

## Doğu Karadeniz'deki Kara Midyenin (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) Amino Asit ve Yağ Asidi Kompozisyonunun Mevsimsel Değişiminin Belirlenmesi

Serkan KORAL\*, Bahtiyar SÜLEYMAN

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 53100 Rize, TÜRKİYE.

\*Sorumlu Yazar Tel.:+90 464 223 33 85 (1434)

E-posta: serkan.koral@erdogan.edu.tr

Geliş Tarihi: 08.12.2016

Kabul Tarihi: 20.12.2016

### Öz

Bu çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki kara midyenin mevsimlere bağlı olarak amino asit ve yağ asidi kompozisyonundaki değişimler incelenmiştir. Doğu Karadeniz Bölgesinde toplam 12 istasyondan tüplü ve serbest dalgı yöntemi ile örneklemeler yapılmıştır. Kara midyenin; ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde toplam amino asit miktarları sırası ile 13272,13, 14252,13, 17472,13 ve 12548,88 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Toplam esansiyel amino asit miktarının mevsimsel ortalamaları sırası ile 6605,27, 6520,13, 6825,13 ve 5186,13 mg/100g ve toplam esansiyel olmayan amino asit miktarlarının mevsimsel ortalamaları ise 6666,88, 7732,00, 10647,00 ve 7362,75 mg/100g olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre 150 g midye eti tüketilmesi günlük lüsin miktarının yarısından fazlasını lüsin miktarını ise tamamını karşılamaya yeterlidir. Doymuş yağ asidi (DYA) grubunda palmitik asit ve stearik asidin yıllık genel ortalamaları sırası ile % 19,62 (287,30 mg/100 g), %4,46 (64,32 mg/100g) olarak bulunmuştur. Bütün mevsimlerde tekli doymamış yağ asitleri (TDYA) içerisinde en fazla miktara eikosenoik asit (%6,39) ikinci sırada ise oleik asit (% 4,53) sahip olmuştur. Toplam çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) miktarlarına mevsimsel bazda bakıldığında en düşük miktar yaz (% 45,66), en yüksek miktar ise ilkbahar (% 50,98) mevsiminde tespit edilmiştir. EPA ve DHA miktarları ise ÇDYA'ne benzer bir seyir izlemiştir. Kara midye etinin EPA ve DHA yönünden zengin bir omega-3 kaynağı olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kara midye, Yağ asidi, Amino asit, Doğu Karadeniz.

### Abstract

#### Determination of Seasonal Variation of Amino acid and Fatty acid Composition of Mediterranean Mussel (*Mytilusgalloprovincialis* Lamarck, 1819) in the Eastern Black Sea

In this study, seasonal variations in amino acid and fatty acid composition of Mediterranean mussel in the Eastern Black Sea Region were investigated. Total amino acid contents for spring, summer, autumn and winter were detected as 13272.13, 14252.13, 17472.13 and 12548.88 mg/100 gr, respectively. Seasonal average values of total essential amino acid amounts were accounted as 6605.27, 6520.13, 6825.13 and 5186.13 mg/100g and total non-essential amino acid contents 6666.88, 7732.00, 10647.00 and 7362.75 mg/100g, respectively. According to the results of the study, consumption of 150 g mussel meat is enough for the daily leucine and lysine amino acid requirement. Annual general average values of palmitic and stearic acids of saturated fatty acid (SFA) groups in fatty acids were found as 19.62% (287.30 mg/100 g) and 4.46% (64.32 mg/100g), respectively. Amongst monounsaturated fatty acids (MUFA) groups the highest value was observed for was belonging to eicosanoic acid (6.39 %) followed by oleic acid (4.53%).

© Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Trabzon

The lowest total polyunsaturated fatty acid ( $\Sigma$ PUFA) was found in summer (45.66 %) and the highest in spring (50.98%). Eicosapentaenoic Acid (EPA) and Docosahexaenoic Acid (DHA) values showed a similar trend with PUFA values. It was determined that Mediterranean mussel meat has a good source of omega-3 in terms of EPA and DHA.

**Keywords:** Mediterranean mussel, Fatty acid, Amino acid, Eastern Black Sea.

## Giriş

Su ürünlerinin, dengeli beslenme yönünden tüketiminin artması gerektiği bir gerçektir. Bu ürünlerin pek çok iyileştirici özellikleriyle beraber işlevsel birçok özelliğe sahip olduğu birçok çalışmada vurgulanmaktadır. İnsan sağlığı üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalardan da anlaşılacağı gibi, su ürünleri içerdiği esansiyel amino asitler ve doymamış yağ asitleri bakımından mükemmel bir besin kaynağıdır (Turan vd., 2006). Su ürünlerinin proteinleri sağlıklı yaşamak için gerekli tüm amino asitleri içerir. Özellikle insan vücudunda hasar gören dokuların onarılması, ruh sağlığının korunması, hücre yenilenmesi ve organların düzgün çalışması için gerekli olan esansiyel amino asitlerin tamamını barındırmaktadır (Varlık vd., 2004). Su ürünlerinde bulunan iki önemli yağ asidi Eikosapentaenoik asit (EPA) ve Dekosahekzaenoik asit (DHA) olup bu yağ asitlerinin kardiyovasküler ve bağışıklık sistemlerinin sağlıklı çalışmasını sağladığı, ayrıca kolesterol seviyesini düşürdüğü, arteroskleroz oluşumunu geciktirdiği ve damarlarda oluşan trombozu engelleyerek, kalp krizi riskini önemli derecede azalttığı belirlenmiştir (Lauritzen vd., 2001; Erkan, 2013). Su ürünleri içerisinde yer alan ve önemli bir besin kaynağı olan kabuklu su ürünleri, ülkemiz için büyük bir potansiyel oluşturmaktadır. Özellikle Doğu Karadeniz Bölgesi'nde ekonomik anlamda karşılığı olan kabuklu canlı türleri arasında kara midyenin önemi büyüktür (Koral ve Süleyman, 2016). Midye insan diyeti için ideal besin değerine sahip olup iyi kalitede amino asit ve çoklu doymamış yağ asitleri içermek-

tedir. Bu özellikleri sayesinde kalp ve damar hastalıkları riskini azaltmaktadır (Alpbaz, 1993). Dernekbaşı vd. (2015) Sinop bölgesinden temin ettiği kara midyelerin özellikle EPA ve DHA açısından mükemmel bir omega-3 kaynağı olduğunu, ayrıca mevsim değişikliklerinin besin kompozisyonu üzerinde etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Benzer şekilde midyelerin besin kompozisyonu üzerine su sıcaklığı, besin ve üreme gibi faktörlerin etkili olduğu birçok bilimsel çalışmada vurgulanmıştır (Okumus ve Stirling, 1998; Orbanetal, 2002). Bu çalışmada; Doğu Karadeniz Bölgesindeki kara midyelerin amino asit ve yağ asidi kompozisyonundaki değişiklikleri mevsimsel olarak belirleyerek canlının üreme döngüsü ile amino asit ve yağ asidi kompozisyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Midye örnekleri Doğu Karadeniz Bölgesini temsil edecek şekilde belirlenen Giresun (3 istasyon), Trabzon (4 istasyon), Rize (3 istasyon) ve Artvin (2 istasyon) illerindeki toplam 12 istasyondan tüplü ve serbest dalış yöntemleri ile 2 ila 10 m derinlikten mevsimsel olarak toplanmıştır. Her ilden temin edilen örnekler laboratuvar ortamında ayrı ayrı seçilerek pazar boyu olan 7 cm ve üzeri midyelerin etleri çıkartılmış ve istasyon bazında alınan midye örnekleri karıştırılarak birleştirilmiştir. İstasyon bazında analizler yapılmış ve istasyondan elde edilen değerlerin aritmetik ortala-

ması alınarak ilgili mevsime ait sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmada kullanılan kara midyelerin boyları 76,69 ve 80,84 cm, ağırlıkları ise 27,07 ila 46,66 g arasında değişmektedir.

Midye örneklerinde toplam amino asit analizi İstanbul ilinde faaliyet gösteren akredite olmuş Kazlıçeşme Ar-Ge Test Laboratuvarında (AB-0513-T) yaptırılmıştır. HPLC (Agilent 1260 Infinity) cihazı ile kolon öncesi türevlendirme yapıldıktan sonra FLD/DAD detektörler kullanılarak Agilent Eclipse AAA metodu modifiye edilerek laboratuvara ait işletme içi metot ile belirlenmiştir. Türevlendirici olarak Ortho Phthalaldehyde, Fluorenylmethoxy Chloroformate ve Borat kullanılmıştır. HPLC cihazında mobil faz olarak 40 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve Asetonitril/Methanol/Su (45 / 45 / 10), ayırmada ise ZORBAX Eclipse-AAA 4.6\*150 mm (3.5µm) kolon kullanılmıştır.

Örneklerdeki toplam yağ ekstraksiyonu kloroform/metanol (2:1 v/v) karışımı kullanılarak Bligh ve Dyer (1959) metoduna göre yapılmıştır. Yağ asidi analizi ise Tufan vd. (2013)'e göre yapılmış ve Shimadzu GC-MS QP2010 Ultra model cihazı kullanılmıştır. Ayırma işlemi, Restek RT-2560 Made in USA, Catno: 13199 Serial no: 47623-07), 100m x 0.25 mm ID, 0.20 µm kolon ve AOC-20i+s model oto örnekleyici kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum (He) kullanılmış olup: 1 ml/dk akış sağlanmıştır. Araştırmada Supe-lco™ 37 Component FAME Mix (Cat. No. 47885-U) yağ asidi metil esterli standardı kullanılmıştır. Genellikle bilimsel çalışmalarda yağ asitleri miktarları % oran şeklinde verilmektedir. Ancak farklı dönüşüm faktörleri kullanılarak bu oran mg/100g olarakta verilebilmektedir. Bu çalışmada literatürde de belirtilen yumuşakçalar için kullanılan dönüşüm faktörü kullanılarak elde edilen değerler mg/100 g olarak da hesaplanmıştır (Weihrauch vd., 1975).

Dönüşüm Faktörü (F) = 0.956-(0.296 /

Toplam Lipit)

mg/100 g YA= Fx Toplam Lipitx % yağ asidi değeri x 10

Elde edilen veriler, ort±stdsp olarak verilmiştir (n:3). Mevsimler arası farkı saptamak amacı ile varyansları homojen bulunan grupların önemlilik testi için 'One Way Anova' ve 'Tukey testi' uygulanmış, önem derecesi p<0.05 olarak kullanılmıştır. (Sokal ve Rohlf, 1987). İstatistikî analizde JMP 5.0.1. SAS (SAS Institute Inc., NC, ABD) paket programı kullanılmıştır.

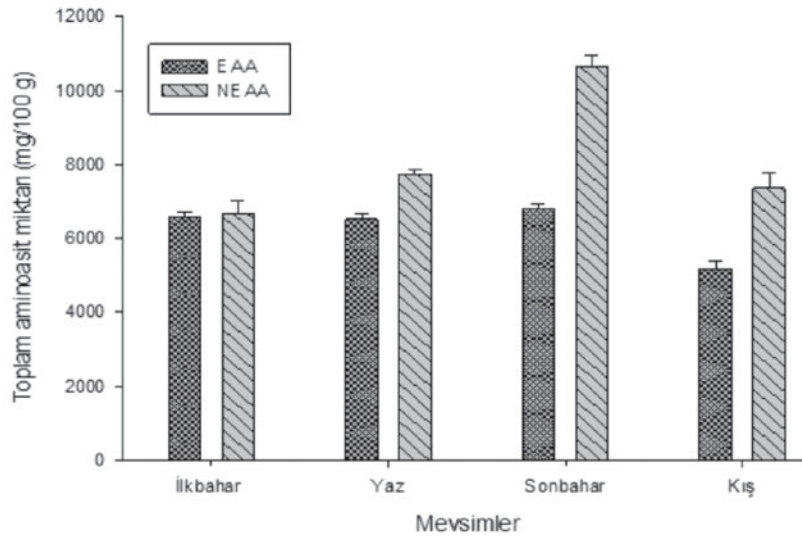
## Bulgular

Mevsimsel olarak belirlenen amino asit miktarları Tablo 1'de, toplam esansiyel ve esansiyel olmayan amino asit miktarlarının değişimi ise Şekil 1'de verilmiştir.

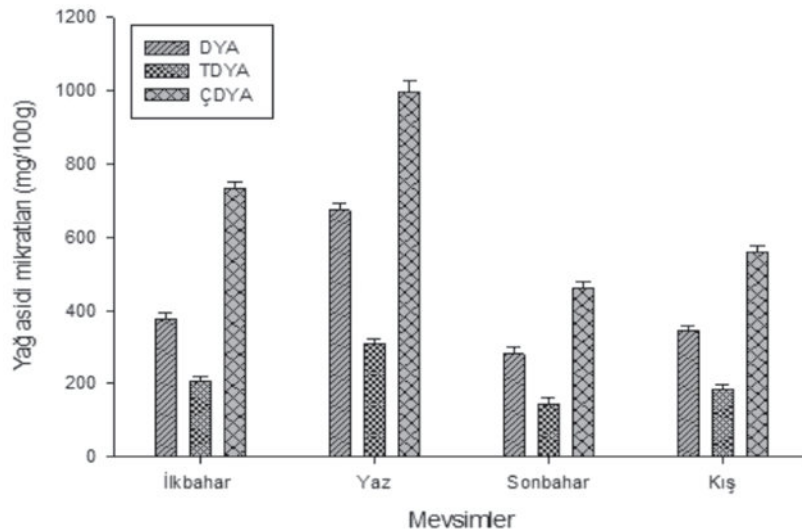
Esansiyel amino asitlerden histidin değerleri en düşük kış mevsiminde 251,75 mg/100g, en yüksek sonbahar mevsiminde 523,75 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Tüm mevsimlerin genel ortalaması 386,97 mg/100g olup bütün mevsimlerde elde edilen değerler istatistiksel olarak farklılık göstermiştir (p<0,05). Valin değerleri en düşük 214,63 mg/100g ile yaz, en yüksek ise 689,88 mg/100g olarak sonbahar mevsiminde bulunmuştur. Bu değerler istatistiki açıdan karşılaştırıldığında yaz mevsimindeki farkın önemli olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Mevsimlere göre toplam esansiyel amino asit (TEAA) miktarları ilkbahar mevsiminde 6605,25 mg/100g, yaz mevsiminde 6520,13 mg/100g, sonbahar mevsiminde 6825,13 mg/100g ve kış mevsiminde ise 5186,13 mg/100g bulunurken; toplam esansiyel olmayan amino asit (TNEAA) miktarlarının ortalamaları ise sırası ile 6666,88 mg/100g, 7732,00 mg/100g, 10647,00 mg/100g, 7362,75 mg/100g olarak bulunmuştur.

TEAA miktarları mevsimsel olarak karşılaştırıldığında kış ve ilkbahar mevsimleri birbirine benzer diğer mevsimlerde ise farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). TNEAA miktarları mevsimsel olarak karşılaştırıldığında ise sonbahar mevsiminde farkın önemli olduğu ( $p < 0,05$ ), diğer mevsimlerde ise benzer değerlerin olduğu bulunmuştur ( $p > 0,05$ ). TEAA ve TNEAA oranları en yüksek ilkbahar (0,99) en düşük ise sonbahar mevsiminde (0,64) bulunmuştur. Diğer mevsimlerde ise bu oran 0,84 (yaz) ve 0,71 (kış) olarak tespit edilmiştir.

Mevsimsel olarak tespit edilen yağ asitlerinin yüzde oranları Tablo 2'de, mg/100 g değerleri ise Tablo 3'te verilmiştir. Mevsimlere göre  $\Sigma$ DYA,  $\Sigma$ TDYA ve  $\Sigma$ ÇDYA miktarlarının değişimi Şekil 2'de, mevsimsel olarak EPA ve DHA miktarlarının değişimleri ise Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 1. Toplam esansiyel ve esansiyel olmayan amino asit miktarlarının mevsimsel değişimi.



Şekil 2. Mevsimlere göre  $\Sigma$ DYA,  $\Sigma$ TDYA ve  $\Sigma$ ÇDYA miktarlarındaki değişimler (mg/100g).



**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan kara midyenin amino asit miktarlarının mevsimsel değişimi (mg/100g)

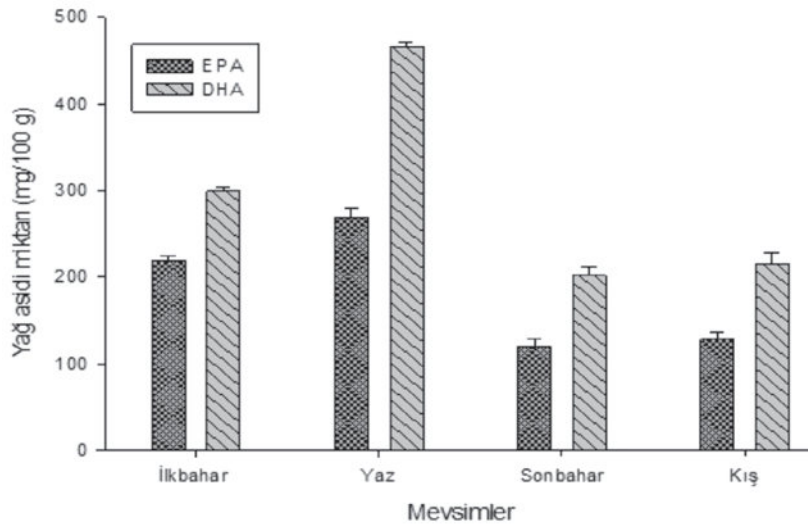
Amino Asit	İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış	Genel Ortalama
Histidin	319,38±93,06 <sup>a</sup>	453,00±43,48 <sup>b</sup>	523,75±31,16 <sup>c</sup>	251,75±8,39 <sup>d</sup>	386,97±23,72
Tironin	422,00±74,96 <sup>a</sup>	507,13±48,09 <sup>a</sup>	606,13±123,35 <sup>b</sup>	501,63±21,05 <sup>a</sup>	509,19±55,51
Arjinin	945,38±78,38 <sup>a</sup>	1182,25±75,67 <sup>b</sup>	1448,25±88,12 <sup>c</sup>	881,38±18,29 <sup>a</sup>	1039,32±57,50
Valin	556,75±77,01 <sup>a</sup>	214,63±13,71 <sup>b</sup>	689,88±73,68 <sup>a</sup>	507,75±71,65 <sup>a</sup>	444,00±70,44
Metionin	225,75±53,15 <sup>a</sup>	246,38±29,29 <sup>a</sup>	453,63±73,70 <sup>b</sup>	243,88±23,37 <sup>a</sup>	292,41±42,99
Triptofan	462,88±49,17 <sup>a</sup>	280,38±76,92 <sup>b</sup>	266,38±13,10 <sup>b</sup>	144,75±14,29 <sup>c</sup>	220,81±31,18
Fenilalanin	516,75±66,23 <sup>a</sup>	777,00±99,55 <sup>b</sup>	732,00±19,89 <sup>b</sup>	236,00±60,27 <sup>c</sup>	565,44±47,25
İzolösin	515,25±44,69 <sup>a</sup>	658,25±50,86 <sup>b</sup>	656,00±19,40 <sup>b</sup>	537,25±49,83 <sup>b</sup>	591,69±76,10
Lösin	671,00±57,32 <sup>a</sup>	57,13±6,85 <sup>b</sup>	38,25±6,65 <sup>b</sup>	622,25±133,54 <sup>a</sup>	347,16±246,45
Lisin	1970,13±36,21 <sup>a</sup>	2144,00±206,08 <sup>a</sup>	1410,88±177,97 <sup>b</sup>	1259,50±99,25 <sup>b</sup>	1696,13±55,23
<b>ΣEAA</b>	6605,25±92,38 <sup>a</sup>	6520,13±162,95 <sup>a</sup>	6825,13±112,31 <sup>a</sup>	5186,13±192,74 <sup>b</sup>	6093,12±150,17
Sistin	9,25±5,17 <sup>a</sup>	16,00±5,28 <sup>a</sup>	13,63±0,75 <sup>a</sup>	14,50±8,70 <sup>a</sup>	13,35±2,90
Aspartik asit	1143,50±80,14 <sup>a</sup>	1416,13±95,38 <sup>b</sup>	2194,88±59,82 <sup>c</sup>	1235,13±163,60 <sup>ab</sup>	1497,41±178,58
Glutamik Asit	1527,50±130,77 <sup>a</sup>	1964,63±61,98 <sup>b</sup>	2853,88±122,81 <sup>c</sup>	1707,50±137,20 <sup>ab</sup>	2013,38±88,35
Serin	530,00±45,94 <sup>a</sup>	696,13±45,78 <sup>b</sup>	987,88±60,02 <sup>c</sup>	557,50±12,43 <sup>a</sup>	692,88±49,68
Glutamin	73,75±38,80 <sup>a</sup>	126,50±24,69 <sup>b</sup>	142,75±12,87 <sup>b</sup>	76,13±42,85 <sup>a</sup>	104,78±35,11
Glisin	1059,63±109,28 <sup>a</sup>	1142,75±109,57 <sup>a</sup>	1430,00±117,53 <sup>b</sup>	1252,13±124,30 <sup>ab</sup>	1221,13±60,01
Alanin	967,75±52,59 <sup>a</sup>	1010,38±36,75 <sup>a</sup>	1558,00±100,78 <sup>b</sup>	916,00±31,26 <sup>a</sup>	1113,01±59,15
Tirozin	439,38±34,60 <sup>a</sup>	595,38±56,62 <sup>b</sup>	557,63±97,30 <sup>ab</sup>	463,63±29,90 <sup>a</sup>	514,01±24,46
Norvalin	18,25±7,71 <sup>a</sup>	27,25±4,77 <sup>a</sup>	24,25±5,92 <sup>a</sup>	17,38±5,09 <sup>a</sup>	21,78±14,76
Hidroksiprolin	272,63±46,61 <sup>a</sup>	176,50±19,91 <sup>b</sup>	147,13±29,29 <sup>b</sup>	317,25±65,53 <sup>a</sup>	228,38±39,89
Sarkozin	142,75±11,68 <sup>a</sup>	32,38±7,54 <sup>b</sup>	89,75±16,36 <sup>c</sup>	229,75±14,10 <sup>d</sup>	123,66±13,87
Prolin	482,50±52,64 <sup>a</sup>	528,00±45,77 <sup>a</sup>	647,25±20,79 <sup>b</sup>	575,88±36,75 <sup>a</sup>	558,41±40,44
<b>ΣNEAA</b>	6666,88±348,47 <sup>a</sup>	7732,00±120,09 <sup>b</sup>	10647,00±295,40 <sup>c</sup>	7362,75±393,81 <sup>b</sup>	8102,18±153,09
<b>Σ EAA/Σ NEAA</b>	0,99	0,84	0,64	0,71	0,75
<b>TAA</b>	13272,13±420,30 <sup>a</sup>	14252,13±232,65 <sup>b</sup>	17472,13±184,81 <sup>c</sup>	12548,88±376,58 <sup>a</sup>	14195,30±185,77

**EAA:**Esansiyel Amino Asitler, **NEAA:**Esansiyel Olmayan Amino Asitler, **TAA:** Toplam amino asit. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c,d) istasyonlar arasındaki farkı gösterir (p<0.05).

Palmitik asit (C16:0) en düşük ilkbahar mevsiminde (% 17,55) ve en yüksek yaz mevsiminde (% 21,49) bulunurken stearik asit (C18:0) en düşük ilkbahar (% 3,86) ve en yüksek sonbahar mevsiminde (% 5,01) bulunmuştur. Bu yağ asitlerinin yıllık genel ortalaması sırası ile % 19,62 (287,30 mg/100g) ve % 4,46 (64,32 mg/100g) olarak tespit edilmiştir.  $\Sigma$ DYA'ndan palmitik asit (C16:0) değerlerinin mevsimsel değişiminde sonbahar ve kış mevsimleri benzer ( $p>0,05$ ), diğer mevsimler ise farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Bütün mevsimlerde TDYA içerisinde en yüksek miktar eikosanoik asitte (C20:1) bulunmuş ve yıllık ortalamada % 6,39 (91,43 mg/100g) değeri elde edilmiştir. Oleik asitte (18:1n9c) en yüksek değer kış (% 5,09) en düşük değer ise yaz (% 4,01) mevsiminde tespit edilmiştir.

Elde edilen değerler mevsimsel olarak karşılaştırıldığında kış ve ilkbahar mevsimleri kendi arasında, yaz ve sonbahar mevsimleri de

kendi arasında benzer bulunmuştur ( $p>0,05$ ).  $\Sigma$ TDYA miktarları % 14,23 ile % 15,39 arasında değişim göstermiştir. Bu değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). Yağ asidi grupları arasında en yüksek miktar % 47,66 değeri ile  $\Sigma$ DYA grubunda bulunmuştur.  $\Sigma$  $\Sigma$ DYA elde edilen değerler mevsimsel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ).  $\Sigma$ DYA arasında EPA (C20:5n3) ve DHA'nın (C22:6n3) baskın gruplar olduğu gözlenmiştir. Toplam EPA ve DHA miktarları ise % 28,54 (343,29 mg/100g) ile % 36,10 (519,41 mg/100g) arasında olup  $\Sigma$ n6/ $\Sigma$ n3 oranı ise 0,14 ile 0,20 arasında değişim göstermiştir. Kış mevsiminde DHA miktarlarındaki değişim istatistiksel açıdan diğer mevsimlere göre farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). EPA'da ise yaz ve sonbahar mevsimleri benzer ( $p>0,05$ ) bulunurken diğer mevsimlerin farklı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).



Şekil 3. EPA ve DHA yağ asidi miktarlarının mevsimsel değişimi (mg/100g)

**Tablo 2.** Çalışmada kullanılan kara midyenin mevsimlere göre değişen yüzde yağ asidi miktarları (% YAME)

Yağ Asidi Tipi	İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış	Genel Ort.
C14:0	3,04±0,31 <sup>a</sup>	2,73±0,20 <sup>a</sup>	2,60±0,18 <sup>a</sup>	2,78±0,37 <sup>a</sup>	2,79±0,18
C15:0	0,54±0,10 <sup>a</sup>	0,57±0,06 <sup>a</sup>	0,62±0,07 <sup>a</sup>	0,58±0,07 <sup>a</sup>	0,58±0,03
C16:0	17,55±0,58 <sup>a</sup>	21,49±0,40 <sup>b</sup>	19,38±0,41 <sup>c</sup>	20,07±0,55 <sup>c</sup>	19,62±1,64
C17:0	0,82±0,08 <sup>a</sup>	1,25±0,05 <sup>b</sup>	1,02±0,04 <sup>c</sup>	0,85±0,07 <sup>b</sup>	0,99±0,20
C18:0	3,86±0,14 <sup>a</sup>	4,63±0,16 <sup>b</sup>	5,01±0,19 <sup>c</sup>	4,34±0,13 <sup>b</sup>	4,46±0,48
C20:0	0,33±0,04 <sup>a</sup>	0,20±0,02 <sup>b</sup>	0,31±0,04 <sup>a</sup>	0,22±0,04 <sup>b</sup>	0,26±0,06
<b>ΣDYA</b>	26,14±1,28 <sup>a</sup>	30,86±1,60 <sup>a</sup>	28,93±1,93 <sup>a</sup>	28,83±1,93 <sup>a</sup>	28,69±2,59
C16:1	3,57±0,32 <sup>a</sup>	3,64±0,51 <sup>a</sup>	3,65±0,22 <sup>a</sup>	3,65±0,16 <sup>a</sup>	3,63±0,04
C17:1	0,20±0,06 <sup>a</sup>	0,24±0,06 <sup>b</sup>	0,17±0,05 <sup>c</sup>	0,29±0,06 <sup>d</sup>	0,22±0,05
C18:1n9c	4,94±0,53 <sup>a</sup>	4,01±0,40 <sup>b</sup>	4,07±0,41 <sup>b</sup>	5,09±0,78 <sup>a</sup>	4,53±0,57
C20:1	5,75±0,26 <sup>a</sup>	6,33±0,18 <sup>b</sup>	7,13±0,23 <sup>c</sup>	6,35±0,42 <sup>b</sup>	6,39±0,57
<b>ΣTDYA</b>	14,45±0,17 <sup>a</sup>	14,23±0,26 <sup>a</sup>	15,01±0,41 <sup>a</sup>	15,39±0,38 <sup>a</sup>	14,77±1,22
C18:2n6c	4,54±0,36 <sup>a</sup>	3,38±0,18 <sup>b</sup>	3,76±0,39 <sup>c</sup>	3,70±0,51 <sup>d</sup>	4,34±1,02
C22:2	4,26±0,42 <sup>a</sup>	3,57±0,27 <sup>b</sup>	5,35±0,11 <sup>c</sup>	5,88±0,20 <sup>c</sup>	4,77±1,04
C20:4n3	4,28±0,25 <sup>a</sup>	3,21±0,12 <sup>b</sup>	3,20±0,25 <sup>b</sup>	3,67±0,19 <sup>b</sup>	3,59±0,51
C20:4n6	1,71±0,08 <sup>a</sup>	1,81±0,10 <sup>a</sup>	2,24±0,12 <sup>b</sup>	2,59±0,11 <sup>b</sup>	2,09±0,41
C20:5n3	15,28±0,36 <sup>a</sup>	12,32±0,31 <sup>b</sup>	12,28±0,71 <sup>b</sup>	10,65±0,73 <sup>c</sup>	12,63±1,93
C22:6n3	20,82±0,34 <sup>a</sup>	21,37±0,59 <sup>a</sup>	20,89±0,41 <sup>a</sup>	17,90±0,42 <sup>b</sup>	20,24±1,58
<b>ΣÇDYA</b>	50,98±2,41 <sup>a</sup>	45,66±2,17 <sup>a</sup>	47,71±2,57 <sup>a</sup>	46,37±3,35 <sup>a</sup>	47,66±6,49
<b>ΣÇDYA/ΣDYA</b>	1,94	1,47	1,64	1,60	1,66
<b>ΣÇDYA/ΣTDYA</b>	3,52	3,20	3,17	3,01	3,22
<b>EPA+DHA</b>	36,10	33,69	33,16	28,54	32,87
<b>Σn3/Σn6</b>	6,46	7,11	6,06	5,12	6,19
<b>Σn6/Σn3</b>	0,15	0,14	0,16	0,20	0,16
<b>TE*</b>	8,43	9,25	8,35	9,41	8,88

Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) istasyonlar arasındaki farkı gösterir (p<0.05). **DYA:** Doymuş yağ asidi, **TDYA:** Tekli doymamış yağ asidi,

**ÇDYA:** Çoklu doymamış yağ asidi, **EPA:**Eikosapentaenoik yağ asidi, **DHA:**Dokosaheptaenoik yağ asidi, **TE:** Tespit edilemeyen.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan kara midyenin mevsimlere göre değişen yağ asidi miktarları (mg/100g)

Yağ Asidi Tipi	İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış	Genel Ort.
C14:0	43,78±2,98 <sup>a</sup>	59,60±2,51 <sup>b</sup>	25,17±2,54 <sup>c</sup>	33,53±2,89 <sup>d</sup>	40,52±14,82
C15:0	7,87±0,78 <sup>a</sup>	12,36±0,28 <sup>b</sup>	6,00±0,22 <sup>c</sup>	6,98±0,18 <sup>d</sup>	8,30±2,81
C16:0	252,76±10,26 <sup>a</sup>	468,42±11,28 <sup>b</sup>	187,30±10,79 <sup>c</sup>	240,73±9,70 <sup>a</sup>	287,30±124,05
C17:0	11,84±0,25 <sup>a</sup>	27,10±0,86 <sup>b</sup>	9,92±0,28 <sup>c</sup>	10,21±0,38 <sup>c</sup>	14,77±8,27
C18:0	55,55±1,76 <sup>a</sup>	100,81±6,19 <sup>a</sup>	48,89±1,24 <sup>c</sup>	52,04±2,10 <sup>a</sup>	64,32±24,47
C20:0	4,72±0,14 <sup>a</sup>	4,31±0,19 <sup>a</sup>	2,96±0,16 <sup>b</sup>	2,61±0,19 <sup>b</sup>	3,65±1,02
<b>ΣDYA</b>	376,51±16,92 <sup>a</sup>	672,60±20,17 <sup>b</sup>	280,24±17,74 <sup>c</sup>	346,10±12,18 <sup>a</sup>	418,86±173,87
C16:1	51,54±3,65 <sup>a</sup>	79,68±2,02 <sup>b</sup>	35,40±3,07 <sup>c</sup>	43,88±2,69 <sup>d</sup>	52,63±19,20
C17:1	2,85±0,13 <sup>a</sup>	5,08±0,22 <sup>b</sup>	1,64±0,08 <sup>c</sup>	3,49±0,18 <sup>d</sup>	3,26±1,44
C18:1n9c	70,94±4,91 <sup>a</sup>	87,29±4,15 <sup>b</sup>	39,41±4,65 <sup>c</sup>	61,39±5,53 <sup>d</sup>	64,75±20,00
C20:1	82,68±2,88 <sup>a</sup>	137,74±14,54 <sup>b</sup>	69,09±3,42 <sup>c</sup>	76,19±4,38 <sup>a</sup>	91,43±31,37
<b>ΣTDYA</b>	208,01±9,55 <sup>a</sup>	309,79±12,52 <sup>b</sup>	145,53±15,39 <sup>c</sup>	184,95±12,61 <sup>d</sup>	212,07±70,07
C18:2n6c	65,21±3,58 <sup>a</sup>	73,71±4,27 <sup>a</sup>	36,39±4,62 <sup>b</sup>	69,14±2,12 <sup>a</sup>	61,11±16,85
C22:2	61,29±2,92 <sup>a</sup>	78,09±1,59 <sup>b</sup>	51,77±3,81 <sup>c</sup>	70,83±2,30 <sup>d</sup>	65,49±11,45
C20:4n3	61,58±3,18 <sup>a</sup>	69,95±3,34 <sup>a</sup>	31,01±4,11 <sup>b</sup>	44,05±3,64 <sup>c</sup>	51,65±17,48
C20:4n6	24,73±1,86 <sup>a</sup>	39,24±1,37 <sup>b</sup>	21,83±1,86 <sup>a</sup>	31,22±1,74 <sup>c</sup>	29,26±7,73
C20:5n3	219,73±5,27 <sup>a</sup>	268,93±11,87 <sup>b</sup>	119,00±10,64 <sup>c</sup>	128,04±8,59 <sup>c</sup>	183,92±72,68
C22:6n3	299,68±4,70 <sup>a</sup>	465,87±5,51 <sup>b</sup>	201,75±10,41 <sup>c</sup>	215,25±12,70 <sup>d</sup>	295,64±121,48
<b>ΣÇDYA</b>	732,22±17,64 <sup>a</sup>	995,79±28,81 <sup>b</sup>	461,76±18,03 <sup>c</sup>	558,54±16,16 <sup>d</sup>	687,07±233,61
<b>ΣÇDYA/ΣDYA</b>	1,94	1,48	1,65	1,61	1,64
<b>ΣÇDYA/ΣTDYA</b>	3,52	3,21	3,17	3,01	3,24
<b>EPA+DHA</b>	519,41	734,80	320,75	343,29	494,56
<b>Σn3/Σn6</b>	6,46	7,11	6,06	5,12	6,19
<b>Σn6/Σn3</b>	0,15	0,14	0,16	0,20	0,15

Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) istasyonlar arasındaki farkı gösterir (p<0.05). **DYA:** Doymuş yağ asidi, **TDYA:** Tekli doymamış yağ asidi,

**ÇDYA:** Çoklu doymamış yağ asidi, **EPA:**Eikosapentaenoik yağ asidi, **DHA:**Dokosaheptaenoik yağ asidi.



## Tartışma

Su ürünlerinin besleyici değere, sahip olduğu protein ve buna bağlı olarak ta özellikle esansiyel amino asitlerin cinsi ve oranına göre belirlenir (Varlık vd., 2004). Midyenin iyi bir protein kaynağı olduğu bilinmekte olup % 10,42 ile % 13,50 arasında protein içerdiği daha önceki çalışmamızda tespit edilmiştir (Koral ve Süleyman, 2016). Bu bağlamda çalışmada elde edilen amino asit değerleri incelendiğinde; ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde toplam amino asit miktarları sırası ile 13272, 13, 14252,13, 17472,13 ve 12548,88 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Su sıcaklığı ve besinin artışına paralel olarak beslenmenin yoğun olduğu zamanlarda (ilkbahar-yaz) toplam amino asit içeriğinde önemli artışlar olmuştur. Ancak üreme faaliyetinden sonra toplam amino asit içeriğinde düşüşler tespit edilmiştir. Zira kara midyenin üreme döngüsünde mayıs (ilkbahar) ve ağustos (yaz) aylarında iki defa üreme davranışı gösterdiği bilinmektedir.

Bu açıdan bakıldığında ilkbahar ve yaz mevsimlerinde gonad gelişimine bağlı olarak amino asit miktarlarının arttığı üreme faaliyetinden sonra ise düştüğü görülmektedir.

Gıdaların besin değerlerinin derlendiği ulusal gıda kompozisyon veri tabanında Karadeniz Bölgesindeki Kara midyenin amino asit içeriğinin sırası ile triptofan 238 mg/100 g, izolösin 417-598 mg/100 g, lösin 701-941 mg/100 g, histidin 384-510 mg/100 g, glutamik asit 1618-2267 mg/100 g, aspartikasit 1208-1907 mg/100 g, fenilalanin 459-693 mg/100 g, glisin 756-1058 mg/100 g, serin 627-888 mg/100 g olduğu ifade edilmiştir (URL-1).

Bu çalışmada elde edilen değerler ise sırası ile triptofan 144-462 mg/100 g, izolösin 515-658 mg/100 g, lösin 38-671 mg/100 g,

histidin 251-523 mg/100 g, glutamik asit 1527-2853 mg/100 g, aspartik asit 1143-2194 mg/100 g, fenilalanin 236-777 mg/100 g, glisin 1059-1430 mg/100 g, serin 530-987 mg/100 g olarak bulunmuş ve ulusal gıda kompozisyonu veri tabanındaki değerle lösin amino asidi hariç diğer amino asit cinslerine ait bulguların benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Fuentes vd. (2009) İspanya'nın üç farklı bölgesinden aldıkları kara midyenin; toplam amino asit içeriklerinin bölgesel olarak değişim gösterdiğini bu değerlerin sırası ile Galicia bölgesinde 5780 mg/100 g, Erbo Delta bölgesinde 7153 mg/100 g ve Valencia bölgesinde ise 3451,40 mg/100 g olduğunu ifade etmişlerdir. Benzer olarak Hwang vd. (2000) yaptıkları çalışmada midyelerin amino asit içeriğinin bölgesel farklılıklara göre değiştiği, bununda bölgelerdeki besin içeriği farklılığından kaynaklandığını belirtmişlerdir. İnsanların sağlıklı beslenmesinde her besin grubundan yeteri miktarda alması gerekmektedir. Proteini oluşturan amino asitlerinde günlük alınması gereken miktarları hususunda uluslararası sağlık kuruluşları tarafından tavsiyelerde bulunulmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü yetişkin bir bireyin günlük alması gereken lösin miktarını 14 mg ve lisin miktarını 30 mg amino asit/kg vücut ağırlığı olarak tavsiye etmektedir (WHO, 2002). 70 kg bir insan için günlük gereksinim duyulan lösin miktarı 980 mg, lisin miktarı ise 2100 mg'dır. Çalışmada 100 g midye etindeki ortalama lösin (347,16 mg/100 g) ve lisin (1693,13 mg) miktarları açısından tüketilen 150 g midye eti, bir bireyin ihtiyaç duyduğu günlük lösin ihtiyacının yarısında fazlasını, lisin miktarının ise tamamını karşılamaya yeterli olacaktır.

Midyeler düşük yağ içeriğine sahip olmalarından dolayı sağlıklı beslenme açısın-

dan önemli bir gıdadır. Önceki yaptığımız çalışmada midyelerin mevsim değişikliklerine bağlı olarak % 1,32 ile % 2,59 arasında yağ içeriğine sahip olduğu bulunmuştur (Koral ve Süleyman, 2016). Bu yağın içinde sağlıklı yaşamak için önemli yararları olan omega-3 yağ asitleri yüksek oranda bulunmaktadır. Bu oranlar cinsiyete, üreme dönemine, su sıcaklığına, mevsimlere ve yaşadığı bölgeye göre önemli değişimler gösterebilmektedir (Tufan vd., 2011).

Midyelerin  $\Sigma$ DYA miktarının mevsimsel olarak % 26,14 ile % 30,86 arasında değiştiği bulunmuş olup bu gruptaki en baskın yağ asitlerinin palmitik ve stearik asit olduğu gözlenmiştir.  $\Sigma$ DYA miktarları en yüksek yaz (% 30,86) en düşük ise ilkbahar (% 26,14) mevsiminde tespit edilmiştir. Palmitik asit en düşük ilkbahar, en yüksek ise yaz mevsiminde tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak sıcaklık ve buna bağlı olarak beslenmedeki artış ve beslendiği canlılardaki yağ asidi profili değişimi gösterilebilir. Dernekbaşı vd. (2015) Sinop bölgesindeki midyelerde  $\Sigma$ DYA miktarının % 25-27 arasında değiştiğini ve bu gruptaki en baskın yağ asidi olan palmitik asidin %17,70-20,86 oranında değiştiğini bildirmişlerdir. Fuentes vd. (2009) kara midyenin doymuş yağ asitlerinin bölgelere göre % 28,47-39,28 arasında değiştiğini bu gruptaki en baskın yağ asitlerinin palmitik ve stearik asitler olduğunu ve yağ asitlerindeki bu değişikliklerin toplam yağ oranı, mevsim ve çevresel koşullar gibi faktörlere bağlı olduğunu vurgulamışlardır. Benzer olarak midyeler üzerine yapılmış birçok çalışmada palmitik asidin  $\Sigma$ DYA grubunda en baskın yağ asidi olduğu belirtilmiştir (Orban vd., 2002; Vernocchi vd., 2007).

Çalışmada  $\Sigma$ TDYA miktarları % 14,23 ile % 15,39 arasında değişim göstermiş olup kış ve sonbahar mevsimlerinde bulunan değerler

daha yüksektir. Bu değişimin mevsimsel su sıcaklığı değişimine bağlı olarak besin profilinin değişimi neden olarak gösterilebilir. Literatürde kara midye üzerine yapılmış bir çok çalışmada benzer bulgulara rastlanmış ve  $\Sigma$ TDYA miktarı bizim çalışmamızda bulunduğumuz değerlerle benzer olarak % 13-18 aralığında rapor edilmiştir (Orban vd., 2002; Vernocchi vd., 2007; Fuentes vd., 2009; Dernekbaşı vd., 2015).

Yağ asidi grupları arasında en yüksek miktarlar  $\Sigma$ DYA grubunda bulunmuştur. Bu grupta en baskın yağ asitleri EPA (C20:5n3) ve DHA (C22:6n3)'dir.  $\Sigma$ ÇDYA miktarlarına mevsimsel bazda bakıldığında en düşük miktar yaz (% 45,66), en yüksek miktar ise ilkbahar (% 50,98) mevsiminde tespit edilmiştir. EPA ve DHA'da ise bu durum  $\Sigma$ ÇDYA seyrine benzer şekilde ilkbahar mevsiminde (% 15,28; %20,82) artış ve kış mevsiminde (% 10,65; 17,90) ise düşüş göstermiştir. Bunların nedeni olarak su sıcaklığının düşüşüne bağlı fizyolojik değişim ve beslendiği canlılardaki yağ asidi profilinin değişimleri olarak gösterilebilir. Orban vd. (2002) İspanyada kara midye üzerine yaptıkları çalışmada  $\Sigma$ DYA % 35-50 arasında değişim gösterdiğini ve bu gruptaki en baskın yağ asitlerinin EPA (%16-22) ve DHA (% 3-4,8) olduğunu ifade etmişlerdir. Dernekbaşı vd. (2015) Sinop bölgesinden elde ettikleri midyelerdeki  $\Sigma$ DYA miktarının % 52-55, bu gruptaki EPA ve DHA değerinin ise sırası ile % 8-13 ve % 14-19 arasında değiştiğini ifade etmişlerdir. Bu değerler bu çalışmadaki  $\Sigma$ ÇDYA, EPA ve DHA değerleri ile benzerlik göstermektedir.

Yağ asitlerinde tespit edilen  $\Sigma$ n3/ $\Sigma$ n6 oranının su ürünlerinin yağlarının kalitesi hakkında yorum yapmak için iyi bir indikatör olduğu ve bu oranın 1 veya 1,5 olması tavsiye edilmektedir (Pigott ve Tucker, 1990).

Çalışmada mevsimlere göre Bu oranlar sırası ile ilkbahar mevsiminde 6,46, yaz mevsiminde 7,11, sonbahar mevsiminde 6,06 ve kış mevsiminde ise 5,12 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda bütün mevsimlerde midyelerin yağ kalitesinin önerilen değerler seviyesinin çok üstünde olduğu görülmüştür. Benzer şekilde ΣÇDYA/ΣDYA oranı, balıklar-daki besin değerinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

İngiliz Sağlık Departmanı (HMSO) bu oranın 0,4'ün üzerinde olması gerektiğini önermektedir (HMSO, 1994). Kara midyede bu değerler 1,94 (ilkbahar) ile 1,47 (yaz) arasında değiştiği tespit edilmiş olup bu açıdan bakıldığında midyenin değerli bir besin olduğu tekrar ortaya çıkmaktadır. Günlük alınması önerilen Σn3 miktarı 450 mg'dır (Tufan vd., 2011). Çalışmada elde edilen verilere göre 100 g midyede mevsime bağlı olarak 532-581 mg Σn3 tespit edilmiştir. Günlük Σn3 ihtiyacın karşılanması için yaklaşık 80 gr midye eti yemek yeterli olacaktır.

Araştırma sonuçlarına göre kara midyenin amino asit ve yağ asidi açısından değerli bir gıda olduğu ve sağlıklı beslenme açısından tüketiminin yararlı olacağı düşünülmektedir. Ancak avcılık ve yetiştiricilik yapılacak ortamların iyi tespit edilmesi ve özellikle kirlilik kaynaklarından etkilenmeyen bölgeler seçilerek yapılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi BAP birimi tarafından 2014. 103. 03. 01 nolu proje ve ayrıca örnek temin kısmında ise 113Y148 nolu TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir.

### Kaynaklar

- Alpbaz, A. 1993. Bivalve and crustacean culture. E.Ü. Su Ür. Fak. Yay., İzmir: 26-82.
- Bligh, E.G. ve Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry, 37, 911-917.
- Dernekbaşı, S., Öksüz, A., Çelik, Y.M., Karayücel, İ. Ve Karayücel, S. 2015. The fatty acid composition of culture dmussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck 1819) in off shore longline system in the Black Sea. Journal of Aquaculture & Marine Biology, 2(6): 46-53.
- Erkan, N. 2013. Türkiye'de tüketilen su ürünlerinin omega-3 (ω-3) yağ asidi profilinin değerlendirilmesi. Journal of Fisheries Sciences.com 7(2):194-208. doi:10.3153/jfsc.com.2013020
- Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Escriche, I. ve Serra, J.A. 2009. Comparison of physico-chemical parameters and composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) From different Spanish origins, Food Chemistry 112, 95-302.
- HMSO, 1994. Her Majesty's Stationery Office, Department of Health. Nutrition aspects of cardiovascular disease (report on health and social subjects no 46) London, UK.
- Hwang, D.F., Chen, T.Y., Shiou, C.Y., and Jeng, S.S. 2000. Seasonal variation of free amino-acids and nucleotide-related compounds in the muscle of cultured Taiwanese puffer *Takifu gurubripes*. Fisheries Science, 66: 1123-1129.
- Koral, S. ve Süleyman, B. 2016. Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki kara midyenin (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) mevsimsel olarak biyokimyasal kompozisyonundaki değişimin belirlenmesi. Yunus Araştırma Bülteni, 3: 243-253. Doi: 10.17693/yunus.72851.
- Lauritzen L., Hansen H.S., Jorgensen M.H. ve Michaelsen K.F. 2001. The essentially of longchain n-3 fatty acids in relation to development and function and brain and retina. Progress in Lipid Research, 40: 1-94.
- Okumus, I. and Stirling, H.P. 1998. Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish Sealochs. Aquaculture, 159: 261-294.
- Orban, E., DiLena, G., Nevigato, T., Casini, I., Marzetti, A. and Caproni, R. 2002. Seasonal changes in

- meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chemistry*, 77: 57-65
- Pigott, G.M. and Tucker, B.W. 1990. Sea food effect of technology on nutrition, Marcel Dekker, Inc. New York. 331 p.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. 1987. Introduction to Biostatistics. 2nd ed., W.H. Freeman and Company, New York, 349 pp.
- Tufan, B., Koral, S. ve Köse, S. 2011. Changes during fishing seas on in the fat content and fatty acid profile of edible muscle, liver and gonads of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) caught in the Turkish Black Sea, *International Journal of Food Science and Technology*, 46:800-810.
- Tufan, B., Koral S. ve Kose, S. 2013. The variations in proximate chemical composition and fatty acid profile in different parts of the thornback ray (*Raja clavata*) caught from Black Sea, Turkey. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22: 83-95.
- Turan, H., Kaya, Y. ve Sönmez, G. 2006. Balık etinin besin değeri ve insan sağlığındaki yeri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* 23: 505-508.
- URL-1, 2016. <http://www.turkomp.gov.tr/food/95?pf> (giriş 15 Eylül 2016).
- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S. ve Baygar, T. 2004. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4465, İstanbul: 4-45.
- Vernocchi, P., Maffei, M., Lanciotti, R., Suzzi, G. ve Gardini, F. 2007. Characterization of Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) harvested in Adriatic Sea (Italy). *Food Control*, 18: 1575-1583.
- Weihs, J.L., Posati, L.P., Anderson, B.A. ve Exler, J. 1975. Lipid conversion factors for calculating fatty acid contents of foods, *Journal of the American Chemists' Society*, 54: 36-40.
- WHO, 2002. Protein and amino acid requirements in human nutrition. WHO Technical Report Series No: 935. Geneva, Switzerland, 284 pp.