamin K₂ and its derivatives induce apoptosis in leukemia cells and enhance the effect of all-trans retinoic acid. **Leukemia** 11(6): 779-787.
- Yoshida T, Miyazawa K, Kasuga I. 2003. Apoptosis induction of vitamin K₂ in lung carcinoma cell lines: the possibility of vitamin K₂ therapy for lung cancer. **International Journal of Oncology** 23(3): 627-632.
- Yoshida M, Jacques PF, Meigs JB, Saltzman E, Shea MK, Gundberg C, Dawson Hughes B, Dallal G, Booth SL. 2008. Effect of vitamin K supplementation on insulin resistance in older men and women. **Diabetes Care** 31(11): 2092–2096.
- Zhang YF, Liu ZP, Duan LL, Ji YY, Yang S, Zhang Y, Li HY, Wang Y, Wang P, Chen JP, Li Y. 2020. Effect of low-dose vitamin K₂ supplementation on bone mineral density in middle-aged and elderly Chinese: **A randomized controlled study Calcified Tissue International** 106(5): 476-485