

## ***Chlorella vulgaris* Türü Mikroalgelerde B Vitamini İçeriklerinin Uzun Süreli Pişirme Koşulunda Değişimi**

Berat Zeki Haznedaroğlu  

Boğaziçi Üniversitesi, Çevre Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Geliş Tarihi (Received): 09.01.2023, Kabul Tarihi (Accepted): 19.06.2023

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): berat.haznedaroglu@boun.edu.tr (B.Z. Haznedaroğlu)

☎ 0 212 359 7974 📠 0 212 257 5033

### ÖZ

Bu çalışmada besleyici öğeler açısından zengin, farklı fonksiyonel gıdalarda kullanımı giderek yaygınlaşan *Chlorella vulgaris* türü mikroalgelerde bulunan B vitamini içeriklerinin 125°C sıcaklıkta ve 35 dakikalık pişirme koşulları altında değişimi incelenmiştir. Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (UHPLC-HR/MS) kullanılarak gerçekleştirilen ölçümlerde 35 dakikalık pişirme süresi sonrası B<sub>1</sub> (tiamin), B<sub>2</sub> (riboflavin), B<sub>3</sub> (niasin), ve B<sub>6</sub> (piridoksin) vitaminlerinin pişirme işlemine maruz bırakılmayan kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı şekilde ( $p<0.05$ ) arttığı belirlenmiştir. B<sub>7</sub> (biyotin) ve B<sub>12</sub> (metilkobalamin) miktarların ise 35 dakikalık pişirme işlemi sonrası kontrol grubuna göre bir miktar arttığı, ancak aradaki farkın istatistiki olarak anlamlı olmadığı ( $p>0.05$ ) gözlenmiştir. Otuz beş dakikalık uzun ısıtma işlemlerinin, kalın bir hücre çeperine sahip *Chlorella vulgaris* mikroalg türünde daha fazla B vitamini açığa çıkmasına yardımcı olabileceği; böylelikle ısıtma işlemlere karşı hassas olan ve pişirme sonrası bozunduğu bilinen B vitaminlerinin, *Chlorella vulgaris* türü mikroalgelerde pişirme sırasında korunarak fonksiyonel gıda ürünlerinde kullanılabilmesi değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Mikroalg, *Chlorella*, Fonksiyonel gıda, B vitaminleri

### **Changes in Vitamin B Complex of *Chlorella vulgaris* during Long Term Baking Conditions**

#### ABSTRACT

In this study, *Chlorella vulgaris* microalgae, commonly used in functional foods due to its rich nutritious compounds, have been subjected to 35-min cooking durations at 125°C to determine changes in its vitamin B content. Using Ultra-Performance Liquid Chromatography–High-Resolution Mass Spectrometry (UHPLC-HR/MS), long-term 35-min cooking caused significant increases ( $p<0.05$ ) in vitamins B<sub>1</sub> (thiamine), B<sub>2</sub> (riboflavin), B<sub>3</sub> (niacin) and B<sub>6</sub> (pyridoxine) compared to raw (non-baked) samples. Vitamins B<sub>7</sub> (biotin) and B<sub>12</sub> (methylcobalamin) were both higher in 35-min-baked samples although these changes were statistically insignificant ( $p>0.05$ ). These observations were attributed to the fact that long-term heat treatment during cooking might help breakage of thicker cell walls present in *Chlorella vulgaris* leading to higher vitamin B concentrations compared to raw samples. As such, it was concluded that cooking processes might help preserve vitamin B-rich content of *Chlorella vulgaris* and contribute to their use in functional food products.

**Keywords:** Microalgae, *Chlorella*, Functional food, Vitamin B

## GİRİŞ

Farklı alg türleri Aztek ve Maya gibi kadim topluluklara kadar varan dönemlerden beri gıda tüketiminde kullanılmakta olup, besleyici karakterlerine yönelik çalışmaların artması ile birlikte son dönemlerde fonksiyonel gıda üretiminde öne çıkmaktadır [1-4]. Algler, alternatif protein [5, 6], gıda boyaları [7], aljin ve aljinat türevleri [8, 9], karagenan [10], karotenoidler [11], omega-3 ve diğer doymamış yağ asitleri [12] gibi çeşitli gıda bileşenlerinin üretiminde yaygınca kullanılmaktadır. Küresel iklim krizi sebebiyle etkileri ve sıklıkları giderek artan kuraklık, sel, yangın gibi aşırı iklim olayları ve afetler, tarım ve hayvancılık faaliyetlerini olumsuz etkilerken, artan dünya nüfusu karşısında güvenli ve sağlıklı besin kaynaklarına erişimin giderek zorlaşmasından dolayı, alglerin gıda ürünlerinde kullanımının önümüzdeki dönemlere artması beklenmektedir [13-15].

Makroalgere göre boyutları çok daha küçük olan *Chlorella vulgaris* türü yeşil mikroalgler ise "Spirulina" genel ismi ile bilinen *Arthrospira* mavi-yeşil alg türleri gibi tam biyokütle (İng. whole biomass) olarak doğrudan veya farklı gıda ürünlerine kuru ve/veya sıvı formda eklenerek kullanılabilir [16-18]. Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (US FDA) ile Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA) tarafından "Genellikle Güvenilir Kabul Edilen (İng. Generally Recognized as Safe - GRAS) statüsünde bulunması sebebiyle gıda ürünlerinde kullanımı ve tüketimi hızla yaygınlaşmaktadır [19]. *Chlorella vulgaris* türü mikroalgler, beta-karoten [20], lutein [21], zeaksantin gibi karotenoidler ile çeşitli proteinler [22, 23], A, E, B vitamin kompleksleri [24], esansiyel amino asitler [25], polisakkaritler [16], omega-3 vb. çoklu doymamış yağ asitleri ve çeşitli mineraller içermektedir [26, 27]. Psödo-kobalaminin farklı olarak doğal biyolojik formu olan metil-kobalamin içerdiğinden dolayı *Chlorella vulgaris*, önemli bitkisel B<sub>12</sub> vitamin kaynakları içinde gösterilmektedir [28, 29].

İçeriklerindeki yüksek besi öğelerine rağmen, gıda pişirme proseslerinin mikroalglerde yarattığı etkilerin araştırıldığı çalışmalar literatürde oldukça sınırlıdır. Örnek olarak, antioksidan özelliği oldukça yüksek, doğal mavi gıda boyası (Lina Blue®) olarak yaygınca kullanılan ve farklı alg türlerinden elde edilebilen fikosiyenin pigmentinin 70°C ve üstü sıcaklıklarda denatüre olduğu bilinmektedir [30, 31]. Benzer şekilde C vitaminin 70°C ve üstü sıcaklıklarda bozulduğu bildirilirken [32]; B<sub>1</sub> (tiyamin), B<sub>2</sub> (riboflavin), B<sub>6</sub> (piridoksin) ve B<sub>9</sub> (folik asit) vitaminlerinin ısıya karşı duyarlı oldukları raporlanmıştır [33, 34].

Gerçekleştirilen bu çalışmada ise, B vitaminleri içeriği açısından zengin *Chlorella vulgaris* türü mikroalglerin, 125°C sıcaklıkta uzun süreli (35 dakika) pişirme koşullarına maruz bırakıldıklarında B vitamini konsantrasyonlarının nasıl bir değişim gösterdikleri

sorusu araştırılmış, analitik ölçümler ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (UHPLC-HR/MS) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

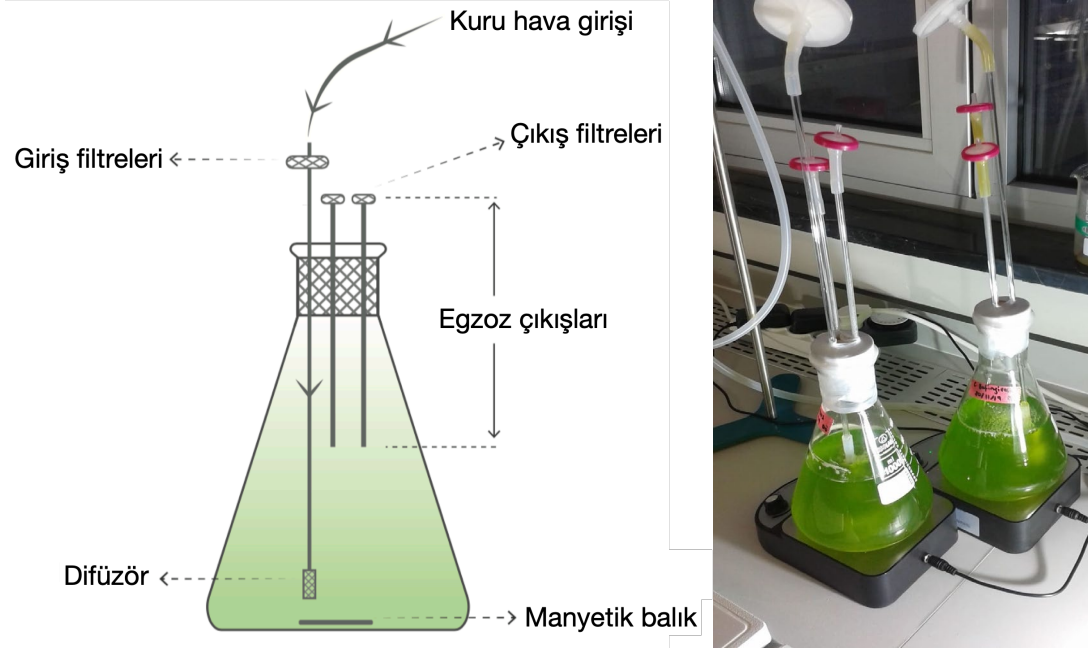
Bu çalışmada, Chlorophyceae sınıfına ait *Chlorella vulgaris* yeşil mikroalg türünün, Culture Collection of Algae and Protozoa (İskoçya, Birleşik Krallık) koleksiyonundan temin edilen CCAP 211/11B suşu kullanılmıştır. Besi yeri olarak bu türün kültürlenmesinde yaygın olarak tercih edilen Modified Bold's 3N (MB3N) kullanılmıştır [35]. Besi yeri hazırlanmasında kullanılan tüm kimyasallar ve analitik standartlar, Merck KGaA (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

### Mikroalg Kültürlenmesi

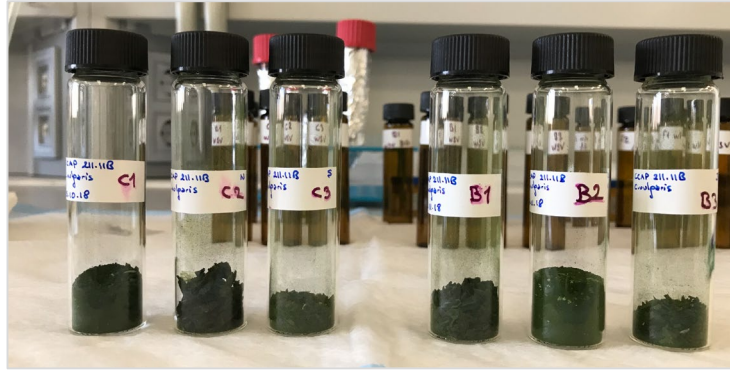
Mikroalg kültürleri 2-L hacimli Erlen şişeler kullanılarak tasarlanan fotobiyoreaktörlerde (Şekil 1), 110 µmol foton/m<sup>2</sup>/s fotosentetik foton akı yoğunluğuna sahip beyaz LED ışık altında, 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık çevrimine maruz bırakılarak, 25±2°C sıcaklıkta büyütülmüştür. Reaktörler 0.2 µm filtreden geçirilen ve 400 mL/dk akış oranlı kuru hava ile beslenmiş ve reaktör pH seviyesi 8±0.5 olarak sabit tutulmuştur. Kesikli (batch) besleme modunda çalıştırılan fotobiyoreaktörlerde, mikroalg biyokütle büyüme değerleri günlük olarak spektrofotometrik (680 nm dalga boyunda) ve standart ışık mikroskobu altında hemositometrik hücre sayım teknikleri kullanılarak ölçülmüştür. Sekiz günlük büyüme sonrası orta-katsal faza gelen mikroalg kültürleri santrifüj yardımıyla (3140xg, 10 dk) nem oranları %18-20 seviyesinde olacak şekilde hasatlanmıştır. Kuru hücre ağırlıkları, alikotlanan birim hacimli mikroyosun biyokütlesinin daha önceden darası alınmış 0.44 µm gözenek çaplı membran filtrelerden geçirilerek, 105°C fırınlarda 4 saat kurutulma işlemini takiben 2 saat desikatörde nem oranları %4-6 seviyesinde tutularak hassas terazi yardımıyla belirlenmiştir.

### Pişirme Koşulları

Mikroalg kültürleri 35 dakikalık uzun süreli pişirme koşulu olarak 125°C sıcaklıkta tutulan fırınlarda (ON-105, Daihan, G. Kore), Pyrex® cam petri kapları (Merck, Almanya) kullanılarak pişirilmiştir [36]. Karşılaştırma yapılan kontrol grubu ise herhangi bir pişirmeye maruz bırakılmamıştır (Şekil 2). Mikroalg örneklerinin pişirme öncesi ve sonrası nem tayinleri yakın kızılaltı (NIR) analizörü (SpectraStar XT, Unity Scientific, Brookfield, ABD) kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan mikroalg türlerinin kültürlendiği fotobiyoreaktör sistemi  
*Figure 1. Fotobioreactor system used to cultivate microalgae species for the stud*



Şekil 2. Çalışmada kullanılan mikroalg örnekleri (C1, C2 ve C3 pişirme işlemine tabi tutulan biyolojik tekrar örneklerini; B1, B2 ve B3 pişirme işlemine tabi tutulmayan gruba ait biyolojik tekrar örneklerini ifade etmektedir)

*Figure 2. Microalgae samples used for the study (C1, C2 and C3 represent biological replicates of the baked group; B1, B2, and B3 represent biological replicates of the no-bake group)*

## Homojenizasyon ve Vitamin Ekstraksiyon İşlemleri

Kontrol grubu ve 35 dakikalık pişirme işlemine tabi tutulan mikroalg kültürlerinden alından nem oranı %4-6 olan 250 mg'lık örnekler, 1 mL 4:5 kloroform:metanol (v/v) solvent karışımı içerisinde 0.1 mm ve 0.5 mm çaplarında cam bilyeler kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemleri, bilyeli öğütme sistemi (Precellys, Bertin, Fransa) yardımıyla 2500 rpm'de 1 dakikalık öğütme ve 2 dakikalık buz üstünde soğutma adımlarının 8 kez tekrar edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Homojenizasyon sonrası örnekler, amber renkli koyu vialler kullanılarak 4 mL asetonitril ve 80 µL formik asit içeren ekstraksiyon solüsyonuna alınarak 1 dk boyunca vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Karanlık bir odada 10 dk boyunca roller tüp karıştırıcı

kullanılarak tekrar karıştırılan örneklerin santrifüjleme işlemi sonrası (3140xg, 15 dk) üst fazları cam Pastör pipetler yardımıyla cam viallere alınmıştır. Son adımda, 0.22 µm gözenek açıklığına sahip filtreler kullanılarak elde edilen örneklerden toplam 900 µL'lik kısım, 100 µL iç standart (B<sub>12c</sub>-siyanokobalamin) ile karıştırılarak analitik ölçümlere hazır hale getirilmiştir.

## Analitik İşlemler ve Vitamin Analizleri

Örneklerin kromatografik ayırma işlemi Ultimate 3000 UHPLC sistemi (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayırma kolonu olarak 15 cm Thermo Scientific kolon (Accucore RP-MS, 150X2.1mm, 2.6µm) kullanılmış olup kolon fırın sıcaklığı 50°C olarak ayarlanmıştır. Her ikisi de 0.1% formik asit içeren su (A) ve metanol (B) çözücülerinden oluşan ikili

mobil faz sistemi, Tablo 1'de verilen gradyan elüsyon programı uygulanarak kromatografik ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Kromatografik ayırma işlemi sırasında kullanılan gradyan elüsyon programı

**Table 1. Gradient elution program for the chromatographic separation of samples**

No	Zaman	Akış (mL/dakika)	%A	%B
1	-2.000			
2	0.000			
3	0.000	0.400	98	2
4	5.500	0.400	50	50
5	8.000	0.400	20	80
6	8.100	0.400	2	98
7	8.100	0.600	2	98
8	11.000	0.600	2	98
9	11.100	0.600	98	2
10	14.400	0.600	98	2
11	14.500	0.400	98	2
12	15.000			

Vitaminlerin kromatografik ayırma işlemi takiben kantitatif analizleri için Ultimate 3000 UHPLC sistemiyle birlikte çalışan Q Exactive™ Orbitrap kütle spektrometresi (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD), pozitif modda ısıtılmış elektrosprey iyonizasyon (HESI) kaynağı kullanılarak, yüksek çözünürlükte veri toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. HESI parametreleri sprey voltajı, 3 kV; gaz akış hızları; sprey gazı akış hızı, 50 AU; kurutma gazı akış hızı, 15 AU; süpürme gazı

akış hızı, 1 AU; kapiler sıcaklığı, 380°C; kurutma gazı sıcaklığı, 350°C olacak şekilde ayarlanmıştır.

Örnekler paralel reaksiyon izleme (PRM) modunda Tablo 2'de verilen inklüzyon listesi kullanılarak kantitatif analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz parametreleri 35000 çözünürlük; normalize çarpışma enerjisi 35, AGC hedefi 10000, Maximum IT 100 ms ve analiz süresi 15 dk. olarak ayarlanmıştır.

Tablo 2. Kütle spektrometri paralel reaksiyon izleme inklüzyon listesi

**Table 2. Mass spectrometry parallel reaction monitoring inclusion list**

Molekül İsmi	Molekül Formülü [M]	Kütle [m/z]	Polarite	Başlangıç (dk.)	Bitiş (dk.)
Niasin	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	124.03930	Pozitif	0.07	1.80
Piridoksin	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	170.08117	Pozitif	0.60	1.25
D-pantotenik asit)	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	220.11795	Pozitif	3.00	4.80
Biyotin	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	245.09544	Pozitif	5.55	6.00
Tiamin	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>4</sub> OS	265.11176	Pozitif	0.50	0.95
Riboflavin	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	377.14556	Pozitif	5.75	6.20
Folik asit	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> N <sub>7</sub> O <sub>6</sub>	442.14696	Pozitif	4.95	5.40
Metilkobalamin	C <sub>63</sub> H <sub>91</sub> CoN <sub>13</sub> O <sub>14</sub> P	673.79121	Pozitif	4.35	5.60
Siyankobalamin	C <sub>63</sub> H <sub>88</sub> CoN <sub>14</sub> O <sub>14</sub> P	678.29098	Pozitif	5.41	5.85

## İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamındaki tüm deney setleri üçerli bağımsız biyolojik tekrarlar şeklinde gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak raporlanmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS Statistics (v25, IBM, Chicago, IL, ABD) programı kullanılarak iki uçlu bağımsız örneklem t-testi ile %95'lik güven aralığında belirlenmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Besinlerde vitamin içeriklerinin sıcaklık temelli gıda hazırlama (pastörizasyon, vb.) ve/veya pişirme işlemleri sırasında gösterdiği değişikliklerin araştırılması, gıda sektöründe önem taşıyan konulardandır. Lee ve ark. [37] tarafından gerçekleştirilen çalışmada kaynatma, buğulama, mikrodalga gibi farklı pişirme işlemlere maruz bırakılan sebzelerde bulunan vitaminlerden ağırlıklı olarak Vitamin C ve yağda çözünen vitaminlerin (A, D) korunduğu, bazılarının ise kaybolduğu (K vitamini gibi)

raporlanmıştır. Rickman ve ark. [38] ise özellikle konserveleme öncesi ısıtılmış meyve ve sebzelerde B ve C vitaminlerinin azaldığını belirlemiştir. Kaynatma işleminin süt içerisinde bulunan B<sub>12</sub> vitamini içeriğini oldukça düşürdüğü [39]; benzer şekilde kavurma işleminin fıstık ürünlerinde B<sub>1</sub> vitamini içeriğini azalttığı raporlanmıştır [40].

B vitamini içerikleri açısından oldukça zengin *C. vulgaris* türü mikroalglerin ekmek [41], makarna [42], kurabiye [36], vb. gıda ürünlerinde kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Bu çerçevede, farklı gıda ürünlerinin pişirme sürelerini kapsayacak şekilde 125°C sıcaklıkta 35 dk'lık uzun pişirme süresinin B vitamini içeriklerine olan etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, *C. vulgaris* türü mikroalglerde B<sub>9</sub> (folik asit) dışında tespit edilen tüm diğer B vitamini içeriklerinin, pişirme işlemine tabi tutulamayan kontrol grubuna göre korunduğu ve pişirme işleminin daha fazla B vitamini çıkmasına yardımcı olabileceği belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Otuzbeş dakikalık pişirme işlemine maruz bırakılan mikroalg örneklerindeki B vitamini içeriklerinin kontrol grubuna göre değişimi

**Table 3. Changes in Vitamin B contents of 35-min baked microalgae samples compared to no-bake control group**

Vitamin türü	Kontrol grubu (µg/100g kuru ağırlık)	35 dk. Pişirme (µg/100g kuru ağırlık)
B <sub>1</sub> (Tiamin)	579.04±19.34	680.66±62.15*
B <sub>2</sub> (Riboflavin)	1.82±0.45	63.20±17.27*
B <sub>3</sub> (Niasin)	4814.64±390.06	7973.80±2022.08*
B <sub>5</sub> (Pantotenik asit)	127.65±12.96	127.57±0.41
B <sub>6</sub> (Piridoksin)	2.08±0.19	7.05±0.07*
B <sub>7</sub> (Biyotin)	8.47±0.33	9.78±1.02
B <sub>9</sub> (Folik asit)	ND	ND
B <sub>12m</sub> (Metilkobalamin)	243.39±25.91	264.98±18.24

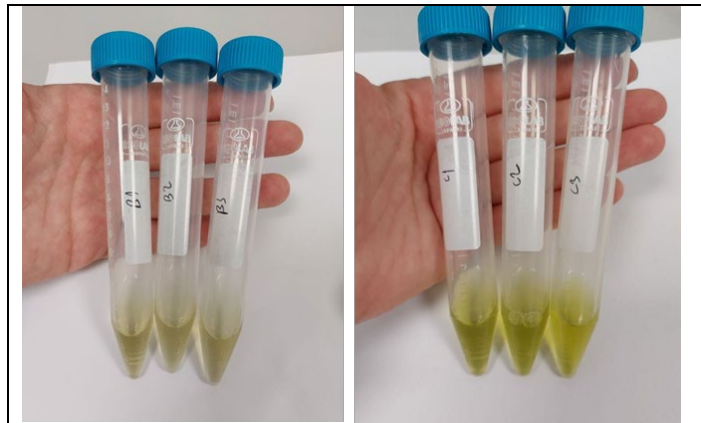
\*İstatistiksel olarak kontrol grubundan farklı (p&lt;0.05) (n=3).

UHPLC-HR/MS kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde B<sub>1</sub> (tiamin), B<sub>2</sub> (riboflavin), B<sub>3</sub> (niasin), ve B<sub>6</sub> (piridoksin) vitaminlerinin 35 dk pişirme sürelerine maruz bırakılan örneklerde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde (p<0.05) daha fazla bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 3). Vitamin B<sub>7</sub> (biyotin) ve B<sub>12m</sub> (metilkobalamin) konsantrasyonları incelendiğinde ise 35 dk pişirme işlemine tabi tutulan örneklerin kontrol grubuna göre bir miktar fazla konsantrasyonda oldukları ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı (p>0.05) gözlenmiştir. Vitamin B<sub>5</sub> (pantotenik asit) içeriklerinde ise 35 dk pişirme sonrasında kontrol grubuna göre değişim gözlenmemiştir (Tablo 3).

Yakın zamanda yayınlanan bir derleme çalışmada, mikrodalga kullanılarak pişirilen makroalglerde vitamin ve diğer metabolit içerikleri daha fazla korunurken, kaynatma yöntemi tercih edilerek hazırlanan makroalglerde ise daha fazla metabolit kaybı olduğu değerlendirilmiştir [44]. Literatürde genel olarak B vitaminlerinin ısı ile işleme tabi tutulduklarında bozuldukları belirtilmekle birlikte, özellikle B<sub>1</sub> (tiamin), B<sub>5</sub> (pantotenik asit), B<sub>6</sub> (piridoksin), B<sub>9</sub> (folik asit) ve B<sub>12m</sub> (metilkobalamin) vitaminlerinin diğer vitaminlere kıyasla ısıya karşı daha fazla hassas oldukları raporlanmaktadır [33, 43, 45]. Bu çalışma kapsamında ise bu yaygın görüşün tersine 125°C sıcaklıkta 15 dk ve 35 dk'lık sürelerde pişirilen *C. vulgaris* türü mikroalg örneklerinde B vitaminlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu belirlenmiştir (Tablo 3). Bu

sonuçlar, bitkisel hücre yapısına benzer kalın hücre çeperlerine sahip *C. vulgaris* türü mikroalglerin [46], pişirme işlemi sırasında sıcaklığa maruz bırakılmasıyla birlikte daha fazla B vitamini elde edilmesine sebep olabileceği değerlendirilmiştir. Bu görüşün dayanağı olarak, B vitaminlerinin ekstraksiyonu sonrasında ve analitik ölçümlerden hemen önce alınan görüntülerde 35 dk pişirme işlemine maruz bırakılan örneklerin başlangıç biyokütle miktarları aynı olmasına rağmen daha koyu lizatların elde edildiği gözlenmiştir (Şekil 3).

Şekil 3'den görüldüğü üzere pişirme işleminin mikroalg hücre duvarının parçalanmasına yardımcı olabileceği, böylelikle ısı ile işleme tabi tutulmayan kontrol grubundan daha fazla B vitamini kompleksinin elde edilebileceği değerlendirilmiştir. Literatürde ısı ile işleme tabi tutulmayan ham ve pişirilen örnekler ile yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında, ızgara yapılan Afrika Kedi Balığı'nın pişirilmeyen balıklara göre daha fazla B<sub>2</sub> (riboflavin) ve B<sub>3</sub> (niasin) vitamini içerdiği gözlenmiştir [47]. Benzer ve kapsamlı bir başka çalışmada ise balık ve balık ürünlerinin buğulama, ızgara ve tava gibi farklı pişirme koşullarında B<sub>2</sub> ve B<sub>3</sub> vitaminlerinin pişirilmemiş ürünlere göre daha fazla olduğu kaydedilmiştir [48]. Bu durum, literatürdeki yaygın örneklerle kıyasla bazı gıda ürünlerinin pişirme yöntemi ile ısı ile işleme tabi tutulduklarında B vitamini içeriklerinin daha fazla açığa çıkabileceği ihtimalini doğrulamakla birlikte, bu alanda daha kapsamlı ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 3. Mikroalg örneklerinin ekstraksiyon işlemi sonrası görüntüleri [Kontrol grubu (sol), 35 dk. pişirme (sağ)]

**Table 3. Images of microalgae samples following extraction process [No-bake control group (left), 35-min baked group (right)]**



## SONUÇ

Özetle, bu çalışmada B vitaminleri içeriği açısından zengin olan ve son dönemlerde farklı fonksiyonel gıdalarda kullanımı yaygınlaşan *Chlorella vulgaris* türü mikroalglerin, karıştırılarak kullanıldığı ürünler itibarıyla ekmek, kurabiye, vb. ürünlerin pişirme yöntemi ile ısıl işlemlere maruz bırakıldığında bazı B vitaminlerinin pişirilmeyen örneklerle göre daha fazla açığa çıktığı, diğerlerinin ise maruz kaldıkları ısıl işleme rağmen korunduğu belirlenmiştir. Isıl işlemlere karşı hassas olduğu bilinen vitaminlerin mikroalg hücre çeperi içinde korunduğu, ısıl işlemin pişirme sonucu gıdada korunan B vitamini içeriklerine olumlu katkıda bulunabileceği raporlanmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Avrupa Birliği ve Türkiye Cumhuriyeti tarafından ortak finanse edilen, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, AB ve Dış İlişkiler Genel Müdürlüğü, AB Mali Programları Daire Başkanlığı tarafından yürütülen Rekabetçi Sektörler Programı EuropeAid/140111/IH/SUP/TR numaralı "Biyoeкономи Odaklı Kalkınma için Entegre Biyofineri Konsepti" Proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Analitik ölçümlere katkıda bulunan Boğaziçi Üniversitesi İstanbul Mikroyosun Biyoteknolojileri Ar-Ge Birimi ekibinden Dr. Engin Bayram'a ve Duygu Özçelik'e; fotobiyoreaktör çizimi için Derya Gelgör'e teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- [1] Aaronson, S. (1986). A role for algae as human food in antiquity. *Food and Foodways*, 1(3), 311-315.
- [2] Adjali, A., Clarot, I., Chen, Z., Marchioni, E., Boudier, A. (2021). Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: A short review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(3), 406-414.
- [3] Akyıl, S., İltter, I., Mehmet, K., Kaymak-Ertekin, F. (2016). Alglerden elde edilen yüksek değerli bileşiklerin biyoaktif/biyolojik uygulama alanları. *Akademik Gıda*, 14(4), 418-423.
- [4] Alçay, A.Ü., Sağlam, A., Yalçın, S., Bostan, K. (2018). Possible protein sources for the future. *Akademik Gıda*, 16(2), 197-204.
- [5] Ambati, R.R., Gogisetty, D., Aswathanarayana, R.G., Ravi, S., Bikkina, P.N., Bo, L., Yuepeng, S. (2019). Industrial potential of carotenoid pigments from microalgae: Current trends and future prospects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(12), 1880-1902.
- [6] Berry Ottaway, P. (2010). Stability of vitamins during food processing and storage. In *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages*, Edited by L.H. Skibsted, J. Risbo, M.L. Andersen, Woodhead Publishing, 80 High Street, Cambridge, CB22 3HJ United Kingdom. 539p.
- [7] De Ruiter, G.A., Rudolph, B. (1997). Carrageenan biotechnology. *Trends in Food Science & Technology*, 8(12), 389-395.
- [8] Dias, M.G., Sanchez, M., Bartolo, H., Oliveira, L. (2003). Vitamin content of fish and fish products consumed in Portugal. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2(4), 510-515.
- [9] Ersoy, B., Özeren, A. (2009). The effect of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. *Food chemistry*, 115(2), 419-422.
- [10] Ferreira, A.S., Ferreira, S.S., Correia, A., Vilanova, M., Silva, T.H., Coimbra, M.A., Nunes, C. (2020). Reserve, structural and extracellular polysaccharides of *Chlorella vulgaris*: A holistic approach. *Algal Research*, 45, 101757.
- [11] Fradique, M., Batista, A.P., Nunes, M.C., Gouveia, L., Bandarra, N.M., Raymundo, A. (2010). Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10), 1656-1664.
- [12] Fuliş, A., Vlase, G., Vlase, T., Oneţiu, D., Doca, N., Ledeti, I. (2014). Thermal degradation of B-group vitamins: B1, B2 and B6. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 118(2), 1033-1038.
- [13] Ghafari, M., Rashidi, B., Haznedaroglu, B.Z. (2018). Effects of macro and micronutrients on neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae. *Biofuels*, 9(2), 147-156.
- [14] Godde, C., Mason-D'Croz, D., Mayberry, D., Thornton, P.K., Herrero, M. (2021). Impacts of climate change on the livestock food supply chain; A review of the evidence. *Global Food Security*, 28, 100488.
- [15] Gouveia, L., Batista, A.P., Miranda, A., Empis, J., Raymundo, A. (2007). *Chlorella vulgaris* biomass used as colouring source in traditional butter cookies. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(3), 433-436.
- [16] Graça, C., Fradinho, P., Sousa, I., Raymundo, A. (2018). Impact of *Chlorella vulgaris* on the rheology of wheat flour dough and bread texture. *LWT*, 89, 466-474.
- [17] Helliwell, K.E., Lawrence, A.D., Holzer, A., Kudahl, U.J., Sasso, S., Kräutler, B., Smith, A.G. (2016). Cyanobacteria and eukaryotic algae use different chemical variants of vitamin B12. *Current Biology*, 26(8), 999-1008.
- [18] Hildebrand, G., Poojary, M.M., O'Donnell, C., Lund, M.N., Garcia-Vaquero, M., Tiwari, B.K. (2020). Ultrasound-assisted processing of *Chlorella vulgaris* for enhanced protein extraction. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 1709-1718.
- [19] İltter, I., Akyıl, S., Mehmet, K., Kaymak-Ertekin, F. (2016). Alglerden elde edilen stabilize edici maddeler. *Akademik Gıda*, 14(3), 315-321.
- [20] Jayappriyan, K., Baskar, B., Vijayakumar, M., Brabakaran, A., Rajkumar, R., Elumalai, S. (2021). Food and nutraceutical applications of algae. In *Algae for Food*, Edited by K.R. Jayappriyan, B. Baskar, M. Vijayakumar, A. Brabakaran, R. Rajkumar, S. Elumalai, CRC Press, 5 Howick Place, London SW1P 1WG, England, 83p.
- [21] Ji, X.J., Ren, L.J., Huang, H. (2015). Omega-3 biotechnology: a green and sustainable process for

- omega-3 fatty acids production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3, 158.
- [22] Koyande, A.K., Chew, K.W., Manickam, S., Chang, J.S., Show, P.L. (2021). Emerging algal nanotechnology for high-value compounds: a direction to future food production. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 290-302.
- [23] Kulkarni, S., Nikolov, Z. (2018). Process for selective extraction of pigments and functional proteins from *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 35, 185-193.
- [24] Lee, S., Choi, Y., Jeong, H.S., Lee, J., Sung, J. (2018). Effect of different cooking methods on the content of vitamins and true retention in selected vegetables. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 333-342.
- [25] Liu, S., Gifuni, I., Mear, H., Frappart, M., Couallier, E. (2021). Recovery of soluble proteins from *Chlorella vulgaris* by bead-milling and microfiltration: Impact of the concentration and the physicochemical conditions during the cell disruption on the whole process. *Process Biochemistry*, 108, 34-47.
- [26] Misiou, O., Koutsoumanis, K. (2021). Climate change and its implications for food safety and spoilage. *Trends in Food Science & Technology*, 126, 142-152.
- [27] Munawaroh, H., Darojatun, K., Gumilar, G., Aisyah, S., Wulandari, A. (2018). Characterization of phycocyanin from *Spirulina fusiformis* and its thermal stability. *4<sup>th</sup> International Seminar of Mathematics, Science and Computer Science Education*, October 14, 2017, Bandung, Indonesia, Book of Proceedings, 012205p.
- [28] Onwezen, M.C., Bouwman, E.P., Reinders, M.J., Dagevos, H. (2021). A systematic review on consumer acceptance of alternative proteins: Pulses, algae, insects, plant-based meat alternatives, and cultured meat. *Appetite*, 159, 105058.
- [29] Palabıyık, İ. (2017). Liyofilize bazı mikroalg türlerinin sakız bileşiminde doğal renklendirici olarak kullanımı. *Gıda*, 42(6), 676-681.
- [30] Panahi, Y., Darvishi, B., Jowzi, N., Beiraghdar, F., Sahebkar, A. (2016). *Chlorella vulgaris*: a multifunctional dietary supplement with diverse medicinal properties. *Current Pharmaceutical Design*, 22(2), 164-173.
- [31] Pires, J.C. (2017). COP21: the algae opportunity? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 867-877.
- [32] Qazi, W.M., Ballance, S., Kousoulaki, K., Uhlen, A.K., Kleinegris, D.M., Skjånes, K., Rieder, A. (2021). Protein enrichment of wheat bread with microalgae: *Microchloropsis gaditana*, *Tetraselmis chui* and *Chlorella vulgaris*. *Foods*, 10(12), 3078.
- [33] Rani, K., Sandal, N., Sahoo, P. (2018). A comprehensive review on chlorella-its composition, health benefits, market and regulatory scenario. *The Pharma Innovation Journal*, 7(7), 584-589.
- [34] Rickman, J.C., Barrett, D.M., Bruhn, C.M. (2007). Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(6), 930-944.
- [35] Rojas, A.M., Gerschenson, L.N. (2001). Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: An additional discussion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(15), 1433-1439.
- [36] Ryley, J., Kajda, P. (1994). Vitamins in thermal processing. *Food chemistry*, 49(2), 119-129.
- [37] Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.Y., Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.
- [38] Sayeda, M., Ali, G.H., El-Baz, F.K. (2015). Potential production of omega fatty acids from microalgae. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 34(2), 210-215.
- [39] Seyfabadi, J., Ramezanzpour, Z., Amini Khoeyi, Z. (2011). Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*, 23(4), 721-726.
- [40] Stuetz, W., Schlörmann, W., Glei, M. (2017). B-vitamins, carotenoids and  $\alpha$ - $\gamma$ -tocopherol in raw and roasted nuts. *Food Chemistry*, 221, 222-227.
- [41] Syed, S., Arasu, A., Ponnuswamy, I. (2015). The uses of *Chlorella vulgaris* as antimicrobial agent and as a diet: The presence of bio-active compounds which caters the vitamins, minerals in general. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 7(1), 185-190.
- [42] Tuğçe, Ö., Bayram, B. *Spirulina* mikroalginin besinsel özellikleri ve sağlık üzerine potansiyel etkileri. *Akademik Gıda*, 20(3), 296-304.
- [43] Usov, A.I. (1999). Alginic acids and alginates: Analytical methods used for their estimation and characterisation of composition and primary structure. *Russian Chemical Reviews*, 68(11), 957-966.
- [44] Ho, K., Redan, B.W. (2022). Impact of thermal processing on the nutrients, phytochemicals, and metal contaminants in edible algae. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(2), 508-526.
- [45] Watanabe, F. (2007). Vitamin B12 sources and bioavailability. *Experimental Biology and Medicine*, 232(10), 1266-1274.
- [46] Watanabe, F., Yabuta, Y., Bito, T., Teng, F. (2014). Vitamin B12-containing plant food sources for vegetarians. *Nutrients*, 6(5), 1861-1873.
- [47] Weber, S., Grande, P.M., Blank, L.M., Klose, H. (2022). Insights into cell wall disintegration of *Chlorella vulgaris*. *Plos One*, 17(1), e0262500.
- [48] West, V.A. (2015). Stability of selected B vitamins in thermally-treated pinto beans, Department of Nutrition, Dietetics and Food Science, Brigham Young University Yüksek Lisans Tezi, Provo, Utah, Amerika Birleşik Devletleri, 105 s.