



**T. C.**

**ORDU ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FINDIK (*Corylus avellana L.*) DİYET LİFLERİNİN KALIN  
BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**ELANUR DAŞTAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ORDU 2022**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**ELANUR DAŞTAN**

**Bu tez, 218O130 numaralı TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir.**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### FINDIK (*Corylus avellana L.*) DİYET LİFLERİNİN KALIN BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ELANUR DAŞTAN

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 101 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. YUNUS EMRE TUNÇİL)

(İKİNCİ TEZ DANIŞMANI: DOÇ DR. MÜNİR ANIL)

Bu çalışmanın amacı, naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarı diyet liflerinin (DL) bileşimini ve yapısal özelliklerini karakterize etmek ve *in vivo* koşullarda kolonik mikrobiyota bileşimi ve mikrobiyal metabolitler üzerindeki etkilerini incelemektir. Naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarı suda çözünen ve çözünmeyen DL'leri enzimatik olarak ekstrakte edilmiş ve bileşimsel ve yapısal özellikleri, gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) kullanılarak belirlenmiştir. GC/MS analizi, naturel ve kavrulmuş fındığın çözünmeyen DL'nin selüloz (%40-47), ksiloglukan (%19-23), pektik polisakkaritler (%17-26) ve heteromannanlardan (%8-9) oluştuğunu; fındık zarı DL'nin ise yaklaşık yarısının lignin, geri kalan kısmının ise selüloz (%50), ksiloglukan (%17), pektik polisakkaritler (%23) ve heteromannandan (%3) oluştuğunu göstermektedir. Öte yandan örneklerin suda çözünen DL'nin ise pektik polisakkaritler (%58-68), ksiloglukan (%13-18) ve mannandan (%4.1-8.2) meydana geldiği belirlenmiştir. Daha sonra, C57BL/6J ırkı fareler, 6 hafta boyunca fındık örneklerinden ekstrakte edilmiş DL ile zenginleştirilmiş yemlerle beslenmiş ve kolonik mikrobiyota bileşimlerinde meydana gelen değişimler, besleme sürecinin 0., 3. ve 6. haftasında toplanan dışkı örneklerinin 16S rRNA sekanslama teknolojisi kullanılarak analiz edilmesiyle belirlenmiştir. Ayrıca, GC yardımıyla, kalın bağırsakta oluşan mikrobiyal kısa- zincirli yağ asitleri (KZYA) haftalık olarak dışkı örnekleri üzerinde ölçülmüştür. KZYA sonuçları, fındık DL'nin dişi farelerde bütirojenik, erkek muadillerinde ise asetojenik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Kolonik mikrobiyotanın taksonomik karşılaştırmaları, fındık (özellikle naturel fındık) DL'nin probiyotik olarak bilinen ve probiyotik potansiyeli olan *Lactobacillus* ile ilişkili OTU'ların nispi bolluklarını, diğer gruplara kıyasla, daha fazla arttırdığını göstermiştir. LEfSe analizi, dişi fareler ele alındığında, Lachnospiraceae, *Prevotella*, Ruminococcaceae ve *Lactobacillus*'un; erkek fareler ele alındığında ise *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Prevotella* ve *Lactococcus*'un sırasıyla naturel fındık, kavrulmuş fındık, fındık zarı ve kontrol (selüloz) grubu için biyobelirteç olduklarını ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, naturel ve kavrulmuş fındık ile fındık zarı DL'nin kolonik mikrobiyota bileşimi ve mikrobiyal metabolitler üzerine etkilerinin cinsiyete özgü olduğunu ortaya koymaktadır. İlâveten, bu sonuçlar kavurma işleminin fındık DL'nin fonksiyonel özelliklerinde kısmi değişime sebep olduğunu, ancak genel olarak, fındık DL'nin faydalı mikroorganizmaların ve mikrobiyal metabolitlerin bolluğunun artmasını sağlayarak, kolonik mikrobiyomu düzenlediğini açıkça göstermektedir. Son olarak, bu sonuçlar, fındık zarı DL'nin, kolonda faydalı bakterileri teşvik etme kabiliyetinde olduğunu ve dolayısıyla, fındık endüstrisi yan ürünü olan fındık zarının, prebiyotik (veya benzeri) özellikte sindirilemeyen karbonhidratların üretimi için hammadde olarak kullanılma potansiyeli olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyet Lifi, Fındık, Kalın Bağırsak Mikroflorası, Kısa Zincirli Yağ Asitleri, Prebiyotik, 16S rRNA.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE IMPACTS OF HAZELNUT (*Corylus avellana L.*) DIETARY FIBERS ON THE COLONIC MICROBIOTA

ELANUR DASTAN

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED  
SCIENCES

FOOD ENGINEERING

MASTER THESIS, 101 PAGES

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. YUNUS EMRE TUNÇİL)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MÜNİR ANIL)

In this study, we aimed to characterize the compositional and structural features of dietary fibers (DF) of natural hazelnut, roasted hazelnut, and hazelnut skin and further aimed to investigate their impacts on colonic microbiota composition and function *in vivo*. Insoluble and soluble DF of natural hazelnut, roasted hazelnut, and hazelnut skin were extracted using an enzymatic extraction technique and their compositional and structural features were identified using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS). GC/MS analysis revealed that natural and roasted hazelnut insoluble DF compose of cellulose (%40-47), xyloglucan (%19-23), pectic polysaccharides (%17-26) and heteromannans (%8-9), whereas that of hazelnut skin compose of lignin, cellulose, xyloglucan, pectic polysaccharides and heteromannans. On the other hand, soluble DF of the samples were made up of pectic polysaccharides (%58-68), xyloglucan (%13-18), and mannan (%4.1-8.2). Next, C57BL/6J mice were fed with chow diet containing the extracted DF for 6 weeks, and changes that occurred in their colonic microbiota composition were investigated using 16S rRNA sequencing technique on feces collected after 0, 3 and 6 weeks of feeding period. Further, microbial metabolites as means of short-chain fatty acids (SCFA) were measured on feces weekly using GC. SCFA analysis demonstrated that hazelnut DF show a butyrogenic effect in female mice models, whereas acetogenic effect was observed in male counterparts. Taxonomic comparisons of colonic microbiota revealed that hazelnut (especially natural hazelnut) DF supplementation increase the relative abundances of *Lactobacillus* related OTUs that are known to be probiotics or have probiotic potentials. LEfSe (linear discriminant analysis effect size) analysis revealed that, for female mice, Lachnospiraceae, *Prevotella*, Ruminococcaceae and *Lactobacillus* are discriminators for natural hazelnut, roasted hazelnut, hazelnut skin and control groups, respectively; whereas for male mice, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Prevotella* and *Lactococcus* are discriminators for natural hazelnut, roasted hazelnut, hazelnut skin and control groups, respectively. Our results revealed that DF of natural hazelnut, roasted hazelnut, and hazelnut skin differentially impact the colonic microbiota composition and microbial metabolites in a gender-specific way. Additionally, these results clearly indicate that, although roasting process slightly impacts the functionalities (in terms of colonic microbiome) of hazelnut DFs, hazelnut DFs generally modulate colonic microbiota by favoring beneficial microbes and stimulating beneficial microbial metabolites. Further, this data suggest that, due to its ability to promote beneficial microbes in the colon, hazelnut skin, a byproduct of the hazelnut industry, has the potential to be used for the production of indigestible carbohydrates possessing prebiotic function.

**Keywords:** Colonic Microflora, Dietary Fiber, Hazelnut, Prebiotic, Short Chain Fatty Acid, 16S rRNA.

## TEŞEKKÜR

Kendisini çalışma hayatım boyunca örnek alacağım çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Yunus Emre Tunçil'e; tez konumun belirlenmesi, çalışmaların yürütülmesi ve tezimin yazımı esnasında desteği, sabrı ve bana sağladığı imkanlar için minnettarım. Laboratuvarında kendisinden birçok şey öğrendiğim, kaynak ve yöntem açısından tecrübesini, desteğini hiçbir zaman esirgemeyerek bana yol gösteren kıymetli Arş. Gör. Dr. Ömer Faruk Çelik'e; hayvan besleme ve ötenazi sürecindeki katkılarından dolayı saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Orhan Baş ve Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Değermenci'ye; laboratuvar çalışmalarında yardımlarından ötürü Tunçil Laboratuvar ekibi üyesi lisans öğrencisi Mehmet İhsan Tugay'a ve maddi desteklerinden ötürü TÜBİTAK Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Destek Grubu (TOVAG)'na (Proje No: 218O130) teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca yaptığım her işte beni en iyi şekilde destekleyen, motive eden ve tez sürecim boyunca yaşadığım bütün sıkıntılarda her zaman yanımda olan erkek arkadaşım Turan Çöl'e çok teşekkür ederim.

Teşekkürlerin en büyüğünü hak eden, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim annem İkrâm Daştan, babam Hasan Daştan, ablam Esra Daştan Çetin'e ve tüm aileme sonsuz teşekkürler.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....	I
<b>ÖZET</b> .....	II
<b>ABSTRACT</b> .....	III
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	V
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	VII
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	IX
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	X
<b>EKLER LİSTESİ</b> .....	XI
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	6
2.1 Fındık Bileşenleri ve Fonksiyonel Özellikleri.....	9
2.1.1 Fındık Yağı.....	9
2.1.2 Fındık Proteinleri.....	10
2.1.3 Fındık Vitaminleri.....	10
2.1.4 Fındık Mineralleri.....	11
2.2 Fındık Bileşenlerinin Sağlık Üzerine Etkileri.....	11
2.2.1 Kolesterol, Kardiyovasküler Hastalıklar, Koroner Arter Hastalığı ve Kanser..	11
2.2.2 Kadın ve Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkileri.....	12
2.2.3 Alzheimer Hastalığı.....	12
2.2.4 Anti-Obezite.....	13
2.3 Diyet Lifleri.....	14
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	21
3.1 Birinci Aşama: Fındık Örneklerinden Diyet Lifi Ekstraksiyonu.....	21
3.1.1 Fındık Örneklerinin Temini.....	21
3.1.1.1 Yağ Tayini.....	22
3.1.1.2 Kjeldahl Yöntemiyle Protein Tayini.....	22
3.1.1.3 Kül Tayini.....	22
3.1.1.4 Klason-Lignin Tayini.....	22
3.1.2 Fındık Örneklerinden Diyet Liflerinin Ekstrakte Edilmesi.....	22
3.2 İkinci Aşama: Diyet Liflerinin Monosakkarit İçeriklerinin ve Glikozidik Bağlarının Analizi.....	26
3.2.1 Monosakkarit İçeriklerinin Belirlenmesi.....	26
3.2.2 Glikozidik Bağ Yapılarının Belirlenmesi.....	28
3.3 Üçüncü Aşama: Fare Yemlerinin Hazırlanması, Farelerin Beslenmesi ve Fare Dışkılarının Toplanması.....	29
3.3.1 Fare Yemlerinin Hazırlanması.....	29
3.3.2 Farelerin Temini ve Beslenmesi.....	31
3.4 Dördüncü Aşama: Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin Türlerinin ve Miktarlarının Belirlenmesi.....	33
3.5 Beşinci Aşama: Farelerin Kalın Bağırsağında Bulunan Mikroorganizma Türlerinin ve Konsantrasyonlarının Belirlenmesi.....	34
3.5.1 Fare Dışkılarında DNA Ekstraksiyonu.....	35
3.5.2 16S rRNA Geninin Amplifikasyonu.....	36
3.5.3 Amplifiye Edilmiş PCR Ürünlerinin Barkodlanması.....	36

3.5.4	Amplifiye Edilmiş ve Barkodlanmış 16S rRNA Bölgelerinin Yeni Nesil Dizileme (Illumina Miseq) Teknolojisi ile Sekanslanması .....	37
3.5.5	Biyoinformatik ve Mikrobiyota Analizler .....	38
3.6	Altıncı Aşama: İstatistiksel Analizler .....	38
<b>4.</b>	<b>BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....	<b>40</b>
4.1	Çalışmada Kullanılmış Olan Fındık Örneklerinin Besinsel Kompozisyonu .....	40
4.2	Ekstrakte Edilmiş Olan Diyet Liflerinin (Suda Çözünen ve Çözünmeyen) Kompozisyonu (Monosakkarit ve Glikozidik Bağ İçerikleri).....	41
4.2.1	Suda Çözünmeyen Diyet Liflerinin Kompozisyonu.....	41
4.2.1.1	Hemiselülozlar .....	44
4.2.1.2	Selüloz.....	46
4.2.1.3	Pektik Polisakkaritler .....	47
4.2.2	Suda Çözünen Diyet Liflerinin Kompozisyonu.....	49
4.2.2.1	Pektik Polisakkaritler .....	50
4.2.2.2	Hemiselülozlar .....	51
4.3	Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsakta Kısa- ve Dallanmış-Zincirli Yağ Asitlerinin Oluşumu Üzerine Etkileri .....	53
4.3.1	Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsakta Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin (KZYA) Oluşumu Üzerine Etkileri .....	53
4.3.2	Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsakta Dallanmış Zincirli Yağ Asitlerinin (DZYA) Oluşumu Üzerine Etkileri .....	61
4.4	Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Kompozisyonu Üzerine Etkileri.....	62
4.4.1	Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Topluluklarının Genel Yapıları Üzerine Etkileri.....	62
4.4.2	Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Topluluklarının $\alpha$ -çeşitlilikleri Üzerine Etkileri.....	64
4.4.3	Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Kompozisyonu (OTU bazında) Üzerine Etkileri.....	67
<b>5.</b>	<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	<b>80</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>83</b>
	EKLER.....	98
	ÖZGEÇMİŞ .....	100

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1 Fındık üretim basamakları.....	4
Şekil 2.1 2019 yılına ait dünya genelinde fındık üretimi.....	7
Şekil 2.2. Fındık suda çözünmeyen diyet lifi monosakkarit kompozisyonu .....	17
Şekil 3.1 Tez kapsamında yürütülen çalışmalar. ....	21
Şekil 3.2 Çalışmada kullanılmış (diyet lifleri ekstrakte edilmiş) olan fındık ve fındık zarı örnekleri.....	21
Şekil 3.3 Naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarında bulunan suda çözünen ve suda çözünmeyen diyet liflerinin ekstraksiyonu için kullanılmış olan metotun akış şeması.....	23
Şekil 3.4 Ekstrakte edilmiş suda çözünmeyen diyet lifleri.....	25
Şekil 3.5 Ekstrakte edilmiş suda çözünmeyen ve suda çözünen diyet lifleri.....	25
Şekil 3.6 Ekstrakte edilmiş olan diyet liflerinden elde edilen yemler .....	30
Şekil 3.7 Fare deneyinin dizaynı.....	32
Şekil 3.8 Dışkı örneklerinden kısa- ve dallanmış-zincirli yağ asitlerinin ekstraksiyonu için uygulanmış olan işlemler.....	33
Şekil 3.9 Dışkı örneklerinden mikrobiyal DNA ekstraksiyonu için uygulanmış olan işlemler .....	35
Şekil 4.1 Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin monosakkarit kompozisyonları.....	42
Şekil 4.2 Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin monosakkarit kompozisyonları.....	50
Şekil 4.3 Besleme süresi boyunca farelerin dışkılarında oluşan mutlak KZYA miktarlarının haftalık değişimi .....	56
Şekil 4.4 Besleme süresi boyunca farelerin dışkılarında tespit edilen asetat, propiyonat ve bütiratın nispi bolluklarının (% , mol üzerinden toplam KZYA'ne göre) haftalık değişimi .....	60
Şekil 4.5 Besleme süresi boyunca farelerin dışkılarında oluşan mutlak DZYA miktarlarının haftalık değişimi .....	62
Şekil 4.6 Fındık diyet lifleri ve selüloz ile beslenmenin 0, 3 ve 6. haftalarında %97 benzerlik seviyesinde OTU'ların nispi bolluğuna dayalı olarak dışkı mikrobiyal topluluklarının Bray-Curtis benzerlik matrisi.....	63
Şekil 4.7 Fındık diyet lifleri ve selüloz ile beslenmenin 0, 3 ve 6. haftalarında %97 benzerlik seviyesinde OTU'ların nispi bolluğuna dayalı olarak dışkı mikrobiyal topluluklarının ThetaYC benzerlik matrisi.....	64
Şekil 4.8 Beslenme süreci boyunca mikrobiyota topluluklarının $\alpha$ -çeşitliliğinde (Shannon indeks değerinde) meydana gelen değişiklikler .....	66
Şekil 4.9 Beslenme süreci boyunca mikrobiyota topluluklarının $\alpha$ -çeşitliliğinde (Invsimpson indeks değerinde) meydana gelen değişiklikler.....	67
Şekil 4.10 Besleme süreci boyunca dişi gruplarda tespit edilen en bol 50 OTU'nun nispi bolluklarındaki değişim .....	69
Şekil 4.11 Besleme süreci boyunca erkek gruplarda tespit edilen en bol 50 OTU'nun nispi bolluklarındaki değişim .....	73
Şekil 4.12 Besleme süreci sonunda (6. hafta) dişi fare gruplarında aşırı temsil edilen taksonları gösteren kladogram (LDA>4.0).....	77



**Şekil 4.13** Besleme süreci sonunda (6. hafta) erkek fare gruplarında aşırı temsil edilen taksonları gösteren kladogram (LDA>4.0)..... 78

## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

<b>Çizelge 1.1</b> Naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarına ait temel besinsel bileşimler .....	2
<b>Çizelge 3.1</b> Modifiye fare yemlerinin (yem 1, yem 2, yem 3, yem 4) hazırlanmasında ve adaptasyon süresince farelerin beslenmesinde kullanılan standart fare yeminin kompozisyonu ve vitamin içeriği .....	30
<b>Çizelge 3.2</b> PCR reaksiyonu için kullanılan (reaksiyona dahil edilen) kimyasallar ve primerler .....	36
<b>Çizelge 3.3</b> Barkodlama işlemi için PCR reaksiyonuna dahil edilen kimyasallar.....	37
<b>Çizelge 4.1</b> Çalışmada kullanılmış olan kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarının nem, yağ, protein, kül ve klason lignin içerikleri .....	40
<b>Çizelge 4.2</b> Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin glikozidik bağ kompozisyonları .....	45
<b>Çizelge 4.3</b> Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin glikozidik bağ kompozisyonları .....	52
<b>Çizelge 4.4</b> Dişi gruplarda tespit edilen en bol 6 OTU'nun nispi bolluklarının besleme süreci boyunca değişimi .....	68
<b>Çizelge 4.5</b> Erkek gruplarda tespit edilen en bol 6 OTU'nun nispi bolluklarının besleme süreci boyunca değişimi .....	74

## SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

---

<b>KZYA</b>	:	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
<b>GC</b>	:	Gaz Kromatografisi
<b>GC-MS</b>	:	Gaz Kromatografisi ve Kütle Spektrometrisi
<b>cm</b>	:	Santimetre
<b>FİD</b>	:	Alev İyonlaşma Dedektörü
<b>dk</b>	:	Dakika
<b>g</b>	:	Gram
<b>mg</b>	:	Miligram
<b>ml</b>	:	Mililitre
<b>µL</b>	:	Mikrolitre
<b>M</b>	:	Molar
<b>Da</b>	:	Dalton
<b>N</b>	:	Normal
<b>kHz</b>	:	Kilohertz
<b>rpm</b>	:	Dakikada devir
<b>W</b>	:	Watt
<b>TFA</b>	:	Trifloroasetik asit
<b>DOM</b>	:	Diocilamin
<b>DCM</b>	:	Diklorometan
<b>DMSO</b>	:	Dimetil sülfoksit

---

## EKLER LİSTESİ

### Sayfa

- EK-1:** Farelerden -2. haftada toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan kısa zincirli yağ asitlerinin (asetik, propiyonik ve bütirik asit) miktarları ..... 99
- EK-2:** Farelerden -1. haftada toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan kısa zincirli yağ asitlerinin (asetik, propiyonik ve bütirik asit) miktarları ..... 99
- EK-3:** Farelerden -2. haftada toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan dallanmış zincirli yağ asitlerinin (isobütirik ve isovalerik asit) miktarları ..... 100
- EK-4:** Farelerden -1. haftada toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan dallanmış zincirli yağ asitlerinin (isobütirik ve isovalerik asit) miktarları ..... 100

## 1. GİRİŞ

Fındık (*Corylus avellana L.*) Betulaceae familyasına ait popüler bir ağaç meyvesidir. 2019 yılı verileri dikkate alındığında fındık, dünya kabuklu meyve üretiminde sırasıyla ceviz, kaju ve bademden sonra dördüncü sırada yer almakta olup (FAOSTAT, 2021), popüleritesi günden güne artmaktadır. Fındığa duyulan ilginin her geçen gün artması, kendine has olan lezzetine (Alasalvar ve ark., 2012; Alasalvar ve ark., 2003a), kaliteli besin içeriğine (Alasalvar ve Bolling, 2015; Alasalvar ve ark., 2003a; Alasalvar ve ark., 2003b; Chang ve ark., 2016; Pelvan ve ark., 2018) ve sağlığa olan faydalı etkilerine dayandırılmaktadır (Chang ve ark., 2016). İlaveten, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 'nin fındık, ceviz ve badem gibi ürünleri, kalp sağlığını destekleyen gıdalar kategorisine dahil etmesinin, fındığa olan ilginin artmasına katkı sağladığı düşünülmektedir (Alasalvar ve Bolin, 2015).

İlaveten, fındık, özellikle ülkemiz için, önemli ekonomik değere sahip olan bir tarımsal üründür. Türkiye'nin tarımsal ihracatında fındık ilk sırada yer almakta olup, ülkemiz tarımsal ihracatının %13'ünü tek başına karşılamaktadır (Toprak Mahsulleri Ofisi Fındık Sektör Raporu, 2020). Tat, aroma ve ekonomik değerine ilaveten, fındık besinsel olarak da oldukça önemli bir gıdadır. Fındık protein, diyet lifi, yağ ve mineraller açısından zengin olan bir gıda maddesidir (Çizelge 1.1) (Alasalvar ve ark., 2003a, 2003b; Pelvan ve ark., 2018). Fındığın besinsel kompozisyonunu belirlemek için yapılmış olan birçok analitik çalışma fındık bileşenlerinin (özellikle lipidlerinin ve fenolik bileşiklerinin), fındığa has kimyasal yapıda olduğunu ortaya koymuştur (Köksal ve ark., 2006; Alasalvar ve ark., 2003b; Pelvan ve ark., 2018). Örneğin fındık yağının %92'sinin doymamış yağ asitlerinden [oleik ( $\omega$ -9) ve linoleik asit ( $\omega$ -6)] oluştuğu belirtilmiştir (Alasalvar ve ark., 2003a). Fındığın kendine has olan bu besinsel bileşiminin insan sağlığına olumlu etki yapabilecek nitelikte olduğu birçok çalışma tarafından kanıtlanmıştır. Örneğin, içermiş olduğu yüksek miktardaki doymamış yağ asitlerinden dolayı, fındık tüketiminin kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı ve kolesterol seviyesini düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir (Perna ve ark., 2016; Tey ve ark., 2011; Sabate ve ark., 2010; Kris-Etherton ve ark., 2008; Mercanligil ve ark., 2007; Fraser, 2000).

Fındığın ana bileşenlerinden birçoğunun (özellikle fındık yağı, protein ve fenolik bileşikler) kimyasal bileşimini belirlemek için birçok analitik çalışma yapılmış olmasına rağmen (Alasalvar ve Bolling, 2015; Alasalvar ve ark., 2003a; Alasalvar ve ark., 2003b; Chang ve ark., 2016; Pelvan ve ark., 2018), fındığın bir diğer önemli bileşeni olan diyet liflerinin kimyasal bileşimini belirlemek için yapılmış olan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Benzer şekilde, fındık bileşenlerinin (özellikle fındık yağı) insan sağlığı üzerindeki etkisini belirlemek için birçok epidemiyolojik, klinik öncesi ve klinik çalışma yapılmış olmasına rağmen (Perna ve ark., 2016; Sabate ve ark., 2010; Kris-Etherton ve ark., 2008; Mercanliligil ve ark., 2007; Fraser, 2000), diyet liflerinin (fındığın diğer bir ana bileşeni) insan sağlığı üzerindeki etkisini belirleyen herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

**Çizelge 1.1** Naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarına ait temel besinsel bileşimler (Tuncil, 2020)

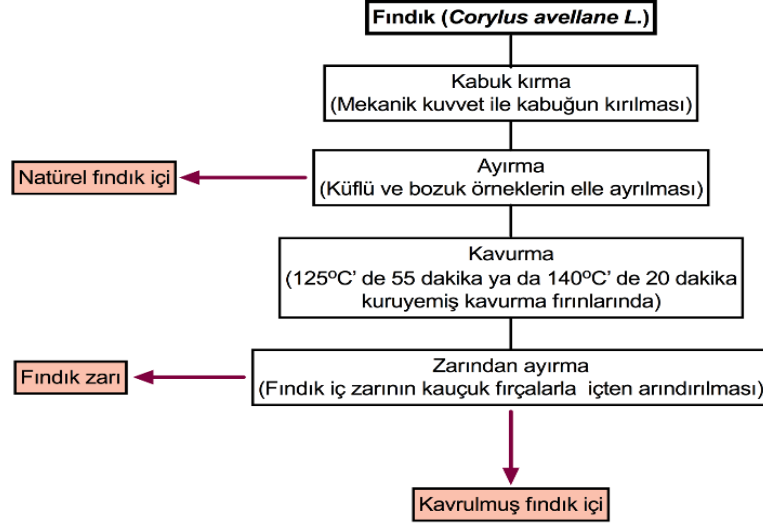
<b>Bileşenler (%) *</b>	<b>Naturel fındık</b>	<b>Kavrulmuş fındık</b>	<b>Fındık zarı</b>
<b>Yağ</b>	57.9	63.9	17.8
<b>Protein</b>	15.8	15.9	7.5
<b>Kül</b>	2.57	2.34	2.66
<b>Diyet lifi</b>	17.78	15.41	69.78

\*Değerler, kuru madde üzerinden verilmiştir.

Diyet lifleri, tüketildiğinde insan üst sindirim sistemi tarafından parçalanamayan ve dolayısıyla sindirilmeden kalın bağırsağa ulaşabilen ve kalın bağırsakta mikroorganizmalar tarafından fermente edilebilen gıda bileşenleri olarak tanımlanabilmektedir (Hamaker ve Tuncil, 2014). Son 20 yılda yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, diyet lifi tüketiminin kalın bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Valdes ve ark., 2018; De Filippo ve ark., 2010). Bu nedenle birçok sağlık kuruluşu, sağlıklı bir yaşam sürmek için insan kalın bağırsak mikrobiyotasında faydalı mikroorganizmaların gelişimini destekleyebilecek lifli gıdaların tüketilmesini önermektedir. Bu durumda tüketilmesi önerilen gıdalar genellikle tam tahıllı (kepekli) ürünler, meyveler ve sebzelerdir (Martens ve ark., 2018; Porter ve Martens, 2017; Dhingra ve ark., 2012). Ne yazık ki, fındığın diyet lifi içeriği diğer lif açısından zengin olarak bilinen gıdalara göre daha yüksek olmasına rağmen, fındık diyet liflerinin kalın bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi günümüze kadar çalışılmadığından dolayı, fındık diyet lifi açısından

zengin gıdalar arasında gösterilememektedir. Bu çalışmanın ilk amacı, fındık diyet liflerinin kolonik mikrobiyota üzerindeki etkisini *in vivo* (fareler üzerinde) deneyler ile ortaya çıkararak, fındık diyet liflerinin besinsel açıdan önemli fonksiyonel özelliğe sahip olabileceğinin ve dolayısıyla fındığın diyet liflerince zengin gıdalar arasında sınıflandırılabilen olduğunu gösterilmesidir.

Bu çalışmada, fındığın tüketilmeden önce maruz kalmış olduğu işleme teknolojileri de göz önünde bulundurularak, fındık diyet liflerinin fonksiyonel özelliklerinin (kalın bağırsak mikroorganizmalarına etkisi), fındık işleme teknolojisine göre değişip değişmediğinin de araştırılması amaçlanmıştır. Bilindiği üzere, çerezlik fındık ya naturel iç fındık ya da kavrulmuş iç fındık olarak tüketilmektedir (Özdemir, 2003). Naturel iç fındık, fındığın kurutulup zarlarının ayıklanmasıyla elde edilen üründür. Kavrulmuş iç fındık ise, naturel fındıktan belirli sıcaklık ve sürelerde kavrulması sonucu elde edilmiş olan üründür. Kavurma işleminden sonra, fındık yüzeyindeki fındık zarı da ayrılmaktadır (Şekil 1.1) (Özdemir, 2003). Naturel fındık, fındık zarını da içerdiğinden dolayı kavrulmuş fındığa göre daha fazla diyet lifi içermesi beklenmektedir; çünkü iç fındık (kavrulmuş veya naturel) %12-18 arasında diyet lifi içeriğine sahipken (Alasalvar ve ark., 2013; Tuncil, 2020), fındık zarının diyet lifi içeriği %70'lere yaklaşmaktadır (Anıl, 2007; Tuncil, 2020). Bu nedenle, kavrulmuş fındığa kıyasla, naturel fındığın kalın bağırsak mikrobiyomu üzerine daha fazla olumlu etki göstermesi beklenebilmektedir. Ancak bu şekilde bir yaklaşım her zaman için doğru olmayabilir, çünkü gıda işleme teknolojilerinin gıdanın içerdiği diyet liflerinin fonksiyonel özelliklerini (özellikle kalın bağırsak mikrobiyomu açısından) değiştirebilmektedir. Örneğin, önceden yapılmış olan bir çalışmada, ısı işlem görmüş bazı tahıl diyet liflerinin, ısı işlem görmemiş olanlara göre, kalın bağırsaktaki mikroorganizmalar tarafından daha kolay fermente edilebildiği, dolayısıyla kalın bağırsak mikrobiyomuna etkisinin daha farklı olduğunu ortaya koymuştur (Smith ve ark., 2020). Bu nedenle, benzer monosakkarit birimlerinden oluşsalar da (Tuncil, 2020), naturel fındıktan elde edilen diyet lifleri ile kavrulmuş fındıktan elde edilen diyet lifleri kalın bağırsak mikroorganizmaları üzerinde farklı etkilere sahip olabilir.



**Şekil 1.1** Fındık üretim basamakları [Özdemir (2003) tarafından yayımlanan makaledeki verilere göre tekrar çizilmiştir].

Çerezlik fındığa ilaveten, son yıllarda fındık endüstrisinde yan ürün olan fındık zarının gıda sanayinde fonksiyonel bileşen olarak, özellikle gıdaların diyet lifi içeriğini artırması amacıyla, kullanımına olan ilgi de hızla artmaktadır. Örneğin, Anıl (2007) yapmış olduğu bir çalışmada, fındık zarının ekmek üretiminde, ekmeğin toplam diyet lifi miktarının artırılması amacıyla, son ürünün fiziksel, kimyasal ve reolojik kalitesini olumsuz yönde etkilemeden kullanılabileceğini göstermiştir. Benzer şekilde, fındık zarının, makarna (Zeppa ve ark., 2014) ve diğer fırıncılık (kek) ürünlerinin (Cikrikci ve ark., 2016) üretiminde, son ürünün diyet lifi içeriğini artırmak amacıyla, ürün formülasyonlarına dahil edilebileceği gösterilmiştir. İlaveten, fındık zarı içerisinde bulunan diyet liflerinin ekstraksiyonunu sağlayarak, fındık zarından prebiyotik potansiyeli olan fonksiyonel karbonhidratların üretimi için günümüze kadar yapılmış birçok çalışma bulunmakta olup, bu çalışmaların birçoğu ekstrakte edilmiş olan fındık zarı diyet liflerinin yüksek fonksiyonelliğe sahip olabileceğini önermektedir (Montella ve ark., 2013a; 2013b; Yılmaz ve Tavman, 2015; Tas ve Gokmen, 2015; Kostalova ve Hromadkova, 2019). Her ne kadar günümüze kadar fındık zarının gıda (özellikle fırıncılık) ürünleri üretiminde, son ürünün diyet lifi içeriğini artırmak amacıyla, kullanılabilmesi ve fındık zarından fonksiyonel karbonhidratların üretiminin gerçekleştirilebileceği önerilmiş olsa da fındık zarı diyet liflerinin kalın bağırsak mikrobiyotası üzerine olan etkileri günümüze kadar



alışılmamıştır. Bu sebepten dolayı bu çalışmanın bir diğer amacı da fındık zarı diyet liflerinin kalın bağırsak mikrobiyal kompozisyonu ve mikrobiyal metabolitler üzerine etkisinin *in vivo* (farelerle) şartlar altında belirlenmesi suretiyle, fındık zarı diyet liflerinin fonksiyonel özelliklerinin ortaya çıkarılması ve fındık endüstrisinde yan ürün olan fındık zarının prebiyotik potansiyele sahip karbonhidratların üretiminde hammadde olarak kullanılabilme potansiyelinin ortaya konulmasıdır.

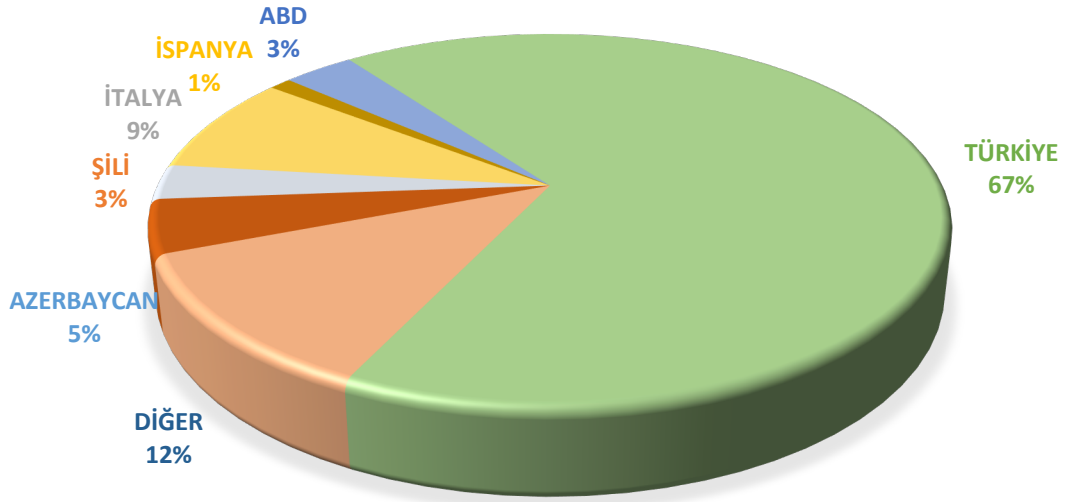
## 2. GENEL BİLGİLER

Fındık dünyada hem üretim hem de tüketim açısından en önde gelen kabuklu meyvelerdendir. Türkiye, dünyanın en büyük fındık üreticisi ve ihracatçısıdır. 2019 yılında, dünya fındık üretiminin %67.2'sini gerçekleştiren Türkiye'de (Şekil 2.1) (FAOSTAT, 2020), fındığın üretimi yaklaşık 2,500 yıldır, çoğunlukla Doğu Karadeniz bölgesinde gerçekleştirilmektedir. Ülkemizde Ordu, Giresun, Trabzon fındık yetiştiriciliği yapılan illerimizin başlıcalarıdır. 36-41 kuzey enlemleri dünyada fındık üretimi için en uygun konum olup ABD, İtalya ve İspanya üretime uygun olan başlıca diğer ülkelerdir (Şekil 2.1).

Türkiye'de 18 adet tescillenmiş fındık çeşidi bulunmaktadır (Balık ve ark., 2016; İslam, 2018). Bu fındıklar, yuvarlak, badem ve sivri olmak üzere üç pomolojik sınıfa ayrılmaktadır. Tombul, Palaz, Foşa, Çakıldak, Kalınkara, Kargalak, Uzunmusa, Mincane, Cavcava ve Kan Fındığı çeşitleri yuvarlak fındık grubunda; Sivri, İncekara, Acı ve Kuş Fındığı sivri fındık grubunda; Yuvarlak Badem, Yassı Badem ve Değirmendere fındığı çeşitleri de badem fındık grubunda yer almaktadır (Balık ve Beyhan, 2014). Kalite açısından ise Türk fındığı Giresun kalite ve levant kalite fındık olmak üzere iki grup altında toplanır. Yüksek yağ oranı ve lezzeti açısından dünya fındıkları arasında en üstün özelliklere Tombul fındık sahip olup, bu fındık çeşidi Giresun kalite fındık olarak da bilinmektedir. Tombul fındık haricindeki diğer fındık çeşitleri levant kalite sınıfına girmektedir.

Ülkemizde üretilen fındıkların %80-85'i ihraç edilip, %15-20'si iç pazarda tüketilmektedir. Türkiye'nin 2015–2019 yılları arasındaki ortalama ihracat miktarı yaklaşık 270 bin ton iç fındıktır. 2020 yılında ise bu rakam 280.924 bin ton olarak kaydedilmiştir ve ihraç edilen fındık 2 milyar dolara yakın döviz girdisi sağlamıştır (KİB, 2020). Türkiye ekonomisinde fındığın ihracat payı %13'tür ve tarım mamulleri ihracatında fındık ilk sırada yer almaktadır (Toprak Mahsulleri Ofisi Fındık Sektör Raporu, 2020). 2019 yılında, ülkemiz fındık ihracatının %56'sı naturel iç fındık, %18'si işlenmiş fındık, %26'sı ise ileri işlenmiş fındıktır (Toprak Mahsulleri Ofisi Fındık Sektör Raporu, 2020). İşlenmiş fındık ürünleri de göz önüne alındığında, Türkiye'nin dünya fındık sektöründeki payı %80'lere ulaşmaktadır. Dolayısıyla, Türkiye'nin en önemli tarım ihraç ürünleri arasında kabul edilen fındığın 2 milyar

dolara yakın döviz girdisi sağlaması, üretimini yapan yaklaşık 400 bin ailenin geçimine katkı sağlaması, işlenerek yarı mamul haline getirilerek pazarlanması ve bu süreçte ülkemiz açısından önemli bir istihdam kaynağı oluşturmasının yanı sıra, oluşturulan katma değer gibi sosyo-ekonomik sebeplerden dolayı Türkiye ekonomisi için oldukça önemli bir kaynaktır (Hatırlı ve ark., 2009) Fındığın bilinen ve araştırılmaya devam eden fonksiyonel özellikleri de göz önüne alındığında, kullanım alanlarının ve fındık mamullerinde ürün yelpazesinin artması ile dünyada fındığa olan talep ve ihtiyacın ilerleyen yıllarda artması öngörülmektedir ve bu durumda fındığın, ülkemiz için daha da önemli bir tarım ürünü haline gelmesi beklenmektedir.



**Şekil 2.1** 2019 yılına ait dünya genelinde fındık üretimi. FAOSTAT (2020) verilerine göre çizilmiştir.

Fındık hem çerezlik olarak tüketilebilmekte hem de birçok gıda ürünlerinin üretiminde önemli bir bileşen olarak formülasyonlarına dahil edilebilmektedir. Çerezlik fındık naturel veya kavrulmuş fındık olarak piyasada yer almaktadır. Kavrulmuş fındık, naturel fındığın belirli sıcaklık ve sürede, fındık için özel geliştirilmiş olan kavurma makinelerinde, işlenmesi sonucu elde edilen üründür. Fındık kavurma işlemi sırasında hem bazı bileşenler açığa çıkmakta hem de fındık tekstüründe bazı değişimler meydana gelmektedir (Karademir, 2013). Bu bileşenler ve tekstürde meydana gelen değişimler, kavrulmuş fındıkta daha hoş tat, koku, aroma ve

tekstür oluşmasına sebebiyet vermektedir. Bu nedenle çerezlik olarak kavrulmuş fındık daha çok tercih edilmektedir.

Çerezlik kullanımına ilaveten fındık, süt, unlu mamüller, şekerleme ürünleri ve müsli gibi gıdalarda tatlı, lezzetli, hoş bir tat oluşturmak için ve çikolata, dondurma, atıştırmalık barlarda tadı dengelemek için ve yardımcı madde olarak da kullanılmaktadır (Labell, 1983; Labell, 1992; Kinderlerer ve Johnson, 1992). Bu amaçlar doğrultusunda iç fındıklar naturel, kavrulmuş, dilinmiş, kıyılmış, beyazlatılmış, fındık unu olarak bulunabilmektedir (Altundağ, 1989). Fındıkların birçoğu tüketilmeden önce kavurma işlemine maruz bırakıldığından dolayı proses sırasında zarlarından ayrılmaktadır. Bu durumda da fazla miktarda zar atık ürün olarak meydana gelmektedir. Atık ürün olan fındık zarını değerlendirmek için günümüzde birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin ekmek mamüllerinde kullanımı, fenolik bileşenlerinin ekstrakte edilip antimikrobiyal madde olarak kullanılması, boyar madde olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır: Anıl (2007) yapmış olduğu çalışmada ekmeğin toplam diyet lifi miktarını artırmak maksadıyla, ekmek üretiminde fındık zarının, ekmeğin duysal ve tekstürel özelliklerini olumsuz yönde etkilemeden, belirli oranlarda kullanılabilceğini göstermiştir. Shataer ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada antimikrobiyal ve antiinflamatuar etkiye sahip olduğunu ve yüksek antioksidan kapasitesinin de olduğunu gözlemlemişlerdir. Özdemir ve ark., (2014) fındık zarı tozunun boyarmadde (gıda boyası) olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir. Fındık zarının değerlendirilmesine yönelik çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Bunun yanında, Tuncil (2020) yaptığı çalışmada fındık zarının yüksek miktarda diyet lifi içerdiğini göstermiş ve hatta bu diyet liflerinin fonksiyonel öneme sahip olabileceği önerisinde bulunmuştur. Bu öneri sonucunda fındık zarının fonksiyonel prebiyotik gıda katkı maddesi üretimi için hammadde olarak kullanılabilirliği fikri ortaya atılmıştır (Tuncil, 2020). Ancak, fındıkta olduğu gibi, günümüze kadar fındık zarı diyet liflerinin de kalın bağırsak mikroorganizmaları üzerine (prebiyotik özelliklerinin belirlenmesine yönelik) herhangi bir çalışma yapılmadığından dolayı, fındık zarının bu amaç doğrultusunda kullanılabilirliğinin uygun olup olmadığı belirlenememiştir.

## 2.1 Fındık Bileşenleri ve Fonksiyonel Özellikleri

Fındık ekonomik değeri, üstün tadı ve ürünlere kolaylıkla entegre edilebilmesi özelliğinin yanı sıra, sağlık açısından da önemli olan birçok bileşene sahiptir. Fındık başlıca içerdiği yağ (esansiyel yağ asitleri), proteinler (aminoasitler), diyet lifleri, mineral maddeler, vitaminler ve fenolik maddeler açısından önemli bir besin ögesidir (Şimşek ve Aslantaş, 1999). Fındık besinsel içeriği fındık çeşidine göre değişkenlik gösterebilmektedir (Pala ve ark., 1996; Baş ve ark., 1986). Ayrıca fındık bileşiminin hasat edilme zamanına göre değişiklik gösterdiği de gözlemlenmiştir. Hatta yağ kompozisyonunun farklı lokasyonlarda bile değişiklik gösterdiği görülmüştür (Parcerisa ve ark., 1993).

Kendine has besinsel protein, yağ, karbonhidrat vitamin ve mineral kompozisyonu ile fındık insan beslenmesinde önemli rol oynamaktadır (Woodroof, 1975). Yetişkin bir bireyin günlük enerji ihtiyacının yaklaşık %10-13'ünü karşılamak için tavsiye edilen fındık tüketim miktarı günlük 42.5 gramdır (Alasalvar ve ark., 2008; Canan Asal Ulus ve ark., 2019). Fındık bileşenlerinin kimyasal ve fonksiyonel özellikleri aşağıda detaylıca açıklanmıştır.

### 2.1.1 Fındık Yağı

Fındık hem tekli doymamış yağ asitlerince hem de çoklu doymamış yağ asitlerince hem de yağda çözünen vitaminler (özellikle E vitamini) açısından zengindir (Özdemir ve ark., 2001). Fındıkta tanımlanan 18 yağ asidi arasında, yağın stabilitesinde önemli bir rol oynayan oleik asit (18:1) en baskındır (>%77) (Bonvehi ve Coll, 1993a). Linoleik asit (18:2) fındık yağındaki ikinci baskın yağ asididir (>%7.5). Ayrıca fındıkta kimyasal ransidifikasyonun temel nedeni, peroksidaz aktivite ve pro-oksidan bileşenler gibi başka faktörlerin etkisi ile birlikte linoleik asittir. Oluşan bu kimyasal ransidifikasyonun sonucunda muhtemel kanserojen etkilere sahip aromatik halkalar ve bileşikler ortaya çıkar (Baş ve ark., 1986; Fourie ve Basson, 1989; Kinderler ve Johnson, 1992; Garcia ve ark., 1994). Bu sebeple oleik asitçe zengin linoleik asitçe fakir fındık çeşitleri hem ürünün raf ömrü açısından hem de ransidifikasyonunun önüne geçmesi açısından öncelikli tercih sebebidir. Bu yağ asitlerinin her ikisi de doymamış yağ asitleri kategorisindedir ve fındık yağ asitlerinin %90'ından fazlasını oluşturur. Ek olarak, doymuş yağ asitlerinden palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) fındık yağ asitlerinin yaklaşık %8'ini oluşturmaktadır. Bahsedilen

bu yağ asitleri toplam fındık yağının yaklaşık %99'unu oluşturmaktadır (Alasalvar ve ark., 2008). Fındık yağının, insan sağlığı üzerine olumlu etkiler yaptığı klinik çalışmalarla ortaya konulmuş olup (Mannarino ve ark., 2009), bu olumlu etkilerin genel olarak, içeriğinde bulunan yüksek miktardaki doymamış yağ asitlerinden ileri geldiği düşünülmektedir. Fındık yağı ayrıca bitkilerde fitosterollerin öncü maddesi olan 30 karbonlu skualen için de iyi bir kaynaktır (Maguire ve ark., 2004). Fitosterollerin hiperkolesterolemik hastalarda toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol ve triaçilgliserol düzeylerini düşürücü etkisi olduğu bildirilmiştir (Mannarino ve ark., 2009). FDA (2003) koroner kalp hastalıklarını önleyici olarak günlük 42.5 g fındık tüketimini önermektedir.

### **2.1.2 Fındık Proteinleri**

Fındık hem esansiyel hem de esansiyel olmayan amino asitleri içeren önemli bir besin maddesidir. Fındıkta en çok bulunan aminoasitler glutamik asit, arginin ve aspartik asittir (Şimşek ve Aslantaş, 1999). Genel olarak, tüm esansiyel amino asitleri bol miktarda içeren hayvansal protein kaynakları (et, balık, kümes hayvanları, süt, peynir ve yumurta) tam protein kaynakları olarak kabul edilir. Öte yandan, bitki proteinleri genellikle eksik olarak kabul edilir, çünkü genellikle esansiyel amino asitlerden bir veya daha fazlasını yeterli miktarda içermez. Buna rağmen fındık lizin ve triptofan hariç bütün esansiyel aminoasitleri ihtiva etmektedir ve bu sebepten dolayı da vegan beslenen bireyler için de önemli bir besin kaynağı olarak kabul edilebilmektedir. (Alasalvar ve ark., 2008). Yapılan araştırmalara göre günde 100 g fındık tüketimi ile günlük protein ihtiyacının %22'si karşılanabilmektedir (Pala ve ark., 1996).

### **2.1.3 Fındık Vitaminleri**

Vitaminler, vücutta birçok faydalı rolü olan esansiyel besinlerdir. Fındık hem yağda çözünen vitaminleri (A, E ve K) hem de suda çözünen vitaminleri (tiamin, riboflavin, niyasin, pantotenik asit, piridoksin, biotin, folat, C vitamini, kolin ve betain) önemli miktarda içermektedir (Şimşek ve Aslantaş, 1999). Fındıkta bol miktarda  $\alpha$ -tokoferol ve B1, B2, B3 vitaminleri bulunmaktadır (Alasalvar ve ark., 2003). Ayrıca  $\alpha$ -tokoferol'un diğer formlarına da sahiptir ve dolayısıyla E vitamini açısından da iyi bir kaynaktır (Kornsteiner ve ark., 2006). Kornsteiner ve ark., (2006) sert kabuklu meyvelerde yaptıkları çalışmada  $\alpha$ -tokoferol içeriği en yüksek kabuklu yemişi fındık

(31,4 mg/100 g) olarak bildirmiştir. RDI (Reference Daily Intake)'a göre günlük olarak tüketilen 42,5 gram fındık günlük E vitamini ihtiyacının tamamını karşılamaktadır (Krinsky, 2000). Birçok kabuklu yemişe kıyasla E vitamini, folik asit ve biyotin açısından oldukça zengindir (Holland ve ark., 1991).

#### **2.1.4 Fındık Mineralleri**

Fındığın mineral kompozisyonu, fındığın kalitesinin belirlenmesinde oldukça önemlidir. Örneğin, proses parametrelerinden kavurma sıcaklığı ve süresine, renk gelişimine, acılaşıma üzerine önemli etkileri vardır (Özdemir ve ark., 2001). Fındık iyi bir bakır, manganez, selenyum, krom, demir, magnezyum, çinko, fosfor kaynağıdır ve bütün fındık çeşitleri göz önüne alındığında genel olarak fındıkta en çok miktarda bulunan mineral potasyumdur, ardından fosfor kalsiyum ve magnezyum takip etmektedir (Şimşek ve Aslantaş, 1999).

### **2.2 Fındık Bileşenlerinin Sağlık Üzerine Etkileri**

#### **2.2.1 Kolesterol, Kardiyovasküler Hastalıklar, Koroner Arter Hastalığı ve Kanser**

Fındık tüketimi ile ilgili çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda, plazma lipid profillerini düşürerek kardiyovasküler hastalık, koroner arter hastalığı, ateroskleroz ve diğer ciddi vakaların azalmasına neden olduğu ve hastalık oluşma riskini azalttığı bildirilmiştir (Köksal ve ark., 2005). Fındık tüketiminin koroner arter hastalığı riskini azalttığına dair bir sağlık iddiası da FDA tarafından onaylanmıştır (FDA, 2003). Diğer taraftan, Amerikan Kalp Derneği tarafından uygulanan diyetler her ne kadar LDL ve toplam kolesterolü düşürse de HDL değerlerini düşürürken triaçilgliserol değerlerini yükselterek koroner risk faktörlerini artırmaktadır. Fındığın da zengin olduğu tekli doymamış yağ asitlerini içeren bir diyet uygulamasıyla ise HDL düzeyi artırılırken triaçilgliserol düzeyinin de azaltılabildiği gösterilmiştir (Rajaram ve ark., 2001; Hyson ve ark., 2002; Alasalvar ve Shahidi, 2008). Mercanlıgil ve ark., (2007) fındık takviyeli bir diyetin, yüksek kolesterol düzeyine sahip yetişkin erkekler üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu bildirmiştir. Balkan ve ark., (2003) tavşanlara verilen yüksek kolesterol diyetine fındık yağı eklenmesinin etkisini araştırmış ve lipid seviyesinde azalma olmaksızın aort aterosklerotik lezyonlarda, kan lipit peroksit ve apolipoprotein B-100 içeren lipoprotein düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise 21 (18 erkek ve 3 kadın) hiperkolesterolemik bireye verilen fındıkla

zenginleştirilen diyetle beslenme sonucunda fındığın lipid ve lipoprotein değerlerinde azalma, endotel fonksiyonunda iyileşme, LDL oksidasyonunu ve inflamatuvar belirteçlerini önleyerek antiaterojenik etki gösterdiği belirlenmiştir (Orem ve ark., 2013). Son olarak, Galego ve ark. (2017) insan serviks kanseri hücrelerinin, hepatosit hepatositlerinin ve insan meme kanseri hücre hatlarının hayatta kalma oranlarının, üç farklı fındık yaprağı ve kök ekstresinin eklenmesiyle önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

### **2.2.2 Kadın ve Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkileri**

Fındık, besin maddeleri ve biyoaktif maddeler açısından zengin bir gıda olduğu için sadece sağlıklı bir besin değil, aynı zamanda erkek üreme sistemini de destekleyen bir besindir (Colagar ve Marzoni, 2009). Yaşlanma süreci ile birlikte vücutta gelişen oksidan-antioksidan dengesizliği erkek üreme sistemini etkileyerek üreme dejenerasyonuna neden olabilir (Ferrini ve Barrett-Connor, 1998). Yaşla birlikte, testosteron sentezinden sorumlu Leydig hücrelerinin sayısı azalır ve dolayısıyla serum testosteron düzeylerinde bir düşüş gözlenir (Ferrini ve BarrettConnor, 1998). Kara ve ark., (2019) genç ve yaşlı erkek farelerde fındık takviye edilmiş bir diyetin, testis antioksidan fonksiyonunu ve sperm kalitesini arttırdığını bildirmişlerdir.

Kadınlarda sıklıkla görülen polikistik over sendromunun, en önemli semptomları arasında adet görmeme veya adet uzamasıdır ve kadınlarda en sık görülen hormonal bozuklukların başındadır. İleri dönemlerde kısırlığa kadar sebep olabilir (Demirel ve ark., 2016). Demirel ve ark., (2016) fındık yağı ile beslenen dişi farelerin serum gonadotropinleri, steroidler ve serum lipid seviyelerinde iyileşmeler gösterdiğini ve polikistik over sendromunun tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir.

### **2.2.3 Alzheimer Hastalığı**

Alzheimer hastalığı, sinir dokusunun dejenerasyonu olarak tanımlanır ve geri dönüşü olmayan bunamanın önde gelen nedeni olarak bilinir (Wani ve ark., 2020). Çok faktörlü bir hastalık olarak tanımlanan Alzheimer hastalığının nedenleri ve tedavileri tam olarak anlaşılamamıştır. Diğer taraftan, amiloid birikintileri, taurinasyon, hücre içi sinyal bozuklukları, oksidatif stres, metal iyon düzensizliği ve iltihaplanma ile teşhis edilen bozulmuş nörolojik fonksiyon olarak tanımlanmıştır (Wani ve ark., 2020). Bu nedenle, bitkisel kimyasal bileşenlerin (özellikle fitokimyasalların) Alzheimer hastalığının oluşma nedenleri olan oksidatif stres,



kolesterol ve enflamatuarı azaltabileceği, dolayısıyla fitokimyasallar bakımından zengin gıda ürünlerinin (fındık gibi) Alzheimer hastalığının oluşum riskini azaltabileceği düşünülmektedir (Gojri ve ark., 2018). Ayrıca Alzheimer hastalarının doymamış yağ asitlerinin metabolizmasını düzenlemede önemli sorunları olduğu ve beyindeki oleik asit düzeylerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Gojri ve ark., (2018), yaptıkları çalışmada farelere verilen fındık diyeti (800 mg/kg/gün) hafızalarında önemli bir gelişme ve kaygıda azalma gözlemlenmiştir. Bu durumun fındığın tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (oleik asit ve linoleik asit) yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 2.2.4 Anti-Obezite

Vücutta aşırı yağ birikmesi olarak bilinen obezitenin, yüksek tansiyon, diyabet ve kalp hastalığı gibi birçok hastalığa yakalanma riskini arttırdığı bilinmektedir. Geleneksel olarak, kabuklu yemişler yüksek yağ ve kalori içeriği nedeniyle kilo yönetimi ve insülin duyarlılığı için sağlıklı ürünler olarak kabul edilmez (Wani ve ark., 2020). Ancak literatürde kabuklu yemiş tüketiminin kilo alımına yol açmadığını (Sabate ve ark., 2003; St-Onge ve ark., 2005) hatta kilo ve yağ kaybına yol açtığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Zambon ve ark., 2010; Chisholm ve ark., 1998). Aslında Willet ve ark., (2004), tarafından önerilen besin piramidi, yaşam boyu sağlık için günlük 1-3 porsiyon kuruyemiş ve bakliyatın diyeteye dahil edilmesi gerektiğini belirtmektedir. Bu durumu destekleyen çalışmalar, hiperkolesterolemili erkek deneklerde 8 haftalık fındık (40 g/gün) diyetinin vücut ağırlığını ve bel-kalça oranını önemli ölçüde değiştirmede aksine, başlangıca kıyasla, vücut yağ oranında ve beden kitle indeksinde önemli derecede azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Mercanlil ve ark., 2007). Mollica ve ark., (2018) Türkiye ve İtalya'dan fındık çeşitleri ile yaptıkları *in vivo* çalışmada fındık tüketimi sonucu bireylerde kilo kaybının oluştuğunu gözlemlenmiş olup, bu kilo kaybının fındığın yüksek lif ve protein içeriği nedeniyle oluşan tokluk hissinden kaynaklandığı öne sürmüştür. Başka bir araştırmada, günlük 40 g fındık alımının, oksidatif stres ve iltihaplanma ile ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenlediğini ve muhtemelen artan antioksidan kapasite nedeniyle kilo alımına sebep olmadığı yorumu yapılmıştır (Di Renzo ve ark., 2019). Benzer şekilde, Wang ve ark. (2020) yapmış oldukları *in vitro* çalışmasında, fındık

hidrolizatından elde edilen RLLPH proteininin potansiyel anti-obezite özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

### 2.3 Diyet Lifleri

Yukarıda da belirtildiği üzere, fındık bileşenlerinin (özellikle yağ, protein ve fenoliklerinin) kimyasal bileşimi ve sağlık üzerine etkilerini belirlemeye yönelik günümüze kadar yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, fındığın diğer bir ana bileşeni olan fındık diyet liflerinin kimyasal yapısını belirlemeye yönelik yapılmış olan çalışmalar sınırlı sayıda olup, fındık diyet liflerinin insan sağlığı üzerine olan etkilerini belirlemeye yönelik yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Diyet lifleri tüketildiği zaman üst sindirim sisteminde sindirilemeyip kalın bağırsağa geçen ve kalın bağırsak mikroorganizmaları tarafından kısmen veya tamamen sindirilen genellikle bitki orijinli gıda bileşenleridir (AACCI, 2010). Pektin, selüloz, dayanıklı nişasta, inülin, gamlar, fruktooligosakkaritler, galatooligosakkaritler, lignin diyet liflerine örnek olarak gösterilebilir (Hamaker ve Tuncil, 2014). Diyet lifleri suda çözünen ve çözünmeyen diyet lifleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Suda çözünmeyen liflere lignin ve selüloz; suda çözünen liflere ise pektin, galaktooligosakkaritler ve inulin örnek olarak gösterilebilir (LaCourse, 2008; Jalili ve ark., 2001). Suda çözünen lif grubundan pektin, elma, ayva vb. besinlerde; gamlar, reçinede;  $\beta$ -glukan, yulaf vb. besinlerde; musilajlar, bitkilerde; dirençli nişasta, kuru baklagillerde bulunmaktadır (Rodriquez ve ark., 2006). Pektin, inulin ve oligosakkaritler suda çözünen diyet liflerine, selüloz ve lignin ise suda çözünmeyen diyet liflerine örnek olarak gösterilebilirler (Hamaker ve Tuncil, 2014).

Yaklaşık olarak diyet lifleri 3:1 oranında suda çözünmeyen ve çözünen olarak gıdalarda bulunabilmekte olup (Dreher, 2001; Frguerola ve ark., 2005), bu değer gıdanın tipine göre değişebilmektedir. Dengeli ve sağlıklı bir diyet için hem suda çözünen hem de çözünmeyen liflerin bir arada tüketilmesi önerilmektedir. Her iki lif türünün de bir arada bulunmasının, hastalıkları önlemede tek başına olduklarından daha etkili olduğu belirtilmiştir (Tamer ve ark., 2004).

Diyet liflerinin insan sağlığı üzerine olan en önemli etkileri, kalın bağırsakta bulunan mikroorganizmalar tarafından enerji materyali olarak kullanılarak ortamdaki yararlı mikroorganizmaların baskın hale gelmesini sağlayıp, kalın bağırsak

mikrobiyotasını düzenlemesi, yüksek su tutma kapasiteleri ile gıdaların transit süresini azaltması, transit esnasında kalın bağırsakta insan sağlığı için zararlı olan metabolitleri kendilerine bağlayarak dışkı ile atılımını sağlaması olarak sıralanabilir (Lattimer ve Haub, 2010). Kalın bağırsakta 1000'den fazla mikrobiyal tür bulunduğu bildirilmiştir (Çetintaş ve ark., 2017) Bu mikroorganizmalar genel olarak Firmicutes (*Clostridium*, *Eubacterium* vb. gram pozitif bakteriler), Bacteroidetes (*Prevotella*, *Bacteroides* vb. gram negatif bakteriler), Proteobacteria (*Enterobacteriaceae* gibi gram negatif bakteriler), Actinobacteria (*Bifidobacterium* gibi gram pozitif türler), Fusobacteria, Verrucomicrobia (*Akkermansia* vb. türler) filumlarına ait olmakla birlikte, kalın bağırsak mikroflorasını baskın halde (%90'dan fazla) *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* üyeleri oluşturmaktadır. *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Fusobacterium* ve *Bifidobacterium* türüne ait zorunlu anaeroblar ve *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Proteus* ve *Lactobacillus* türüne ait fakültatif aneorablar kalın bağırsak mikroflorasında önemli bileşenlerdir (Al-Assal ve ark., 2018).

Kalın bağırsak mikrobiyal kompozisyonu genetik ve çevresel faktörlere göre değişkenlik göstermekle birlikte, insanların tüketim alışkanlıklarının insan kalın bağırsak mikroflora kompozisyonu üzerine çok önemli etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Koropatkin ve ark., 2012; Hamaker ve Tuncil, 2014). Örneğin, karbonhidrat ağırlıklı ve yüksek yağ içeren beslenme biçimi kıyaslandığında belirgin farklar görülmüştür. Yüksek yağlı diyet tüketimi sonrasında bağırsak topluluğunda gram negatif türlerin baskın hale geldiği ve lipopolisakkarit üretim mekanizması tetiklendiği gözlemlenmiştir (Sugizaki ve Naves, 2018). İlaveten lipopolisakkarit üretimi artışının vücut ağırlığının artmasına, hiperglisemi oluşumuna ve insülin direncinin azalmasına yol açtığı gözlemlenmiştir (Sugizaki ve Naves, 2018). Yapılmış bir diğer çalışmada Afrikalı ve Avrupalı çocukların kalın bağırsak mikrobiyotaları kıyaslandığında yüksek lifli ve bitkisel kaynaklı beslenen Afrikalı çocuklara kıyasla Avrupalı çocuklarda Bacteroidetes oranının arttığı ve Firmicutes oranının azaldığı görülmüştür (Filippo ve ark., 2010).

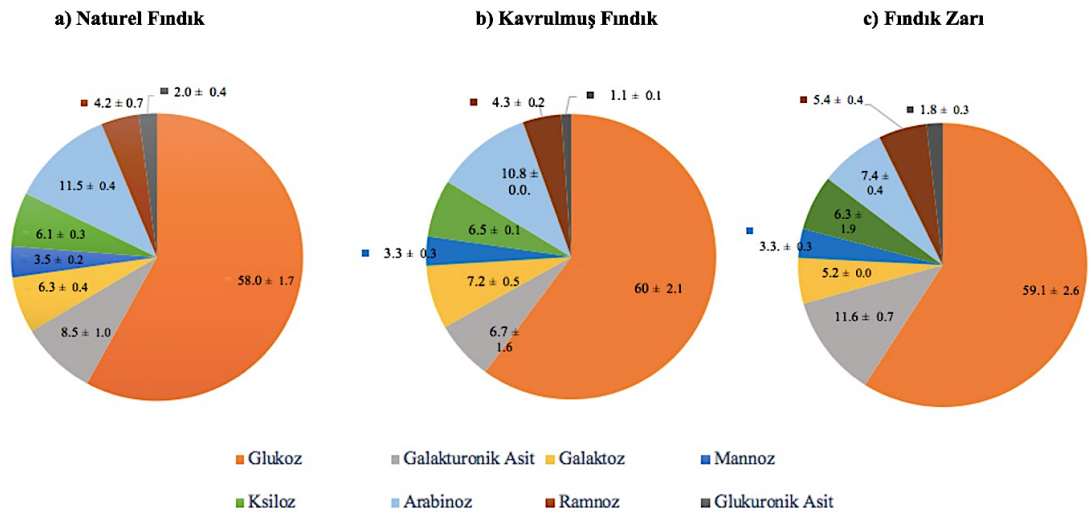
Kalın bağırsak üzerindeki bu etkilerle birlikte yüksek lifli beslenme biçiminin kardivasküler hastalık riskini azalttığı, kolon kanseri ve kalın bağırsak iltihaplanmasını önlediği, obezite riskini azalttığı gözlemlenmiştir. Spesifik olarak arabinoksilan

liflerinin, kalın bağırsakta *Bifidoacterium* türünde artışa sebep olduğu ve kolesterol seviyesini düşürdüğü (Neyrinck ve ark., 2011), inülin tüketiminin *Actinobacteria* yararlı mikroorganizmalarında artışa sebep olduğu ve zararlı *Proteobacteria* mikroorganizmalarının inhibe olmasını sağladığı, obezite oluşumu ve irritable bağırsak sendromunu engellediği (Zou ve ark., 2018), galaktooligosakkarit tüketiminin yararlı olan *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* ve *Bifidobacterium* türlerinde artışa sebep olduğu ve laktoz intoleransı olan bireylerde şikayetleri hafiflettiği (Azcarate-Peril ve ark., 2017), gluklan, dayanıklı nişasta ve kitin karışımının tüketiminin kalın bağırsakta Lachnospiraceae ailesine ve *Anaerostipes* türüne ait olan bakterileri baskın hale getirerek kolon kanserinin önlediği görülmüştür (Bishehsari ve ark., 2018). Diyet liflerinin insan sağlığı üzerine olan olumlu etkilerinin, genel olarak mikroorganizmaların bunları fermente etmesi sonucu açığa çıkan kısa zincirli yağ asitlerinden (KZYA) kaynaklandığı düşünülmektedir (Wong ve ark., 2006). Bu KZYA bütirik asit, propiyonik asit ve asetik asittir (Wong ve ark., 2006). Kalın bağırsak tarafından kolayca emilebilen KZYA'ı glikoz sentezinde kullanılarak, günlük enerji ihtiyacına ek yaklaşık olarak %10 katkı yaptığı düşünülmektedir (Tekin ve ark., 2018).

Diyet lifleri (özellikle karbonhidrat yapısında olanlar), kalın bağırsakta bulunan mikroorganizmalar tarafından enerji materyali olarak kullanılırlar ve bu sayede kalın bağırsak mikroflorasını düzenlerler (Hamaker ve Tuncil, 2014). Yüksek lif tüketimi, düşük serum kolesterol konsantrasyonu, kardiyovasküler riskin azalması ve beden kitle indeksi, dışkılamayı kolaylaştırma, kilo kontrolü sağlama, glisemik indeks kontrolü, düşük kan basıncı, bazı kanser türlerini önlemede, gastrointestinal fonksiyonları iyileştirmede önemli role sahiptir (Lattimer ve Haub, 2010). Diyet lifleri ise kendi aralarında suda çözünen ve suda çözünmeyen diyet lifleri olarak iki gruba ayrılır. Diğer birçok sağlığa olan yararlarının yanı sıra, suda çözünen diyet lifleri total ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolünün seviyesini azaltır (Wong ve ark., 2006). Günlük tavsiye edilen 42.5 gram fındık tüketiminin, yetişkin kadınlar için alınması önerilen 28 gram / gün, erkekler için ise 35 gram / gün diyet lifi miktarının sırasıyla %21.9'unu ve %15.6'sını karşıladığı bildirilmiştir (Alasalvar ve ark., 2008; Desai ve ark., 2016).

Tuncil (2020) tarafından yapılan çalışmada naturel ve kavrulmuş Tumbul fındık diyet lifi miktarları sırasıyla %17.8 ve %15.4 olarak bulunmuştur. Bu diyet

liflerinin yaklaşık %96'sından fazlasını suda çözünmeyen diyet liflerinin oluşturduğu bildirilmiştir. İlgili çalışmada fındık diyet liflerinin genel olarak, dikotiledon bitkilerin hücre duvarlarını oluşturan, selüloz, pektik polisakkaritler ve ksiloglukandan oluşurken, fındık zarı diyet liflerinin ise genel olarak lignin, selüloz, pektik polisakkaritler ve ksiloglukandan oluştuğu, ancak bu diyet lifi karbonhidratlarının (özellikle pektik polisakkaritlerin ve ksiloglukanın), diğer dikotiledon bitkilerdekilere kıyasla, kimyasal yapılarının (özellikle dallanma yapılarının) farklı olduğu belirlenmiştir. Önceki yapılmış olan çalışmalar, diyet liflerinin kimyasal yapılarının kolonik mikrobiyota kompozisyonu (ve dolayısıyla kolonik mikrobiyota aktivitesi) üzerine belirleyici rol oynadığını kanıtlamışlardır (Koropatkin ve ark., 2012; Hamaker ve Tuncil, 2014; Tuncil ve ark., 2020; Deehan ve ark., 2020). Bu sebepten dolayı, her ne kadar fındık diyet lifleri diğer dikotiledon bitkilerde bulunan diyet liflerinden (selüloz, pektik polisakkaritler, ksiloglukan) oluşmuş olsa da kimyasal yapıları diğer dikotiledon bitkilerde bulunan diyet liflerinde farklı olduğundan dolayı, fındık diyet liflerinin kalın bağırsak mikrobiyota kompozisyonu üzerine etkilerinin farklı olması beklenmektedir. Günümüze kadar fındık diyet liflerinin kalın bağırsak mikrobiyota kompozisyonu üzerine etkilerini belirlemeye yönelik yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu tez çalışmasında, öncelikle literatürdeki bu boşluğu doldurmak için *in vivo* (fare) deneyler gerçekleştirilmesi ve fındık (naturel ve kavrulmuş) diyet liflerinin kalın bağırsak mikroorganizma kompozisyonu ve mikrobiyal metabolitler üzerine etkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



**Şekil 2.2** Fındık suda çözünmeyen diyet lifi monosakkarit kompozisyonu (Tuncil, 2020 verilerine göre çizilmiştir).

İç fındık diyet liflerine ilaveten, son yıllarda, hem yüksek diyet lifi içeriğine sahip olmasından hem de fonksiyonel bileşenler (özellikle fenolik maddeler) açısından zengin olmasından dolayı, fındık endüstrisinde atık ürün olan fındık zarının değerlendirilmesine karşı olan ilgide artmaktadır. Sert fındık kabuğunun kırılmasının ardından iç fındık üzerinde gözüken kahverengi perisperm (zar veya testa da olarak bilinir) fındık zarı olarak adlandırılmakta olup (Alasalvar ve ark., 2009), fındık zarı, toplam fındık ağırlığının %2-3'ünü oluşturmaktadır (Tuncil, 2020; Alasalvar ve ark., 2009). Fındık zarı kavurma işlemi sonucu iç fındıktan ayrılan, fenolik bileşenler ve diyet lifleri gibi bazı besinsel bileşenler açısından zengin ve tüketilebilir karakterde bir yan üründür. Besinsel açıdan bakıldığında, fındık zarı yaklaşık olarak %7.5 protein, %2 kül, %9 - 18 yağ ve %64 - 70 diyet lifi içermektedir (Anıl, 2007; Tuncil, 2020). İlaveten, fındık zarı fenolik bileşenler bakımından da oldukça zengin bir madde olup, naturel fındık ve kavrulmuş fındığa kıyasla, sırasıyla 42 ve 425 kat daha fazla fenolik bileşen içerdiği rapor edilmiştir (Pelvan ve ark., 2018).

Hem zengin besinsel içeriğinden ve ekonomik nedenlerden dolayı hem de sürdürülebilir gıda üretiminin sağlanması açısından, genellikle atık ürün olarak fındık entegre tesislerinde açığa çıkan fındık zarının (ve bileşenlerinin) gıda endüstrisinde geri kazanımına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, fındık zarının doğal fenolik bileşen (antioksidan) maddesi üretimi için hammadde olarak kullanılabilmesi (Contini ve ark., 2008; 2012) ve doğal fenolik ekstraktların hem *in vitro* hem de *in vivo* (sıçan) şartlar altında antiradikal etki gösterdiği rapor edilmiştir (Contini ve ark., 2012). Özdemir ve ark., (2014) yapmış oldukları çalışmada fındık zarı tozunun gıda formülasyonlarına renk (kahverengi) stabilitesi sağlaması amacıyla ilave edilebilmesinin mümkün olduğunu belirtmişlerdir. Anıl (2007) yapmış olduğu çalışmada, ekmeğin toplam diyet lifi kompozisyonunu artırmak için ekmeğin hamuru bileşimine farklı oranlarda (%0, %5, %10) fındık zarı ilave etmiş ve ekmeğin hamuru bileşimine %10'dan daha az miktarda fındık zarı ilave edilmesinin ekmeğin örneklerinin teknolojik ve duyu kalitesinde olumsuz bir etki yapmadığını bildirmiştir.

İlaveten, fındık zarı içerisinde bulunan polisakkaritlerin (diyet liflerinin) ekstraksiyonu için yapılmış bazı çalışmalarda bulunmaktadır. Örneğin, Yılmaz ve Tavman (2014) ultrason teknolojisi yardımıyla fındık zarından polisakkaritlerin kolaylıkla ekstrakte edilebileceğini ve bu polisakkaritlerin de genellikle pektik

polisakkaritler yapısında olduğunu belirtmişlerdir. Cikirici ve ark., (2016) yapmış oldukları çalışmada mikroflotasyon yöntemiyle fındık zarından diyet liflerinin elde edilmesinin mümkün olduğunu ve bu ekstraktında fırıncılık ürünlerinde fonksiyonel ingrediyen madde olarak kullanılabileceğini kek model ürünü üzerinde göstermişlerdir. Bir başka çalışmada ise Montella ve ark., (2013) enzim muamalesi sonucunda fındık zarından iki farklı diyet lifi fraksiyonu ekstrakte etmiş ve bu diyet lifi fraksiyonlarının *Lactobacillus plantarum* ve *L. crispatus* gibi probiyotik mikroorganizmaların gelişimine katkı sağladığını ortaya koymuşlardır.

Her ne kadar günümüze kadar fındık zarı diyet lifleri ile ilgili yapılmış birçok çalışma bulunsa da bu çalışmalar fındık diyet liflerinin genel kimyasal yapısı üzerine yeterince bilgi sağlayamamışlardır. Yapılan önceki çalışmalar, fındık zarı diyet liflerinin genel olarak lignin, selüloz, pektik polisakkaritler ve ksiloglukandan meydana geldiğini göstermiştir (Tuncil, 2020). Yukarıda da belirtildiği üzere bu diyet lifleri, özellikle pektik polisakkaritler ve ksiloglukan, kalın bağırsak mikroflorasını düzenleyici etki gösterebilecek fonksiyonelliğe sahiptirler. Ancak fındık zarı diyet liflerinin kalın bağırsak mikroflorası üzerine etkilerini belirlemeye yönelik herhangi bir çalışma yapılmadığından dolayı, fındık zarı diyet liflerinin bu açıdan fonksiyonel kalitesi (prebiyotik potansiyeli) bilinmemektedir. Bu projede literatürdeki bu boşluk doldurularak, fındık zarının prebiyotik gıda katkı maddesi üretimi için önemli bir hammadde kaynağı olabileceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

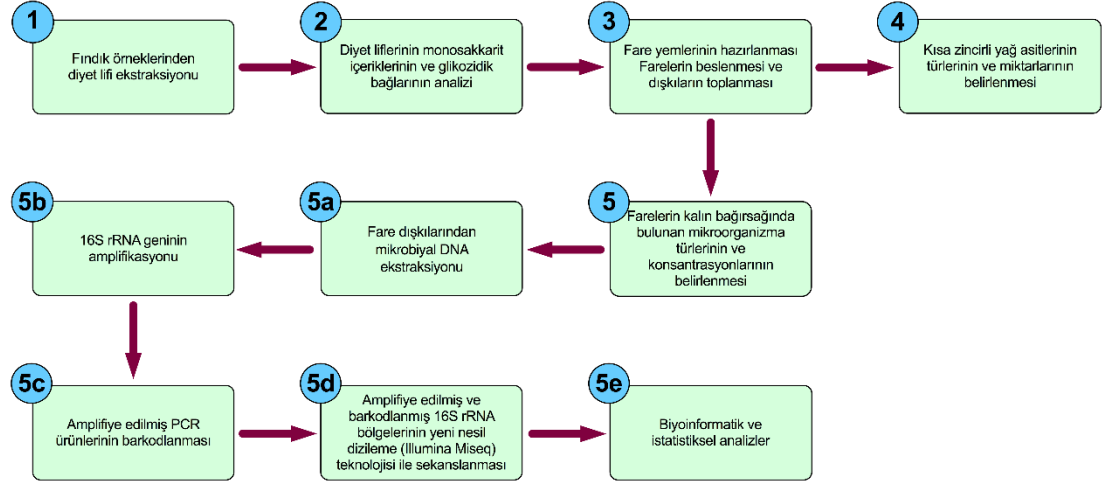
Özet olarak prebiyotik potansiyeli yüksek diyet lifleri içeren başlıca gıdalar meyveler, sebzeler, baklagiller, tahıllardır. Günümüzde yaygınlaşan hazır yeme tarzı tüketim alışkanlıklarından dolayı günlük alınması gereken diyet lifi miktarı karşılanamamaktadır. Dolayısıyla diyet lifi tüketim miktarını artırabilecek alternatif fonksiyonel gıdalara ihtiyaç artmaktadır. Bu bağlamda, ülkemizin en önemli tarımsal ürünlerinden biri olan fındığın bu gıdalar arasında olabileceği düşünülmektedir. Tuncil (2020) tarafından yapılmış olan çalışmada da fındıktaki diyet lifi miktarının ve kalitesinin zengin lif kaynağı olarak bilinen birçok gıdaya eşdeğer olabileceğini göstermektedir. Bahsi geçen çalışmada (Tuncil, 2020) fındıkta bulunan diyet liflerinin karakterizasyonu yapılmış olsa da bu liflerin insan sağlığına olan etkilerini (kalın bağırsak mikroorganizmaları üzerine etkilerini) belirlemeye yönelik yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Literatürde fındık diyet lifleri ve bunların fonksiyonel

özellikleri (özellikle kalın bağırsak mikroorganizmaları üzerine etkileri) ile ilgili yeterince çalışma olmamasından dolayı, fındık lifçe zengin gıdalar arasında gösterilememektedir. Bu çalışmada, öncelikle literatürdeki bu boşluğun doldurması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda çalışmanın ilk amacı; *in vivo* (fare) deneyler ile fındık diyet liflerinin kalın bağırsak mikroorganizmaları üzerine etkisini ortaya çıkarmaktır. Çalışmanın ikinci amacı ise fındık endüstrisinde atık ürün olan fındık zarının içermiş olduğu diyet liflerinin kalın bağırsak mikroorganizmaları üzerine etkisini ortaya çıkarmak ve dolayısıyla fındık zarının katma değeri yüksek prebiyotik gıda katkı maddeleri üretiminde hammadde olarak kullanılabilme potansiyelinin araştırılmasıdır.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Tez kapsamında yürütülen çalışmalar, Şekil 3.1’de özetlenen ve aşağıda daha detaylı olarak açıklanan 5 ana aşamada gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1 Tez kapsamında yürütülen çalışmalar.

#### 3.1 Birinci Aşama: Fındık Örneklerinden Diyet Lifi Ekstraksiyonu

##### 3.1.1 Fındık Örneklerinin Temini

Diyet lifi ekstraksiyonu için gerekli olan naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarı örnekleri, Ordu ilinde faaliyet gösteren Gürsoy Tarımsal Ürünler Gıda San. ve Tic. A.Ş.' den temin edilmiştir. Çalışmada kullanılmış olan örneklerin hasat yılı 2018 olup, örnekler, birinci kalite fındık olarak adlandırılan Tombul Fındık çeşidine aittir. Fındık örneklerinin besinsel içerikleri (yağ, protein, kül ve klason lignin miktarları) aşağıda detayları verilmiş olan metotlar ile tespit edilmiştir.



Şekil 3.2 Çalışmada kullanılmış (diyet lifleri ekstrakte edilmiş) olan fındık ve fındık zarı örnekleri a) naturel fındık içi, b) kavrulmuş fındık içi ve c) fındık zarı.

### **3.1.1.1 Yağ Tayini**

Örneklerdeki yağ miktarları soxhlet metoduyla belirlenmiştir. Soxhlet kartuşuna konulmuş olan örnekler ekstraktöre yerleştirilip hekzanla muamele edilerek geri soğutucu sistemi ile yağ ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yağ miktarı % olarak kuru madde üzerinden hesaplanmıştır (Anonim, 2000). Bu analiz, her bir örnek için üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.1.1.2 Kjeldahl Yöntemiyle Protein Tayini**

Kjeldahl yöntemi esas alınarak geliştirilmiş Kjeltac azot tayin düzeneğinde örneklerin % azot miktarları belirlenmiş ve bu değerlerin 6.25 faktörüyle çarpılması sonucu protein miktarları % olarak hesaplanmıştır (AOAC Official Methods 920.149) (AOAC, 2012). Bu analiz, her bir örnek için toplam 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.1.1.3 Kül Tayini**

Örneklerinin kül miktarı, 3-5 g örneğin kül fırınında (Protherm Furnace) 550 °C’de esmer lekeler kalmayınca kadar yakılmasıyla meydana gelen ağırlık kaybından % olarak hesaplanmıştır (AOAC Official Methods 923.03). Bu analiz, her bir örnek için toplam 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

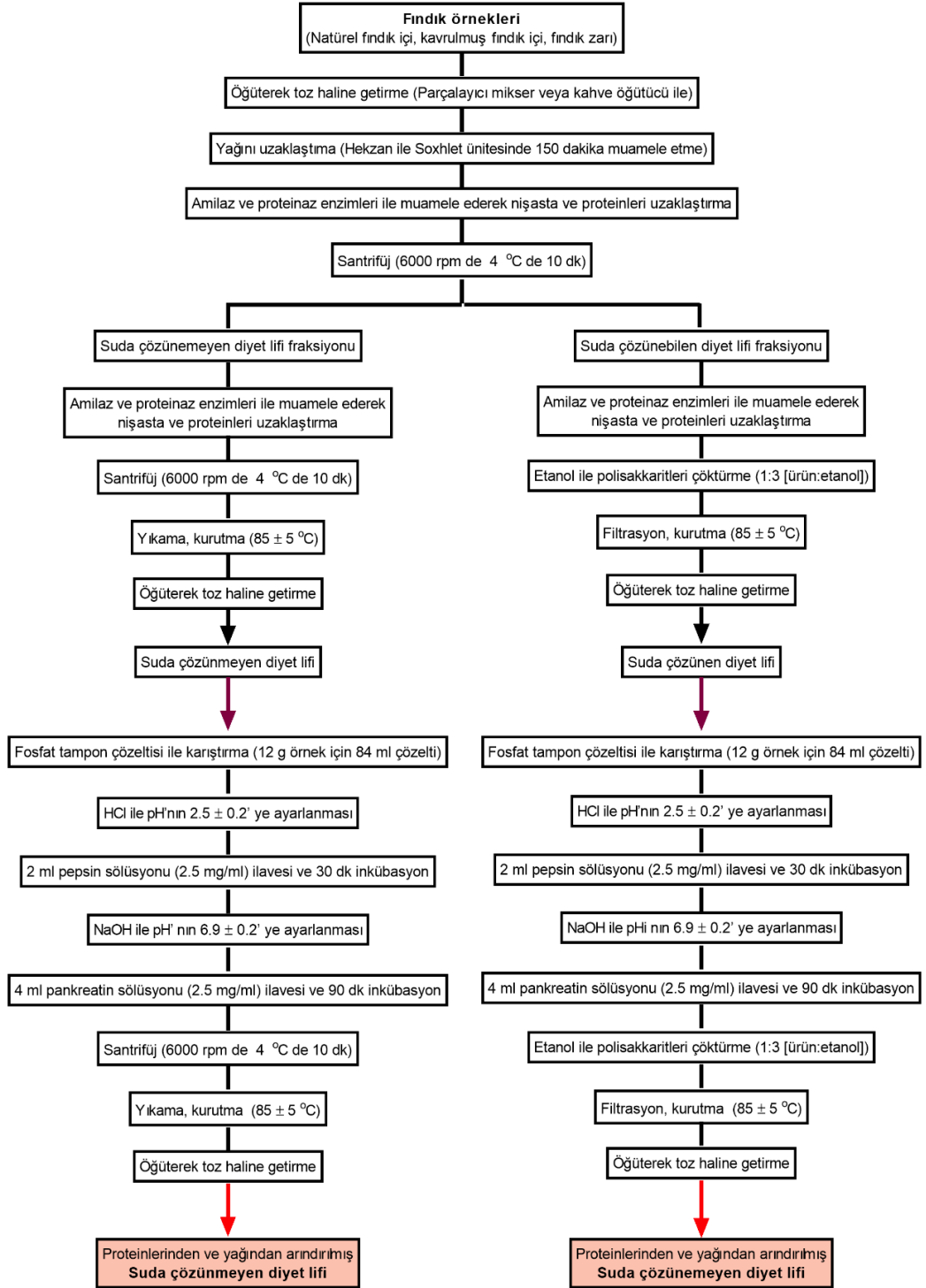
### **3.1.1.4 Klason-Lignin Tayini**

Ligninin varlığı ve miktarı “AOAC 32-25 Klason lignin metodu” ile belirlenmiştir (AOAC, 2012). Örnekler (0.2-0.5 g), 3 mL 12 M sülfürik asit çözeltisi ile 30 °C’de 1 saat muamele edildikten sonra üzerlerine 84 mL saf su ilave edilip, 125 °C’de 1 saat otoklavlanmıştır. Otoklav sonrasında örnekler filtrelenip, filtre üzerinde kalan kısım 500 °C’de 1 saat muamele edilmiş ve işlem sonunda kalan ürünün (Klason lignin) ağırlığı başlangıç miktarından çıkarılarak, % klason lignin olarak ifade edilmiştir (AOAC Official Methods 32-25). Bu analiz, her bir örnek için 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.1.2 Fındık Örneklerinden Diyet Liflerinin Ekstrakte Edilmesi**

Diyet lifleri, suda çözünen diyet lifi ve çözünmeyen diyet lifi olarak ikiye ayrılmaktadır. Bu çalışmada, örneklerdeki suda çözünen ve çözünmeyen diyet lifleri, Şekil 3.3’de detayları verilmiş olan enzimatik yöntemle, ayrı ayrı ekstrakte edilmiştir. Özetle, örnekler öğütülerek parçacık boyutları azaltılmış ve akabinde hekzan ile

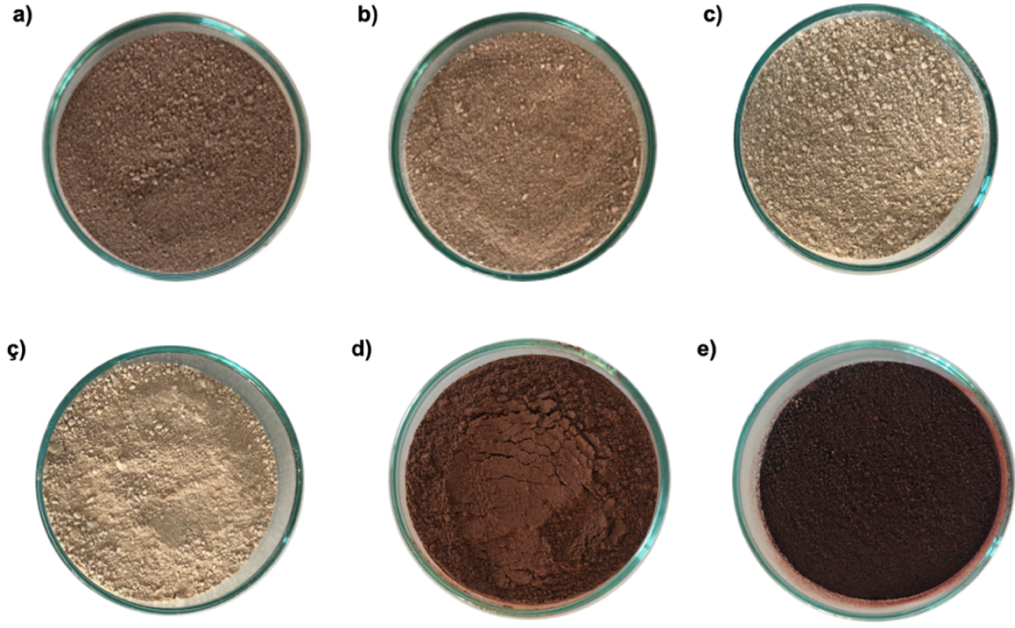
soxhlet ünitesinde 150 dk muamele etmek suretiyle yağlarından arındırılmıştır. Yağı alınmış numuneler 3 saat boyunca enzimlerle işleme tabi tutulmuş ve daha sonra suda çözünen ve çözünmeyen diyet lifi fraksiyonları santrifüleme ile elde edilmiştir.



**Şekil 3.3** Naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarında bulunan suda çözünen ve suda çözünmeyen diyet liflerinin ekstraksiyonu için kullanılmış olan metotun akış şeması

Protein giderimini daha etkili hale getirmek için suda çözünen ve çözünmeyen diyet lifi fraksiyonları  $\alpha$ -amilaz ve proteaz enzimleri ile ayrı ayrı işlemden geçirilmiş, daha sonra santrifüjleme ile suda çözünmeyen diyet lifleri ve etanol ile çöktürme yöntemiyle suda çözünen diyet lifleri elde edilmiştir. Elde edilen suda çözünmeyen diyet liflerindeki safsızlıkları (amino asit kalıntıları ve tuzları) uzaklaştırmak için iki kez saf su (1:3 w:v) ile yıkanmıştır. Bu işlem sonucunda naturel fındık, kavrulmuş fındık ve fındık zarından elde edilen diyet lifi örneklerinin protein değerlerinin sırasıyla %19, %20 ve %6 olduğu belirlenmiştir. Ancak bu değer beklenen protein miktarından daha yüksek olduğu için numunenin ikinci kez sindirim enzimleri ile muamele edilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla elde edilen suda çözünen ve suda çözünmeyen lif örnekleri Tuncil ve ark., (2018; 2017), Rumpagaporn ve ark., (2015) ve Lebet ve ark., (1998) tarafından uygulanmış olan *in vitro* üst gastrointestinal sindirim protokolü ile muamele edilerek proteinlerinden arındırılmaya çalışılmıştır. Özetle, elde edilen suda çözünen ve çözünmeyen diyet lifleri, fosfat tampon çözeltisi ile karıştırılmış ve akabinde karışımın pH'sı 2.5'e (6M HCl çözeltisi ile) ayarlanmıştır. Daha sonra 2 ml pepsin solüsyonu (#P7000, Sigma-Aldrich Co.) ilave edilmiş (2.5 mg/ml) ve 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra pH 6.9'a ayarlanıp, ardından 4 ml pankreatin solüsyonu (#P7545, Sigma-Aldrich Co.) (2.5 mg/ml) ilave edilerek ve 37°C'de 90 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda suda çözünmeyen diyet lifleri santrifüj yardımıyla, suda çözünen diyet lifleri ise etanol çöktürme yöntemiyle elde edilmiştir (Şekil 3.3).

Ekstraksiyon sonrası elde edilen suda çözünen ve suda çözünmeyen diyet lifleri karıştırılarak (Şekil 3.5) yağ, protein külü ve klason ligninin toplam değerleri yukarıda açıklanan yöntemlerle analiz edilmiştir. Elde edilen diyet lifleri, aşağıdaki analizler ve yem karışımları gerçekleştirilene kadar -20°C'de saklanmıştır



**Şekil 3.4** Ekstrakte edilmiş suda çözünmeyen diyet lifleri **a)** fındık zarından ekstrakte edilmiş olan suda çözünmeyen diyet lifleri, **b)** naturel fındıktan ekstrakte edilmiş olan suda çözünen diyet lifleri, **c)** kavrulmuş fındıktan ekstrakte edilmiş olan suda çözünmeyen diyet lifleri, **ç)** kavrulmuş fındıktan ekstrakte edilmiş olan suda çözünen diyet lifleri, **d)** naturel fındıktan ekstrakte edilmiş olan suda çözünmeyen diyet lifleri, **e)** fındık zarından ekstrakte edilmiş olan suda çözünen diyet lifleri



**Şekil 3.5** Ekstrakte edilmiş olan diyet lifleri (suda çözünmeyen + suda çözünen) **a)** Naturel fındıktan ekstrakte edilmiş olan diyet lifleri (suda çözünmeyen + suda çözünen), **b)** kavrulmuş fındıktan ekstrakte edilmiş olan diyet lifleri (suda çözünmeyen + suda çözünen), **c)** fındık zarından ekstrakte edilmiş olan diyet lifleri (suda çözünmeyen + suda çözünen).

## 3.2 İkinci Aşama: Diyet Liflerinin Monosakkarit İçeriklerinin ve Glikozidik Bağlarının Analizi

### 3.2.1 Monosakkarit İçeriklerinin Belirlenmesi

Ekstrakte edilmiş suda çözünmeyen ve suda çözünen diyet liflerinin monosakkarit içerikleri Pettolino ve ark., (2012) tarafından detayları verilmiş olan "Alditol Asetat Türevlerini Kullanarak Monosakkarit Bileşiminin Belirlenmesi" yöntemi ile RTX-2330 kolona (Restek Corp., Bellefonte, PA, ABD) sahip olan gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi (GC/MS) (Shimadzu QP-2010 Ultra, Shimadzu Corp. Kyoto, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Özetle, diyet liflerinin yapılarında bulunan asidik monosakkaritleri indirgemek için örnekler öncelikle karboksil grubu indirgeme reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Bu reaksiyon için öncelikle 5-10 mg numune 1 M imidazol (#I2399, Sigma-Aldrich Co.)-HCl solüsyonu (5 mL) içinde çözdürülmüştür. Daha sonra numuneye 1 mL sodyum borodüterit (#194950050, Acros Organics, Pittsburgh, PA, ABD) (100 mg NaBD<sub>4</sub>/1 mL saf su) solüsyonu eklenip, buz üzerinde 5 dk inkübe edilmiştir. Sodyum boradüterit ilavesi 3 kez tekranmış ve üçüncü ilaveden sonra numuneler 2 saat buz üzerinde inkübe edilmiştir (inkübasyon sırasında buzun tamamen erimesini önlemek için her 30 dakikada bir buz değiştirilmiştir). İnkübasyon süresinin sonunda, ortamda kalan ve reaksiyona girmemiş sodyum boradüteriti inaktive etmek için numuneye 500 µL glasiyal asetik asit (#901013, Isolab GmbH) yavaş yavaş ilave edilmiş ve numune 3500 Da porlara sahip bir diyaliz torbasına (Spectra/Por 3 dialysis tubing, Spectrum Chemical MFG Corp., New Brunswick, NJ, ABD) yerleştirilerek en az 24 saat süreyle diyaliz edilmiştir. Diyaliz işleminin sonunda, numuneler bir liyofilizatör (#FD-10-MR, LabFreez Instruments Group Co., Hunan, Çin Halk Cumhuriyeti) ile kurutulmuştur. Kurutulmuş numuneler üzerine 1 mL saf su ile çözdürülmüş ve üzerlerine sırasıyla 200 µL 2 M'lık sodyum asetat çözeltisi (#7510-OP, Merck KgaA) ve 400 µL carbodiimide çözeltisi (#C106402, Sigma-Aldrich Co.) (500 mg carbodiimide/1 mL saf su) ilave edilip, 25-30 °C' de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda, numunelere 1 mL 4M imidazol solüsyonu eklenmiş ve örnekler iki eşit miktara ayrılıp, ayrı ayrı tüplere transfer edilmiştir. Daha sonra tüplerden birine 1 mL NaBD<sub>4</sub> (70 mg/1 mL saf su), diğerine ise 1 mL NaBH<sub>4</sub> (#71320, Sigma-Aldrich Co.) (70 mg/1 mL saf su) ilave edilip, oda sıcaklığında en az 3 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda ortamda kalabilecek reaksiyona girmemiş sodyum borodeuteride ve sodyum

borohidrat' i inaktive etmek için numuneye 500 µL glasiyal asetik asit yavaş yavaş ilave edilip numuneler 3500 Da gözeneklere sahip olan diyaliz torbası kullanılarak en az 24 saat diyaliz edilmiştir. Diyaliz işleminin sonunda numune liyofilizatör ile kurutulmuştur.

Karboksil indirgenmiş ve kurutulmuş olan örnekler, hidroliz işlemine tabi tutulmuşlardır. Suda çözünen ve çözünmeyen diyet liflerini hidrolize etmek için farklı reaksiyonlar kullanılmıştır. Bunun nedeni, suda çözünmeyen numunelerin selüloz içermesi ve selülozlarının hidrolize edilebilmesi için güçlü aside ihtiyaç duymasıdır. Suda çözünen diyet lifleri için hidroliz reaksiyonu, 0.2-0.5 mg numunenin 100 µL 2.5 M trifloroasetik asit (TFA) çözeltisi (#808260, Merck KgaA) ile 121 °C'de 90 dk inkübe edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda numune kuru hava yardımıyla kurutulmuş ve ortamda kalabilecek eser asitleri uzaklaştırmak için iki kez 150 mL metanol ile yıkanmıştır.

Suda çözünmeyen diyet liflerinin hidroliz reaksiyonu, Saeman hidroliz reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Saeman hidroliz reaksiyon adımları: 0.2-0.5 mg numune 63 µL sülfürik asitte (#258105, Sigma-Aldrich Co.) (%72) oda sıcaklığında 60 dk bekletilmiş ve ardından üzerine 690 µL saf su ilave edilerek 100 °C' de 3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda örnekler, sırasıyla 3 kez 1 mL %20 dioctilamin (DOM) (#D201146, Sigma-Aldrich Co.) içeren kloroform çözeltisi ve 4 kez de saf kloroform (#102445, Merck KgaA) ile yıkanmıştır. Daha sonra sıvı faz kuru hava altında kurutulup, hidroliz işlemi tamamlanmıştır.

Hidroliz işleminin sonunda numuneler indirgeme reaksiyonuna maruz bırakılmıştır. Özetle, hidroliz işlemi sonunda kurutulan 50 µL 2 M' lık amonyum hidroksit (NH<sub>4</sub>OH) çözeltisinde çözündürülüp, 50 µL 1 N' lık NaBD<sub>4</sub> (NH<sub>4</sub>OH ile hazırlanmış) ilave edilip oda sıcaklığında 2.5 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda, ortamda kalabilecek ve reaksiyona girmemiş olan NaBD<sub>4</sub>' i inaktive etmek için, örnekler üzerine 23 µL glacial asetik asit ilave edilmiş ve örnekler sırasıyla 2 kez 250 µL %5 glacial asetik asit içeren methanol (#106007, Merck KgaA.) ve 2 kez de 250 µL saf metanol ile muamele edilip, kurutulmuştur. Bu şekilde indirgeme reaksiyonu tamamlanmıştır.

İndirgenmiş numuneler asetilasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla, indirgeme reaksiyonunun sonunda kurutulmuş numuneye 250 µL asetik anhidrit (#423230010, Acros Organics) ilave edilip, 5 dk sonike edilmiştir (ultrasonik güç: 180 W; frekans: 40 kHz). Akabinde örnekler 100°C'de 2.5 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda örnekler üzerine 2 mL saf su ilave edilip, vortekslenmiş ve 10 dk oda sıcaklığında bekletilerek, asetilasyon işlemi sonlandırılmıştır. Asetilasyon sonunda oluşan alditol asetatlar, diklorometan (DCM) ile ortamda ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilmiş olan örneklerde bulunması muhtemel kirlilikler ve kimyasallar, ekstraktın 3 kez 2 mL' lık saf su ile yıkanmasıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra alditol asetatlar 500 µL aseton içerisinde çözündürmek suretiyle GC viallerine (tüplerine) transfer edilmiştir. Elde edilmiş olan örnekler, autosampler (otomatik numune cihazı; Shimadzu AOC-20i) yardımıyla üzerinde Restek® Rtx-2330 kolon (kolon özellikleri; uzunluk: 30 m; iç çap: 0.25 mm; film kalınlığı: 0.2 µm) bulunan GC/MS' e yüklenerek okuma gerçekleştirilmiştir. GC/MS çalışma şartları, enjeksiyon ünite sıcaklığı: 240 °C, enjeksiyon miktarı: 1 µL - split mode (split ratio: 1:15), kolon akışı: 1.14 mL/dk; taşıyıcı gaz: helyum, fırın (kolon) başlangıç sıcaklığı: 160 °C, MS transfer sıcaklığı (ion source temperature): 260 °C olup, fırın (kolon) sıcaklık programı: gradiyen (aşamalı) olarak ayarlanmıştır 160 °C'de 7.15 dk, 220 °C'de 4.10 dk (slope (°C/dk): 4), 240 °C'de 5.15 dk (slope: 2.90), 260 °C'de 5.10 dk (slope: 10.80) şeklindedir.

### **3.2.2 Glikozidik Bağ Yapılarının Belirlenmesi**

Ekstrakte edilen suda çözünmeyen ve suda çözünen diyet liflerinin glikozidik bağ içerikleri Pettolino ve ark., (2012) tarafından geliştirilmiş ve aşağıda detayları verilmiş olan, "glikozidik bağların kısmı metilasyona uğramış alditol asetat türevleriyle belirlenmesi" yöntemi kullanılarak GC/MS (Shimadzu QP-2010 Ultra, Shimadzu Corp. Kyoto, Japonya) kullanılarak tespit edilmiştir.

Numune ilk olarak 3.2.1'de detaylandırılan yöntem çerçevesinde karboksil grubu indirgeme reaksiyonuna tabi tutulur Karboksil indirgenmiş örnekler akabinde kısmi metillendirme işlemine tabi tutulmuşlardır. Bunun için 0.1-0.3 mg numunelere 30 µL metanol eklenerek ve kuru hava ile kurutulmuştur. Daha sonra numuneye 50 µL dimetil sülfoksit (dimetil sülfoksit-DMSO) (#317275, Merck KgaA.) ilave edilerek, 30 dk sonikasyona tabi tutulmuş (ultrasonik güç: 180 W; frekans: 40 kHz) ve akabinde



en az 12 saat çalkalamalı inkübatörde (100 rpm hızında ve oda sıcaklığında) karıştırılmıştır. Ardından, numuneye 50 µL DMSO-NaOH bulamacı eklenmiş ve 50 dk sonikasyon uygulanmıştır (ultrasonik güç: 180 W; frekans: 40 kHz) (sıcaklığın 40 °C'nin üzerine çıkmasını önlemek için sonikasyon tankına buz küpleri yerleştirilmiştir). Sonikasyon sonunda örnekler üzerine 10 µL iodomethane ilave edilerek, 10 dk sonikasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve bu işlem bir kez daha tekrarlanmıştır. Daha sonra örnekler üzerine 20 µL iodomethane (#122370050, Acros Organics) ilave edilerek, 20 dk sonikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Üçüncü iodomethane ilavesi sonrasında örnekler üzerine 1 mL saf su ve 500 µL DCM ilave edilip vorteksleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Üst fazda birikmiş olan su pastör pipet yardımıyla uzaklaştırılmış ve kalan DCM fazı ise 3 kez 1 mL' lik saf su ile yıkanmıştır. Yıkama sonucu elde kalan DCM fazı kuru hava yardımıyla kurutulup kısmi metillendirme işlemi tamamlanmıştır. Kısmi metillendirme işleminin tam olarak gerçekleştiğinden emin olmak için, bu işlem bütün örnekler için bir kez daha tekrarlanmıştır. İki kez kısmi metillendirme işlemine tabi tutulmuş olan örnekler, sırasıyla yukarıda detayları verilmiş olan hidroliz, indirgenme ve asetilasyon reaksiyonlarına tabi ve akabinde 500 µL aseton içerisinde çözündürmek suretiyle GC viallerine (tüplerine) transfer edilip GC/MS'de analiz edilmiştir. GC/MS okuması için yukarıda açıklanan kolon ve GC/MS çalışma şartları kullanılmıştır.

### **3.3 Üçüncü Aşama: Fare Yemlerinin Hazırlanması, Farelerin Beslenmesi ve Fare Dışkılarının Toplanması**

#### **3.3.1 Fare Yemlerinin Hazırlanması**

Şekil 3.3'de gösterilen enzimatik metot ile ekstrakte edilmiş olan naturel fındık içi, kavrulmuş fındık içi ve fındık zarı diyet lifleri, son ağırlık üzerinden %10 diyet lifi bulunduracak şekilde, ticari standart deney fare yemleri (MBD Deney Hayvanları Yemi, Gebze, Kocaeli) ile karıştırılarak 16 mm çaplı peletler haline getirilmiştir. (kullanmış olduğumuz standart fare yeminin kompozisyonu Çizelge 3.1'de verilmiştir). Kontrol grubu yem ise, prebiyotik özellik göstermeyen ve kalın bağırsak mikroflorasında tarafından fermentasyonu oldukça zor olan mikrokristalin selüloz (#A17730, Alfa Aesor) ilavesi ile hazırlanmıştır. Bunun için, mikrokristaline selüloz standart deney fare yemleri ile karıştırılarak (%10 ham selüloz + %90 standart fare yemi - ağırlığa göre), 16 mm çapındaki peletler haline getirilmiştir. Karıştırma ve pelet

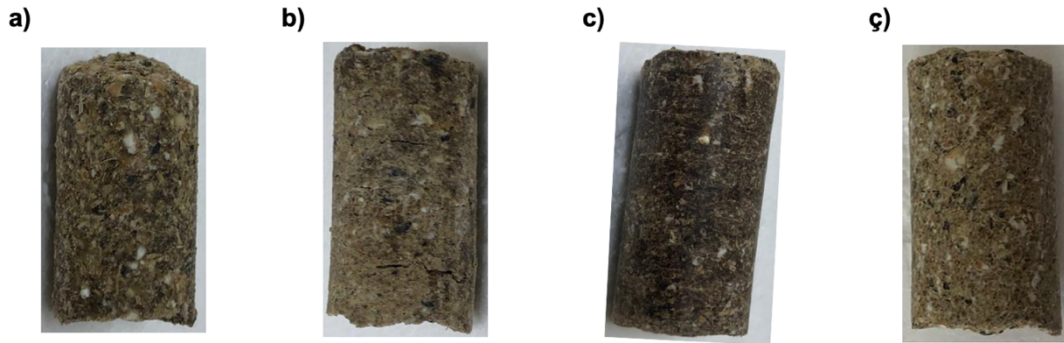
haline getirme işlemi MBD Yem Ticareti (Gebze, Kocaeli) firmasında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılmış olan fare yemleri Şekil 3.6'da gösterilmektedir.

**Çizelge 3.1** Modifiye fare yemlerinin (yem 1, yem 2, yem 3, yem 4) hazırlanmasında ve adaptasyon süresince farelerin beslenmesinde kullanılan standart fare yeminin kompozisyonu ve vitamin içeriği \*

Bileşen	Miktar (%)	Vitamin	Miktar (en az)
Kuru madde	88	Vitamin A (IU/kg)	24000
Ham protein	20	Vitamin D <sub>3</sub> (IU/kg)	3000
Ham selüloz	5	Vitamin E (mg/kg)	300
Ham kül	5.2	Vitamin K <sub>3</sub> (mg/kg)	30
Ham yağ	2.7	Vitamin B <sub>1</sub> (mg/kg)	20
Kalsium	0.9	Vitamin B <sub>2</sub> (mg/kg)	20
Fosfor	0.6	Vitamin B <sub>6</sub> (mg/kg)	12
Lisin	0.96	Vitamin B <sub>12</sub> (µg/kg)	100
Metiyonin	0.40	Nikotik asit (mg/kg)	100
Meth+Sis	0.66	Pantotenik asit (mg/kg)	41
Sodyum	0.14	Biyotin (mg/kg)	6.3
Met.enerji (Kcal/Kg)	2600	Kolin (mg/kg)	1000

\* Standart fare yeminin hazırlanması için kullanılan malzemeler: Hububat, yağlı tohum küspeleri, bonkalit, kalsiyum karbonat, sakkaroz, yonca unu, pelet bağlayıcı, kolin, vitamin ve mineral karışımı, antioksidan madde.

\*\* Çizelgede yer alan veriler üretici firma tarafından (MBD Deney Hayvanları Yemi, Gebze, Kocaeli) sağlanmıştır.

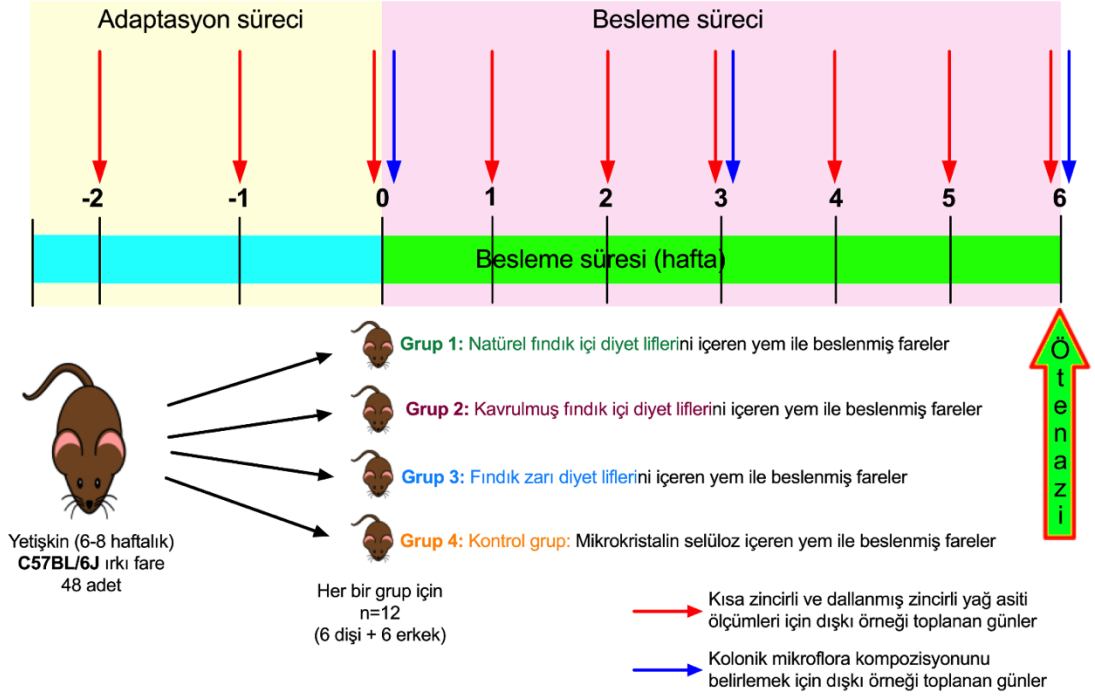


**Şekil 3.6** Ekstrakte edilmiş olan diyet lifleri. a) Yem 1: Naturel fındık içinden ekstrakte edilmiş olan diyet liflerini içeren fare yem, b) Yem 2: Kavrulmuş fındık içinden ekstrakte edilmiş olan diyet liflerini içeren fare yem, c) Yem 3: Fındık zarından ekstrakte edilmiş olan diyet liflerini içeren fare yemi, d) Yem 4 (kontrol yemi): Mikrokristalin selüloz içeren fare yemi

### 3.3.2 Farelerin Temini ve Beslenmesi

Bu çalışmada Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen C57BL/6J ırkına ait 48 adet erişkin (7-8 haftalık) dişi ve erkek fare kullanılmıştır. Fare ırkı, cinsiyet ve numune boyutunu seçmek için aşağıdaki kriterleri göz önünde bulundurulmuştur: (1) Bu ırkın seçilmesinin nedeni, fare ırkları arasında kolonik mikrobiyota açısından insanlarla en yakın olan tür olmasıdır (Ley ve ark., 2005). Ek olarak, bu fare ırkı, diyet lifi ve kolonik mikrobiyota üzerine birçok *in vivo* çalışmada kullanılmıştır (Kaur ve ark., 2018; Bishehsari ve ark., 2018; Sonnenburg ve ark., 2016, 2010); (2) farklı cinsiyetteki fareleri kullanmamızın nedeni, kalın bağırsak mikroorganizmalarının cinsiyete göre değişkenlik gösterebilmesidir (Haro ve ark., 2016); (3) örneklem genişliği “Tekrarlanan Ölçümler Varyans Analizi” yöntemi için yapılan güç analizleri sonucu her bir grupta en az 12 fare olmak üzere toplamda en az 48 fare olarak belirlenmiştir. Bu durumda test gücünün en az %83.59 olması öngörülmektedir ( $\alpha=0.05$ ). Ayrıca, literatürdeki yer alan ve farelerin kalın bağırsak mikroflorası üzerinde yapılmış olan birçok çalışma da bu örneklem genişliğini kullanmıştır (Sonnenburg ve ark., 2016).

Farelerin beslenmesi ve yönetimi Ordu Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nden temin edilen fareler cinsiyetlerine göre (dişi ve erkek fareler birbirleriyle etkileşime girmeyecek şekilde) kafeslere (her farenin en az 70 santimetrekarelik bir alana sahip olacak şekilde) yerleştirilmiş ve 17 gün boyunca ticari standart deney fare yemi ve otomatize suluklar ile ad-libitum besleme yapılarak yeni ortamlarına adapte olmaları sağlanmıştır (Şekil 3.7).

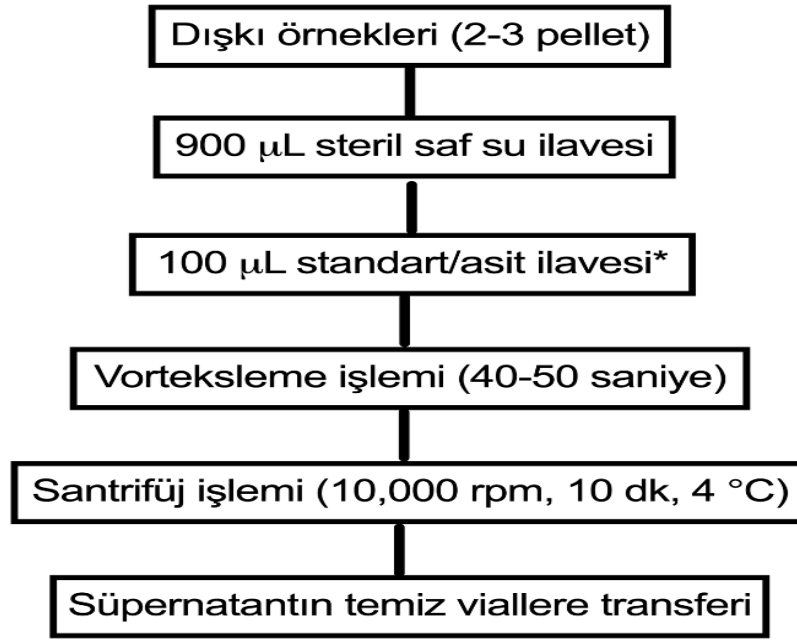


**Şekil 3.7** Fare deneyinin dizaynı

Adaptasyon süresinin sonunda fareler rastgele 4 gruba ayrılmıştır (her grupta 6 dişi ve 6 erkek olmak üzere toplam 12 fare) ve cinsiyetlere ve diyet gruplarına göre kafeslere konularak, yukarıda ve Şekil 3.6'da belirtilmiş olan, farklı yemler ile 6 hafta (42 gün) daha beslenmişlerdir. Adaptasyon süresinde olduğu gibi, bu 6 haftalık süre zarfında da otomatize suluklar ile ad-libitum beslenme sağlanmıştır. Deney sırasında, mikroorganizmaların kalın bağırsakta oluşturdukları kısa zincirli yağ asitlerinin miktarını ve türünü belirlemek ve farklı yem türlerinin kolon üzerindeki etkisini nitelik ve nicelik yönünden incelemek için Şekil 3.7'de gösterilen tarihlerde fare dışkısı (her numune için) toplanmıştır (her fareden en az 3 dışkı peleti toplanmıştır) (0., 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. haftalarda kısa zincirli yağ asitleri belirlenmiş ve 0., 3. ve 6. haftalarda toplanmış olan dışkılarda mikrobiyal analizler gerçekleştirilmiştir) ve bu örnekler aşağıda belirtilen metotlarla analiz edilinceye kadar, -20 °C'de muhafaza edilmiştir. 6. haftanın sonunda, fareler servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi edilerek farelerin beslenme aşaması tamamlanmıştır. Laboratuvar çalışmalarının başlamasından önce Ordu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın yazılı izni alınmıştır (sayı: 82678388/15; tarih: 15.10.2018).

### 3.4 Dördüncü Aşama: Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin Türlerinin ve Miktarlarının Belirlenmesi

Şekil 3.7'de kırmızı ok ile belirtilmiş olan günlerde toplanan dışkılarından kısa ve dallanmış zincirli yağ asitlerinin ekstraksiyonu, Bishehsari ve ark., (2018) tarafından tanımlanan metot ile gerçekleştirilmiştir. Kısa ve dallanmış zincirli yağ asitlerinin ekstraksiyonu için kullanılmış olan metodun detayları Şekil 3.8'de verilmiştir.



**Şekil 3.8** Dışkı örneklerinden kısa- ve dallanmış-zincirli yağ asitlerinin ekstraksiyonu için uygulanmış olan işlemler (Bishehsari ve ark., 2018). \*Standard/asit karışımı, 157.5 µL 4-metilvalerik asit, 1.47 mL 85%'lik fosforik asit ve 39 mg Bakır sülfat pentahidrat homojen bir şekilde karıştırılıp daha sonra karışım hacminin saf su ile 25 mL' ye tamamlanması ile elde edilmiştir.

Ekstraksiyon sonucunda örnekler GC'ye enjekte edilerek, dışkı örneklerinde bulunan asetat, propiyonat, bütirat, isovalerat ve isobütirat miktarları kantitatif olarak belirlenmiştir. GC şartları şu şekildedir; kolon akışı: 1.10 mL/dk; taşıyıcı gaz: helyum, fırın (kolon) başlangıç sıcaklığı: 100 °C'dir. Fırın (kolon) sıcaklık programı gradiyen (aşamalı) olacak şekilde ayarlanıp örnekler gaz kromatografisi viallerine (200 µL) transfer edilmiş ve örnekler, autosampler (otomatik numune cihazı) yardımıyla üzerinde Restek® Stabilwax-DA kolon (kolon özellikleri; uzunluk: 30 m; iç çap: 0.25

mm; film kalınlığı: 0.25 µm) bulunan alev iyonizasyon detektörüne sahip gaz kromatografisi'ne (GC/FID, GC2030, Shimadzu Co., Kyoto, Japonya) yüklenerek, örneklerde bulunan asetik asit, propiyonik asit, iso-butirik asit, bütirik asit ve iso-valerik miktarlarını belirlemek için, okuma gerçekleştirilmiştir. Kantitatif analiz için gerekli olan harici (external) standartlar (asetik asit, propiyonik asit, iso-butirik asit, bütirik asit ve iso-valerik asit) Sigma-Aldrich Co. (St Louis, MO, ABD) şirketinden temin edilmiştir. FID sıcaklığı 250 °C olup çalışma şartları 100 °C'de 1 dk, 200 °C'de 5.5 dk (slope °C/dk: 8) olacak şekilde ayarlanmıştır.

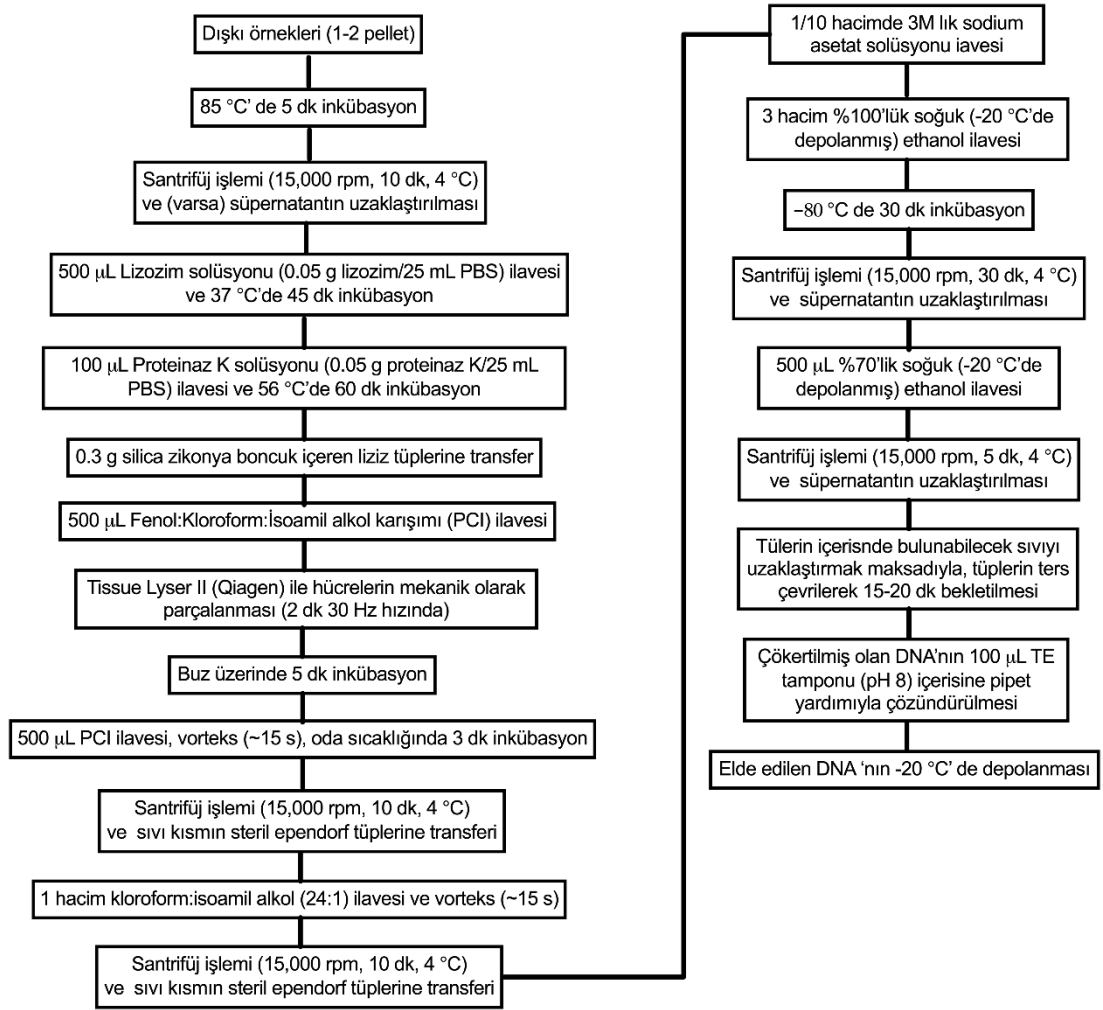
### **3.5 Beşinci Aşama: Farelerin Kalın Bağırsağında Bulunan Mikroorganizma Türlerinin ve Konsantrasyonlarının Belirlenmesi**

Mikrobiyal türler bakımından zengin örneklerde (dışkı gibi) mikrobiyal bileşimi belirlemek için moleküler teknikleri kullanılır. Bu moleküler teknikler arasında en yaygın ve ekonomik olanı, yeni nesil dizileme (next generation sequencing) teknolojisi olarak da bilinen Illumina MiSeq teknolojisidir (Tuncil ve ark., 2017a, 2018; Llewellyn ve ark., 2018; Hryckowian ve ark., 2018; Sonnenburg ve ark., 2016; Martinez ve ark., 2010). Bu nedenlerle, bu çalışmada, dışkı örneklerinde mikroorganizmaların incelenmesi için Illumina MiSeq teknolojisi kullanılarak fındık diyet liflerinin kolonik mikrobiyal topluluk üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Genel olarak, Illumina MiSeq teknolojisi kullanılarak dışkı örneklerinde mikroorganizma tespiti 5 adımda gerçekleştirilir (Tuncil ve ark., 2017a, 2018; Jovel ve ark., 2016):

- 1) Dışkı örneklerinden mikrobiyal DNA ekstraksiyonu,
- 2) Ekstrakte edilmiş olan mikrobiyal DNA'lardaki 16S rRNA geninin uygun bölgelerinin evrensel primerler kullanılarak amplifiye edilmesi
- 3) Amplifiye edilmiş 16S rRNA bölgelerinin TruSeq ikili indeksleme primerleri kullanarak barkodlanması (kütüphane oluşturulması),
- 4) Amplifiye edilmiş ve barkodlanmış 16S rRNA bölgesini sıralamak için yeni nesil sıralama (Illumina MiSeq) teknolojisini sekanslanması,
- 5) Sekanslama sonuçlarını 16S rRNA veritabanı (biyoinformatik analizi) ile karşılaştırarak, mikroorganizmaların kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapılması

### 3.5.1 Fare Dışkılarından DNA Ekstraksiyonu

Şekil 3.7'de mavi ok ile belirtilmiş (0., 21. ve 42.) günlerde toplanmış olan dışkı örneklerinden, Hart ve ark., (2015), Ferrara ve ark., (2010), Lindemann ve ark., (2013) ve Wagner-Mackenzie (2015) tarafından detayları verilmiş olan “fenol-kloroform metodu” ile DNA ekstrakte edilmiştir. İlgili metodun detaylı akış şeması Şekil 3.9'da verilmiştir. Elde edilmiş olan DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları NanoDrop (BioSpec-Nano, Shimadzu Co.) cihazı yardımıyla belirlenmiştir.



Şekil 3.9 Dışkı örneklerinden mikrobiyal DNA ekstraksiyonu için uygulanmış olan işlemler (Hart ve ark., 2015; Ferrara ve ark., 2010; Lindemann ve ark., 2013; Wagner-Mackenzie ve ark., 2015).

### 3.5.2 16S rRNA Geninin Amplifikasyonu

Ekstrakte edilmiş olan DNA'larda bulunan mikrobiyal 16S rRNA geninin V4-V5 bölgesi, Tuncil ve ark. (2018a; 2018b, 2020) tarafından detayları verilmiş olan PCR yöntemiyle amplifiye edilmiştir. PCR reaksiyonuna dahil edilen kimyasallar aşağıda verilmiştir.

**Çizelge 3.2** PCR reaksiyonu için kullanılan (reaksiyona dahil edilen) kimyasallar ve primerler

Reaksiyona dahil edilen kimyasallar/primerler	Miktar ( $\mu$ L)
10 $\mu$ M 515F (V4 - Forward) Primer*	1
10 $\mu$ M 926R (V5 - Reverse) Primer**	1
Kappa HiFi HotStart	15
Su (PCR reaksiyonlarına uygun nukleaz içermeyen)	6
DNA (Template DNA)	2

**\*515F Primer dizilimi:**

ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTGTGYCAGCMGCCGCGGTAA

**\*\*926R Primer dizilimi:**

GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTCCGYCAATTYMTTTRAGTTT

Fare dışkularından elde edilmiş mikrobiyal DNA'larda yer alan 16s r Rna geninin V4-V5 bölgesi, evrensel primerler; 515F ve 926R kullanılarak amplifiye edilmiştir. PCR solüsyonu, 2  $\mu$ l kalıp (komplementer, tamamlayıcı) DNA, her bir primerden 10  $\mu$ M, 15  $\mu$ M Kappa HiFi HotStart hazır karışımı ve 6  $\mu$ M PCR reaksiyonlarına uygun nukleaz içermeyen su ile hazırlanmıştır. PCR reaksiyon şartlarında, ısı döngüleri; başlangıçtan sonra ilk denatürasyonla 98°C'de 3 dk, ilk denatürasyonu takiben, 22 siklus, 98°C'de 20 sn denatürasyon, 50°C'de 30 dk hibriditasyon (bağlanma), 72°C'de 45 sn uzama, 72°C'de 10 dk son uzama ve 4°C'de de bitiş şeklindedir.

### 3.5.3 Amplifiye Edilmiş PCR Ürünlerinin Barkodlanması

Elde edilen PCR ürünü Tuncil ve ark. (2018) tarafından detaylandırılmış protokolle, TruSeq ikili indeks primerleri ile PCR cihazı kullanarak barkodlanmıştır. Barkodlama işleminin başarılı olup olmadığını belirlemek için PCR ürününü %2 agaroz jel (75 dk ve 70 volt) çalıştırmak suretiyle barkod işleminin sonucu (PCR reaksiyonu ile üretilen ürünün uzunluğunu kontrol edilerek) doğrulanmıştır.



**Çizelge 3.3** Barkodlama işlemi için PCR reaksiyonuna dahil edilen kimyasallar \*

Reaksiyona dahil edilen kimyasallar/primerler	Miktar ( $\mu$ L)
DNA (Amplifiye edilmiş PCR ürünleri)	5
10 $\mu$ M Truseq Indeks Primer 1 (N7xx)	5
10 $\mu$ M Truseq Indeks Primer 2 (S5xx)	5
Kappa HiFi HotStart	25
Su (PCR reaksiyonlarına uygun nukleaz içermeyen)	10
Toplam PCR reaksiyonu	50

\*Kullanılmış olan Truseq indeks primerlerinin dizilimi, Illumina protokolünde görülebilir ([https://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry\\_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf](https://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf)).

Amplifiye edilmiş olan ürünlerin barkodlanması için uygulanmış PCR şartları: başlangıçtan sonra ilk denatürasyonda 95 °C’de 3 dk, akabinde 8 siklus, 95 °C’de 30 sn denatürasyon, 55 °C’de 30 sn hibriditasyon, 72 °C’de 30 sn uzama, 72 °C’de 5 dk son uzama ve 4 °C’de bitiş şeklinde gerçekleştirilmiştir.

PCR reaksiyonundan çıkan ürünler (PCR ürünleri- PCR products), GeneJET PCR Temizleme Kiti (GeneJET PCR Purification Kit, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, ABD- Katalog Numarası: K0702) kullanılarak temizlenmiştir. Temizlenmiş olan PCR ürünleri %2’lik agaroz jel üzerinde (75 dk ve 70 voltta) yürütülmek suretiyle (PCR reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerin uzunluklarını kontrol etmek suretiyle) amplifikasyon işleminin doğruluğu teyit edilmiştir.

#### **3.5.4 Amplifiye Edilmiş ve Barkodlanmış 16S rRNA Bölgelerinin Yeni Nesil Dizileme (Illumina Miseq) Teknolojisi ile Sekanslanması**

Amplifiye edilmiş ve barkodlanmış 16S rRNA bölgeleri, Illumina MiSeq (Illumina MiSeq Reagent Kit V2 500 cycles) teknolojisi ile sekanslanmıştır. Sekanslama analizleri, Illinois Üniversitesi (Chicago, Illinois, ABD) Genom Araştırma Merkezi (University of Illinois at Chicago Genome Research Core)’nde gerçekleştirilmiş olup, örnekler ilgili merkeze buz aküleri üzerinde kargolanmıştır. Illumina sonucu oluşmuş olan sekanslama verileri aşağıda detayları verilmiş olan yöntem ile, Mothur v. 1.46.1 yazılım programı kullanılarak analiz edilmiştir.

### 3.5.5 Biyoinformatik ve Mikrobiyota Analizler

Illumina sonucu elde edilmiş olan sekanslama verileri Mothur v. 1.46.1 yazılım programı kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz işlemi gerçekleştirilirken Mothur MiSeq Standart İşletim Prosedürü (Standard Operating Procedure – SOP) ([http://mothur.org/wiki/miseq\\_sop/](http://mothur.org/wiki/miseq_sop/) [son erişim tarihi: 11.10.2021]) takip edilmiş olup, ilgili prosedüre Tuncil ve ark. (2018) tarafından detayları verilmiş olan modifikasyonlar dahil edilmiştir. Özetle, kontig'ler birleştirilerek primer bölgesi içinde hiçbir hataya izin vermeyen gruplara atanmıştır. Diziler başlangıçta maksimum 411 nt uzunluk, sıfır maksimum belirsiz baz ve maksimum 9 nt homopolimer uzunluğu için taranmış, ardından 11894 ila 27656 konumları arasında mothur formatlı SILVA referans hizalaması ile hizalanmıştır. Diziler, mothur formatlı Ribozomal Veritabanı Projesi (Ribosomal Database Project) versiyon 16 kullanılarak sınıflandırılmıştır. Diziler, sınıflandırmayı yalnızca çok yüksek güvenilirliğe sahip sınıflandırmalarla sınırlamak için, mümkün olduğunda, %95'lik bir önyükleme sınırında tür düzeyinde sınıflandırılmıştır. Eukarya alanı içinde, kloroplastlar veya mitokondriyal diziler olarak sınıflandırılan veya alan düzeyinde bilinmeyen sınıflandırmaya sahip diziler, daha sonraki işlemlerden çıkarılmıştır. Tür düzeyindeki OTU sınıflandırmaları, belirli bir tür içinde %97 veya daha yüksek bir önyükleme değerinde sınıflandırılan okumaların yüzdesi olarak rapor edilmiştir. Ekolojik  $\alpha$ -çeşitlilik metrikleri nseqs, kapsama, invsimpson, simpson, chao ve shannon hesaplayıcıları kullanılarak hesaplanmıştır.  $\beta$ -çeşitlilik metrikleri mothur'da uygulandığı gibi Bray-Curtis ve ThetaYC hesaplayıcıları kullanılarak hesaplanmıştır.  $\beta$ -çeşitlilik metriklerine dayalı uzaklık matrisleri, mothur'da pcoa komutu kullanılarak görselleştirme için çizilmiştir. Mothur'da amova komutu kullanılarak centroidlerin önemli ölçüde farklı olup olmadığını belirlemek için boyut fraksiyonları arasında moleküler varyans analizi (AMOVA) testleri de hesaplanmıştır.

### 3.6 Altıncı Aşama: İstatistiksel Analizler

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur. İstatistiksel analizler, Mac OS X için GraphPad Prism sürüm 9.1.1 (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA) kullanılarak yapılmıştır. Örnekler ve kontroller arasındaki farklılıkları belirlemek için (OTU verileri, kısa- ve dallanmış zincirli yağ asitleri verileri ve monosakkarit ve glikozidik bağ verileri) varyans analizi (ANOVA)  $\alpha = 0.05$  anlamlılık düzeyinde

gerçekleştirilmiş olup, ortalama farklılıkların istatistiksel olarak farklı olup olmadığını görmek için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır ( $\alpha = 0.05$ ).

Ayrıca, karşılaştırma sonucunda farklı yemlerle beslenmiş olan farelerin kalın bağırsak mikrofloralarının çeşitliliği, Shannon ve Simpson indeksleri kullanılarak karşılaştırılmıştır (Johnson ve Burnet, 2016). Shannon ve Simpson indeksleri, iki veya daha fazla örneklerde bulunan mikroorganizma popülasyonlarının çeşitliliğini karşılaştırmak için geliştirilmiş matematiksel modelledir (Johnson ve Burnet, 2016). Shannon indeksi sonucunda elde edilmiş olan veriler, varyans analizi ve Tukey (HSD) testi ( $\alpha=0.05$ ) ile analiz edilerek farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı hesaplanmıştır.

Bunlara ek olarak, farklı yemlerle beslenmiş olan farelerin kalın bağırsak mikroflora kompozisyonlarının bir bütün olarak birbirinden farklılık gösterip göstermediği Bray-Curtis farklılık testi ile belirlenmiştir (Bray ve Curtis, 1957). Bray-Curtis farklılık testi, iki veya daha fazla örnekte bulunan mikroorganizma popülasyonlarının bir bütün olarak birbirinden farklılık gösterip göstermediğini hesaplamak için geliştirilmiş olan bir matematiksel modelledir (Zhao ve ark., 2018). Bray-Curtis farklılık testi sonucunda elde edilmiş olan veriler, AMOVA (analysis of molecular variance) testi ( $\alpha=0.01$ ) ile analiz edilerek farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı hesaplanmıştır.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1 Çalışmada Kullanılmış Olan Fındık Örneklerinin Besinsel Kompozisyonu

Örneklerin besinsel içerikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Yağ içeriklerine bakıldığında, kavrulmuş fındık en yüksek (%61.34) yağ içeriğine sahip olup, bunu sırasıyla naturel fındık (%58.31) ve fındık zarı (%14.87) takip etmektedir. Bu sonuçlar, Tuncil (2020) ve Alasalvar ve ark., (2003) tarafından rapor edilmiş olan sonuçlarla da benzerlik göstermektedir. Kavrulmuş fındığın, naturel fındığa kıyasla, daha yüksek yağ içeriğine sahip olması iki farklı etkenden dolayı kaynaklanmış olabilir: (1) naturel fındıkta bulunan ve fındığın ortalama olarak %3’lük kısmını oluşturan fındık zarı, toplam yağ içeriğinin naturel fındıkta daha düşük olmasına sebep olmuş olabilir ve/veya (2) kavurma işlemi sırasında uygulanan sıcaklık hücre yıkımına ve protein denatürasyonuna neden olarak, kavrulmuş fındık örneklerinden, soxhlet analizi süresince, daha fazla yağ ekstrakte edilmesine neden olmuş olabilir (Alasalvar ve ark., 2009). Diğer taraftan, bu çalışmada kullanılan fındık zarının yağ içeriği, Anıl (2007) tarafından bildirilen fındık zarı yağı içeriğinin (%9.13) yaklaşık olarak 1.5 katıdır. Fındık zarı yağ içeriğindeki bu farklılıklar, kavurma işlemi sırasında kullanılan farklı tekniklerden ve/veya uygulanan farklı sıcaklık-sürelerden kaynaklanmış olabilir, çünkü kavurma işlemi süresince fındık zarının yağı emdiği (Alasalvar ve ark., 2009; Pelvan ve ark., 2018) ve farklı kavurma prosedürlerinin zar tarafından emilen yağ miktarını önemli derecede etkilediği bilinmektedir (Anıl, 2007; Özdemir ve ark., 2015).

**Çizelge 4.1** Çalışmada kullanılan olan kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarının nem, yağ, protein, kül ve klason lignin içerikleri

Bileşen	Miktar (% , yağ ağırlık üzerinden)		
	Kavrulmuş fındık	Naturel fındık	Fındık zarı
Nem	2.14 ± 0.28 <sup>C</sup>	3.75 ± 0.24 <sup>B</sup>	7.65 ± 0.23 <sup>A</sup>
Yağ	61.34 ± 1.59 <sup>A</sup>	58.31 ± 1.57 <sup>B</sup>	14.87 ± 0.52 <sup>C</sup>
Protein	11.73 ± 0.43 <sup>B</sup>	12.61 ± 0.56 <sup>A</sup>	5.57 ± 0.43 <sup>C</sup>
Kül	1.80 ± 0.01 <sup>A</sup>	1.67 ± 0.03 <sup>A</sup>	1.69 ± 0.58 <sup>A</sup>
Klason lignin	TE	1.84 ± 0.34 <sup>B</sup>	43.63 ± 0.46 <sup>A</sup>

\* Sonuçlar en az üç tekerrürün ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir. Her bir bileşenin ortalama değerleri örnekler arasında karşılaştırılmış olup, aynı harfe sahip olan ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir (P>0.05).

\*\* TE: Tespit edilmedi.

Yağ miktarına benzer olarak, örneklerin protein içerikleri de istatistiksel olarak ( $P<0.05$ ) farklı olup, en yüksek protein içeriğine naturel fıındığın (%12.61) sahip olduğu ve bunu sırasıyla kavrulmuş fıındık (%11.73) ve fıındık zarı (%5.57) örneklerinin takip ettiği görülmektedir. Benzer şekilde, numuneler arasında klason lignin miktarında önemli ( $P<0.05$ ) bir fark olduğu gözlemlenmiştir; kavrulmuş fıındık numunelerinde klason lignin tespit edilmezken, naturel fıındık ve fıındık zarı numunelerinde ise bu değerin sırasıyla %1.84 ve %46.63 olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar klason ligninin sadece fıındık zarlarında bulunduğunu göstermektedir. Diğer taraftan numunelerin kül içeriklerinin %1.67-1.80 arasında değiştiği ve bu değerlerin istatistiksel olarak farklı olmadığı ( $P>0.05$ ) tespit edilmiştir.

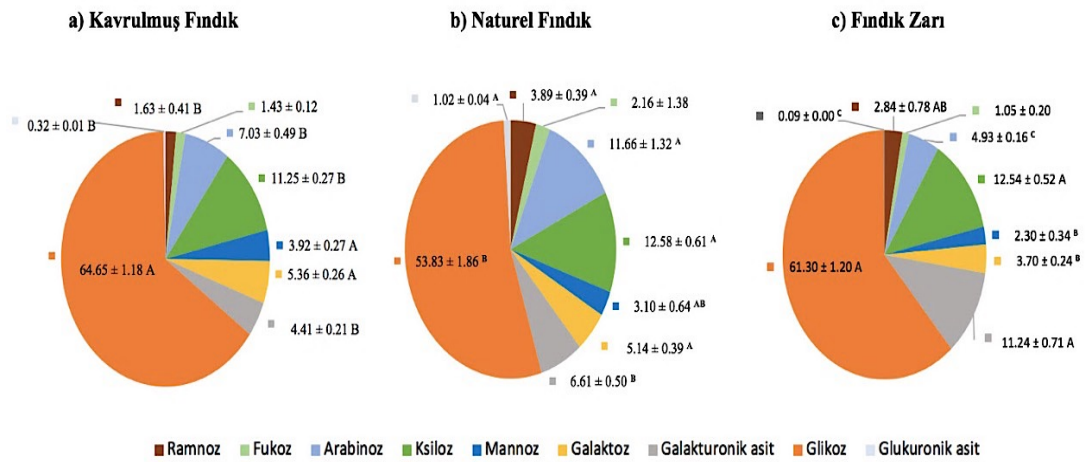
#### **4.2 Ekstrakte Edilmiş Olan Diyet Liflerinin (Suda Çözünen ve Çözünmeyen) Kompozisyonu (Monosakkarit ve Glikozidik Bağ İçerikleri)**

Literatür özetinde bahsedildiği gibi diyet lifleri suda çözünebilirlikleri açısından, suda çözünmeyen diyet lifleri ve suda çözünen lifleri olmak üzere iki kategori altında sınıflandırılırlar. Bu çalışmada, yağları uzaklaştırılmış naturel ve kavrulmuş fıındık ve fıındık zarı numuneleri enzimatik yöntemlerle proteinlerden ve diğer sindirilebilir bileşenlerinden arındırılmış ve akabinde suda çözünmeyen ve suda çözünen diyet lifi fraksiyonları santrifüj işlemi ile elde edilmiştir.

##### **4.2.1 Suda Çözünmeyen Diyet Liflerinin Kompozisyonu**

Naturel ve kavrulmuş fıındık ve fıındık zarından elde edilmiş suda çözünmeyen diyet liflerinin monosakkarit ve glikozidik bağ içerikleri sırasıyla Şekil 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir. Naturel fıındığın suda çözünmeyen fraksiyonunda temel monosakkaritin glukoz (%53.8) olduğu ve bunu sırasıyla ksiloz (%12.6), arabinoz (%11.7), galakturonik asit (%6.6), galaktoz (%5.1), ramnoz (%3.9), mannoz (%3.1), fukoz (%2.2) ve glukuronik asit (%1.0) monosakkaritlerinin tespit ettiği bulunmuştur (Şekil 4.1b). Beklendiği gibi, kavrulmuş fıındığın suda çözünmeyen diyet lifi monosakkarit içeriğinde de benzer bir eğilim gözlenmiştir. Aynı şekilde, fıındık zarında da glukoz ve ksilozun suda çözünmeyen diyet lifi kompozisyonunun baskın bileşeni olduğu bulunmuştur (Şekil 4.1c). Diğer taraftan naturel ve kavrulmuş fıındığıyla karşılaştırıldığında, fıındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin glukoz ve ksiloz haricindeki monosakkaritlerin nispi bolluk sıralamalarının farklı olduğu gözlemlenmiş olup, galakturonik asit (%11.2) en bol bulunan üçüncü monosakkarit

birimi olduğu ve bunu sırasıyla arabinoz (%4.9), galaktoz (%3.7), ramnoz (%2.8), mannoz (%2.3), fukoz (%1.1) ve glukuronik asitin (%0.1) takip ettiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, Tunçil (2020) tarafından 2017 yılında hasat edilen Tombul fındıkları kullanılarak yapılan çalışmada da kavrulmuş ve naturel fındık suda çözünmeyen diyet lifi kompozisyonunda glikozun en zengin monosakkarit birimi olduğu belirlenmiştir (Tuncil, 2020). Ancak, söz konusu çalışmada, naturel ve kavrulmuş fındığın suda çözünmeyen diyet lifleri içeriğinde en bol bulunan ikinci monosakkarit biriminin arabinoz olduğu, bunu sırasıyla galaktoz, ksiloz, ramnoz, mannoz ve glukuronik asit ve galakturonik asit takip ettiği belirlenmiştir (Tunçil, 2020). Tunçil (2020) tarafından yapılan çalışma ile bu çalışmada yapılan karbonhidrat analizleri kıyaslandığında, fındık diyet liflerinin kimyasal yapısında hasat yılına göre farklılıklar olabildiği görülmektedir. Bu kimyasal yapı farklılıkları, bitkilerde yapısal polisakkarit biyosentezini gerçekleştiren enzimlerin belirli bir düzen ile işlev görmeyip polisakkarit biyosentezini rastgele gerçekleştirmelerinden dolayı kaynaklanabilir (Burton ve ark., 2010). Nitekim, Kurz ve ark., (2008), farklı meyveler (kayısı, şeftali ve balkabağı) üzerinde yaptıkları çalışmada, bu meyvelerin yapısal polisakkaritlerinin kimyasal yapılarında meyve türüne ve hasat zamanına (farklı yıllara göre) bağlı olarak farklılıklar olabileceğini göstermişlerdir.



**Şekil 4.1** Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin monosakkarit kompozisyonları. \*Sonuçlar üç tekerrürün ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir. Her bir bileşenin ortalama değerleri örnekler arasında karşılaştırılmış olup, aynı harfe sahip olan ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $P > 0.05$ ).

Dikotiledon bitkilerin hücre duvarı yapısal polisakkaritleri (içermiş oldukları diyet lifleri) genel olarak selüloz, hemiselüloz ve pektik polisakkaritlerden oluşmakta olup (Buchanan ve ark., 2015), dikotiledon bitkilerdeki başlıca hemiselülozun ksiloglukan olduğu bilinmektedir (Scheller ve Ulvskov, 2010). Selüloz, glikoz birimlerinin  $\beta$ -1,4 glikozidik bağlarla bağlanmasıyla oluşan düz bir polisakkarittir. Ksiloglukan ise, yüksek bitkilerin hücre duvarlarında bulunan yapısal olarak karmaşık bir polisakkarit olup, ana zinciri,  $\beta$ -1,4-bağlı glukosil ünitelerinden oluşmaktadır. Ksiloglukan molekülünün düz zincirindeki glikoz ünitelerinin yarısı ila dörtte üçü, bitki türüne veya dokusuna bağlı olarak, 6-konumunda  $\alpha$ -bağlı ksiloz üniteleri ile dallanmıştır (X yan zincirleri) ve bu dallanma ünitelerindeki ksiloz monomerlerine ayrıca diğer şekerler (çoğunlukla galaktoz ve fukoz) bağlanmış olabilir (F yan zincirleri). İlaveten, ksiloglukan düz zincirindeki ksiloz üniteleri O-2 pozisyonlarında  $\beta$ -Gal (L yan zincirleri) ve/veya  $\alpha$ -L-Ara(f) (S yan zincirleri) yan zincirleri içerebilir (Scheller ve Ulvskov, 2010; Pauly ve Keegstra, 2016). Ksiloglukanlara ilaveten, dikotiledon bitkilerin hücre duvarında bir hemiselüloz olan heteromannan da düşük miktarda bulunabilmekte olup (Burton ve Fincher, 2012), omurga bileşimine ve yan zincir ikamesine bağlı olarak heteromannanlar; mannan, glukomannan, galaktomannan ve galaktoglukomannan olmak üzere dört farklı sınıfa ayrılabilir (Scheller ve Ulvskov, 2010). Mannan ve galaktomannan, yalnızca  $\beta$ -1,4-bağlı mannozdan oluşan bir omurgadan oluşurken, glukomannan ve galaktomannan, omurgalarında  $\beta$ -1,4 konfigürasyonunda birbirine bağlı hem mannoz hem de glikoz birimleri içerir. Galaktomannan ve galaktoglukomannan durumunda, mannosil kalıntısı, bir  $\alpha$ -1,6-bağlı galaktosil kalıntısı ile dallanmış olabilir (Burton ve Fincher, 2012). Pektik polisakkaritler ise, yapısal olarak, homogalakturonan (HG), rhamnogalakturonan (RG, tip I ve II), arabinan ve (arabino)galaktan gibi bir dizi birbirine bağlı polimerlerden meydana gelmektedir.  $\alpha$ -1,4 GalA birimlerinden oluşan HG, pektinin omurgasını (düz zincirini) oluşturmaktadır. Pektinin dallanmış bölgesi olarak da bilinen RG I, tekrar eden bir disakkarit biriminden [...]<sub>2</sub>- $\alpha$ -L-Rhap-(1, 4)- $\alpha$ -D-GalpA-(1,...]<sub>n</sub> oluşmakta olup, bu birimdeki ramnoz ünitelerinin O-4 ve/veya O-3 pozisyonlarında arabinan,  $\beta$ -galaktanlar ve arabinogalaktanlar gibi nötr glikosil kalıntıları ve polimerik yan zincirler içerebilmektedir (Vincken ve ark., 2003). Arabinan, O-2 ve/veya O-3 pozisyonlarında arabinoz üniteleri ile dallanma gösteren

$\alpha$ -1,5 bağlantılı arabinoz birimlerinden oluşur. (Arabino)galaktan, düz zincir olarak  $\beta$ -1,4 bağlantılı galaktoz birimlerinden oluşur, bunların bazıları O-3 pozisyonlarında Araşkalıntıları ile dallanmış yapılar sergileyebilir (Vincken ve ark., 2003). Bu bilgilere göre monosakkarit bileşenleri ve glikozidik bağ bileşenleri birlikte incelendiğinde kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarınının suda çözünmeyen diyet lifleri selüloz, hemiselüloz (genellikle ksiloglukan ve az miktarda heteromannan) ve pektik polisakkaritlerden oluştuğu tespit edilmiştir. Ancak, bitkilerin sahip olmuş oldukları hücre duvarı yapısal polisakkaritlerinin, dolayısıyla diyet liflerinin, kimyasal yapısı türler arasında farklılık gösterir (Hamaker ve Tuncil, 2014). Bu nedenle, dikotiledon bitkisinin bir üyesi olan fındığın içerdiği hücre duvarındaki yapısal polisakkaritlerinin, dolayısıyla diyet liflerinin, kimyasal yapısının diğer dikotiledonlu bitkilerden farklı olduğu görülmektedir. Bu çalışmada kullanılan fındık numunelerinin suda çözünmeyen liflerini oluşturan selüloz, hemiselüloz ve pektik polisakkaritlerinin oranları ve kimyasal yapıları Pettolino ve ark., (2012) ve Chen ve ark., (2017) tarafından detaylandırılmış metotla glikozidik bağlarının bileşimi doğrultusunda, aşağıda detayları verilmiş şekilde tayin edilmiştir.

#### **4.2.1.1 Hemiselülozlar**

Yukarıda açıklandığı gibi, dikotiledonların yapısında bulunan ana hemiselülozlar heteromannan ve ksiloglukanıdır. Bitki hücre duvarı polisakkaritlerinde tespit edilen tüm mannoz ilişkili glikozidik bağların (4-Man, 4,6-Man) hepsinin heteromannan polimerlerinin bir parçası olduğu bilinmektedir (Pettolino ve ark., 2012; Chen ve ark., 2017). Ayrıca heteromannanlar, 4-Man eşdeğerinde 4-Glc ve 4,6-Man eşdeğeri kadar 4,6-Glc içerebilmektedir (Pettolino ve ark., 2012). Buna ek olarak, heteromannanlar sahip oldukları dallanma noktası eşdeğeri kadar t-Gal birimine sahip olabilir (Petolino ve ark., 2012). Bu verilere göre, kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerindeki heteromannan miktarı, 4-Man, 4-Glc (4-Man eşdeğeri kadar), 4,6-Man, 4,6-Glc (4,6-Man eşdeğeri kadar) ve t-Gal (en fazla dallanma noktası miktarı olacak kadar) miktarlarının toplanması sonucu, sırasıyla %8.59, %8.07 ve %2.84 olarak hesaplanmıştır.

Bitkilerin primer hücre duvarında tespit edilen 4,6-Glc, heteromannan ve ksiloglukan yapılarına aittir (Scheller ve Ulvskov, 2010; Pettolino ve ark., 2012; Chen ve ark., 2017). Bu nedenle heteromannan yapıya ait olmayan 4,6-Glc glikozidik bağı,



ksiloglikan yapıya aittir. Ayrıca, ksiloglikanlar yapılarında bulunan 4,6-Glc eşdeğeri kadar 4-Glc ve dallanma sayısına eşit ve/veya dallanma sayısından az miktarda 2-Xyl bağı içermektedir. Bunlara ilaveten dallanma noktalarında t-Fuc ve t-Xyl ünitelerine sahiptirler (Pettolino ve ark., 2012; Chen ve ark., 2017). Bu veriler ışığında, kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerindeki ksiloglikan miktarı, 4,6-Glc, 4-Glc, 2-Xyl, t-Fuc ve t-Xyl miktarlarının toplanması sonucu, sırasıyla %22.98, %19.22 ve %17.20 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, Tuncil (2020)'in 2017 yılında hasat edilmiş olan Tombul Fındık çeşidinin diyet lifi kompozisyonları belirlemek için yapmış olduğu çalışma sonucunda elde ettiği değerlerden daha yüksektir.

**Çizelge 4.2** Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin glikozidik bağ kompozisyonları\*

Glikozidik Bağ	Miktar (% , mol)		
	Kavrulmuş fındık	Naturel fındık	Fındık zarı
t-Fuc(p)	1.43 ± 0.12	2.16 ± 1.38	1.05 ± 0.20
t-Ara(f)	1.87 ± 0.13 <sup>B</sup>	2.67 ± 0.30 <sup>A</sup>	0.53 ± 0.02 <sup>C</sup>
5-Ara(f)	2.97 ± 0.21 <sup>B</sup>	4.38 ± 0.49 <sup>A</sup>	3.21 ± 0.10 <sup>B</sup>
3,5-Ara(f)	1.28 ± 0.09 <sup>B</sup>	2.52 ± 0.29 <sup>A</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>C</sup>
2,3,5-Ara(f)	0.91 ± 0.06 <sup>B</sup>	2.09 ± 0.24 <sup>A</sup>	1.03 ± 0.03 <sup>B</sup>
2-Rha(p)	0.83 ± 0.21 <sup>B</sup>	2.08 ± 0.21 <sup>A</sup>	1.28 ± 0.35 <sup>B</sup>
2,4-Rha(p)	0.80 ± 0.20 <sup>B</sup>	1.82 ± 0.18 <sup>A</sup>	1.56 ± 0.43 <sup>A</sup>
t-Xly(p)	6.02 ± 0.14 <sup>B</sup>	9.26 ± 0.45 <sup>A</sup>	2.81 ± 0.12 <sup>C</sup>
2-Xyl(p)	1.83 ± 0.04 <sup>C</sup>	3.32 ± 0.16 <sup>B</sup>	3.82 ± 0.16 <sup>A</sup>
2,4-Xyl(p)	1.63 ± 0.04 <sup>A</sup>	–	1.41 ± 0.06 <sup>B</sup>
2,3,4-Xyl(p)	1.77 ± 0.04 <sup>B</sup>	–	4.49 ± 0.19 <sup>A</sup>
t-Man(p)	0.45 ± 0.03 <sup>B</sup>	–	0.88 ± 0.13 <sup>A</sup>
4-Man(p)	2.45 ± 0.17 <sup>A</sup>	2.42 ± 0.50 <sup>A</sup>	0.94 ± 0.14 <sup>B</sup>
4,6-Man(p)	1.02 ± 0.07 <sup>A</sup>	0.69 ± 0.14 <sup>B</sup>	0.48 ± 0.07 <sup>B</sup>
t-Gal(p)	1.67 ± 0.08	1.85 ± 0.14	–
4-Gal(p)	3.69 ± 0.18	3.29 ± 0.25	3.69 ± 0.23
t-GalA(p)	1.30 ± 0.06 <sup>C</sup>	1.90 ± 0.14 <sup>B</sup>	3.30 ± 0.21 <sup>A</sup>
4-GalA(p)	3.11 ± 0.15 <sup>C</sup>	4.71 ± 0.35 <sup>B</sup>	7.95 ± 0.50 <sup>A</sup>
t-Glc(p)	0.52 ± 0.01 <sup>B</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>C</sup>	0.59 ± 0.01 <sup>A</sup>
4-Glc(p)	56.06 ± 1.02 <sup>A</sup>	47.67 ± 1.64 <sup>B</sup>	55.47 ± 1.08 <sup>A</sup>
4,6-Glc(p)	8.07 ± 0.15 <sup>A</sup>	5.99 ± 0.21 <sup>B</sup>	5.24 ± 0.10 <sup>C</sup>
t-GlcA(p)	0.32 ± 0.01 <sup>B</sup>	1.02 ± 0.04 <sup>A</sup>	0.10 ± 0.00 <sup>C</sup>

\* Sonuçlar üç tekerrürün ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir. Her bir bileşenin ortalama değerleri örnekler arasında karşılaştırılmış olup, aynı harfe sahip olan ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir (P>0.05).

\*\* -: Tespit edilmedi.

Örneklerin yapısında tespit edilmiş olan 2-Xyl, t-Fuc ve t-Xyl glikozidik bağları, kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarı suda çözünmeyen ksiloglukanlarının X ve F yan zincirleri içerdiğini önermektedir. Ayrıca numunelerdeki ksiloglukan moleküllerinin dallanma yoğunluğu, ksiloz ile ilgili bağların (ksiloz bağlarının) toplamının glikoz ile ilgili bağların (glikoz bağlarının) toplamına bölünmesiyle hesaplanmış ve ksiloz bağları/glikoz bağları oranları kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarı örneklerinde sırasıyla 0.53, 0.61, ve 0.70 olarak hesaplanmıştır. Tuncil (2020)'in 2017 yılında hasat edilmiş olan Tombul Fındık çeşidinin diyet lifi kompozisyonları belirlemek için yapmış olduğu çalışmada bu ksiloz bağları/glikoz bağları oranlarını kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarı örnekleri için sırasıyla 0.81, 0.64 ve 0.96 olarak bulmuştu. Tuncil (2020)'in çalışması sonucu elde etmiş olduğu veriler ile bu çalışmada elde edilmiş olan veriler kıyaslandığında, 2018 yılında hasat edilen fındık örneklerindeki suda çözünmeyen ksiloglikanların, 2017 örneklerine göre daha az dallı bir yapıya sahip olduğunu ve bu nedenle fındık diyet liflerinin kimyasal bileşiminin hasat yılları arasında değişebildiğini göstermektedir. Örneklerdeki toplam hemiselüloz miktarı heteromannan ve ksiloglikan miktarları toplanarak hesaplanmış ve bu değer kavrulmuş fındığın suda çözünmeyen diyet lifi için %31.57, naturel fındık suda çözünmeyen diyet lifleri için %27.29 ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet lifleri için ise %20.04 olarak hesaplanmıştır.

#### **4.2.1.2. Selüloz**

4-Glc, bitkilerde hem selülozun hem de nişasta ve hemiselülozun yapısında bulunan yaygın bir glikozidik bağıdır. Fındıkta nişasta içeriğinin ihmal edilebilir düzeyde (<%2) (FAO, 2018) olduğu ve numunelerin ekstraksiyon öncesi yoğun amilaz muamelesine tabi tutulduğu göz önüne alındığında, numunelerde tespit edilen 4-Glc glikozidik bağlarının selüloz ve hemiselüloza aittir. Bu nedenle bağ analizi sonucunda elde edilen toplam 4-Glc miktarından hemiselüloz yapısına ait 4-Glc miktarı çıkarılarak numunede bulunan selüloz miktarı belirlenebilir. Bu hesap ile birlikte kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı örneklerinin selüloz içeriklerinin sırasıyla %46.56, %39.95 ve %49.77 olduğu hesaplanmıştır. Kavrulmuş fındık ve fındık zarı örneklerinin selüloz içeriği Tunçil (2020) tarafından yapılan çalışmadaki değere benzer olmasına rağmen, naturel fındık örneklerinin selüloz içeriğinin elde

edilen değerden (%48.60) daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Diğer dikotiledonlu bitkilerin diyet lifi ile karşılaştırıldığında (Soto ve Saldivar, 2020), fındık diyet liflerinin daha yüksek seviyelerde selüloz içerdiği görülmektedir.

#### 4.2.1.3 Pektik Polisakkaritler

Dikotiledon bitkilerin bir diğer önemli hücre duvarı bileşeni pektik polisakkarittir (Vincken ve ark., 2003). Monosakkarit analizi sonucunda fındık örneklerinin suda çözünmeyen diyet lifi fraksiyonlarında yüksek miktarlarda galakturonik asit, arabinoz, galaktoz ve ramnoz birimleri tespit edilmiştir. Bu monosakkaritler, pektik polisakkaritlerin yapısında bulunan tipik monosakkarit üniteleridir ve dolayısıyla bu monosakkaritlerin yüksek miktarlarda tespit edilmiş olması numunelerde dikkate değer miktarda pektik polisakkarit içerdiğini göstermektedir. Glikozidik bağ analizleri sonucunda da pektik polisakkaritlere özgü glikozidik bağlar tespit edilmiştir (Çizelge 4.3) (Çizelge 4.4). Örneğin, numunelerdeki galakturonik asit birimlerinin çoğunun (>%70), homogalakturonik asit molekülünün tipik bir glikozidik bağı olan, 1,4-GalA bağları ile bağlı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerdeki ramnoz birimlerinin, genellikle tip I RG'de bulunan, (1.2) ve (2.4) glikozidik bağlarla bağlı olduğu gözlemlenmiştir.

Pektik polisakkaritlerinin %65'i HG'den, pektin polisakkaritlerinin %20-35'i tip I RG'den oluşmaktadır (Lamothe ve ark., 2015). Genel olarak molekülde bulunan ramnoz/galakturonik asit oranı HG ve RG tip I yoğunlukları hakkında bilgi verir; düşük ramnoz/galakturonik asit oranı yüksek HG oranının varlığına işaret eder. Bu çalışmada incelenen kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin ramnoz/galakturonik asit oranları sırasıyla 0.37, 0.59 ve 0.25 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler Tunçil (2020) tarafından yapılan araştırma sonucunda elde edilen değerlere (kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin ramnoz/galakturonik asit oranı sırasıyla 0.64, 0.49 ve 0.46 göre farklılık göstermektedir. Bu veriler karşılaştırıldığında, fındığın suda çözünmeyen diyet lifinde bulunan pektik polisakkaritinin kimyasal yapısının hasat yılına bağlı olarak değişebileceği görülmektedir.

Öte yandan bu değerler (ramnoz/galakturonik asit oranı), elma (0.05), turunçgil kabuğu (0.03), frenk üzümü (0.05), şeker pancarı (0.13), kinoa (0.22), amarant (0.23) ve soya (0.28) gibi pektik polisakkaritlerce zengin olan bitkiler için hesaplanandan çok

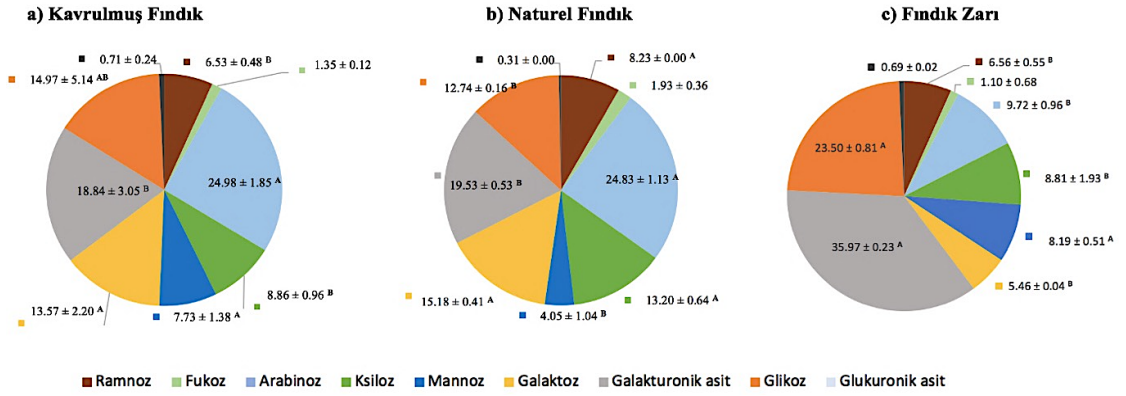
daha yüksektir (Hilz ve ark., 2005; Lamothe ve ark., 2015; Voragen ve ark., 2001; Yapo ve ark., 2007). Bu sonuç diğer bitki pektinleri ile karşılaştırıldığında, fındık pektik polisakkaritlerinin daha yüksek dallanma noktalarına (tüylü bölge – hairy region) ve daha kısa düz zincir (smooth region) içerdiğini göstermektedir. Glikozidik bağ analizi, numunede bulunan RG tip I'in önemli miktarda dallanma noktalarına sahip olduğunu işaret etmiştir, çünkü örnekler içerisindeki dallanmış ramnoz ünitelerinin oranı (2,4-Rha'un toplam ramnoz glikozidik bağları içindeki oranı), kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı örnekleri için sırasıyla %49, %47 ve %55 olarak hesaplanmıştır. Pektinin (RG I tipi) yapısında bulunan dallanma noktaları, arabinan ve galaktan (arabinogalaktan ve/veya pektin galaktan) yan zincirlerinden oluşmaktadır (Hamaker ve Tuncil, 2004).

Örneklerde tespit edilen arabinoz birimleri, arabinoz tipik karakteristik zincir olan 5-Ara(f), 3,5-Ara(f), 2,3,5-Ara(f) ve t-Ara(f) glikozidik bağları içerir ve bu bağlar arabinanın tipik yan zincir bağlarıdır (Hamaker ve Tuncil, 2004). Ek olarak, tespit edilen galaktoz monosakkaritleri, terminal ve 4-Gal bağlarıyla bağlanmıştır ve bu glikozidik bağların varlığı, galaktan yaz zincirlerinin varlığını işaret etmektedir. RG I tipindeki arabinoz ve galaktan yan zincirlerinin oranını belirlemek için genellikle örneklerdeki toplam arabinozun galaktoza oranı hesaplanır (Lamothe ve ark., 2015). Bu oran kavrulmuş fındık için 1.31, naturel fındık için 2.27 ve fındık zarı için 1.33 olarak bulunmuştur. Tuncil (2020), çalışmasında da benzer sonuçlar bulmuştur.

2-Rha, 2,4-Rha, t-Ara(f), 5-Ara(f), 3,5-Ara(f), 2,3, 2, 3 5-Ara(f), t-Gal, 4-Gal, t-GalA ve 4-GalA toplam miktarlarına göre pektik polisakkarit miktarı hesaplanmış olup, bu değer kavrulmuş fındık suda çözünmeyen diyet lifleri için %16.76, naturel fındık suda çözünmeyen diyet lifleri için %25.46 ve fındık zarı suda çözünmeyen diyet lifleri için ise %22.71 olarak bulunmuştur. Bu değerler Tuncil (2020)'in çalışmasındaki verilerden daha düşüktür, bu da fındıkta suda çözünmeyen diyet lifindeki pektik polisakkarit içeriğinin hasat yılına göre farklılık gösterebildiğinin bir göstergesidir.

#### 4.2.2 Suda Çözünen Diyet Liflerinin Kompozisyonu

Naturel fındıkta suda çözünen diyet lifinde gözlenen ana monosakkarit arabinoz (%24.8) olup, bunu sırasıyla galakturonik asit (%19.5), galaktoz (%15.2), ksiloz (%13.2), glukoz (%12.7), ramnoz (%8.2), mannoz (%4.1), fukoz (%1.9) ve glukuronik asit (%0.3) ile takip etmektedir. Kavrulmuş fındıklarda suda çözünen diyet liflerinin monosakkarit içeriği genellikle naturel fındık suda çözünen diyet lifininkine benzer olduğu gözlemlenmiştir. Ancak naturel fındık suda çözünen diyet lifleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ( $P < 0.05$ ) daha yüksek miktarda mannoz ve düşük miktarda ramnoz içerdiği tespit edilmiştir. Öte yandan, fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin, naturel ve kavrulmuş fındık örneklerine kıyasla önemli derecede farklı monosakkarit bileşimine sahip olduğu görülmektedir. Fındık zarı suda çözünen diyet lifinde gözlenen ana monosakkaritin galakturonik asit (%36) olduğu ve bunu glukoz (%23.5), arabinoz (%9.7), ksiloz (%8.8), mannoz (%8.2), ramnoz (%6.6), galaktoz (%5.5), fukoz (%1.1) ve glukuronik asitin (%0.7) takip ettiği tespit edilmiştir. Örneklerde tespit edilen monosakkarit birimleri ve bunlara karşılık gelen glikozidik bağları hemiselüloz ve pektin polisakkaritlerinin yapısında bulunan tipik monosakkaritler ve glikozidik bağlar olup, bu durum kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin hemiselülozlardan ve pektik polisakkaritlerden meydana geldiğini göstermektedir. Benzer şekilde, Tunçil (2020) tarafından 2017 yılında hasat edilen Tombul fındık çeşitleri kullanılarak yapılan çalışmada, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin hemiselüloz ve pektin polisakkaritlerinden oluştuğu belirlenmiştir. Ancak, bahsi geçen çalışmada, naturel ve kavrulmuş fındık ile fındık zarı suda çözünen diyet lifindeki ana monosakkaritin mannoz (%30.4 - %48.4) olduğu ve bunu sırasıyla glikoz (%13.9 - %24.3), arabinoz (%5.1 - %18.3), galakturonik asit (%7.7 - %16.1), galaktoz (%10.8 - %13.7), ramnoz (%1.6 - %3.7) ve ksiloz (%1.5 - %2.1)'un takip ettiği tespit edilmiştir (Tuncil, 2020). Bu iki çalışmadan elde edilen farklı sonuçlar, fındıkta suda çözünen diyet lifleri bileşiminin, fındıkların hasat yılına bağlı olarak önemli ölçüde değişebildiğini göstermektedir.



**Şekil 4.2** Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin monosakkarit kompozisyonları. \* Sonuçlar üç tekerrürün ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir. Her bir bileşenin ortalama değerleri örnekler arasında karşılaştırılmış olup, aynı harfe sahip olan ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $P>0.05$ ).

#### 4.2.2.1. Pektik Polisakkaritler

Numunelerdeki toplam pektik polisakkarit miktarları, glikozidik bağ analizi ile tespit edilen 2-Rha, 2,4-Rha, t-Ara(f), 5-Ara(f), 3,5-Ara(f), 2,3, 2, 3 5-Ara(f), t-Gal 4-Gal, t-GalA ve 4-GalA miktarlarının toplamı ile hesaplanmıştır. Bu değerler, kavrulmuş fındık suda çözünen diyet lifleri için %63.9, naturel fındık suda çözünen diyet lifleri için %67.8 ve fındık zarı suda çözünen diyet lifleri için ise %57.7 olarak bulunmuştur. Önceki yapılmış çalışmalarda, fındık (kavrulmuş ve naturel fındık ile fındık zarı) örneklerinin suda çözünen diyet liflerindeki pektik polisakkarit oranının %22-%23 arasında olduğunu göstermiştir (Tuncil, 2020). Bu durum fındığın suda çözünen diyet lifindeki pektik polisakkarit içeriğinin hasat yılından etkilendiğini göstermektedir.

Ayrıca monosakkarit ve glikozidik bağlarının bileşimi dikkate alınarak, suda çözünen diyet liflerindeki pektik polisakkaritlerin kimyasal yapısı analiz edilmiştir. Kavrulmuş fındık, naturel fındık ile fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin ramnoz/galakturonik asit oranları sırasıyla 0.35, 0.65 ve 0.18 olarak hesaplanmıştır. Bu veriler, fındık zarı suda çözünen diyet lifleri içerisinde yer alan pektik polisakkaritlerin, kavrulmuş ve naturel fındık örneklerindekiyle kıyasla, daha az dallanmış bölgeye (tüylü bölge – hairy region) ve daha yüksek oranda düz zincir (smooth region) içerdiğini göstermektedir. Glikozidik bağ analizleri, suda çözünmeyen diyet liflerindeki gibi, suda çözünen diyet lifleri kısmında yer alan RG

tip I'in önemli derecede dallanma noktalarına sahip olduğunu göstermektedir, çünkü dallanmış ramnoz ünitelerinin oranı (2,4-Rha'un toplam ramnoz glikozidik bağları içindeki oranı), kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünen diyet lifleri için sırasıyla %63, %48 ve %51 olarak hesaplanmıştır. RG tip I'de bulunan arabinan ve galaktan yan zincirlerinin oranı toplam arabinoz/galaktoz oranının belirlenmesiyle hesaplanır (Lamothe ve ark., 2015). Bu oran kavrulmuş fındık örnekleri için 1.84, naturel fındık örnekleri için 1.64 ve fındık zarı örnekleri için 1.78 olarak hesaplanmış olup, bu sonuçlar, galaktan yaz zincirlerine kıyasla, örneklerdeki pektik polisakkaritlerin RG tip I bölgesinde arabinan yan zincirlerinin daha yoğun olarak bulunduğunu önermektedir.

#### **4.2.2.2 Hemiselülozlar**

Önemli miktarda mannoz, glukoz ve ksiloz monosakkaritlerin varlığı fındıkta suda çözünen diyet lifindeki hemiselülozların, mannan ve ksiloglukan moleküllerinden oluştuğunu gösterir. Nitekim, glikozidik bağ analizi sonucunda örnekte çok sayıda 4-Man, 4-Glc ve 4,6-Glc bağı tespit edilmiştir, bu da mannan ve ksiloglukanın varlığını doğrulamaktadır, çünkü 4-Man, mannan molekülünün 4-Glc ve 4,6-Glc ise ksiloglukan polisakkaritlerinde bulunan tipik glikozidik bağlardır (Scheller ve Ulvskov, 2010). Mannan polisakkaritleri, mannoz ünitelerinin O-6 pozisyonlarında dallanma gösterebilmektedirler, ancak glikozidik bağ analizleri sonucunda suda çözünen diyet liflerinin yapısında 4,6-Man glikozidik bağı tespit edilememiştir. Bu durum, analiz edilen numunede suda çözünen diyet lifindeki mannanın düz (linear) bir zincir yapıya sahip olduğunu ve herhangi bir dallanma noktası içermediğini gösterir. Rapor edilen bilgilere göre lineer yapılara sahip mannan polisakkaritleri birçok bitkide bulunmaktadır (Singh ve ark., 2018; Tester ve Al-Ghazzewi, 2013). Bu nedenle örnekte bulunan tüm mannoz monosakkaritlerinin mannanlara ait olduğu varsayılmış ve kavrulmuş fındık, naturel fındık ile fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin mannan içeriğinin sırasıyla %7.7, %4.1 ve %8.2 olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.3** Kavrulmuş fındık, naturel fındık ve fındık zarı suda çözünen diyet liflerinin glikozidik bağ kompozisyonları \*

Glikozidik Bağ	Miktar (% , mol)		
	Kavrulmuş fındık	Naturel fındık	Fındık zarı
t-Ara(f)	4.92 ± 0.36 <sup>A</sup>	4.46 ± 0.20 <sup>A</sup>	2.11 ± 0.21 <sup>B</sup>
5-Ara(f)	8.20 ± 0.61 <sup>A</sup>	5.75 ± 0.26 <sup>B</sup>	5.22 ± 0.52 <sup>B</sup>
3,5-Ara(f)	4.31 ± 0.32 <sup>B</sup>	7.49 ± 0.34 <sup>A</sup>	–
2,3,5-Ara(f)	7.55 ± 0.56 <sup>A</sup>	7.12 ± 0.33 <sup>A</sup>	2.39 ± 0.24 <sup>B</sup>
2-Rha(p)	2.39 ± 0.18 <sup>C</sup>	4.25 ± 0.32 <sup>A</sup>	3.23 ± 0.27 <sup>B</sup>
2,4-Rha(p)	4.13 ± 0.31 <sup>A</sup>	3.98 ± 0.18 <sup>AB</sup>	3.33 ± 0.28 <sup>B</sup>
t-Xly(p)	8.86 ± 0.96 <sup>B</sup>	13.20 ± 0.64 <sup>A</sup>	8.81 ± 1.93 <sup>B</sup>
t-Man(p)	3.90 ± 0.70 <sup>A</sup>	1.71 ± 0.44 <sup>B</sup>	4.52 ± 0.28 <sup>A</sup>
4-Man(p)	3.83 ± 0.68	2.33 ± 0.60	3.67 ± 0.23
4-Gal(p)	13.57 ± 2.20 <sup>A</sup>	15.18 ± 0.41 <sup>A</sup>	5.46 ± 0.04 <sup>B</sup>
t-GalA(p)	7.34 ± 1.19 <sup>B</sup>	8.03 ± 0.22 <sup>AB</sup>	9.69 ± 0.06 <sup>A</sup>
4-GalA(p)	11.50 ± 1.86 <sup>B</sup>	11.50 ± 0.31 <sup>B</sup>	26.28 ± 0.17 <sup>A</sup>
t-Glc(p)	0.93 ± 0.32 <sup>A</sup>	0.53 ± 0.01 <sup>AB</sup>	0.29 ± 0.01 <sup>A</sup>
4-Glc(p)	9.95 ± 4.42 <sup>B</sup>	11.11 ± 0.14 <sup>B</sup>	23.22 ± 0.80 <sup>A</sup>
4,6-Glc(p)	4.24 ± 1.46 <sup>A</sup>	1.14 ± 0.01 <sup>A</sup>	-
t-GlcA(p)	0.71 ± 0.24	0.31 ± 0.04	0.69 ± 0.02

\* Sonuçlar üç tekrerrün ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir. Her bir bileşenin ortalama değerleri örnekler arasında karşılaştırılmış olup, farklı harfe sahip olan ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0.05).

\*\* -: Tespit edilmedi.

Örneklerdeki ksiloglukan miktarı ise 4,6-Glc, 4-Glc ve t-Xyl (4,6-Glc'ye eşdeğer) glikozidik bağlarının miktarlarının toplanması ile elde edilmiştir; kavrulmuş ve naturel fındık suda çözünen diyet liflerinin ksiloglukan içerikleri sırasıyla %18,4 ve %13.4 olarak tespit edilmiştir. Örneklerde sadece t-Xyl glikozidik bağlarının tespit edilmesi, kavrulmuş fındık ve naturel fındık suda çözünen diyet lifindeki ksiloglukan polisakaritlerin sadece X tipi yan zincirlere sahip olduğunu göstermektedir (Scheller ve Ulvskov, 2010; Pauly ve Keegstra, 2016). Bu sonuçlar, örneklerdeki suda çözünen ksiloglukan polisakaritinin, suda çözünmeyen ksiloglukanlardan daha az dallanma noktasına sahip olduğunu ve bu nedenle farklı bir kimyasal yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan, fındık zarının suda çözünen diyet lifleri bileşenlerinde 4,6-Glc glikozidik bağlar tespit edilememiştir. Bu bağın olmaması, ksiloglukanın aksine, fındık zarı suda çözünen diyet liflerinde düz (lineer) zincir şeklinde glukan yapısının mevcut olduğunu gösterir.



### **4.3 Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsakta Kısa- ve Dallanmış-Zincirli Yağ Asitlerinin Oluşumu Üzerine Etkileri**

#### **4.3.1 Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsakta Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin (KZYA) Oluşumu Üzerine Etkileri**

Diyet lifleri tüketildiğinde, üst sindirim sistemi tarafından sindirilmeden kalın bağırsağa ulaşır ve kalın bağırsakta da mikroorganizmalar tarafından fermente edilirler. Diyet liflerinin fermantasyonunun bir sonucu olarak, kolonda yer alan mikroorganizmalar bir dizi mikrobiyal metabolitler üretir. Son yıllarda bu metabolitlerin en önemlilerinin kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) (spesifik olarak asetat [asetik asit], propiyonat [propiyonik asit] ve bütirat [bütirik asit]) olduğu genel kabul görmektedir, çünkü bu KZYA'lar insan kalın bağırsağındaki toplam mikrobiyal metabolitlerin %90-95'ini oluşturmaktadır (Rios-Covion ve ark., 2016), insan vücudundaki değişik organlar ve hücrelerde farklı metabolik ve biyolojik reaksiyonlara katılarak, insan sağlığına yararlı etki göstermektedirler (Rios-Covion ve ark., 2016; Sonnenburg ve Backhed, 2016; Bishehsari ve ark., 2018).

Naturel ve kavrulmuş fındık ile fındık zarından elde edilen diyet lifleri açısından zengin diyetle beslenen farelerden her hafta toplanan dışkı örnekleri analiz edilerek, farelerin kalın bağırsaklarında oluşan mikrobiyal KZYA'lar belirlenmiştir (Şekil 4.3). İlâveten, asetat, propiyonat ve bütirat mutlak bolluk miktarlarının toplanması sonucu, örneklerde oluşan toplam KZYA miktarları hesaplanmıştır. Kalın bağırsak mikrobiyal kompozisyonu (ve dolayısıyla aktivitesi) cinsiyete göre farklılık gösterdiğinden dolayı, dişi (Şekil 4.3a) ve erkek (Şekil 4.3b) farelerin sonuçları ayrı ayrı ele alınmıştır (Jacobs ve ark., 2007).

Dişi fareler göz önüne alındığında, besleme periyodunun beşinci haftasına kadar gruplar arasında asetat içeriği açısından istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Besleme periyodunun beşinci haftasında, fındık zarı grubu ve kavrulmuş fındık grubu farelere kıyasla, kontrol grubu farelerin dışkısında daha yüksek miktarda asetat gözlemlenmiştir ( $P<0.05$ ). Ancak kontrol grubunun dışkılarında gözlemlenen asetat miktarı stabil kalmamış ve beşinci haftadan sonra asetat miktarında %53 azalma gözlemlenmiştir (beşinci haftada dışkıda ölçülen asetat miktarı  $61.5 \mu\text{mol/g}$  dışkı iken bu değer altıncı haftada ölçülen  $29.2 \mu\text{mol/g}$  dışkı olarak ölçülmüştür). Beşinci haftadan sonra kontrol grubunda olduğu gibi naturel ve kavrulmuş fındık diyeti ile beslenen

farelerin asetat değerlerinde azalma gözlenmesine rağmen bu düşüşler kontrol grubu kadar yüksek olmamıştır (beşinci haftadan sonra naturel ve kavrulmuş fındık diyet lifleri içeren diyetle beslenen fare grubunda asetat değerlerinde sırasıyla %30 ve %13'lük bir düşüş gözlenmiştir).

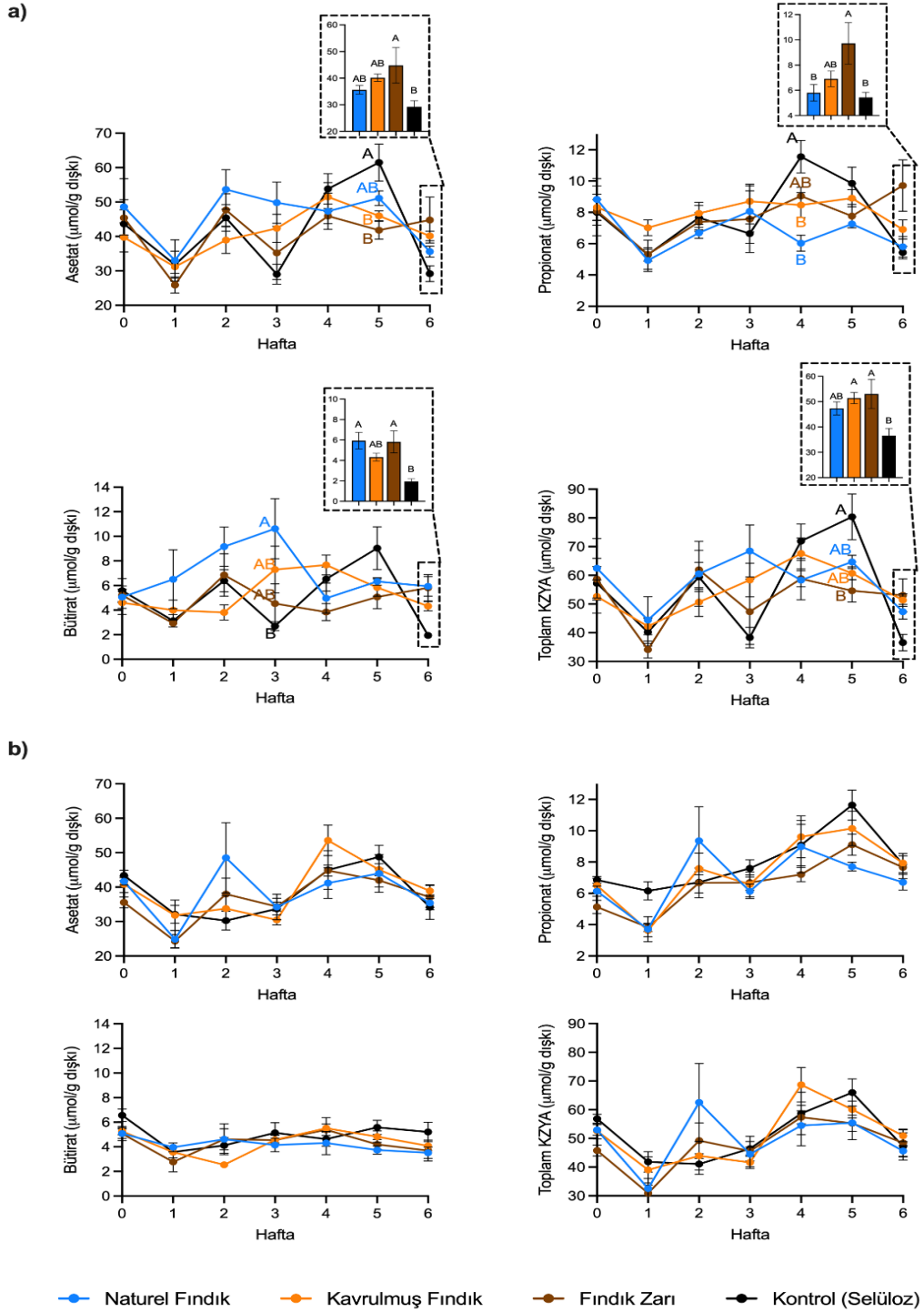
Besleme periyodunun sonu (altıncı hafta) dikkate alındığında, deney gruplarında tespit edilmiş olan asetik asit içeriğinin genel olarak kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (altıncı haftada naturel fındık, kavrulmuş fındık, fındık zarı ve kontrol gruplarında ölçülmüş olan asetat miktarları sırasıyla 44.8, 40.2, 35.6 ve 29.2  $\mu\text{mol/g}$  dışkı'dır), ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sadece fındık zarı diyet lifleri ile beslenen farelerin dışkılarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmiştir ( $P<0.05$ ) (Şekil 4.3a). Benzer şekilde besleme periyodunun ilk üç haftasında dişi fare grupları arasında propiyonik asit içeriği açısından istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 4.3a). Üçüncü haftanın sonra, kontrol grubu farelerin dışkılarındaki propiyonat içeriği önemli ölçüde artarak, dördüncü haftada, kontrol grubu farelerin dışkılarındaki propiyonat miktarının, naturel ve kavrulmuş fındık gruplarına göre istatistiksel olarak yüksek olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Ancak dördüncü haftadan sonra kontrol örneğinde ölçülen propiyonat miktarı devamlı olarak düşüş eğilimi göstermiş ve altıncı haftada kontrol grubundaki propiyonat miktarının deney grubuna benzer veya daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Besleme periyodunun ilk iki haftasında bütirik asit miktarı açısından dişi fare grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $P>0.05$ ) (Şekil 4.3a). Üçüncü haftada ise naturel fındık grubundaki örneklerde ölçülen bütirat miktarının sadece kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $P<0.05$ ). Bütirat miktarı açısından dördüncü hafta ile altıncı hafta arasında istatistiksel olarak fark olmadığı gözlenmiştir. Ancak besleme periyodu sonunda (altıncı hafta), kontrol grubuna kıyasla, naturel fındık grubunun bütirat üretimi 3.1 kat, kavrulmuş fındık grubunda 3.0 kat ve fındık zarı grubunda 2.2 kat daha fazla olmuştur (Şekil 4.3a). Benzer şekilde, besleme periyodunun beşinci haftasına kadar dişi fare grupları arasında toplam KZYA miktarı açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır ( $P>0.05$ ) (Şekil 4.3a).

Besleme periyodunun beşinci haftasında, fındık zarı ve kavrulmuş fındık grupları ile kıyaslandığında, kontrol grubu farelerin dışkılarında önemli derece yüksek miktarda toplam KZYA gözlemlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Ancak, toplam KZYA miktarı stabil kalmamış ve beşinci hafta sonrasında asetat miktarında %55'lik bir düşüş gözlemlenmiştir (beşinci haftada dışkılarda ölçülen toplam KZYA miktarı 80.4  $\mu\text{mol/g}$  dışkı iken asetat miktarındaki değişimle bu değer altıncı haftada 36.6  $\mu\text{mol/g}$  dışkı olarak ölçülmüştür). Beşinci haftadan sonra kontrol grubunda olduğu gibi naturel ve kavrulmuş fındık diyet lifleri ile beslenen farelerin dışkılarında toplam KZYA değerlerinde azalma gözlemlenmesine rağmen, bu düşüşler kontrol grubunda gözlemlendiği kadar yüksek olmamıştır.

Besleme periyodunun sonu (altıncı hafta) dikkate alındığında ise deney gruplarındaki toplam KZYA miktarlarının kontrol grubuna göre genel olarak daha yüksek olduğu görülmektedir (altıncı haftada naturel fındık, kavrulmuş fındık, fındık zarı ve kontrol gruplarında ölçülmüş olan toplam KZYA miktarları sırasıyla 47.3, 51.4, 51.4 ve 36.6  $\mu\text{mol/g}$  dışkı'dır).

Özetle, Şekil 4.3a'yı incelediğimizde, besleme periyodunun başında gruplar arasında fark olmadığını, ancak besleme periyodunun ilerleyen dönemlerinde gruplar arasında farklar olduğu görülmektedir. Bu durum, naturel, kavrulmuş fındık ve fındık zarı diyet liflerinin kalın bağırsakta farklı mikrobiyal metabolitlerin oluşumuna neden olduğunu göstermektedir. Gruplar arasında mikrobiyal KZYA'lerinde tespit edilen bu farklılıklar, naturel ve kavrulmuş fındık ile fındık zarı diyet liflerinin kimyasal yapılarındaki farklılıklardan kaynaklanabilir, çünkü diyet liflerinin kimyasal yapısındaki en ufak bir farklılık (aynı tür olsalar bile) kalın bağırsakta farklı metabolitlerin oluşmasına neden olmaktadır (Tuncil ve ark., 2020; Deehan ve ark., 2020).



**Şekil 4.3** Besleme süresi boyunca farelerin dışkılarında oluşan mutlak KZYA miktarlarının haftalık değişimi. a) dişi fareler b) erkek fareler \*Toplam KZYA = asetat + propiyonat + bütirat. \*\* Hata çubukları, standart hatayı belirtmektedir. \*\*\* Her bir bileşenin haftalık ortalama değerleri gruplar arasında karşılaştırılmış olup, farklı harfe sahip olan gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ve gruplar arasında istatistiksel farklılık olmayan haftalarda harflendirme yapılmamıştır ( $\alpha=0.05$ ).

Erkek fareler ele alındığında, besleme süresi başlangıcında herhangi bir KZYA açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 4.3b). Erkek fare gruplarının (tüm gruplar) dışkılarındaki KZYA içeriğinin besleme süresi boyunca, bütirat haricinde değiştiği (asetat, propiyonat ve toplam KZYA miktarı arttığı) gözlemlenmiştir. Ancak besleme periyodu boyunca herhangi bir KZYA için gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 4.3b). Ayrıca her iki cinsiyete ait veriler göz önüne alındığında mutlak bütirik asit miktarının cinsiyete göre değişiklik göstermediği, ancak erkek gruplarda asetik asit ve propiyonik asit mutlak değerlerinin nispeten düşük olması nedeniyle, toplam KZYA değerinin erkek gruplarda, dişilere kıyasla, daha düşük olduğu görülmüştür. Besleme sürecinde bütirat dışındaki mutlak KZYA miktarındaki değişikliklerin erkek ve dişi farelerde benzer bir eğilim izlediği söylenebilir. Bu durumun erkek ve dişi fareler arasındaki metabolik farklılıktan kaynaklandığı söylenebilir. Bu sonuçlar, fındık diyet liflerinin kalın bağırsak mikrobiyal metabolitleri üzerindeki etkisinin cinsiyete göre değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Öte yandan, besleme sürecinde her hafta yapılan KZYA analizi sonuçlarının grup içinde dalgalı seyrettiği görülmektedir. Kolon mikrobiyotasının çalışıldığı diğer bazı *in vivo* çalışmalarda da (insanlar veya fareler üzerinde yürütülen), benzer şekilde haftalık dalgalanmalar gözlemlenmiştir (Kaur ve ark., 2019; Deehan ve ark., 2019). Bu dalgalanmalar, bireyler arasındaki konak fizyolojisindeki farklılıklardan veya tüm örneklerin aynı örnekleme fraksiyonuna sahip olmamasından kaynaklanabilir. (Örnekleme fraksiyonu: bir KZYA'nın rastgele bir dışkı örneğindeki beklenen mutlak bolluğunun, numunenin türetildiği bağırsak birim hacmindeki mutlak bolluğuna oranı olarak tanımlanır (Lin ve Peddada, 2020).

Zamanlı ölçümlerin yapıldığı birçok çalışmada, gözlemlenen KZYA miktarındaki dalgalanmaları azaltmak (özellikle eşit olmayan örnekleme oranlarından kaynaklanan dalgalanmaları en aza indirmek) için, mutlak miktarın yerine, KZYA'nın bağıl (nispi) bollukları hesaplanmış ve elde edilen bağıl bolluk sonuçlarına göre diyet liflerinin kalın bağırsakta meydana gelen mikrobiyal KZYA üzerine etkileri belirlenmiştir (Tuncil ve ark., 2020; Kaur ve ark., 2019; Cuervo ve ark., 2013). Bu nedenle, bu çalışmada, mutlak KZYA miktarının (Şekil 4.3) belirlenmesine ek olarak,

farelerin besleme sürecinde kalın bağırsaklarında oluşan asetat, propiyonat ve butiratın, toplam KZYA içerisindeki nispi miktarları da hesaplanmıştır (Şekil 4.4).

Genel olarak, dışkıda asetatın nispi bolluğunun %73-82 arasında, propiyonatın nispi bolluğunun %9-18 arasında ve bütiratın nispi yoğunluğunun %5-15 arasında olduğu görülmektedir (Şekil 4.4). Bu sonuçların literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmektedir, çünkü diyet liflerinin farelerin kalın bağırsağındaki KZYA üzerine etkilerini belirlemeye yönelik yapılmış olan birçok çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Kaur ve ark., 2019; Desai ve ark., 2016). Ayrıca insan dışkı örneklerinde asetat, propiyonat ve bütirat konsantrasyonunun 3:1:1 olduğu bildirilmektedir (Venegas ve ark., 2019).

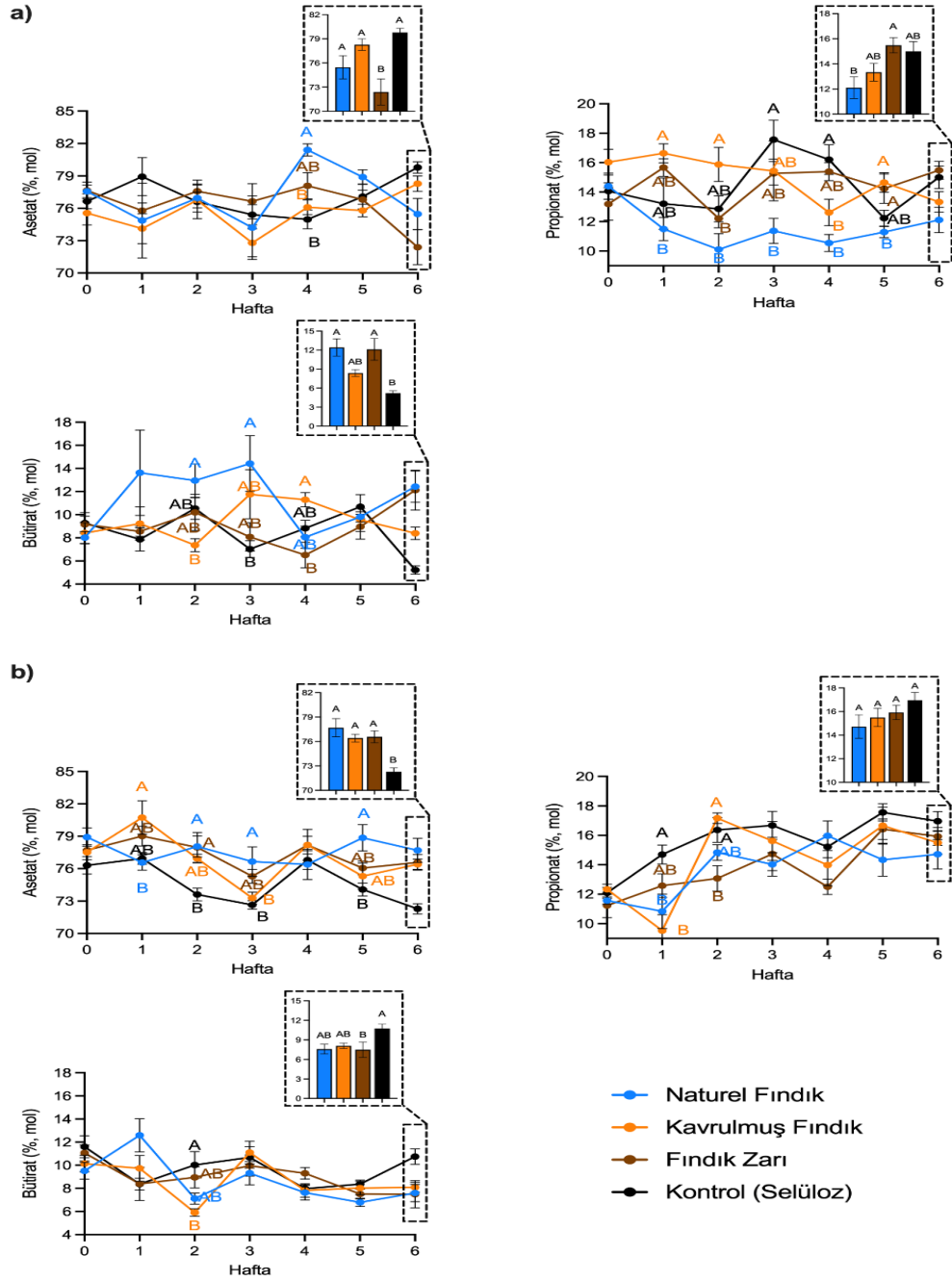
Dişi fareler dikkate alındığında, besleme periyodu sonunda naturel ve kavrulmuş fındık grubu ile kontrol grubunun kalın bağırsağındaki nispi asetat bolluğunun, fındık zarı grubuna göre, yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4a). Öte yandan, besleme süreci sonunda, en düşük propiyonat nispi bolluğuna naturel fındık grubu farelerin sahip olduğu, kontrol ve kavrulmuş fındık gruplarının istatistiksel olarak naturel fındığa eş değer propiyonat bolluğuna sahip olduğu, fındık zarı grubunun ise istatistiksel olarak naturel fındık grubundan daha fazla propiyonat bolluğuna sahip olduğu gözlemlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Bütirat bolluğu gözlemlendiğinde, dişi deney grubuna ait örneklerin bütirat bolluğunun dişi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıntılı olarak incelendiğinde, naturel fındık grubunun dışkıdaki bütirat bolluğunun, besleme dönemi sonunda kontrol grubuna göre 2.4 kat daha fazla olduğu (%12.4'e karşı %5.2) gözlenmiştir (Şekil 4.4a).

Benzer şekilde, fındık zarı grubunun dışkılarındaki bütirat bolluğunun kontrol grubunun 2.3 katı olduğu görülmüştür (%12.1'e karşı %5.2). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kavrulmuş fındık grubundaki farelerin dışkılarındaki bütirat bolluğu 1.6 kat daha fazladır (%8.4'e karşı %5.2) (Ancak, bütirat bolluğu açısından kavrulmuş fındık grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir ( $P > 0.05$ )). Bu sonuçlar, fındık diyet liflerinin, kontrol grubuna kıyasla dişi deneklerde genellikle bütirojenik etki sağladığını göstermektedir. Bütiratın anti-inflammatuar, anti-karsinogenik ve anti-obezite etkilerinden dolayı, son yıllarda kalın bağırsakta mikrobiyal bütirat miktarının yükselmesini sağlayabilecek diyet liflerine olan ilgi hızla

artmaktadır (Kaur ve ark., 2019; Liu ve ark., 2018; Knudsen ve ark., 2018; Louis ve Flint, 2017). Bu veriler çerçevesinde, dişi bireylerin kalın bağırsağında bulunan butirat miktarını/bolluğunu artırmak için fındık tüketiminin önerilebileceği sonucuna varılabilir. Öte yandan, aralarında istatistiksel bir fark olmamasına rağmen, kavrulmuş fındık grubunda tespit edilmiş olan bütirat nispi bolluğu, naturel fındık grubununkinden daha azdır. Bu sonuç, kavurma işleminin fındık diyet liflerinin bütirojenik özellikleri üzerinde olumsuz bir etkisi olduğunu göstermektedir. Kavurmanın fındık diyet liflerinin bütirojenik özellikleri üzerindeki olumsuz etkisi, ısıl işlemin diyet liflerinin fonksiyonel özelliklerini değiştirebilmesinden kaynaklanıyor olabilir. Son yapılan çalışmalarda, gıda işleme teknolojilerinin diyet liflerinin kalın bağırsak mikroorganizmaları üzerine olan etkilerinin ve dolayısıyla bu mikroorganizmaların faaliyetleri sonucu açığa çıkan metabolitlerin miktarlarının ve tiplerinin değişmesine neden olduğunu ortaya koymaktadır (Seal ve ark., 2021; Carmody ve ark., 2019; Miclotte ve Van de Wiele, 2019; Smith ve ark., 2019).

Erkek fareler dikkate alındığında, besleme periyodunun sonunda, deney gruplarının dışkısında tespit edilen nispi asetat bolluğu, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksektir ( $P<0.05$ ) (Şekil 4.4b). Diğer taraftan, besleme periyodu sonunda deney grubu ile kontrol grubunun bağıl propiyonik asit bolluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Benzer şekilde, nispi bütirat bolluğu açısından naturel fındık, kavrulmuş fındık ve kontrol grubu arasında herhangi bir istatistiksel fark tespit edilmemiştir ( $P>0.05$ ) (fındık zarı grubu, kontrole kıyasla, istatistiksel olarak daha düşük düzeyde nispi bütirat bolluğuna sahiptir ( $P<0.05$ ) (Şekil 4.4b). Bu sonuçlar, fındık diyet liflerinin, kontrol grubuna kıyasla, erkek deneklerde genellikle asetijonik etki sağladığını göstermektedir. Klinik ve prelinik çalışmalar, asetatın glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve peptid YY (PYY) gibi bağırsak hormonlarını salgılanmasını düzenleyerek, bireyin enerji ve substrat metabolizması üzerinde olumlu bir etki gösterdiği ve vücut lipolizinde azalma, sistemik proinflatuar sitokin seviyelerinde ve enerji harcamasında ve yağ oksidasyonunda artış sağlayarak iştahı etkilediği ve böylece obezite kontrolüne katkı sağladığını ortaya koymuştur (Hernandez ve ark., 2019). Asetatın bu olumlu fizyolojik etkileri nedeniyle, son yıllarda insan kalın bağırsağında asetat miktarını artırmaya yardımcı olan diyet liflerine olan ilgi artmaktadır. Bu çalışmadan elde edilen veriler

çerçevesinde, erkek bireylerin kalın bağırsağında asetat miktarını/bolluğunu artırmak için fındık tüketiminin önerilebileceği sonucuna varılabilir.



**Şekil 4.4** Besleme süresi boyunca farelerin dışkılarında tespit edilen asetat, propiyonat ve bütiratın nispi bolluklarının (% mol üzerinden toplam KZYA'ne göre) haftalık değişimi. a) dişi fareler b) erkek fareler \*Hata çubukları, standart hatayı belirtmektedir. \*\*Her bir bileşenin haftalık ortalama değerleri gruplar arasında karşılaştırılmış olup, farklı harfe sahip olan gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ve gruplar arasında istatistiksel farklılık olmayan haftalarda harflendirme yapılmamıştır ( $\alpha=0.05$ ).



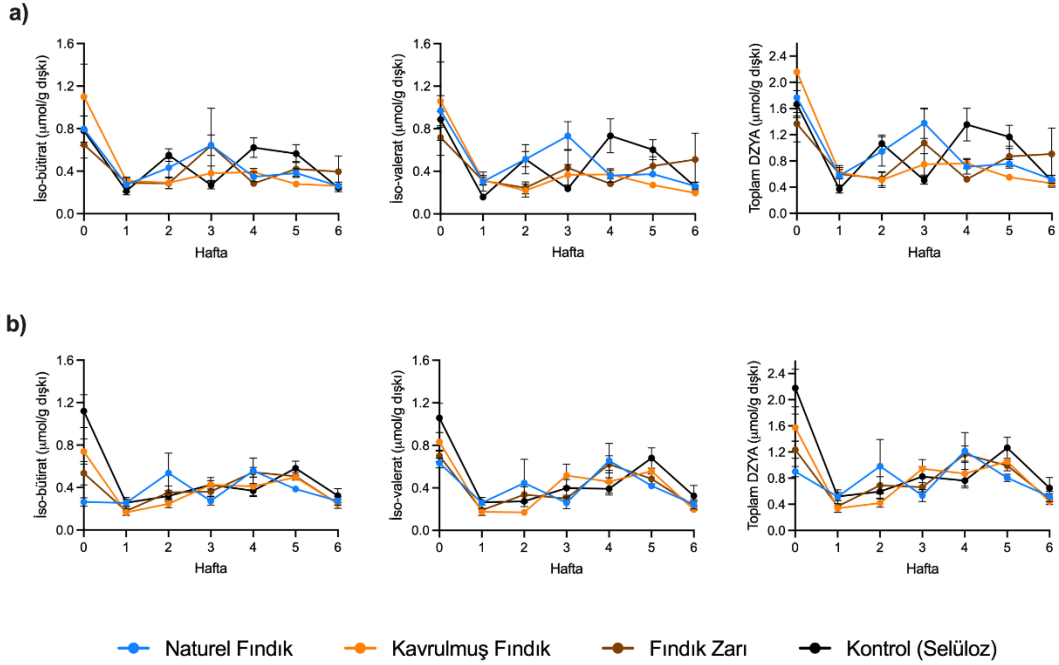
#### 4.3.2. Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsakta Dallanmış Zincirli Yağ Asitlerinin (DZYA) Oluşumu Üzerine Etkileri

KZYA'ne ek olarak, kalın bağırsak mikroorganizmaları, özellikle dallı zincirli amino asitleri (valin, lösin ve izolösin) fermente etmesi sonucunda, isobütirat (isobütirik asit) ve isovalerat (isovalerik asit) gibi dallanmış zincirli yağ asitlerini (DZYA) oluştururlar (Rios-Covian ve ark., 2020). Bu sebepten dolayı, DZYA, kolonik protein fermentasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilir (Macfarlane ve ark., 1992). Son yıllarda yapılan *in vitro* çalışmalar, yüksek protein ve yağ ile düşük karbonhidrat içeriğine sahip batı tarzı diyetlerin tüketiminin daha yüksek DZYA oluşumuna yol açabileceğini göstermiştir (Aguirre ve ark., 2016). Kalın bağırsakta amino asitlerin (proteinlerin) fermentasyonu ile açığa çıkan metabolitlerin (özellikle aminler, fenoller ve amonyak) kolon hücreleri üzerinde toksik etkilerinin olduğu, inflamasyona ve ilerleyen aşamalarda kansere neden olduğu bildirilmiştir (Yao ve ark., 2016; Verbeke ve ark., 2015). Bu olumsuz etkilerden dolayı, diyet bileşenleri aracılığıyla mikrobiyal florayı düzenlerken, genellikle yararlı bakteri sayısını ve KZYA üretimini artırırken, DZYA sentezini en aza indirmek hedeflenmektedir (Rios-Covian ve ark., 2016).

Deney ve kontrol gruplarının kalın bağırsağında oluşan mikrobiyal DZYA (izobütirik asit ve izovalerik asit) miktarları, besleme döneminde her hafta toplanan dışkı örneklerinin GC ile analiz edilmesi sonucunda tespit edilmiştir. İlaveten, örneklerde oluşan toplam BCFA miktarını hesaplamak için izobütirik asit ve izovalerik asidin mutlak bollukları toplanmıştır. Kalın bağırsaktaki DZYA miktarları dişi ve erkek fare grupları için sırasıyla Şekil 4.5a ve Şekil 4.5b'de verilmiştir.

Genel olarak, deney grubu ve kontrol grubu numunelerinde (natural erkek fare grubundaki izobütirat miktarı hariç), besleme süreci başlangıcından sonra tüm DZYA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı ( $P < 0.05$ ) bir düşüş gözlenmiştir. Bu durum, besleme dönemi sonrasında kalın bağırsakta daha fazla sakkarolitik aktivite olduğunun (diğer bir ifade ile daha fazla diyet lifinin kalın bağırsağa ulaştığının) açık bir göstergesidir, çünkü daha az DZYA oluşumu, daha az protein fermentasyonunun ve daha yüksek karbonhidrat fermentasyonunun gerçekleştiğinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Rose ve ark., 2017). Bu sonuçlar, fındık diyet liflerinin kalın bağırsak için zararlı olduğu düşünülen DZYA miktarında azalma sağladığını

göstermektedir. Öte yandan, besleme sürecinin sonraki aşamalarında (birinci haftadan sonra) DZYA miktarında, istatistiksel olarak, herhangi bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5** Besleme süresi boyunca farelerin dışkılarında oluşan mutlak DZYA miktarlarının haftalık değişimi. **a)** dişi fareler **b)** erkek fareler\*Toplam DZYA = isobütirat + isovalerat. \*\* Hata çubukları, standart hatayı belirtmektedir. \*\*\* Her bir bileşenin haftalık ortalama değerleri gruplar arasında karşılaştırılmış olup, gruplar arasında istatistiksel farklılık olmayan haftalarda harflendirme yapılmamıştır ( $\alpha=0.05$ ).

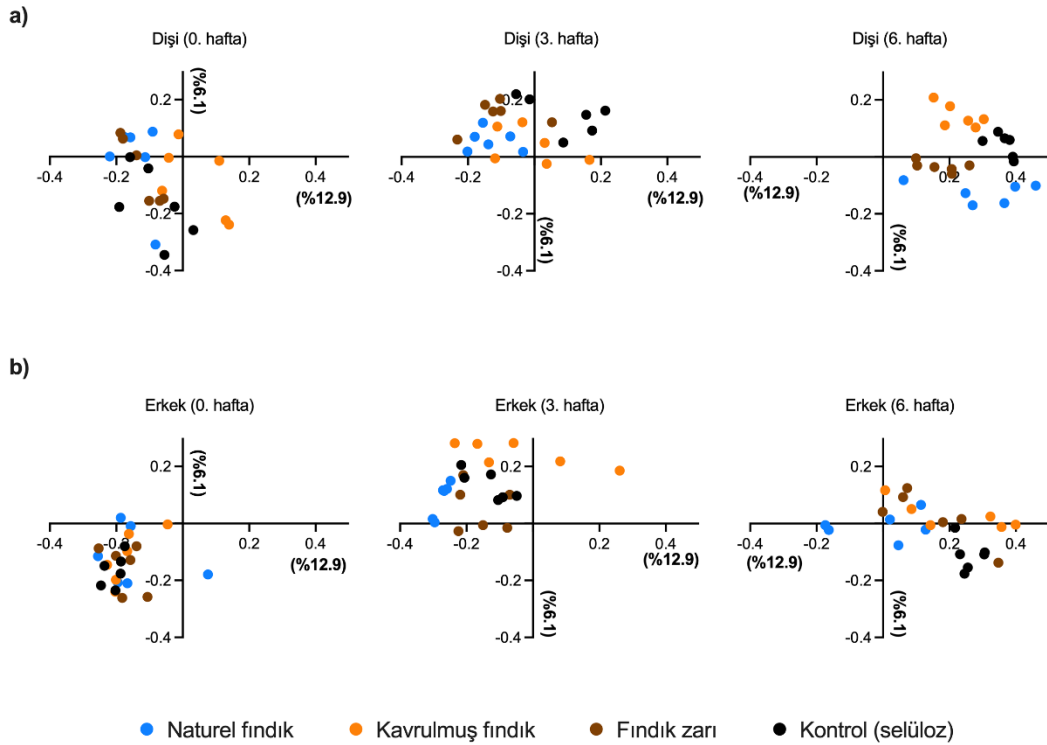
#### 4.4 Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Kompozisyonu Üzerine Etkileri

##### 4.4.1 Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Topluluklarının Genel Yapıları Üzerine Etkileri

Dışkı mikrobiyota topluluklarının genel yapılarının karşılaştırması ( $\beta$ -çeşitlilik metrikleri), %97 benzerlik seviyesinde OTU'ların nispi bolluğuna dayalı Bray-Curtis ve ThetaYC farklılık testleri kullanılarak yapılmıştır (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).

Dişi fareler göz önüne alındığında, besleme periyodunun başlangıcında (0. hafta), Bray-Curtis fark testine göre, grupların bir arada kümelendiği görülmektedir (Şekil 4.6a). Bu durum, farklı diyetlerle beslenen gruplar arasında kalın bağırsaktaki mikrobiyal topluluk yapısında bir fark olmadığını gösterir. Öte yandan, besleme sürecinin sonraki aşamalarında mikrobiyal topluluk yapısının ayrı ayrı kümelene

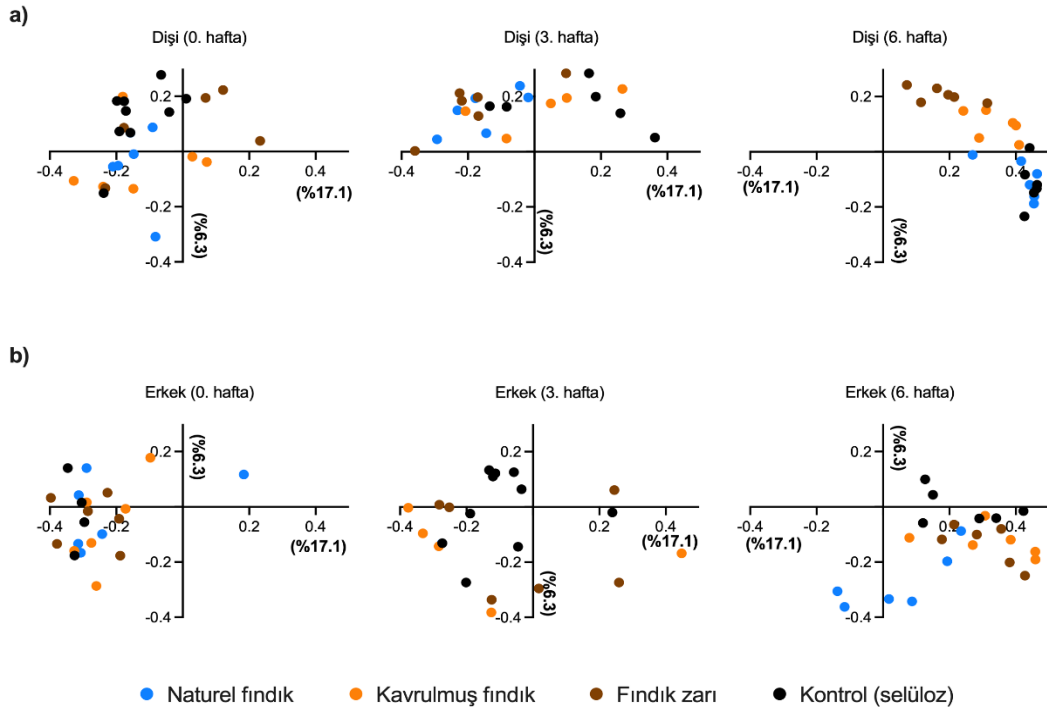
başlaması, farklılıkların ortaya çıkmaya başladığını göstermiştir. Besleme döneminin sonunda (altıncı hafta), her grubun kendi içinde toplandığını ve diğer gruplardan ayrıldığı gözlemlenmektedir. Sonuçlar, besleme sürecinin sonunda mikrobiyal topluluğun yapısında farklılıklar olduğunu ve diyet lifi türünün mikrobiyal topluluğun yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. ThetaYC metriği kullanıldığında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.6a), ancak besleme süresinin sonunda Bray-Curtis metriğinin aksine, naturel ve kontrol grubu dışı farelerin kolonik mikroflora topluluk yapısının farklı olmadığı sonucuna varılmıştır, çünkü ThetaYC metriğinde naturel ve kontrol grubu mikrobiyal topluluk yapısı iç içe kümelenmiştir.



**Şekil 4.6** Fındık diyet lifleri ve selüloz ile beslenmenin 0, 3 ve 6. haftalarında %97 benzerlik seviyesinde OTU'ların nispi bolluğuna dayalı olarak dışkı mikrobiyal topluluklarının Bray-Curtis benzerlik matrisi. **a)** Dişi fare grupları, **b)** erkek fare grupları.

Dişi farelere benzer şekilde, besleme periyodunun başlangıcında (0. hafta), Bray-Curtis farklılık testine göre, erkek fare gruplarının da bir arada kümelenmediği görülmektedir (Şekil 4.6b). Bu durum, farklı diyetlerle beslenen gruplar arasında kalın bağırsak mikrobiyal topluluk yapısında bir fark olmadığını gösterir. Besleme sürecinin

sonraki aşamasında (3. hafta), her grubun kendi içinde kümeleşmeye başladığı görülmektedir (Şekil 4.6b), bu da farklı diyet lifi örneklerinin farelerin kalın bağırsak mikrobiyotasının yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan, Bray-Curtis fark testine göre erkek fare grubunun besleme periyodu sonunda grup içindeki kümeleşmenin bozulduğu görülmektedir (Şekil 4.6b). ThetaYC metriği kullanıldığında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.7b), ancak besleme süresinin sonunda Bray-Curtis metriğinin aksine, erkek farelerin naturel gruptaki kolonik mikroflora topluluk yapısının diğer gruplardan farklı olduğu sonucuna varılmıştır, çünkü ThetaYC ölçümünde naturel grubun mikrobiyal yapısının diğer gruplarla karşılaştırıldığında, genellikle daha uzak bölgelerde kümeleştiği görülmektedir (Şekil 4.7).



**Şekil 4.7** Fındık diyet lifleri ve selüloz ile beslenmenin 0, 3 ve 6. haftalarında %97 benzerlik seviyesinde OTU'ların nispi bolluğuna dayalı olarak dışkı mikrobiyal topluluklarının ThetaYC benzerlik matrisi. a) Dişi fare grupları, b) erkek fare grupları.

#### 4.4.2. Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Topluluklarının $\alpha$ -çeşitlilikleri Üzerine Etkileri

$\alpha$ -Çeşitliliği, bir örnek içindeki tür zenginliğini (toplam tür sayısı) ve/veya düzgünlüğü (türler arası bolluk dağılımı) belirlemek için kullanılan bir hesaplama

yöntemidir (Chong ve ark., 2020). Mikrobiyota örneklerindeki  $\alpha$ -çeşitliliğini belirlemek için günümüzde farklı  $\alpha$ -çeşitlilik indeksleri geliştirilmiştir. En yaygın kullanılan iki indeks Shannon ve Invsimpson indeksleridir (Chong ve ark., 2020; Tuncil ve ark., 2019; Schloss ve ark., 2009), bu indeksler hem tür hem de tür zenginliği ve düzgünlüğü dikkate alarak  $\alpha$ -çeşitlilik indeksini hesaplamaktadırlar (Chong ve ark., 2020; Tuncil ve ark., 2019). Yüksek Shannon ve Invsimpson değerleri, bir toplulukta çok sayıda türün tespit edildiğini ve bu türlerin bolluğunun benzer olduğunu göstermektedir (Tuncil ve ark., 2019).

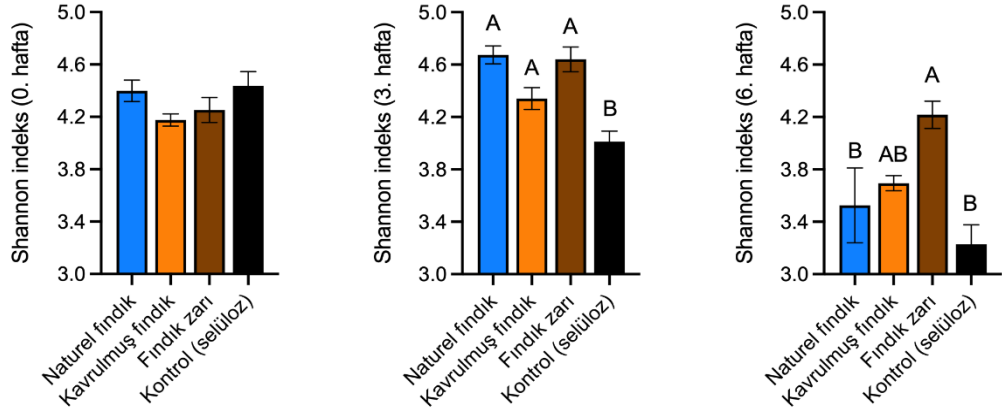
0., 3. ve 6. haftalardaki deney ve kontrol gruplarının Shannon indeks değerleri Şekil 4.8'de verilmiştir. Besleme sürecinin başlangıcında dişi ve erkek fare grupları kendi aralarında kıyaslandığında, Shannon indeks değerleri arasında istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Bu durum başlangıçta, grupların kalın bağırsak mikrobiyotası  $\alpha$ -çeşitliliklerinin birbirine benzer olduğunu göstermektedir. Öte yandan, ilerleyen besleme döneminde ise Shannon indeks değerlerinin değiştiği gözlemlenmiştir. Spesifik olarak, dişi fare grupları dikkate alındığında, deney grubunun besleme periyodunun 3. haftasında, kontrole kıyasla, istatistiksel olarak daha yüksek Shannon indeks değerine sahip olduğu bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Bu sonuç, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, fındık diyet liflerinin (naturel, kavrulmuş ve zar), dişi farelerin kalın bağırsağında daha fazla mikrobiyal türün gelişimini teşvik ettiği ve bu türlerin bolluğunun birbirlerine yakın olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, fındık diyet liflerinin dişi bireylerin kalın bağırsak mikrobiyotası için faydalı olduğunu göstermektedir, çünkü önceki çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasındaki mikrobiyal çeşitliliğin yüksek olmasının, bağırsak ve genel sağlık açısından sonuçlar olumlu olduğunu belirtmişlerdir (Manor ve ark., 2020; Valdes ve ark., 2018; Lazupone ve ark., 2012). Ancak üçüncü haftada naturel ve kavrulmuş fındık gruplarında gözlenen yüksek Shannon İndeksi değerlerinin sürdürülmediği, altıncı haftada ise iki grubun Shannon indeksi değerlerinin düştüğü ve kontrol grubu ile benzer sonuçları olduğu gözlemlendi (Şekil 4.8a).

Erkek fareler göz önüne alındığında, naturel fındık, fındık zarı grubu ve kontrol grubunun üçüncü haftadaki Shannon indeks değerleri istatistiksel olarak farklı olmamakla birlikte, kavrulmuş grubunun Shannon değeri diğer gruplara göre daha düşüktür (Şekil 4.8b). Bu durum, kavurma işleminin, fındık diyet liflerinin kolonik

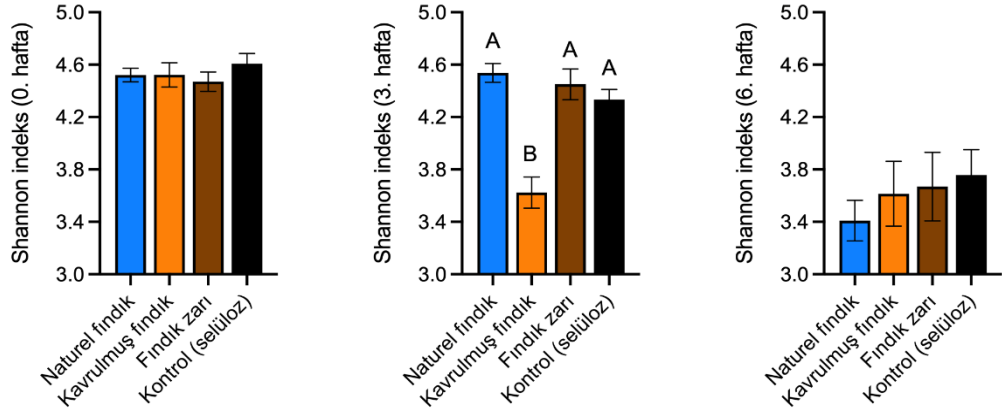
mikrobiyota fonksiyonel özellikleri üzerinde, olumsuz bir etkisi olduğunu göstermektedir. Öte yandan, besleme sürecinin sonunda naturel fındık, fındık zarı ve kontrol gruplarının Shannon indeks değerlerinde, azalma görülmüş ve hiçbir grubun Shannon değeri arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ).

Deney grubu ve kontrol grubunun  $\alpha$ -çeşitliliğini belirlemek için Shannon indeksine ek olarak Invsimpson indeksi de 0., 3. ve 6. haftalarda hesaplanmıştır ve Invsimpson değerinin genel olarak Shannon sonuç indeks değerine benzer olduğu görülmüştür (Şekil 4.9).

a)

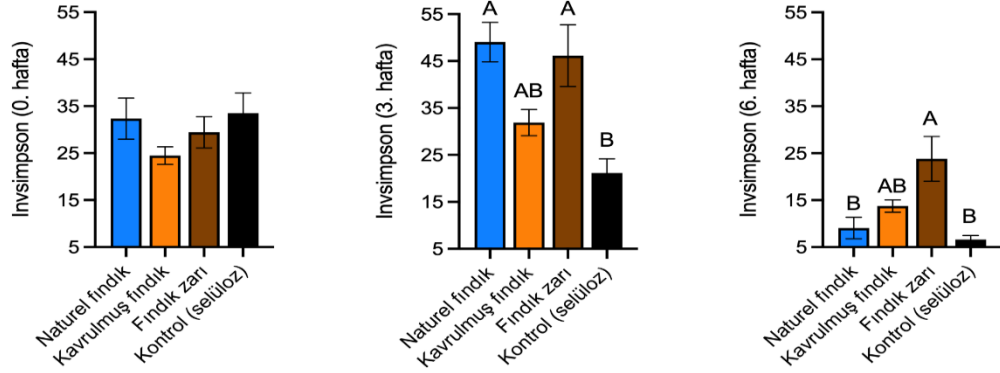


b)

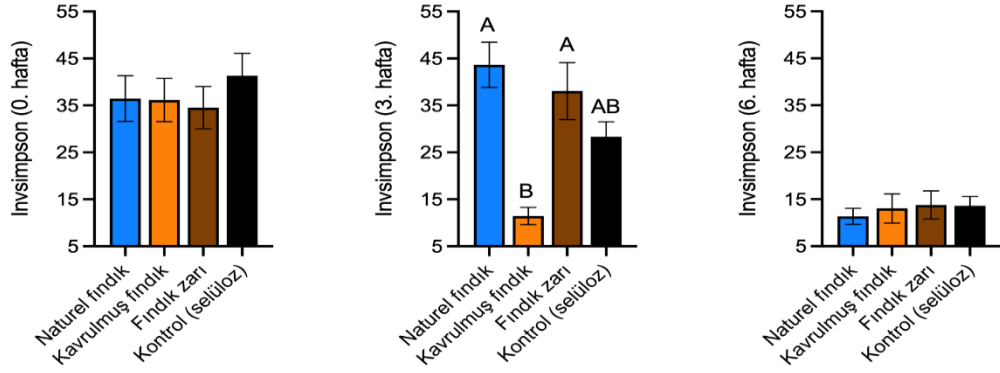


**Şekil 4.8** Beslenme süreci boyunca mikrobiyota topluluklarının  $\alpha$ -çeşitliliğinde (Shannon indeks değerinde) meydana gelen değişiklikler. a) Dişi fare grupları, b) erkek fare grupları. \* Hata çubukları, standart hatayı belirtmektedir. \*\* Her bir bileşenin haftalık ortalama değerleri gruplar arasında karşılaştırılmış olup, gruplar arasında istatistiksel farklılık olmayan haftalarda harflendirme yapılmamıştır ( $\alpha=0.05$ ).

a)



b)



**Şekil 4.9** Beslenme süreci boyunca mikrobiyota topluluklarının  $\alpha$ -çeşitliliğinde (Invsimpson indeksi değeri) meydana gelen değişiklikler. a) Dişi fare grupları, b) erkek fare grupları. \* Hata çubukları, standart hatayı belirtmektedir. \*\* Her bir bileşenin haftalık ortalama değerleri gruplar arasında karşılaştırılmış olup, gruplar arasında istatistiksel farklılık olmayan haftalarda harflendirme yapılmamıştır ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.4.3 Fındık ve Fındık Zarı Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyota Kompozisyonu (OTU bazında) Üzerine Etkileri

Besleme periyodununun 0., 3. ve 6. haftalarında toplanan dışkı örneklerinden ekstrakte edilen DNA'ların yeni nesil dizileme yöntemleri ile sekanslanması sonucu, deney ve kontrol gruplarının kolonik mikroflora kompozisyonları belirlenmiştir. Dişi ve erkek grupların kalın bağırsağında tespit edilmiş olan en yüksek 50 OTU'nun nispi bollukları sırasıyla Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'deki ısı haritalarında (heat map) gösterilmiştir.

Besleme sürecinin sonu (altıncı hafta) dikkate alındığında, en yüksek nispi bolluğa sahip 50 OTU, dişi ve erkek fare gruplarında kolonik mikroorganizmalarında

tespit edilen toplam OTU sayısının %67-79'unu oluşturduğu gözlemlenmiştir. Isı haritaları incelendiğinde, farklı diyet lifi uygulamalarının deney ve kontrol farelerinin kolonik mikrobiyal topluluk kompozisyonunu farklı şekillerde etkilediği görülebilir (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11). Deney ve kontrol grubu diyet liflerinin kolonik mikroflora üzerine olan etkilerini daha iyi görebilmek için, nispi bollukları besleme süreci içerisinde en çok değişen ilk 6 OTU'nun verileri, istatistiksel analizlerle beraber Çizelge 4.4 (dişi gruplar) ve Çizelge 4.5 (erkek gruplar)'da verilmiştir.

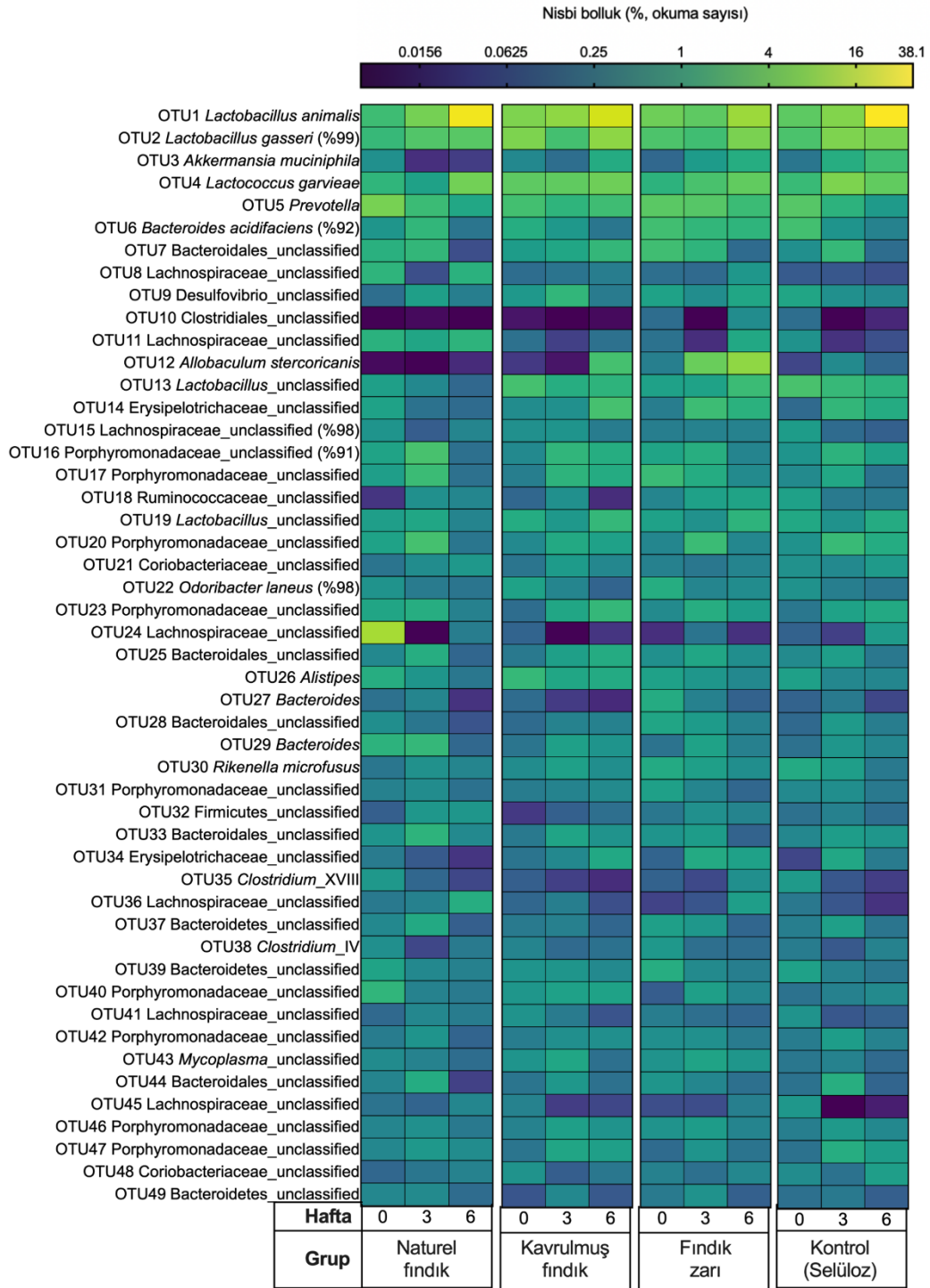
Dişi grubu göz önüne alındığında, kolon mikrobiyal bileşiminde en büyük değişime sahip bakteri grubunun OTU1 *Lactobacillus animalis* olduğu görülmektedir (Şekil 4.10) (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4** Dişi gruplarda tespit edilen en bol 6 OTU'nun nispi bolluklarının besleme süreci boyunca değişimi\*

<b>OTU1 <i>Lactobacillus animalis</i></b>				
<b>Hafta/Grup</b>	<b>Naturel Fındık</b>	<b>Kavrulmuş Fındık</b>	<b>Fındık Zarı</b>	<b>Kontrol (Selüloz)</b>
<b>0</b>	3.07 ± 0.83 Ab	8.98 ± 2.06 Ab	6.93 ± 2.23 Aa	5.76 ± 1.26 Ab
<b>3</b>	6.58 ± 0.88 Ab	9.85 ± 1.60 Ab	5.55 ± 1.41 Aa	10.99 ± 3.07 Ab
<b>6</b>	34.79 ± 4.24 Aa	22.34 ± 1.68 Ba	11.69 ± 1.72 Ca	38.96 ± 4.06 Aa
<b>OTU2 <i>Lactobacillus gasseri</i> (%99)</b>				
<b>0</b>	2.25 ± 0.29 Ba	8.64 ± 1.88 Aa	3.93 ± 0.78 Bb	3.40 ± 0.43 Bb
<b>3</b>	3.80 ± 0.48 Ba	3.40 ± 0.84 Bb	3.11 ± 0.70 Bb	7.79 ± 1.24 Aa
<b>6</b>	4.51 ± 0.84 Ba	9.02 ± 0.88 Aa	7.10 ± 0.83 ABa	7.22 ± 1.33 ABa
<b>OTU3 <i>Akkermansia muciniphila</i></b>				
<b>0</b>	0.85 ± 0.19 Aa	1.59 ± 0.73 Aab	0.18 ± 0.08 Aa	0.41 ± 0.14 Ab
<b>3</b>	0.02 ± 0.01 Ba	0.15 ± 0.05 Bb	1.38 ± 0.58 ABa	2.56 ± 1.07 Aa
<b>6</b>	0.05 ± 0.03 Ba	2.36 ± 0.87 Aa	1.50 ± 0.26 ABa	2.81 ± 0.54 Aa
<b>OTU4 <i>Lactococcus garvieae</i></b>				
<b>0</b>	1.96 ± 0.26 Bb	5.74 ± 1.59 Aa	2.42 ± 0.63 Aba	2.84 ± 0.79 Abb
<b>3</b>	0.95 ± 0.13 Cb	4.90 ± 0.74 ABa	3.29 ± 0.38 BCa	7.70 ± 1.38 Aa
<b>6</b>	7.00 ± 1.65 Aa	5.68 ± 0.29 Aa	5.29 ± 1.02 Aa	5.03 ± 0.76 Aab
<b>OTU5 <i>Prevotella</i></b>				
<b>0</b>	7.00 ± 0.94 Aa	3.97 ± 1.29 Aa	6.66 ± 2.10 Aa	6.88 ± 2.52 Aa
<b>3</b>	3.28 ± 1.38 Aab	2.97 ± 1.37 Aa	4.11 ± 0.56 Aa	2.04 ± 0.52 Ab
<b>6</b>	2.02 ± 0.71 Ab	3.21 ± 0.95 Aa	2.83 ± 0.76 Aa	0.82 ± 0.15 Ab
<b>OTU6 <i>Bacteroides acidifaciens</i> (%92)</b>				
<b>0</b>	0.78 ± 0.18 Ba	3.01 ± 1.24 ABa	2.88 ± 0.39 ABa	3.93 ± 1.19 Aa
<b>3</b>	2.55 ± 0.88 Aa	1.30 ± 0.63 Aab	2.64 ± 1.00 Aa	0.78 ± 0.27 Ab
<b>6</b>	0.48 ± 0.21 Aa	0.20 ± 0.03 Ab	2.12 ± 0.45 Aa	0.39 ± 0.11 Ab

\* Değerler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Herbir hafta içerisinde gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar büyük harflerle, her bir grubun haftalar arasındaki istatistiksel farklılıkları ise küçük harflerle gösterilmiş olup, aynı harfi içeren ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $\alpha=0.05$ )





Şekil 4.10 Besleme süreci boyunca dişi gruplarda tespit edilen en bol 50 OTU'nun nisbi bolluklarındaki değişim

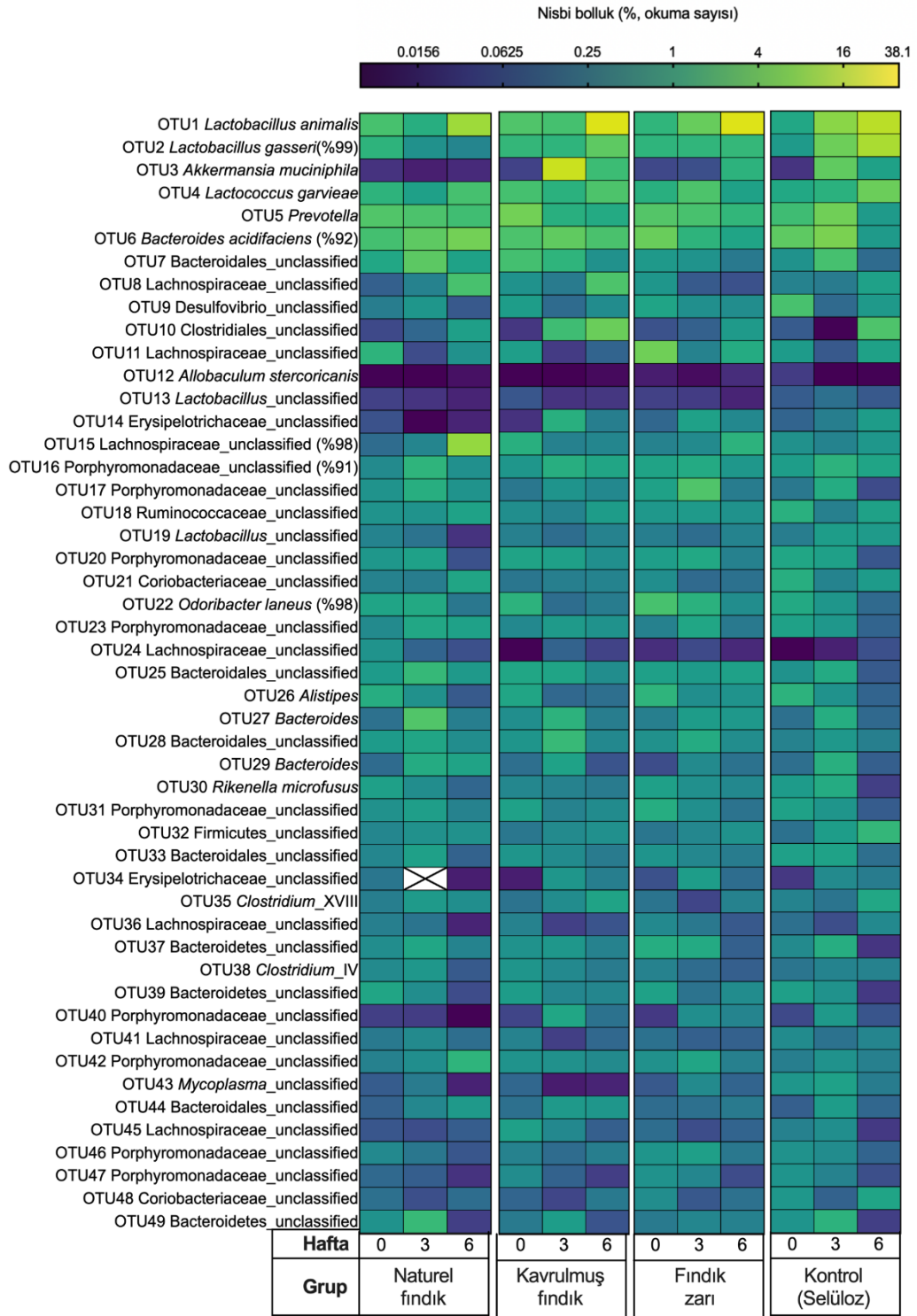
Son zamanlarda yapılmış olan bir çalışmada *Lactobacillus animalis*'in patojen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği ve fare serum örneklerinde immünoglobulin G (IgG), immünoglobulin M (IgM) ve interlökin-2 (IL-2) sitokinlerini artırdığı gözlenmiştir (Jia ve ark., 2021). Bu nedenle probiyotik potansiyeli olan bir bakteri türü olarak görülmektedir (Jia ve ark., 2021). Besleme periyodunun sonu dikkate alındığında, OTU1 *L. animalis*'in nispi bolluğu naturel findık (%34.79) ve kontrol (%38.96) gruplarında en yüksek olup, bunu kavrulmuş findık (%22.34) ve findık zarı (%11.69) izlemektedir (Çizelge 4.4). Besleme periyodunun başlangıcı ve bitişi dikkate alındığında, naturel findık grubunda OTU1 *L. animalis* nispi bolluğu 11.3 kat, kavrulmuş findık grubunda 2.5 kat, findık zarı grubunda 1.7 kat ve kontrol grubunda 6.8 kat artış göstermiştir. Bu veriler, diğer gruplarla karşılaştırıldığında, naturel findık diyet liflerinin, dişi farelerin kolonunda potansiyel probiyotik olan *Lactobacillus animalis*'in (OTU1) nispi bolluğundaki artışı en fazla destekleyen diyet grubu olduğunu göstermektedir. Öte yandan, kavurma işleminin *L. animalis*'in gelişimini teşvik etmede findık diyet liflerinin fonksiyonel özellikleri üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır, çünkü besleme süresinin sonunda naturel findık diyet lifleri *L. Animalis* nispi bolluğunu 11.3 kat artırırken, kavrulmuş findık *L. animalis*'in nispi bolluğunu sadece 2.5 kat artırmıştır. Benzer şekilde, besleme sonunda naturel findık grubundaki *L. animalis*'in nispi bolluğu, kavrulmuş findık grubuna göre, istatistiksel olarak daha yüksektir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.4). Benzer şekilde, erkek grupların kalın bağırsak mikrobiyal kompozisyonunda en fazla değişiklik gösteren bakteri grubunun OTU1 *L. animalis* olduğu tespit edilmiştir, ancak, dişi gruplara kıyasla, bu etkinin gruplar arasında daha farklı sonuçlar doğurduğu görülmektedir. Örneğin, besleme döneminin sonu göz önüne alındığında, erkek gruplarında, OTU1 *L. animalis*'in findık zarı (%27.81) ve kavrulmuş findık gruplarında (%27.30) en yüksek nispi bolluğa sahip olduğu, bunları kontrol (%15.31) ve naturel findık (%12.05) gruplarının takip ettiği görülmektedir. Besleme periyodunun başlangıcı ve bitişi dikkate alındığında, OTU1 *L. animalis*'in nispi bolluğu naturel findık grubunda 2.5 kat, kavrulmuş findık grubunda 6.4 kat, findık zarı grubunda 10.9 kat ve kontrol grubunda 8.55 kat artmıştır. Bu veriler, findık diyet liflerinin erkek ve dişi bireylerde *Lactobacillus animalis* nispi yoğunluğu üzerinde farklı etkileri olduğunu göstermektedir.

OTU2 *Lactobacillus gasseri* besleme süreci boyunca nispi bolluğunda değişim gösteren başka bir bakteri grubudur. Son yıllarda yapılan araştırmalar bu bakterinin antioksidan ve kolesterol düşürücü etkileri olduğunu,  $\alpha$ -glukosidaz aktivitesini inhibe ettiğini ve TNF- $\alpha$ , IL-6'nın IL-1 $\beta$ 'nin IL-1 $\beta$ ' ve IL-10 gibi inflamasyonu düzenleyen sitokinlerin salınımını engelleyerek bir anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. (Oh ve ark., 2018). Ayrıca Olivares ve ark., (2006), tarafından yapılan bir çalışmada *L. gasseri* bakterisi tüketiminin sağlıklı bireylerin bağışıklık sistemini iyileştirebileceği gözlenmiştir. Bu sebeplerden dolayı, *L. gasseri* probiyotik bir bakteri olarak kabul edilmektedir (Sell ve Klaenhammer, 2013). Dişi fare grupları dikkate alındığında, besleme periyodu sonunda, OTU2 *L. gasseri*'nin nispi bolluğu kavrulmuş fındık grubunda en yüksek (%9.02) olmuş, bunu kontrol (%7.22), fındık zarı (%7.10) ve naturel fındık (%4.51) grupları izlemiş olup, istatistiksel fark sadece naturel ve kavrulmuş fındık grupları arasında bulunmuştur (Çizelge 4.4). Besleme periyodunun başlangıcı ve bitişi dikkate alındığında, OTU2 *L. gasseri*'nin nispi bolluğundaki istatistiksel değişim sadece fındık zarı grubu ve kontrol grubunda ölçülürken ( $P < 0.05$ ), *L. gasseri*'nin nispi bolluk değişiklikleri naturel ve kavrulmuş gruplarında besleme periyodu boyunca istatistiksel bir değişiklik göstermemiştir ( $P > 0.05$ ). *L. gasseri* nispi bolluğunun naturel fındık grubunda 11.3 kat, kavrulmuş fındık grubunda 2.5 kat, fındık zarı grubunda 1.7 kat ve kontrol grubunda 6.8 kat arttığı gözlenmiştir. Erkek fare grupları göz önüne alındığında, besleme periyodunun sonunda (altıncı hafta) kontrol grubunda (%13.76) *L. gasseri*'nin nispi bolluğunun en yüksek olduğu görülmüş ve deney gruplarının kendi aralarında istatistiksel olarak benzer ve kontrol grubundan daha düşük nispi bolluk içerdiği görülmüştür ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.5). Bu veriler, fındık diyet liflerinin erkek ve dişi gruplarda *L. gasseri*'nin nispi yoğunluğu üzerinde farklı etkileri olduğunu göstermektedir. Ayrıca kavurma prosesinin *L. gasseri*'nin nispi bolluğu üzerinde farklı etkileri olduğu görülmektedir.

Besleme süreci boyunca nispi bolluğunda değişim gözlemlenen bir başka bakteri grubu ise OTU3 *Akkermansia muciniphila*'dır (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). *A. muciniphila*, kolonda bulunan ve müsini parçalama kabiliyetinde olan önemli bir bakteri türüdür (Desai ve ark., 2016). Son yıllarda yapılan araştırmalar, kalın bağırsaktaki *A. muciniphila* sayısı ile insan sağlığı arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir (Bu ve ark., 2020; Derrien ve ark., 2017; Dao ve ark., 2016).

Örneğin, sağlıklı insanlarla karşılaştırıldığında, inflamatuvar bağırsak hastalığı olan kişilerin kalın bağırsaklarında daha düşük oranda *A. muciniphila* bakterileri bulunmuştur (Derrien ve ark., 2017). Ayrıca Dao ve ark., (2016) tarafından yapılan bir klinik çalışmada aşırı kilolu ve obez kişilerin kalın bağırsağında bulunan *A. muciniphila* sayısı ile metabolik sağlık parametreleri arasında doğrusal bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Depommier ve ark., (2019) tarafından yürütülen başka bir klinik çalışmada, aşırı kilolu ve obez kişilerin diyetleri ile birlikte *A. muciniphila* takviyesinin karaciğer ve iltihabi hastalıklara bağlı kan değerlerini düşürebildiği ve genel olarak metabolik sağlık durumunu iyileştirebildiği gösterilmiştir. *A. Muciniphila*'nın sağlık üzerindeki bu olumlu etkilerinden dolayı bazı araştırmacılar bu bakterinin gelecekte probiyotik bir mikroorganizma olarak kabul göreceğini düşünmektedirler (Zhai ve ark., 2019). Dişi ve erkek fare grupları genel olarak incelendiğinde, gruplardaki *A. muciniphila* nispi bolluğunun, besleme süreci boyunca (haftalar arasında), özellikle kontrol ve kavrulmuş fındık gruplarında, bir dalgalanma gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). Bunun nedeni, *A. muciniphila*'nın hem mürsini hem de diyet liflerini kolayca fermente edebilme kabiliyetinden kaynaklanmış olabilir. Desai ve ark., (2016), çalışmalarında, diyet lifi açısından zengin ve fakir diyetlerin tüketiminin, farelerin kalın bağırsağında sadece 24 saat içinde *A. muciniphila*'nın sayısını değiştirebileceğini göstermiştir.

Dişi fareler dikkate alındığında, naturel fındık ve fındık zarı gruplarında OTU3 *A. muciniphila*'nın nispi bolluğunun besleme süresi boyunca istatistiksel olarak değişmediği gözlemlenmiştir ( $P>0.05$ ) (Çizelge 4.4). Öte yandan, başlangıç ile karşılaştırıldığında, kavrulmuş fındık grubu ve kontrol grubunda OTU3 *A. muciniphila*'nın nispi bolluğu, besleme süresinin sonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ( $P<0.05$ ). Besleme sürecinin sonunda, OTU3 *A. muciniphila*'nın nispi bolluğunun kavrulmuş fındık grubunda ve kontrol grubunda, besleme döneminin başlangıcına kıyasla, sırasıyla 1.5 ve 6.9 kat arttığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4). Erkek fare gruplarında da da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.11).



Şekil 4.11 Besleme süreci boyunca erkek gruplarda tespit edilen en bol 50 OTU'nun nispi bolluklarındaki değişim

İlk 6 OTU'nun nispi bolluklarının değişimi ayrıca Çizelge 4.5'de istatistik hesaplamaları ile verilmiştir.

**Çizelge 4.5** Erkek gruplarda tespit edilen en bol 6 OTU'nun nispi bolluklarının besleme süreci boyunca değişimi\*

<b>OTU1 <i>Lactobacillus animalis</i></b>				
<b>Hafta/Grup</b>	<b>Naturel Fındık</b>	<b>Kavrulmuş Fındık</b>	<b>Fındık Zarı</b>	<b>Kontrol (Selüloz)</b>
<b>0</b>	4.79 ± 2.13 Aa	4.29 ± 1.13 Ab	2.55 ± 0.74 Ab	1.79 ± 0.65 Ab
<b>3</b>	1.77 ± 0.48 Aa	11.56 ± 6.31 Ab	6.60 ± 2.06 Ab	8.75 ± 2.11 Aab
<b>6</b>	12.05 ± 1.98 Ba	27.30 ± 5.26 Aa	27.81 ± 6.01 Aa	15.31 ± 2.56 Ba
<b>OTU2 <i>Lactobacillus gasseri</i> (%99)</b>				
<b>0</b>	2.75 ± 0.95 Aa	2.96 ± 1.28 Aa	2.45 ± 0.54 Aa	2.13 ± 0.99 Ab
<b>3</b>	0.97 ± 0.40 Aa	2.30 ± 0.74 Aa	2.06 ± 0.32 Aa	5.77 ± 1.35 Ab
<b>6</b>	0.45 ± 0.14 Ba	5.43 ± 1.46 Ba	2.61 ± 0.69 Ba	13.76 ± 3.52 Aa
<b>OTU3 <i>Akkermansia muciniphila</i></b>				
<b>0</b>	0.02 ± 0.01 Aa	0.04 ± 0.02 Ab	0.08 ± 0.04 Aa	0.02 ± 0.01 Ab
<b>3</b>	0.01 ± 0.00 Ca	21.48 ± 3.50 Aa	0.08 ± 0.04 Ca	6.72 ± 2.36 Ba
<b>6</b>	0.02 ± 0.01 Aa	3.19 ± 0.83 Ab	2.95 ± 0.71 Aa	1.28 ± 0.53 Ab
<b>OTU4 <i>Lactococcus garvieae</i></b>				
<b>0</b>	2.02 ± 0.50 Aab	3.43 ± 1.00 Aa	7.42 ± 1.85 Aa	3.99 ± 1.00 Ab
<b>3</b>	0.01 ± 0.00 Bb	2.18 ± 0.74 Aba	4.09 ± 1.00 Aab	1.76 ± 0.42 ABb
<b>6</b>	4.40 ± 1.73 Aa	3.46 ± 0.37 Aba	1.07 ± 0.22 Bb	5.11 ± 0.61 Aa
<b>OTU5 <i>Prevotella</i></b>				
<b>0</b>	7.74 ± 2.76 Aa	7.42 ± 1.85 Aa	4.44 ± 0.95 Aa	4.15 ± 1.65 Aab
<b>3</b>	3.52 ± 0.57 Aa	2.05 ± 0.55 Ab	4.35 ± 1.33 Aa	5.91 ± 1.21 Aa
<b>6</b>	3.55 ± 0.99 Aa	1.79 ± 0.74 Ab	2.78 ± 0.88 Aa	0.86 ± 0.32 Ab
<b>OTU6 <i>Bacteroides acidifaciens</i> (%92)</b>				
<b>0</b>	3.02 ± 0.41 Ab	3.99 ± 1.00 Aa	6.15 ± 1.20 Aa	5.91 ± 2.19 Aa
<b>3</b>	5.32 ± 1.25 Aab	5.01 ± 0.69 Aa	2.30 ± 0.72 Ab	6.24 ± 0.60 Aa
<b>6</b>	7.05 ± 1.33 Aa	4.50 ± 1.36 Aba	1.86 ± 0.63 Bb	1.14 ± 0.36 Bb

\* Değerler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Herbir hafta içerisinde gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar büyük harflerle, her bir grubun haftalar arasındaki istatistiksel farklılıkları ise küçük harflerle gösterilmiş olup, aynı harfi içeren ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $\alpha=0.05$ ).

İlginç bir şekilde, örneklerde önemli nispi bollukta OTU4 *Lactococcus garvieae* tespit edilmiştir (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Çizelge 4.4 ve 4.5). *L. garvieae*, nadir görülen patojenik (fırsatçı patojen) bir bakteridir (Wang ve ark., 2007). Farklı diyet uygulamalarının, bu patojen bakterinin kalın bağırsaktaki nispi bolluğu üzerine farklı etkiler yaptığı gözlemlenmiştir. Dişi fare grupları için, başlangıç ile karşılaştırıldığında, naturel fındık grubundaki OTU4 *L. garvieae* nispi bolluğu, beslemenin sonunda istatistiksel olarak artış göstermiştir ( $P<0.05$ ), ancak diğer gruplarda önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Besleme döneminin sonunda dişi gruplar arasında OTU4 *L. garvieae* nispi bolluğunda önemli bir fark gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Erkek fareler dikkate alındığında, başlangıca kıyasla, naturel ve kavrulmuş fındık gruplarında OTU4 *L. garvieae* nispi bolluğunda, besleme

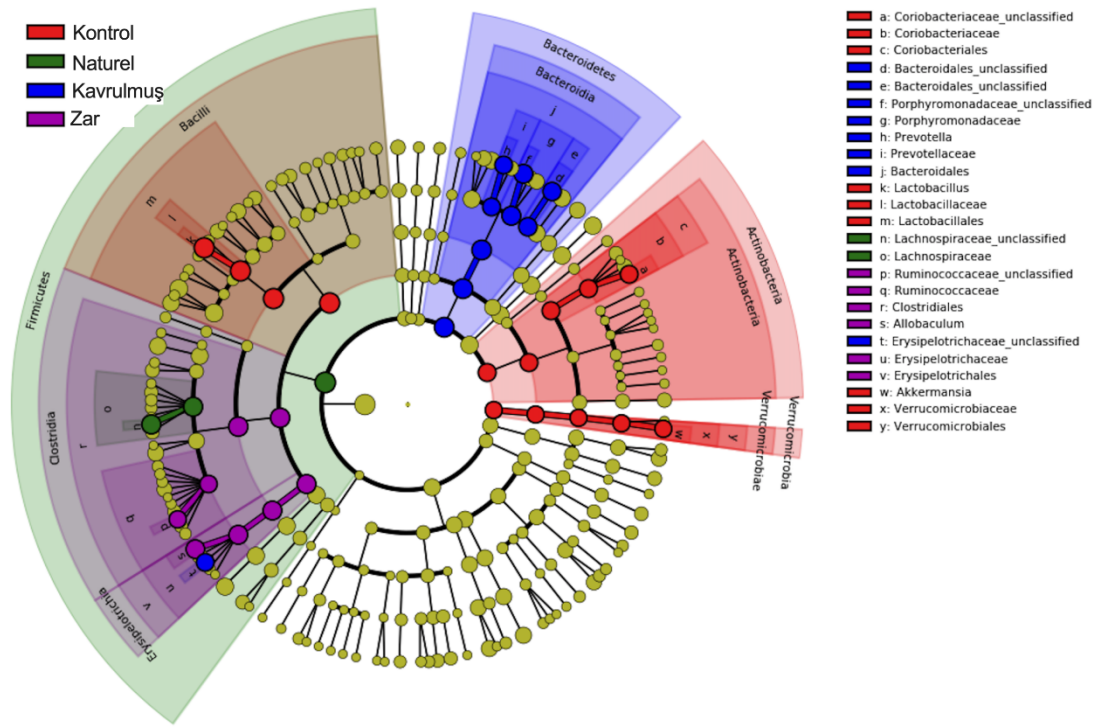
periyodunun sonunda herhangi bir istatistiksel değişiklik gözlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Diğer taraftan, aynı besleme dönemleri dikkate alındığında, ilgili OTU'nun fındık zarı grubundaki nispi bolluğu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış ( $P<0.05$ ), kontrol grubunda ise anlamlı düzeyde artmıştır ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.10). Besleme süreci sonunda ise erkek fındık zarı grubunun diğer erkek gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük nispi bollukta OTU4 *L. garvieae* içerdiği tespit edilmiş olup ( $P<0.05$ ), diğer gruplararası istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ) (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.11).

Herbir grubun kalın bağırsağında tespit edilen önemli nispi bolluğa sahip başka bir bakteri grubu ise OTU5 *Prevotella*'dır. *Prevotella* spp., insan kalın bağırsağında bulunan önemli bir topluluktur. Bu bakteri grubunun üyeleri yüksek diyet lifi fermantasyon kabiliyetine sahiptir ve genellikle diyet lifi fermantasyonu sonucunda propiyonat üretirler (Tuncil ve ark., 2017). Besleme periyodunun başlangıcında, grupların kalın bağırsağında yüksek nispi bollukta (%4-7) *Prevotella* tespit edilmiştir (Şekil 4.10, Şekil 4.11, Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). Ancak besleme sürecinin ilerleyen aşamalarında OTU5 *Prevotella* spp. nispi bolluğunun cinsiyete ve diyet tipine göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Örneğin dişi fareler göz önüne alındığında, naturel fındık grubu ve kontrol grubundaki OTU5 *Prevotella* spp. nispi bolluğunun, besleme süresi ilerledikçe önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir ( $P<0.05$ ). Öte yandan, kavrulmuş fındık ve fındık zarı gruplarında OTU5 *Prevotella* spp. nispi bolluğu besleme süreci boyunca önemli ölçüde değişmemiştir ( $P>0.05$ ). Besleme süresinin sonunda (altıncı hafta), dişi deney grubundaki OTU5 *Prevotella* spp. nispi bolluğunun, kontrolle karşılaştırıldığında, 2.5-3.9 kat daha yüksek olduğu görülmüştür, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $P>0.05$ ). Erkek fareler dikkate alındığında, kavrulmuş fındık grubu ve kontrol grubunda OTU5 *Prevotella*'nın nispi bolluğunun besleme süresi ile önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir ( $P<0.05$ ). Öte yandan, naturel fındık ve fındık zarı gruplarında OTU5 *Prevotella* spp. nispi bolluğunun besleme sürecinin ilerlemesi ile önemli ölçüde değişmediği gözlenmiştir ( $P>0.05$ ). Besleme periyodu sonunda (6 hafta), erkek naturel ve kavrulmuş fındık gruplarında OTU5 *Prevotella*'nın nispi bolluğu kontrole göre 4.1 ve 2.1 kat daha fazla olarak ortaya çıkmıştır, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

Kalın bağırsaktaki bir diğer önemli bakteri türü, diyet lifini fermente etme kabiliyeti çok yüksek olan *Bacteroides* türüdür (Koropatkin ve ark., 2012). OTU6 *Bacteroides acidifaciens*'in nispi bolluğu, deney grubu ve kontrol grubunun kalın bağırsağında yüksek nispi bollukta tespit edilmiştir. Erkek ve dişi gruplar birlikte incelendiğinde, kontrol grubu farelerin kalın bağırsağında OTU6 *B. acidifaciens* nispi bolluğunun ilerleyen besleme periyodunda önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. ( $P < 0.05$ ), ancak deney gruplarındaki (erkek fındık zarı grubu hariç) OTU6 *B. acidifaciens* nispi bolluğu önemli ölçüde değişmemiştir ( $P > 0.05$ ). Deney grubu farelerde OTU6 *B. acidifaciens* nispi yoğunluğunun besleme süreci boyunca değişmemesinin sebebi, diyetlerinde yer alan diyet liflerinin ilgili OTU'nun kalın bağırsakta aktivitesini koruyabilecek yeterli düzeyde enerji kaynağı sağlamasından kaynaklanmış olabilir. Öte yandan, kontrol grubu farelerinin diyetlerinde zor fermente edilebilir selülozun OTU6 *B. acidifaciens* için yeterli enerji sağlamaması, ilgili OTU'ların nispi yoğunluğunun zamanla azalmasına neden olmuş olabilir.

İlaveten, Huttenhower ve ekibi tarafından geliştirilmiş olan “doğrusal diskriminant analizi etki büyüklüğü (Linear discriminant analysis effect size – LEfSe)” hesaplama yöntemi kullanılarak, besleme süreci sonunda (altıncı hafta), gruplar arasındaki biyobelirteçler (biyomarkerlar) tespit edilmiştir [LEfSe, nispi bolluk verilerini kullanarak 2 veya daha fazla grup arasındaki biyobelirteçleri bulmak için verileri kullanan istatistiksel bir yöntemdir (Segata ve ark., 2011)].

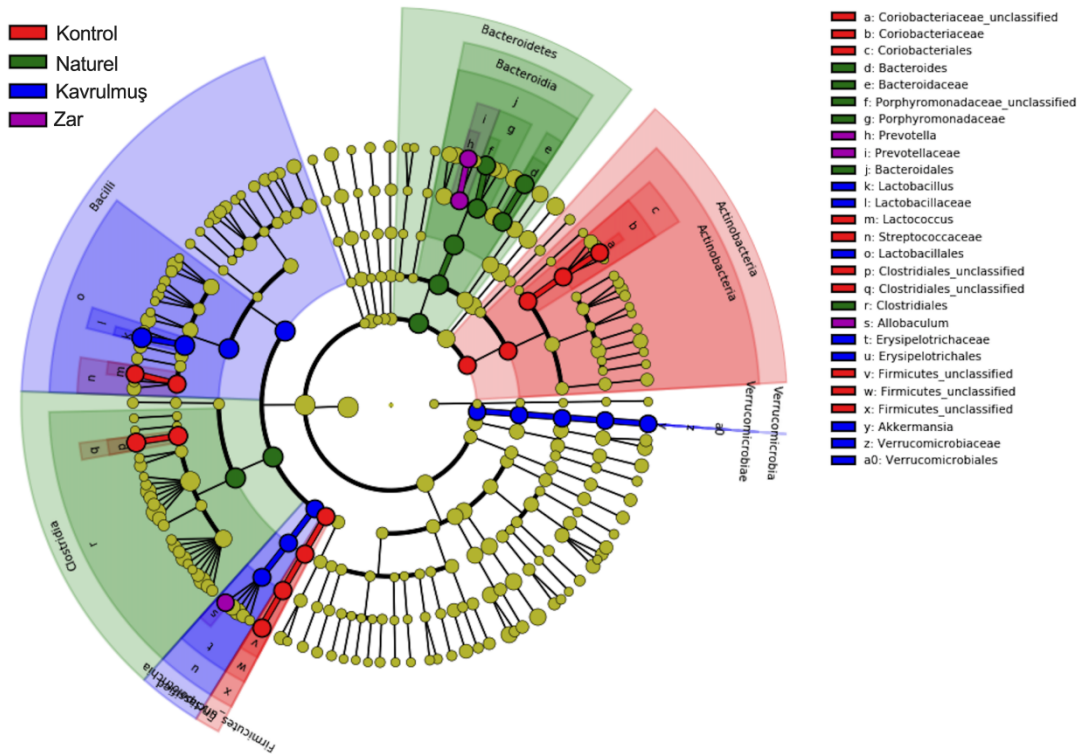




**Şekil 4.12** Besleme süreci sonunda (6. hafta) dişi fare gruplarında aşırı temsil edilen taksonları gösteren kladogram (LDA>4.0).

Dişi fareler dikkate alındığında, LEfSe analizinden elde edilen kladogram, Lachnospiraceae familyasının naturel fındık için bir biyobelirteç olduğunu, *Prevotella* cinsinin kavrulmuş fındığın bir biyobelirteçi olduğunu ve Ruminococcaceae familyasının fındık zarı grubunun bir biyobelirteci olduğunu, *Lactobacillus*'un kontrol grubunun bir biyobelirteci olduğunu göstermektedir (Şekil 4.12). Diğer bir deyişle, dişi fareler göz önüne alındığında, besleme periyodunun sonunda, naturel fındık grubu, Lachnospiraceae bakterilerinin büyümesini diğer deney ve kontrol gruplarına göre daha iyi teşvik edebilir; fındık zarı grubu Ruminococcaceae'a ait bakterilerin büyümesini daha iyi teşvik ettiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu sonuç, kısa zincirli yağ asitleri analiz sonuçlarıyla da tutarlıdır, çünkü Lachnospiraceae ve Ruminococcaceae familyalarına ait bakterilerin bütirojenik kapasiteleri olduğu bilinmektedir (Vital ve ark., 2014) ve naturel fındık ve fındık zarı gruplarında, besleme sürecinin sonunda diğer gruplara kıyasla, daha fazla bütirat nispi bolluğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4a). *Prevotella* cinsinin kavrulmuş fındık grubu için biyobelirteç olması, kavrulmuş fındık diyet liflerinin, diğer test edilmiş diyet liflerine kıyasla, dişi farelerin kalın bağırsağında *Prevotella* cinsine ait bakterilerin gelişimini daha fazla

teşvik ettiği anlamı çıkmaktadır. Bu sonuç da kısa zincirli yağ asitleri analiz sonuçları ile bağdaşmaktadır, çünkü daha önceki çalışmalarda *Prevotella* cinsi ile asetat arasında doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir (Tuncil ve ark., 2020) ve bu çalışmada da kavrulmuş fındık (dişi) grubunun, diğer deney gruplarına kıyasla, daha fazla nispi bollukta asetat oluşumu sağladığı bulunmuştur (Şekil 4.4a). Aynı şekilde, *Lactobacillus* cinsinin kontrol grubu için biyobelirteç olması, selülozun, diğer test edilmiş diyet liflerine kıyasla, dişi farelerin kalın bağırsağında *Lactobacillus* cinsine ait bakterilerin gelişimini daha fazla teşvik ettiğinin göstergesidir. Bu sonuç kısa zincirli yağ asitleri analiz sonuçları ile uyumaktadır, çünkü *Lactobacillus* türlerine ait olan bakterilerin kalın bağırsakta laktik asit oluşumunu teşvik ettiği (Pham ve ark., 2019) ve laktik asitinde anaerobik şartlar altında bazı *Lactobacillus* türleri tarafından asetata dönüştürüldüğü bildirilmiştir (Elferink ve ark., 2001) ve bu çalışmada da, kontrol (dişi) grubunun, kavrulmuş fındık grubu ile aynı nispi bollukta ancak diğer gruplardan ise istatistiksel olarak daha fazla nispi bollukta asetat üretimi sağladığı belirlenmiştir (Şekil 4.4a).



Şekil 4.13 Besleme süreci sonunda (6. hafta) erkek fare gruplarında aşırı temsil edilen taksonları gösteren kladogram (LDA>4.0)

Öte yandan, erkek fareler dikkate alındığında, LEfSe analizi sonucu elde edilen kladogram, *Bacteroides*'in naturel fındık grubu için, *Lactobacillus*'un kavrulmuş fındık grubu için, *Prevotella*'nın fındık zarı grubu için ve *Lactococcus* cinsinin de kontrol grubu için bir biyobelirteç olduğunu göstermiştir (Şekil 4.13). Bu sonuçlar, kısa zincirli yağ asitlerinin analizi ile tutarlı görülmektedir, çünkü erkek farelerden oluşan deney grubunun, kontrol grubuna kıyasla benzer ancak istatistiksel olarak daha yüksek nispi bolluk asetat ürettiği bulunmuştur (Şekil 4.4b). Yukarıda bahsedildiği gibi, *Lactobacillus* ve *Prevotella* cinslerine ait bazı türlerin kalın bağırsakta asetat ürettiği bilinmektedir (Tuncil ve ark., 2020; Elferink ve ark., 2001). Benzer şekilde, bazı *Bacteroides* türlerinin kalın bağırsakta asetat ürettiği bildirilmektedir (Rios-Covian ve ark., 2017).

Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te verilen kladogramlar birlikte kontrol edildiğinde, farklı diyet lifi uygulamalarının cinsiyete göre değiştiği ve kolon mikrobiyotasını farklı şekillerde etkilediği sonucuna varılabilir. Başka bir deyişle, naturel, kavrulmuş fındık ile fındık zarı diyet liflerinin, kalın bağırsak mikrobiyal topluluk kompozisyonunu farklı şekillerde etkiler ve bu etkiler cinsiyete göre değişkenlik göstermektedir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının ilk aşamasında, fındık zarı, naturel ve kavrulmuş fındık ile suda çözünen ve suda çözünmeyen diyet lifleri ekstrakte edilmiş ve ekstraktın bileşimi ve yapısı karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, diğer dikotiledonlu bitkiler gibi, naturel ve kavrulmuş fındık suda çözünmeyen diyet liflerinin selüloz, pektik polisakkarit, ksiloglukan ve heteromannan polisakkaritlerinden oluştuğunu göstermektedir. Ancak, fındık suda çözünmeyen pektik polisakkaritlerin, ksiloglukan ve heteromannanların, diğer dikotiledon bitkilerdekilere göre, farklı bileşimsel ve yapısal özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, fındık pektik polisakkaritinin, diğer dikotiledonlu bitkilerden elde edilen pektinlere kıyasla, daha yüksek oranda dallanmış alan (tüylü bölge – hairy region) ve daha düşük oranda düz zincir (smooth region) içerdiği belirlenmiştir. Suda çözünmeyen fındık zarı diyet liflerinin önemli miktarda lignin (> %43) içerdiği, geri kalan kısmının ise, naturel ve kavrulmuş fındıklara benzer şekilde, selüloz, pektin polisakkaritleri, ksiloglukan ve heteromannan polisakkaritlerinden oluştuğu gözlemlenmiştir. Genel olarak, fındık zarı suda çözünmeyen diyet liflerinin (polisakkarit yapısındaki diyet lifleri) yapısal özelliklerinin, naturel ve kavrulmuş fındık suda çözünmeyen diyet lifleri ile yapısal olarak benzer olduğu gözlemlenmiştir. Öte yandan, analiz edilmiş olan fındıkların suda çözünen diyet liflerinin pektik polisakkaritler (%64-68), ksiloglukan (%13-18) ve mannan (%4-8) polisakkaritlerinden oluştuğu, bu polisakkaritlerin, suda çözünmeyenlerine kıyasla, farklı bileşimsel ve yapısal özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, Tunçil (2020) tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında, fındık diyet liflerinin bileşimi ve yapısal özelliklerinin hasat yılına bağlı olarak değişebileceği sonucuna varılmıştır. Örneğin Tunçil (2020) çalışmasında analiz edilmiş olan fındık örneklerindeki (hasat yılı 2017) suda çözünmeyen ksiloglukanların, bu çalışmada kullanılmış olan fındık örneklerinin (hasat yılı 2018) suda çözünmeyen ksiloglukanlarına kıyasla, daha fazla dallanmış yapıya sahip oldukları görülmektedir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, naturel ve kavrulmuş fındık ve fındık zarı diyet liflerinin kolonik mikrobiyota üzerindeki etkisini belirlemek için *in vivo* (fare) deneyleri yapılmıştır. Deney sonuçları, fındık diyet liflerinin farelerin kalın bağırsaklarındaki mikrobiyal metabolitlerin seviyesini ve mikrobiyota

kompozisyonunu farklı şekillerde ve cinsiyete bağlı bir şekilde etkilediğini göstermektedir. Örneğin, dişi farelerde, naturel ve kavrulmuş fındık ve fındık zarı diyet liflerinin bütirojenik etkiye sahip iken (kalın bağırsakta bütiratın nispi bolluğunu artırdığı), erkek farelerde bu diyet liflerinin asetojenik etkiye (kalın bağırsakta bütiratın nispi bolluğunda artışa neden olur) sahip olduğu bulunmuştur. Lineer diskriminant analizi etki büyüklüğü (LEfSe) analizi sonucunda, naturel ve kavrulmuş fındık ve fındık zarı diyet liflerinin kalın bağırsağın mikrobiyal bileşiminde farklı mikrobiyal grupların gelişimini desteklediği bulunmuştur. Örneğin dişi fareler göz önüne alındığında, naturel fındık diyet liflerinin Lachnospiraceae familyasına ait mikroorganizmaların gelişimini teşvik ettiği, kavrulmuş fındık diyet liflerinin *Prevotella*'nın gelişimini teşvik ettiği ve fındık zarı diyet liflerinin Ruminococcaceae familyasına ait bakteri üremesini teşvik ettiği gözlemlenmiştir. Lachnospiraceae ve Ruminococcaceae bakterileri ve *Prevotella* cinsinin mikroorganizmaları, genellikle kalın bağırsakta faydalı mikroorganizmalar olarak adlandırılır, çünkü bu mikroorganizmalar kolonda aktiviteleri sonucu, faydalı mikrobiyal metabolitler olan bütirat ve propiyonatı oluşturur. Öte yandan, erkek farelerde, LEfSe analizi, naturel fındık diyet liflerinin *Bacteroides spp.*, kavrulmuş fındık diyet liflerinin *Lactobacillus* ve fındık zarı diyet liflerinin *Prevotella* cinsine ait mikroorganizmaların gelişimini teşvik ettiğini göstermiştir. OTU düzeyine bakıldığında ise, fındık diyet liflerinin genellikle farelerin kalın bağırsağında probiyotik ve/veya probiyotik potansiyeli olan *Lactobacillus (L. animalis ve L. gasseri)* ve *A. muciniphila*'nın nispi bolluğunu artırdığı, ancak etki düzeylerinin diyet lifi (fındık) türü ile farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Özetle, bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, fındık diyet liflerinin kalın bağırsakta faydalı mikrobiyal metabolitlerin ve mikrobiyal türlerin nispi bolluğunu artırarak kalın bağırsak mikrobiyotasını modüle ettiğini göstermektedir. Fındık tüketiminin insan sağlığı üzerindeki etkisini belirleyen klinik çalışmalar, fındık tüketiminin oksidatif stresi azaltabileceğini ve kronik inflamasyon ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltabileceğini göstermiştir (Di Renzo ve ark., 2018; Perna ve ark., 2016; Orem ve ark., 2013). Fındığın sağlık üzerine olan bu olumlu etkilerinin içermiş oldukları yüksek miktardaki doymamış yağ asitlere ve antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşenlere atfedilmektedir (Di Renzo ve ark., 2018; Perna ve ark., 2016; Orem

ve ark., 2013). Fakat bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, fındık tüketiminin insan sağlığına olan bu olumlu etkilerine, fındık diyet liflerinin de katkıda bulunabileceğini göstermektedir, çünkü fındık diyet liflerinin kalın bağırsakta Ruminococcaceae ve Lachnospiraceae familyasına ait bakterileri ile *Prevotella* cinsinin mikroorganizmalarının gelişimini teşvik ettiği ve bu mikroorganizmaların anti-inflamatuar, antioksidan ve anti-kolesterol etkileri olduğu (veya anti-inflamatuar, antioksidan ve anti-kolesterol etkileri olan mikrobiyal metabolitlerin oluşumunu sağladığı) bilinmektedir. (Rinninella ve ark., 2019; Biddle ve ark., 2013). Sağlık üzerindeki bu olumlu etkilerin kesin nedenleri, gelecekte yapılacak kapsamlı klinik araştırmalarla belirlenmelidir.

Ayrıca, bu çalışmanın sonuçları, fındık zarı diyet liflerinin, naturel ve kavrulmuş fındık diyet lifleri gibi kolonik mikrobiyota üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum, fındığın kavurma işleminden sonra fındıklardan ayrılan bir yan ürün olan fındık zarının, fonksiyonel prebiyotik benzeri gıda bileşenlerinin üretiminde hammadde olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Gelecekteki araştırmalar, temel olarak prebiyotik potansiyellerini test etmek için fındık zarının diyet lifi bileşenlerinin saflaştırılmasına ve ardından gıda formülasyonları ve farmasötik uygulamalarda fonksiyonel bileşenler olarak kullanılabilme potansiyellerine odaklanmalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

- Aktaş, A. R., Öztürk, E., & Hatırlı, S. A. (2009). Dünya fındık piyasasında Türkiye'nin rolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi Vizyoner Dergisi*, 1(1), 36-54.
- Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2008). Compositional characteristics and health effects of hazelnut (*Corylus avellana* L.): an overview. *Tree Nuts*, 199-228.
- Alasalvar, C., & Shahidi, F. (Eds.). (2008). Tree nuts: composition, phytochemicals, and health effects. *CRC press*.
- Alasalvar, C., Karamac, M., Kosinska, A., Rybarczyk, A., Shahidi, F., & Amarowicz, R. (2009). Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4645-4650.
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Ohshima, T., Wanasundara, U., Yurttas, H. C., Liyanapathirana, C. M., & Rodrigues, F. B. (2003). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). 2. Lipid characteristics and oxidative stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(13), 3797-3805.
- Altundağ, N. (1989). Gıdalarda küfler ve mikotoksinler projesinde Tübitak-Fiskobirlik işbirliği çerçevesinde Fiskobirlik'te yapılan çalışmalar. Gıdalarda Küfler Ve Mikotoksinler Sempozyumu Tebliğleri, Tübitak-Mam ve Iso.
- American Association of Cereal Chemists. Approved Methods Committee. (2000). Approved methods of the American association of cereal chemists (Vol. 1). Amer Assn of Cereal Chemists. Aguirre, M., Eck, A., Koenen, M. E., Paul H.M. Savelkoul, Andries E. Budding, Venema K. 2016. 'Diet drives quick changes in the metabolic activity and composition of human gut microbiota in a validated in vitro gut model'. *Research in Microbiology*, 167, 114e125.
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis, R. H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., ... & Williams, C. L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition reviews*, 67(4), 188-205.
- Anil, M. (2007). Using of hazelnut testa as a source of dietary fiber in breadmaking. *Journal of Food Engineering*, 80(1), 61-67.
- Arranz, S., Cert, R., Pérez-Jim Arranz, S., Cert, R., Pérez-Jiménez, J., Cert, A., & Saura-Calixto, F. (2008). Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. *Food Chemistry*, 110(4), 985-990.
- Azcarate-Peril, M. A., Ritter, A. J., Savaiano, D., Monteagudo-Mera, A., Anderson, C., Magness, S. T., & Klaenhammer, T. R. (2017). Impact of short-chain galactooligosaccharides on the gut microbiome of lactose-intolerant individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(3), E367-E375.
- Bach Knudsen, K. E., Lærke, H. N., Hedemann, M. S., Nielsen, T. S., Ingerslev, A. K., Gundelund Nielsen, D. S., ... & Hermansen, K. (2018). Impact of diet-modulated butyrate production on intestinal barrier function and inflammation. *Nutrients*, 10(10), 1499.

- Backhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307(5717), 1915-1920.
- BALIK, H. İ., & Beyhan, N. (2020). Xenia and metaxenia affects bioactive compounds of hazelnut. *Turkish Journal of Food and Agriculture Sciences*, 2(2), 42-49.
- Balık, H. İ., Balık, K. S., Beyhan, N., & Erdoğan, V. (2016). Fındık çeşitleri. Trabzon Ticaret Borsası, Klasmat Matbaacılık.
- Balık, H., & Beyhan, N. (2014). Ordu'nun Ünye ilçesinde palaz fındık çeşidinin klon seleksiyonu. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(3), 179-185.
- Balkan, J., Hatipoğlu, A., Aykaç-Toker, G., & Uysal, M. (2003). Influence on hazelnut oil administration on peroxidation status of erythrocytes and apolipoprotein B 100-containing lipoproteins in rabbits fed on a high cholesterol diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(13), 3905-3909.
- Beukema, M., Faas, M. M., & de Vos, P. (2020). The effects of different dietary fiber pectin structures on the gastrointestinal immune barrier: impact via gut microbiota and direct effects on immune cells. *Experimental & Molecular Medicine*, 52(9), 1364-1376.
- Bindels, L. B., Delzenne, N. M., Cani, P. D., & Walter, J. (2015). Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(5), 303-310.
- Bishehsari, F., Engen, P. A., Preite, N. Z., Tuncil, Y. E., Naqib, A., Shaikh, M., ... & Keshavarzian, A. (2018). Dietary fiber treatment corrects the composition of gut microbiota, promotes SCFA production, and suppresses colon carcinogenesis. *Genes*, 9(2), 102.
- Blanco-Pérez, F., Steigerwald, H., Schülke, S., Vieths, S., Toda, M., & Scheurer, S. (2021). The dietary fiber pectin: Health benefits and potential for the treatment of allergies by modulation of gut microbiota. *Current Allergy and Asthma Reports*, 21(10), 1-19.
- Bonvehí, J. S., & Coll, F. V. (1993). Oil content, stability and fatty acid composition of the main varieties of Catalonian hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Food Chemistry*, 48(3), 237-241.
- Bray, J. R., & Curtis, J. T. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological monographs*, 27(4), 326-349.
- Brenneisen, P., Steinbrenner, H., & Sies, H. (2005). Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), 256-267.
- Bu, F., Zhang, S., Duan, Z., Ding, Y., Chen, T., Wang, R., ... & Chen, Y. (2020). A critical review on the relationship of herbal medicine, *Akkermansia muciniphila*, and human health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 128, 110352.
- Burton, R. A., Gidley, M. J., & Fincher, G. B. (2010). Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. *Nature Chemical Biology*, 6(10), 724-732.



- Cantu-Jungles, T. M., do Nascimento, G. E., Zhang, X., Iacomini, M., Cordeiro, L. M., & Hamaker, B. R. (2019). Soluble xyloglucan generates bigger bacterial community shifts than pectic polymers during in vitro fecal fermentation. *Carbohydrate Polymers*, 206, 389-395.
- Carmody, R. N., Bisanz, J. E., Bowen, B. P., Maurice, C. F., Lyalina, S., Louie, K. B., ... & Turnbaugh, P. J. (2019). Cooking shapes the structure and function of the gut microbiome. *Nat Microbiol* 4: 2052–2063.
- Chang, S. K., Alasalvar, C., Bolling, B. W., & Shahidi, F. (2016). Nuts and their co-products: The impact of processing (roasting) on phenolics, bioavailability, and health benefits—A comprehensive review. *Journal of Functional Foods*, 26, 88-122.
- Chen, D., Harris, P. J., Sims, I. M., Zujovic, Z., & Melton, L. D. (2017). Polysaccharide compositions of collenchyma cell walls from celery (*Apium graveolens* L.) petioles. *BMC Plant Biology*, 17(1), 1-13.
- Chisholm, A., Mann, J., Skeaff, M., Frampton, C., Sutherland, W., Duncan, A., & Tiszavari, S. (1998). A diet rich in walnuts favourably influences plasma fatty acid profile in moderately hyperlipidaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52(1), 12-16.
- Cikrikci, S. E. V. İ. L., Demirkesen, I., & Mert, B. (2016). Production of hazelnut skin fibres and utilisation in a model bakery product. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 8(2), 195-206.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258-1270.
- Colagar, A. H., & Marzony, E. T. (2009). Ascorbic Acid in human seminal plasma: determination and its relationship to sperm quality. *Journal of clinical Biochemistry and Nutrition*, 45(2), 144-149.
- Contini, M., Baccelloni, S., Frangipane, M. T., Merendino, N., & Massantini, R. (2012). Increasing espresso coffee brew antioxidant capacity using phenolic extract recovered from hazelnut skin waste. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 137-146.
- Contini, M., Baccelloni, S., Massantini, R., & Anelli, G. (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chemistry*, 110(3), 659-669.
- Cuervo, A., Salazar, N., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., & González, S. (2013). Fiber from a regular diet is directly associated with fecal short-chain fatty acid concentrations in the elderly. *Nutrition Research*, 33(10), 811-816.
- Dao, M. C., Everard, A., Aron-Wisnewsky, J., Sokolovska, N., Prifti, E., Verger, E. O., ... & MICRO-Obes Consortium. (2016). *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut*, 65(3), 426-436.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., ... & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by

- a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), 14691-14696.
- Del Rio, D., Calani, L., Dall'Asta, M., & Brighenti, F. (2011). Polyphenolic composition of hazelnut skin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(18), 9935-9941.
- Demirel, M. A., Ilhan, M., Suntar, I., Keles, H., Akkol, E. K. 2016. "Activity of *Corylus avellana* seed oil in letrozole-induced polycystic ovary syndrome model in rats". *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 83-88.
- Depommier, C., Everard, A., Druart, C., Plovier, H., Van Hul, M., Vieira-Silva, S., ... & Cani, P. D. (2019). Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nature Medicine*, 25(7), 1096-1103.
- Derrien, M., Belzer, C., & de Vos, W. M. (2017). *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microbial Pathogenesis*, 106, 171-181.
- Desai, M. S., Seekatz, A. M., Koropatkin, N. M., Kamada, N., Hickey, C. A., Wolter, M., ... & Martens, E. C. (2016). A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell*, 167(5), 1339-1353.
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255-266.
- Di Renzo, L., Ciocoloni, G., Bernardini, S., Abenavoli, L., Aiello, V., Marchetti, M., ... & Gratteri, S. (2019). A hazelnut-enriched diet modulates oxidative stress and inflammation gene expression without weight gain. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.
- Doğan, G., & Bircan, R. (2010). Balık yemlerinde alternatif bitkisel protein kaynağı olarak fındık küspesi kullanımı. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2), 49-57.
- Duncan, S. H., Belenguer, A., Holtrop, G., Johnstone, A. M., Flint, H. J., & Lobley, G. E. (2007). Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(4), 1073-1078.
- Durak, İ. (1999). Hazelnut supplementation enhances plasma antioxidant potential and lowers plasma cholesterol levels. *Clin. Chem. Acta*, 284, 113-115.
- FAE, 2021. TC Tarım ve Orman Bakanlığı, Fındık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/findik> (Son Erişim Tarihi: 08.11.2021).
- FAOSTAT, 2020. Food and Agriculture Data, <http://www.fao.org/faostat/en/> (Son Erişim Tarihi: 08.11.2021).
- FDA (Food and Drug Administration). 2003. Qualified Health Claims: Letter of Enforcement Discretion—Nuts and Coronary Heart Disease. Docket no: 02P-0505. *Food and Drug Administration*, Washington, DC.
- Fehmi, B. A. Ş., Ömeroğlu, S., Türdü, S., & Aktaş, S. Önemli Türk Fındık Çeşitlerinin Bileşim Özelliklerinin Saptanması. *Gıda*, 11(4).

- Ferrini, R. L., & Barrett-Connor, E. (1998). Sex hormones and age: a cross-sectional study of testosterone and estradiol and their bioavailable fractions in community-dwelling men. *American Journal of Epidemiology*, 147(8), 750-754.
- Fiskobirlik, (2021). <https://www.fiskobirlik.com.tr/> (Son Erişim Tarihi: 08.11.2021).
- Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., & Duncan, S. H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 9(10), 577-589.
- Fraser, G. E. (2000). Nut consumption, lipids, and risk of a coronary event. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 9(S1), S28-S32.
- FTG, (2021). Fındık Tanıtım Grubu. <http://www.ftg.org.tr/tr> (Son Erişim Tarihi: 08.11.2021).
- Gallego, A., Metón, I., Baanante, I. V., Ouazzani, J., Adelin, E., Palazon, J., ... & Moyano, E. (2017). Viability-reducing activity of *Coryllus avellana* L. extracts against human cancer cell lines. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 565-572.
- Garcia, J. M., Agar, I. T., & Streif, J. (1994). Lipid characteristics of kernels from different hazelnut varieties. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 18, 199-202.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17(2), 259-275.
- Gibson, G. R., Scott, K. P., Rastall, R. A., Tuohy, K. M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., ... & Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Sci Technol Bull Funct Foods*, 7(1), 1-19.
- González Hernández, M. A., Canfora, E. E., Jocken, J. W., & Blaak, E. E. (2019). The short-chain fatty acid acetate in body weight control and insulin sensitivity. *Nutrients*, 11(8), 1943.
- Gorji, N., Moeini, R., & Memariani, Z. (2018). Almond, hazelnut and walnut, three nuts for neuroprotection in Alzheimer's disease: A neuropharmacological review of their bioactive constituents. *Pharmacological Research*, 129, 115-127.
- Guinane, C. M., & Cotter, P. D. (2013). Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 6(4), 295-308.
- Hamaker, B. R., & Tuncil, Y. E. (2014). A perspective on the complexity of dietary fiber structures and their potential effect on the gut microbiota. *Journal of Molecular Biology*, 426(23), 3838-3850.
- Haro, C., Rangel-Zúñiga, O. A., Alcalá-Díaz, J. F., Gómez-Delgado, F., Pérez-Martínez, P., Delgado-Lista, J., ... & Camargo, A. (2016). Intestinal microbiota is influenced by gender and body mass index. *PloS one*, 11(5), e0154090.

- Hemsworth, G. R., Dejean, G., Davies, G. J., & Brumer, H. (2016). Learning from microbial strategies for polysaccharide degradation. *Biochemical Society Transactions*, 44(1), 94-108.
- Holland, B., Welch, A. A., Unwin, I. D., Buss, D. H., Paul, A. A., & Southgate, D. A. T. (2012). McCance and Widdowson's the composition of foods. In *McCance and Widdowson's the composition of foods* (pp. 462-462).
- Horwitz, W. (2010). Official methods of analysis of AOAC International. Volume I, agricultural chemicals, contaminants, drugs/edited by William Horwitz. Gaithersburg (Maryland): *AOAC International*, 1997.
- Hosseini, E., Grootaert, C., Verstraete, W., & Van de Wiele, T. (2011). Propionate as a health-promoting microbial metabolite in the human gut. *Nutrition reviews*, 69(5), 245-258.
- Hryckowian, A. J., Van Treuren, W., Smits, S. A., Davis, N. M., Gardner, J. O., Bouley, D. M., & Sonnenburg, J. L. (2018). Microbiota-accessible carbohydrates suppress *Clostridium difficile* infection in a murine model. *Nature Microbiology*, 3(6), 662-669.
- Hyson, D. A., Schneeman, B. O., & Davis, P. A. (2002). Almonds and almond oil have similar effects on plasma lipids and LDL oxidation in healthy men and women. *The Journal of Nutrition*, 132(4), 703-707.
- İslam, A. (2018). Hazelnut culture in Turkey. *Akademik Ziraat Dergisi*, 7(2), 259-266.
- Jia, D., Wang, Y., Wang, J., Liu, J., Li, H., Liu, A., ... & Li, Y. (2021). *Lactobacillus animalis* pZL8a: a potential probiotic isolated from pig feces for further research. *3 Biotech*, 11(3), 1-11.
- Jiang, T., Gao, X., Wu, C., Tian, F., Lei, Q., Bi, J., ... & Wang, X. (2016). Apple-derived pectin modulates gut microbiota, improves gut barrier function, and attenuates metabolic endotoxemia in rats with diet-induced obesity. *Nutrients*, 8(3), 126.
- Johnson, K. V. A., & Burnet, P. W. (2016). Microbiome: should we diversify from diversity?. *Gut Microbes*, 7(6), 455-458.
- Jovel, J., Patterson, J., Wang, W., Hotte, N., O'Keefe, S., Mitchel, T., ... & Wong, G. K. S. (2016). Characterization of the gut microbiome using 16S or shotgun metagenomics. *Frontiers in Microbiology*, 7, 459.
- Kara, H., Orem, A., Yulug, E., Yucesan, F. B., Kerimoglu, G., Yaman, S. O., ... & Alasalvar, C. (2019). Hazelnut consumption improves testicular antioxidant function and semen quality in young and old male rats. *Food Chemistry*, 294, 1-8.
- Karademir, Y. (2013). Fındığın Kavrulması Sırasında Gerçekleşen Maillard Reaksiyonuna Lipit Oksidasyonunun Katkısı.
- Karadeniz İhracatçılar Birliği (2020). 2020 Yılı Fındık İstatistik Verileri, <https://kib.org.tr/tr/ihracat-istatistikler-findik-istatistikleri.html> (Son Erişim Tarihi: 09.01.2022)

- Karthik, L., Kumar, G., Keswani, T., Bhattacharyya, A., Chandar, S. S., & Bhaskara Rao, K. V. (2014). Protease inhibitors from marine actinobacteria as a potential source for antimalarial compound. *PloS one*, 9(3), e90972.
- Kaur, A., Chen, T., Green, S. J., Mutlu, E., Martin, B. R., Rumpagaporn, P., ... & Hamaker, B. R. (2019). Physical inaccessibility of a resistant starch shifts mouse gut microbiota to butyrogenic Firmicutes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(7), 1801012.
- Kaur, A., Tuncil, Y. E., Sikaroodi, M., Gillevet, P., Patterson, J. A., Keshavarzian, A., & Hamaker, B. R. (2018). Alterations in the amounts of microbial metabolites in different regions of the mouse large intestine using variably fermentable fibres. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 13, 7-13.
- Kinderlerer, J. L., & Johnson, S. (1992). Rancidity in hazelnuts due to volatile aliphatic aldehydes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(1), 89-93.
- Koca, İ., Pashazadeh, H., Taşçı, B., Ulus, C., (2019). Hazelnut and Its Health Effects. 3rd International and 26th National Iranian Food Science and Technology Congress, NCFOODI26\_965.
- Kornsteiner, M., Wagner, K. H., & Elmadfa, I. (2006). Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*, 98(2), 381-387.
- Koropatkin, N. M., Cameron, E. A., & Martens, E. C. (2012). How glycan metabolism shapes the human gut microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 10(5), 323-335.
- Koyuncu, M. A., Islam, A., & Küçük, M. (2005). Fat and fatty acid composition of hazelnut kernels in vacuum packages during storage. *Grasas y Aceites*, 56(4), 263-266.
- Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K., & Schloss, P. D. (2013). Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and environmental microbiology*, 79(17), 5112-5120.
- Köksal, A. İ., Artık, N., Şimşek, A., & Güneş, N. (2006). Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chemistry*, 99(3), 509-515.
- Krinsky, N. I., Beecher, G. R., Burk, R. F., Chan, A. C., Erdman, J. J., Jacob, R. A., ... & Traber, M. G. (2000). Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *Institute of Medicine*, 95-185.
- Kris-Etherton, P. M., Hu, F. B., Ros, E., & Sabaté, J. (2008). The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. *The Journal of Nutrition*, 138(9), 1746S-1751S.
- Kurz, C., Carle, R., & Schieber, A. (2008). Characterisation of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armeniaca* L.), peaches (*Prunus persica* L.), and pumpkins (*Cucurbita* sp.) for the evaluation of fruit product authenticity. *Food Chemistry*, 106(1), 421-430.
- Labell, F. M. (1983). Hazelnut paste provides sweet, delicate flavor. *Food Processing*, 44, 80-84.

- Labell, F. M. (1992). Hazelnuts supply flavor and crunch. *Food Processing USA*, 53, 52.
- Lamothe, L. M., Srichuwong, S., Reuhs, B. L., & Hamaker, B. R. (2015). Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. *Food Chemistry*, 167, 490-496.
- Larsen, N., Bussolo de Souza, C., Krych, L., Barbosa Cahú, T., Wiese, M., Kot, W., ... & Jespersen, L. (2019). Potential of pectins to beneficially modulate the gut microbiota depends on their structural properties. *Frontiers in Microbiology*, 10, 223.
- Lebet, V., Arrigoni, E., & Amadò, R. (1998). Measurement of fermentation products and substrate disappearance during incubation of dietary fibre sources with human faecal flora. *LWT-Food Science and Technology*, 31(5), 473-479.
- Lin, H., & Peddada, S. D. (2020). Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. *Nature Communications*, 11(1), 1-11.
- Liu, H., Wang, J., He, T., Becker, S., Zhang, G., Li, D., & Ma, X. (2018). Butyrate: a double-edged sword for health?. *Advances in Nutrition*, 9(1), 21-29.
- Llewellyn, S. R., Britton, G. J., Contijoch, E. J., Vennaro, O. H., Mortha, A., Colombel, J. F., ... & Faith, J. J. (2018). Interactions between diet and the intestinal microbiota alter intestinal permeability and colitis severity in mice. *Gastroenterology*, 154(4), 1037-1046.
- Louis, P., & Flint, H. J. (2017). Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental Microbiology*, 19(1), 29-41.
- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
- Maguire, L. S., O'sullivan, S. M., Galvin, K., O'connor, T. P., & O'brien, N. M. (2004). Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. *International journal of Food Sciences and Nutrition*, 55(3), 171-178.
- Makki, K., Deehan, E. C., Walter, J., & Bäckhed, F. (2018). The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell Host & Microbe*, 23(6), 705-715.
- Mannarino, E., Pirro, M., Cortese, C., Lupattelli, G., Siepi, D., Mezzetti, A., ... & Notarbartolo, A. (2009). Effects of a phytosterol-enriched dairy product on lipids, sterols and 8-isoprostane in hypercholesterolemic patients: a multicenter Italian study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19(2), 84-90.

- Manor, O., Dai, C. L., Kornilov, S. A., Smith, B., Price, N. D., Lovejoy, J. C., ... & Magis, A. T. (2020). Health and disease markers correlate with gut microbiome composition across thousands of people. *Nature Communications*, *11*(1), 1-12.
- Marchesi, J. R., Sato, T., Weightman, A. J., Martin, T. A., Fry, J. C., Hiom, S. J., & Wade, W. G. (1998). Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(2), 795-799.
- Martens, E. C., Kelly, A. G., Tauzin, A. S., & Brumer, H. (2014). The devil lies in the details: how variations in polysaccharide fine-structure impact the physiology and evolution of gut microbes. *Journal of Molecular Biology*, *426*(23), 3851-3865.
- Martens, E. C., Neumann, M., & Desai, M. S. (2018). Interactions of commensal and pathogenic microorganisms with the intestinal mucosal barrier. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(8), 457-470.
- Martin, A. (2003). Antioxidant vitamins E and C and risk of Alzheimer's disease. *Nutrition Reviews*, *61*(2), 69.
- Martínez, I., Kim, J., Duffy, P. R., Schlegel, V. L., & Walter, J. (2010). Resistant starches types 2 and 4 have differential effects on the composition of the fecal microbiota in human subjects. *PloS one*, *5*(11), e15046.
- Medhi, J., & Kalita, M. C. (2020). Nut Phytonutrients for Healthy Gut: Prebiotic Potential. In *Nuts and Nut Products in Human Health and Nutrition*. IntechOpen.
- Mercanligil, S. M., Arslan, P., Alasalvar, C., Okut, E., Akgül, E., Pınar, A., ... & Shahidi, F. (2007). Effects of hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adult men. *European Journal of Clinical Nutrition*, *61*(2), 212-220.
- Mercanligil, S. M., Arslan, P., Alasalvar, C., Okut, E., Akgül, E., Pınar, A., ... & Shahidi, F. (2007). Effects of hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adult men. *European Journal of Clinical Nutrition*, *61*(2), 212-220.
- Miclotte, L., & Van de Wiele, T. (2020). Food processing, gut microbiota and the globesity problem. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(11), 1769-1782.
- Mollica, A., Zengin, G., Stefanucci, A., Ferrante, C., Menghini, L., Orlando, G., ... & Onaolapo, O. J. (2018). Nutraceutical potential of *Corylus avellana* daily supplements for obesity and related dysmetabolism. *Journal of Functional Foods*, *47*, 562-574.
- Montella, R., Coisson, J. D., Travaglia, F., Locatelli, M., Bordiga, M., Meyrand, M., ... & Arlorio, M. (2013). Identification and characterisation of water and alkali soluble oligosaccharides from hazelnut skin (*Corylus avellana* L.). *Food Chemistry*, *140*(4), 717-725.
- Montella, R., Coisson, J. D., Travaglia, F., Locatelli, M., Malfa, P., Martelli, A., & Arlorio, M. (2013). Bioactive compounds from hazelnut skin (*Corylus avellana*

- L.): Effects on *Lactobacillus plantarum* P17630 and *Lactobacillus crispatus* P17631. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 306-315.
- Montella, R., Coisson, J. D., Travaglia, F., Locatelli, M., Malfa, P., Martelli, A., & Arlorio, M. (2013). Bioactive compounds from hazelnut skin (*Corylus avellana* L.): Effects on *Lactobacillus plantarum* P17630 and *Lactobacillus crispatus* P17631. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 306-315.
- Nayik, G. A., & Gull, A. (Eds.). (2020). *Antioxidants in Vegetables and Nuts- Properties and Health Benefits*. Springer.
- Neyrinck, A. M., Possemiers, S., Druart, C., Van de Wiele, T., De Backer, F., Cani, P. D., ... & Delzenne, N. M. (2011). Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in bifidobacteria, Roseburia and Bacteroides/Prevotella in diet-induced obese mice. *PloS one*, 6(6), e20944.
- Obernier, J. A., & Baldwin, R. L. (2006). Establishing an appropriate period of acclimatization following transportation of laboratory animals. *ILAR Journal*, 47(4), 364-369.
- Oh, N. S., Joung, J. Y., Lee, J. Y., & Kim, Y. (2018). Probiotic and anti-inflammatory potential of *Lactobacillus rhamnosus* 4B15 and *Lactobacillus gasseri* 4M13 isolated from infant feces. *PloS one*, 13(2), e0192021.
- Olivares, M., Díaz-Ropero, M. P., Gómez, N., Lara-Villoslada, F., Sierra, S., Maldonado, J. A., ... & Xaus, J. (2006). The consumption of two new probiotic strains, *Lactobacillus gasseri* CECT 5714 and *Lactobacillus coryniformis* CECT 5711, boosts the immune system of healthy humans. *International Microbiology*, 9(1), 47-52.
- Orem, A., Yucesan, F. B., Orem, C., Akcan, B., Kural, B. V., Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2013). Hazelnut-enriched diet improves cardiovascular risk biomarkers beyond a lipid-lowering effect in hypercholesterolemic subjects. *Journal of Clinical Lipidology*, 7(2), 123-131.
- Özdemir, F., Topuz, A., Doğan, Ü., & Karkacıer, M. (1998). Fındık çeşitlerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Gıda*, 23(1).
- Özdemir, K. S., Yılmaz, C., Durmaz, G., & Gökmen, V. (2014). Hazelnut skin powder: A new brown colored functional ingredient. *Food Research International*, 65, 291-297.
- Özdemir, M. (2003). Fındık hasadı ve hasat sonrası işlemleri ile fındık işleminde kritik kontrol noktaları tehlike analizi. *Gıda*, 28(1).
- Özdemir, M., Açkurt, F., Kaplan, M., Yıldız, M., Löker, M., Gürcan, T., ... & Seyhan, F. G. (2001). Evaluation of new Turkish hybrid hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties: fatty acid composition,  $\alpha$ -tocopherol content, mineral composition and stability. *Food Chemistry*, 73(4), 411-415.
- Parada Venegas, D., De la Fuente, M. K., Landskron, G., González, M. J., Quera, R., Dijkstra, G., ... & Hermoso, M. A. (2019). Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Immunology*, 277.



- Parcerisa, J., Boatella, J., Codony, R., Farrà, A., Garcia, J., Lopez, A., ... & Romero, A. (1993). Influence of variety and geographical origin on the lipid fraction of hazelnuts (*Corylus avellana* L.) from Spain: I. Fatty acid composition. *Food Chemistry*, *48*(4), 411-414.
- Pelvan, E., Olgun, E. Ö., Karadağ, A., & Alasalvar, C. (2018). Phenolic profiles and antioxidant activity of Turkish Tombul hazelnut samples (natural, roasted, and roasted hazelnut skin). *Food Chemistry*, *244*, 102-108.
- Perna, S., Giacosa, A., Bonitta, G., Bologna, C., Isu, A., Guido, D., & Rondanelli, M. (2016). Effects of hazelnut consumption on blood lipids and body weight: a systematic review and Bayesian meta-analysis. *Nutrients*, *8*(12), 747.
- Pettolino, F. A., Walsh, C., Fincher, G. B., & Bacic, A. (2012). Determining the polysaccharide composition of plant cell walls. *Nature Protocols*, *7*(9), 1590-1607.
- Poeker, S. A., Geirnaert, A., Berchtold, L., Greppi, A., Krych, L., Steinert, R. E., ... & Lacroix, C. (2018). Understanding the prebiotic potential of different dietary fibers using an in vitro continuous adult fermentation model (PolyFermS). *Scientific Reports*, *8*(1), 1-12.
- Porter, N. T., & Martens, E. C. (2017). The critical roles of polysaccharides in gut microbial ecology and physiology. *Annual Review of Microbiology*, *71*, 349-369.
- Qi, X., Al-Ghazzewi, F. H., & Tester, R. F. (2018). Dietary fiber, gastric emptying, and carbohydrate digestion: A mini-review. *Starch-Stärke*, *70*(9-10), 1700346.
- Rajaram, S., Burke, K., Connell, B., Myint, T., & Sabate, J. (2001). A monounsaturated fatty acid-rich pecan-enriched diet favorably alters the serum lipid profile of healthy men and women. *The Journal of Nutrition*, *131*(9), 2275-2279.
- Rios-Covian, D., González, S., Nogacka, A. M., Arboleya, S., Salazar, N., Gueimonde, M., & de Los Reyes-Gavilán, C. G. (2020). An overview on fecal branched short-chain fatty acids along human life and as related with body mass index: associated dietary and anthropometric factors. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 973.
- Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., De Los Reyes-gavilán, C. G., & Salazar, N. (2016). Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 185.
- Rose, D. J., DeMeo, M. T., Keshavarzian, A., & Hamaker, B. R. (2007). Influence of dietary fiber on inflammatory bowel disease and colon cancer: importance of fermentation pattern. *Nutrition Reviews*, *65*(2), 51-62.
- Sabaté, J. (2003). Nut consumption and body weight. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *78*(3), 647S-650S.
- Sabaté, J., Oda, K., & Ros, E. (2010). Nut consumption and blood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials. *Archives of Internal Medicine*, *170*(9), 821-827.

- Salonen, A., Lahti, L., Salojärvi, J., Holtrop, G., Korpela, K., Duncan, S. H., ... & de Vos, W. M. (2014). Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *The ISME Journal*, 8(11), 2218-2230.
- Santos-Buelga, C., & Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds—nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1094-1117.
- Sarkar, P., Bosneaga, E., & Auer, M. (2009). Plant cell walls throughout evolution: towards a molecular understanding of their design principles. *Journal of Experimental Botany*, 60(13), 3615-3635.
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., ... & Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537-7541.
- Schroeder, B. O., Birchenough, G. M., Ståhlman, M., Arike, L., Johansson, M. E., Hansson, G. C., & Bäckhed, F. (2018). Bifidobacteria or fiber protects against diet-induced microbiota-mediated colonic mucus deterioration. *Cell Host & Microbe*, 23(1), 27-40.
- Seal, C. J., Courtin, C. M., Venema, K., & de Vries, J. (2021). Health benefits of whole grain: Effects on dietary carbohydrate quality, the gut microbiome, and consequences of processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2742-2768.
- Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W. S., & Huttenhower, C. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 12(6), 1-18.
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*.
- Selle, K., & Klaenhammer, T. R. (2013). Genomic and phenotypic evidence for probiotic influences of *Lactobacillus gasseri* on human health. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(6), 915-935.
- Shataer, D., Li, J., Duan, X. M., Liu, L., Xin, X. L., & Aisa, H. A. (2021). Chemical composition of the hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and its anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(14), 4111-4119.
- Simsek, A., Aykut, O. 2007. "Evaluation of the microelement profile of Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties for human nutrition and health". *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(8), 677-688.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435.
- Smith, C., Van Haute, M. J., & Rose, D. J. (2020). Processing has differential effects on microbiota-accessible carbohydrates in whole grains during in vitro fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(21), e01705-20.

- Sonnenburg, E. D., Smits, S. A., Tikhonov, M., Higginbottom, S. K., Wingreen, N. S., & Sonnenburg, J. L. (2016). Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature*, *529*(7585), 212-215.
- Sonnenburg, E. D., Zheng, H., Joglekar, P., Higginbottom, S. K., Fירbank, S. J., Bolam, D. N., & Sonnenburg, J. L. (2010). Specificity of polysaccharide use in intestinal bacteroides species determines diet-induced microbiota alterations. *Cell*, *141*(7), 1241-1252.
- Sonnenburg, J. L., & Bäckhed, F. (2016). Diet–microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*, *535*(7610), 56-64.
- St-Onge, M. P. (2005). Dietary fats, teas, dairy, and nuts: potential functional foods for weight control?. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *81*(1), 7-15.
- Stechman, M. J., Ahmad, B. N., Loh, N. Y., Reed, A. A., Stewart, M., Wells, S., ... & Thakker, R. V. (2010). Establishing normal plasma and 24-hour urinary biochemistry ranges in C3H, BALB/c and C57BL/6J mice following acclimatization in metabolic cages. *Laboratory Animals*, *44*(3), 218-225.
- Suzuki, T., Yoshida, S., & Hara, H. (2008). Physiological concentrations of short-chain fatty acids immediately suppress colonic epithelial permeability. *British Journal of Nutrition*, *100*(2), 297-305.
- Şimşek, A., & Aslantaş, R. (1999). Fındığın bileşimi ve insan beslenmesi açısından önemi. *Gıda*, *24*(3).
- T.C. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü. “2017 Yılı Fındık Raporu”. <http://koop.gtb.gov.tr/data/5ad06bb9ddee7dd8b423eb23/2017%20Fındık%20Raporu.pdf>
- Tan, H., & Nie, S. (2020). Deciphering diet-gut microbiota-host interplay: Investigations of pectin. *Trends in Food Science & Technology*, *106*, 171-181.
- Taş, N. G., & Gökmen, V. (2015). Bioactive compounds in different hazelnut varieties and their skins. *Journal of Food Composition and Analysis*, *43*, 203-208.
- TMO, 2021: 2020 yılı fındık sektör raporu. <https://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sektorraporlari/findik2020.pdf> (Son Erişim Tarihi: 14.11.2021).
- Tuncil, Y. E. (2020). Dietary fibre profiles of Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) and hazelnut skin. *Food Chemistry*, *316*, 126338.
- Tuncil, Y. E., Nakatsu, C. H., Kazem, A. E., Arioglu-Tuncil, S., Reuhs, B., Martens, E. C., & Hamaker, B. R. (2017). Delayed utilization of some fast-fermenting soluble dietary fibers by human gut microbiota when presented in a mixture. *Journal of Functional Foods*, *32*, 347-357.
- Tuncil, Y. E., Thakkar, R. D., Marcia, A. D. R., Hamaker, B. R., & Lindemann, S. R. (2018). Divergent short-chain fatty acid production and succession of colonic microbiota arise in fermentation of variously-sized wheat bran fractions. *Scientific Reports*, *8*(1), 1-13.
- Tuncil, Y. E., Xiao, Y., Porter, N. T., Reuhs, B. L., Martens, E. C., & Hamaker, B. R. (2017). Reciprocal prioritization to dietary glycans by gut bacteria in a competitive environment promotes stable coexistence. *MBio*, *8*(5), e01068-17.

- USDA, (2021). FoodData Central, U.S. Department of Agriculture
- Valdes, A. M., Walter, J., Segal, E., & Spector, T. D. (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *Bmj*, 361.
- Verbeke, K. A., Boobis, A. R., Chiodini, A., Edwards, C. A., Franck, A., Kleerebezem, M., ... & Tuohy, K. M. (2015). Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 28(1), 42-66.
- Wakabayashi, K. (2000). Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. *Journal of Plant Research*, 113(3), 231.
- Wang, J., Zhou, M., Wu, T., Fang, L., Liu, C., & Min, W. (2020). Novel anti-obesity peptide (RLLPH) derived from hazelnut (*Corylus heterophylla* Fisch) protein hydrolysates inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes by regulating adipogenic transcription factors and adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(3), 259-268.
- Willett, W., Skerrett, P. J. (2017). Eat, drink, and be healthy: the Harvard Medical School guide to healthy eating. Simon and Schuster.
- Woodroof, J.,G. (1975). Tree Nuts, Production, Processing, Products. *Vol. 1. 2nd Ed., Avi Publishing Company Inc., Westport, Connecticut.*
- Yao, C. K., Muir, J. G., & Gibson, P. R. (2016). Insights into colonic protein fermentation, its modulation and potential health implications. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 43(2), 181-196.
- Yılmaz, T., & Tavman, Ş. (2016). Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from hazelnut skin. *Food Science and Technology International*, 22(2), 112-121.
- Yorulmaz, A., Velioglu, Y. S., Tekin, A., Simsek, A., Drover, J. C., & Ates, J. (2009). Phytosterols in 17 Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *European journal of Lipid Science and Technology*, 111(4), 402-408.
- Yu, K., Ke, M. Y., Li, W. H., Zhang, S. Q., & Fang, X. C. (2014). The impact of soluble dietary fibre on gastric emptying, postprandial blood glucose and insulin in patients with type 2 diabetes. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 23(2), 210-218.
- Yu, M., Arıoğlu-Tuncil, S., Xie, Z., Fu, X., Huang, Q., Chen, T., & Zhang, B. (2021). In vitro fecal fermentation profiles and microbiota responses of pulse cell wall polysaccharides: enterotype effect. *Food & Function*, 12(18), 8376-8385.
- Zambón, D., Sabaté, J., Munoz, S., Campero, B., Casals, E., Merlos, M., ... & Ros, E. (2000). Substituting walnuts for monounsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesterolemic men and women: a randomized crossover trial. *Annals of Internal Medicine*, 132(7), 538-546.
- Zhai, Q., Feng, S., Arjan, N., & Chen, W. (2019). A next generation probiotic, *Akkermansia muciniphila*. *Critical Reviews in Food Science And Nutrition*, 59(19), 3227-3236.

- Zhang, S. L., Mao, Y. Q., Zhang, Z. Y., Li, Z. M., Kong, C. Y., Chen, H. L., ... & Wang, L. S. (2021). Pectin supplement significantly enhanced the anti-PD-1 efficacy in tumor-bearing mice humanized with gut microbiota from patients with colorectal cancer. *Theranostics*, *11*(9), 4155.
- Zhao, L. (2013). The gut microbiota and obesity: from correlation to causality. *Nature Reviews Microbiology*, *11*(9), 639-647.
- Zhao, Y., Bi, J., Yi, J., Peng, J., & Ma, Q. (2022). Dose-dependent effects of apple pectin on alleviating high fat-induced obesity modulated by gut microbiota and SCFAs. *Food Science and Human Wellness*, *11*(1), 143-154.
- Zou, J., Chassaing, B., Singh, V., Pellizzon, M., Ricci, M., Fythe, M. D., ... & Gewirtz, A. T. (2018). Fiber-mediated nourishment of gut microbiota protects against diet-induced obesity by restoring IL-22-mediated colonic health. *Cell Host & Microbe*, *23*(1), 41-53.

# **EKLER**

## EKLER

**EK-1:** Farelerden **-2. haftada** toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan kısa zincirli yağ asitlerinin (asetik, propiyonik ve bütirik asit) miktarları<sup>#</sup> (adaptasyon süresi boyunca [ilk 14 gün] fareler standart fare yemi ile beslenmiştir. Farelerin gruplara ayrımı adaptasyon süresi sonunda yapıldığından dolayı ilk 14 günlük adaptasyon süresi boyunca fareler sadece cinsiyetlerine göre gruplandırılmışlardır).

Cinsiyet	Kısa Zincirli Yağ Asitleri (µmol/g dışkı)			
	Asetik asit	Propiyonik asit	Bütirik asit	Toplam*
<b>Dişi</b>	47.03 ± 9.99	9.09 ± 1.75	3.90 ± 1.64	60.03 ± 13.33
<b>Erkek</b>	49.09 ± 7.61	8.44 ± 1.03	3.59 ± 0.59	61.11 ± 9.03

<sup>#</sup> Sonuçlar, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (her grup için n=24).

\* Toplam = Asetik asit + propiyonik asit + bütirik asit.

**EK-2:** Farelerden **-1. haftada** toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan kısa zincirli yağ asitlerinin (asetik, propiyonik ve bütirik asit) miktarları<sup>#</sup> (adaptasyon süresi boyunca [ilk 14 gün] fareler standart fare yemi ile beslenmiştir. Farelerin gruplara ayrımı adaptasyon süresi sonunda yapıldığından dolayı ilk 14 günlük adaptasyon süresi boyunca fareler sadece cinsiyetlerine göre gruplandırılmışlardır).

Cinsiyet	Kısa Zincirli Yağ Asitleri (µmol/g dışkı)			
	Asetik asit	Propiyonik asit	Bütirik asit	Toplam*
<b>Dişi</b>	69.96 ± 5.14	10.44 ± 0.72	9.27 ± 1.80	89.68 ± 6.60
<b>Erkek</b>	28.74 ± 3.08	4.58 ± 0.41	3.46 ± 0.67	36.04 ± 4.03

<sup>#</sup> Sonuçlar, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (her grup için n=24).

\* Toplam = Asetik asit + propiyonik asit + bütirik asit.

**EK-3:** Farelerden **-2. haftada** toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan dallanmış zincirli yağ asitlerinin (isobütirik ve isovalerik asit) miktarları<sup>#</sup> (adaptasyon süresi boyunca [ilk 14 gün] fareler standart fare yemi ile beslenmiştir. Farelerin gruplara ayırımı adaptasyon süresi sonunda yapıldığından dolayı ilk 14 günlük süre boyunca fareler sadece cinsiyetlerine göre gruplandırılmışlardır).

Cinsiyet	Dallanmış Zincirli Yağ Asitleri (µmol/g dışkı)		
	İso-bütirik asit	İso-valerik asit	Toplam*
<b>Dişi</b>	0.39 ± 0.14	0.40 ± 0.18	0.79 ± 0.31
<b>Erkek</b>	0.39 ± 0.05	0.27 ± 0.05	0.66 ± 0.08

<sup>#</sup> Sonuçlar, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (her grup için n=24).

\* Toplam = İsobütirik asit + isovalerik asit.

**EK-4:** Farelerden **-1. haftada** toplanmış olan dışkı örneklerinde bulunan dallanmış zincirli yağ asitlerinin (isobütirik ve isovalerik asit) miktarları<sup>#</sup> (adaptasyon süresi boyunca [ilk 14 gün] fareler standart fare yemi ile beslenmiştir. Farelerin gruplara ayırımı adaptasyon süresi sonunda yapıldığından dolayı ilk 14 günlük süre boyunca fareler sadece cinsiyetlerine göre gruplandırılmışlardır).

Cinsiyet	Dallanmış Zincirli Yağ Asitleri (µmol/g dışkı)		
	İso-bütirik asit	İso-valerik asit	Toplam*
<b>Dişi</b>	0.49 ± 0.05	0.53 ± 0.07	1.02 ± 0.12
<b>Erkek</b>	0.24 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.50 ± 0.07

<sup>#</sup> Sonuçlar, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (her grup için n=24).

\* Toplam = İsobütirik asit + isovalerik asit.