

Journal of Food and Health Science



Journal of Food and Health Science

E- ISSN 2149-0473

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

© 2015-2017 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

is published in one volume of four issues per year by

www.ScientificWebJournals.com

Contact e-mail: jfhs@scientificwebjournals.com and ozkanozden@scientificwebjournals.com

Aims and Scope

“**Journal of Food and Health Science**” publishes peer-reviewed articles covering all aspects of **Food and Health science** in the form of review articles, original articles, and short communications. Peer-reviewed open access journal publishes articles in **English** or **Turkish** language.

“**Journal of Food and Health Science**” do not charge (it’s free) any article submission or processing charges.

General topics for publication include, but are not limited to the following fields:

Food Science/Technology-Food Chemistry/Microbiology-Food Packaging/Packaging Materials/Migration-Food Safety/Hygiene/Quality Assurance/Control-Hazard/Risk Detection/Analysis/Management/Manufacturing Practices-Genetically Modified Food-Functional Foods/Dietary Supplements-Nutrition and Child Development/Nutrition in Pregnancy/Nutrition and Age-Nutrition and Cancer/Nutrition and Chronic Diseases-Food Allergen/Chemical Contaminants-Population and Demographic transitions in Nutrition/Social Determinants of Nutrition-Nutrient Data/Bioavailability/Trace Elements-Human Nutrition and Health Sciences/Epidemiology/Micronutrients-Energy/Metabolism/Physical Activity/Exercise/Sport Nutrition-Public Health/Diet Selection/Obesity/Food Poisoning and Outbreaks/Therapies-Public Health Governance/Food Security/Nutrition Policies-Clinical Nutrition

Chief Editor:

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Co Editor in Chief:

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN,

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Cover Photo:

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Editorial Board:

Prof. Dr. Haluk ANIL

University of Bristol, Faculty of Medical and Veterinary Sciences, England

Prof. Dr. Ali AYDIN

University of Istanbul, Faculty of Veterinary Medicine,
Food Hygiene and Technology Department, Turkey

Prof. Dr. Bhesh BHANDARI

University of Queensland, Faculty of Science, Australia

Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR

University of Abant İzzet Baysal, Faculty of Engineering and Architecture,
Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Cem ÇETİN

Süleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Turkey

Prof. Dr. Gürhan ÇİFTÇİOĞLU

University of Istanbul, Faculty of Veterinary Medicine,
Food Hygiene and Technology Department, Turkey

Prof. Dr. Frerk FELDHUSEN

Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Rostock, Germany

Prof. Dr. Carsten HARMS

Applied Univ. Bremerhaven, Bremerhavener Institute of Biological Information Systems, Germany

Prof. Dr. Fahrettin GÖĞÜŞ

University of Gaziantep, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ

Istanbul Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Esra İBANOĞLU

University of Gaziantep, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Herbert W. OCKERMAN

Ohio State University, Department of Animal and Food Sciences, USA

Prof. Dr. Abdullah ÖKSÜZ
University of Necmettin Erbakan, Faculty of Health Sciences, Turkey

Prof. Dr. Ayşe Emel ÖNAL,
University of Istanbul, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Public Health, Turkey

Prof. Dr. Peter RASPOR
University of Primorska, Faculty of Health Sciences, Institute for Food, Nutrition and Health, Slovenia

Prof. Dr. Hamzah Mohd. SALLEH
International Islamic University Malaysia, Department of Biotechnology Engineering
Faculty of Engineering / International Institute for Halal Research & Training (INHART), Malaysia

Prof. Dr. Zdzislaw E. SIKORSKI
Gdańsk University of Technology, Faculty of Chemistry, Department of Food Chemistry,
Technology, and Biotechnology, Poland

Prof. Dr. Krzysztof SURÓWKA
University of Agriculture, Faculty of Food Technology, Poland

Prof. Dr. Muhittin TAYFUR
University of Başkent, Faculty of Health Sciences, Turkey

Prof. Dr. Aydın YAPAR
University of Pamukkale, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Turkey

Prof. Dr. Hasan YETİM
University of Erciyes, Department of Food Engineering, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Joko Nugroho Wahyu KARYADI
Gadjah Mada University, Faculty of Agricultural Technology, Indonesia

Dr. Alaa El-Din A. BEKHIT
University of Otago, Department of Food Science, New Zealand

Dr. Rene' E SCOTT
Texas Woman's University, Nutrition and Food Science, Visiting Professor, USA

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

Journal abbreviation: J Food Health Sci

© 2015-2017 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

Vol. 3 Issue 3 Page 82-131 (2017)

Tablo of Contents/İçerik

DETERMINATION OF FATTY ACIDS IN MAIZE OIL USING UV-VIS SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRIC TECHNIQUES / Pages: 82-89

Fatih Kahrıman

EXTRACTION, CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HYDROXYAPATITE FROM SEABASS AND SEABREAM SCALE / Pages: 90-96

Yunus Alparslan, Tuba Baygar, Taçnur Baygar

KNOWLEDGE LEVELS AND ATTITUDES OF UNIVERSITY STUDENTS ABOUT GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS AND FOODS: BITLIS EREN UNIVERSITY EXAMPLE / Pages: 97-108

Seda Oğur, Aziz Aksoy, Zülküf Yılmaz

VARIOUS REMOVAL METHODS OF SOME PESTICIDE RESIDUES IN FRUITS AND VEGETABLES / Pages: 109-116

Fikret Pazır, Funda Turan

MOLECULAR PROFILE OF ORAL PROBIOTIC BACTERIA TO BE USED WITH FUNCTIONAL FOODS / Pages: 117-131

Rafiq Gurbanov, Fatih Yıldız

ORIGINAL ARTICLE/ORİJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

MISIR YAĞINDA YAĞ ASİTLERİNİN UV-VIS SPEKTROSKOPİSİ VE KEMOMETRİK YÖNTEMLER YARDIMIYLA TESPİT EDİLMESİ

Fatih Kahrıman ORCID ID: [0000-0001-6944-0512](https://orcid.org/0000-0001-6944-0512)

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Received: 26.12.2016

Accepted: 21.03.2017

Published online: 25.03.2017

Corresponding author:

Fatih KAHRIMAN, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Çanakkale, Türkiye

E-mail: fkahriman@hotmail.com

Öz:

Bu çalışmada ham mısır yağında bazı yağ asitlerinin UV-Vis spektroskopisi yöntemiyle tespitinde kemometrik tekniklerin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmada 50 farklı mısır genotipine ait yağ numunesinde oleik asit, linoleik asit, toplam tekli doymamış yağ asitleri ile toplam çoklu doymamış yağ asitleri belirlenmiştir. Aynı yağ örneklerinin absorbans değerleri (190-320 nm arası) UV-Vis spektrofotometre kullanılarak kayıt edilmiştir. Ham spektrumlar (200-300 nm arası) ve düzleştirme yapılmış spektral veri kullanılarak kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS), ve çoklu doğrusal regresyon (MLR) metotlarına göre tahmin modelleri oluşturulmuştur. Bu modellerde PLS ile tam spektrum (200-300 nm arası), Ardışık Projeksiyon Algoritması-Çoklu Doğrusal Regresyon (SPA-MLR) ile seçilmiş dalga boyları ve Rekabetçi Uyarlamalı Yeniden Ağırlıklandırılmış Örnekleme-Kısmi En Küçük Kareler (CARS-PLS) ile seçilmiş dalga boyu aralıkları kullanılmıştır. Modelleme çalışmaları Matlab 7.0 programında libPLS ve SPA paketleri yardımıyla gerçekleştirilmiş ve her bir özellik için altışar ayrı model geliştirilmiştir. Araştırma sonuçları; oluşturulan modellerde dalga boyu seçimi ve spektral verinin düzleştirilmesi ile tahmin gücünün önemli şekilde arttığını göstermiştir. Sonuç olarak UV-Vis spektroskopisi kullanarak mısır yağında yağ asitleri içeriğinin etkili dalga boyu seçim yöntemleri kullanılarak güvenilir şekilde tespit edilebileceği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Absorbans, Dalgaboyu, Spektral önışlem, Regresyon

Abstract:

DETERMINATION OF FATTY ACIDS IN MAIZE OIL USING UV-VIS SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRIC TECHNIQUES

In this study, it was aimed to investigate the effect of chemometric techniques on the detection of some fatty acids in crude maize oil by UV-Vis spectroscopy. In the study, oleic acid, linoleic acid, total polyunsaturated fatty acids and total polyunsaturated fatty acids were determined on the oil samples of 50 different maize genotypes. The absorbance values (190-320 nm) of the same oil samples were recorded using a UV-Vis spectrophotometer. Prediction models were constructed according to Partial Least Squares Regression (PLS), and Multiple Linear Regression (MLR) methods using raw and smoothed spectral data. In these models, full spectrum (between 200-300 nm), selected wavelengths with SPA-MLR and selected wavelengths with CARS-PLS were used. Modeling studies were performed using libPLS and SPA packages in Matlab 7.0 and six separate models were developed for each dependent variable. Results showed that the estimation power increases significantly with the selection of the effective wavelengths and smoothing the spectral data in the generated models. As a result, it has been understood that the content of fatty acids in maize oil can be reliably detected by using UV-Vis spectroscopy using effective wavelength selection methods.

Keywords: Absorbance, Wavelength, Spectral pretreatment, Regression

Giriş

Mısır yağlık bir bitki olmamasına karşın, gerek Dünya’da gerekse ülkemizde ham yağ üretimi ve tüketim değerleri bakımından önemli bir bitkidir. Temel olarak katbonhidrat kaynağı olan bu bitki, insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Pajic, 2007). Mısır yağı yüksek oranda doymamış yağ asitleri ve düşük oranda doymuş yağ asiti bulundurmaktadır (Zai ve Gao, 2001). Bu yönleriyle beslenme açısından istenilen özelliklere sahip bitkisel yağlar içerisinde yer almaktadır. Diğer taraftan yüksek E vitamini içeriği sağlık açısından da arzu edilen özelliklerinden birisidir. Mısır yağının Türkiye’de yağ açığını kapatmada önemli bir potansiyeli vardır (Öz ve Kapar, 2007). Mısır yağı aynı zamanda Türkiye’de tüketim sıralamasında ilk üç yağdan birisidir (Yayar ve Bal, 2007).

Mısır yağının kalitesi yağın büyük kısmını oluşturan yağ asitleri kompozisyonu ile ilişkilidir. Gerek ıslah çalışmalarında gerekse rutin ürün kontrol analizlerinde bu yağ asitlerinin tespitine gerek duyulmaktadır. Bu analizler standart olarak gaz kromatografisi (GC) sisteminde analiz edilmektedir. Ancak bu cihazda analiz maliyetleri oldukça yüksektir. Bu nedenle hem yağ hem de diğer endüstriyel ürünlerin bileşimini pratik şekilde tespitine imkan veren yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Spektroskopik teknikler bu amaçla kullanılacak alternatif yöntemler içerisinde yer almaktadır. UV-Vis spektroskopisi hemen her laboratuvarındaki temel cihazlar içerisinde yer almaktadır. Bu cihaz kullanılarak farklı ürünlerde yağ asitleri, pigment içerikleri gibi kantitatif özelliklerin yanı sıra, örneklerin kalitatif ayrımını amaçlayan çeşitli araştırmalar yürütülmüştür. Zavadski vd. (2007) biyodizel örneklerinde karışım oranlarını UV-Vis spektroskopisi kullanarak belirlemiştir. Upstone (2010) UV-Vis spektroskopisi kullanarak 220-500 nm arasında alınan ölçümlerle ağırtabilme endeksi bozulması (DOBI) yanı sıra karoten içeriğinin ve diğer katkı maddelerinin de analiz edilebileceğini bildirmiştir. UV-Vis spektroskopisi zeytinyağında oksidasyon durumunun testi için K232 ve K270 dalga boylarındaki absorpsiyon değerlerinden yararlanılmaktadır. Kongbonga vd. (2011) farklı bitkisel yağların elde edilmiş biçimlerine göre (refine, soğuk ekstraksiyon, sıcak ekstraksiyon) sınıflandırma amacıyla floresans spektroskopisinden yararlanmıştır. Dumancas vd. (2011) Zeytinyağı ve ayçiçek yağında oleik, linoleik ve linolenik asitlerin asetil klorid/perklorik asit uygulamasının ardından

kemometrik yöntemler yardımıyla başarılı şekilde tespit edilebileceğini bildirmiştir.

Spektroskopik veriler kullanılarak yapılan araştırmalarda veri analizinde farklı yöntem ve tekniklerden yararlanılmaktadır. Önceleri spesifik bir dalga boyundaki değişimden yola çıkarak tahmin modeli oluşturmaya yönelik olan basit küre yöntemlerine alternatif olarak spektral verilerin analizinde çok değişkenli tahmin modellerinden yararlanılmaya başlanmıştır. Bu modellerden en yaygın olarak kullanılan teknikler çoklu doğrusal regresyon (MLR) ve en küçük kısmi kareler regresyonu (PLSR) teknikleridir (Fülöp ve Hancsok 2009, Egesel ve Kahrıman, 2012). MLR ile PLSR temel olarak benzer regresyon analiz teknikleridir. Ancak en önemli farkları PLSR’de tüm değişkenlerin modele tahminleyici olarak dâhil edilmesinin mümkün olması, MLR’de ise örnek sayısından daha az sayıda tahminleyici değişkenin modele dâhil edilebilmesidir. Bu teknikler uygulanmadan önce spektral veride bulunan gürültü ve baseline kaymaları gibi istenmeyen etkilerin ortadan kaldırılmasını içeren ön-işlemler (spectral pretreatment) uygulanmakta sonrasında bağımlı değişkeni en iyi şekilde tahminlemeye imkân veren dalga boyları seçilmektedir. Ön işlemlerden yaygın olarak kullanılan teknikler, düzleştirme (smoothing), offset düzeltme (offset correction), detrend (detrending), çarpımsal dağılım düzeltmesi (multiplicative scatter correction), standart normal değişim (standard normal variate), türev düzeltme (derivative correction), dalgaboyu dönüşümü (wavelet transformation), ortogonal sinyal düzeltmesi (orthogonal signal correction), net analit yeniden işleme (net analyte reprocessing) yöntemleridir (Wang vd., 2015). Söz konusu bu işlemlerin modele ait tahmin gücüne önemli bir etkisi vardır. Ön işlemlerin yanı sıra spektral tekniklerin kullanıldığı model geliştirme çalışmalarında kullanılmak üzere dalgaboyu seçimi için yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir. Ardışık Projeksiyon Algoritması (Successive Projections Algorithm:SPA), Regresyon Katsayıları (RC), Yükleme Değerleri (Loading Weights:LA), Genetik Algoritmalar (Genetic Algorithms:GA), CARS, İlgisiz Değişken Eliminasyonu (Uninformative Variable Elimination:UVE) yaklaşımlarıdır (Wang vd., 2015). Bu yaklaşımlardan popüler olan iki teknik, Ardışık Projeksiyon Algoritması (SPA) ve Rekabetçi Uyarlamalı Yeniden Ağırlıklandırılmış Örneklem (CARS) yöntemleridir. Bu tekniklerin uygulamada yaptıkları iş aynı olsa da uygulamada

farklı seçim sonuçları verebilmektedir. Yapılan literatür taramasında farklı ön işlem ve kemometrik teknikleri karşılaştıran çeşitli araştırmalara rastlanmış (Araujo vd. 2001; Fernandes vd., 2011; Kong vd., 2012; Wójcicki vd., 2015), ancak mısırdaki yağ asitlerinin tespitinde UV-Vis spektroskopisinden elde edilen verilerle oluşturulan modellerde bu tekniklerin etkinliği hakkında bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu noktadan hareketle hem UV-Vis spektroskopisinde alınan ölçümlere dayalı çok değişkenli modellerde kullanılan spektral verinin ve kemometrik uygulamaların etkisinin ortaya konulmasının yararlı olacağı düşünülmüştür.

Bu çalışmanın amacı mısır yağında oleik asit, linoleik asit, toplam tekli doymamış yağ asitleri (Σ MUFA) ve toplam çoklu doymamış yağ asitlerinin (Σ PUFA) UV-Vis spektroskopisi ile tespitinin mümkün olup olmadığını araştırmak ve farklı kemometrik uygulamaların tahmin gücüne olan etkisini ortaya koymaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada materyal olarak 50 farklı mısır genotipine ait yağ örnekleri kullanılmıştır. Söz konusu genotipler Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış materyallerin yanı sıra Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri bölümündeyürütülen ıslah çalışmalarında oluşturulan deneysel hibritler ve ebeveynleri içermektedir.

Çalışmada kullanılan örnekler ilk olarak laboratuvar tipi değirmende (Fritsch pulverisette, Germany) 0.5 mm elek çapında öğütülmüştür. Öğütülen örnekler soğuk ekstraksiyona tabi tutularak ham yağları çıkarılmıştır. Bu amaçla yaklaşık her bir genotipten 50 gr öğütülmüş örnek erlene konularak 100 ml dietil eter eklenmiştir. Bir gece boyunca +4 °C'de tutulan örnekler whatman filtre kağıdından süzülerek eter+yağ karışımları elde edilmiştir. Her örneğin ham yağları döner evaporatörde 40 °C vakum altında çözücünden ayrılmıştır. Ham yağlar cam vialler içerisine alınarak çalışmanın diğer aşamalarında kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Ham yağ örneklerinden spektrum almak amacıyla ham yağ örneklerinden 16 µl örnek teflon kapaklı cam tüpe alınmış ve üzerine 10 ml n-heksan eklenmiştir. Birkaç saniye vorteksledikten sonra bu örnekten 3 ml kuvartz küvete konularak tek ışın yollu UV-Vis spektrofotometrede (PG Instruments, England) 190-1100 nm arası her bir nm'de

absorbans değeri kaydedilmiştir. Spektrum alınırken her örnekten önce saf n-heksan bulunduran kuvartz küvet ile baseline sıfırlaması yapılmıştır. Her örnekte absorbans ölçümü iki kez tekrara edilerek kayıt altına alınmıştır. Absorbans dosyalarının izlenmesi ve kaydı için UV-Vis spektroskopi cihazına bağlı bilgisayara kurulan UVWin 5.0 programından (PG Instruments, İngiltere) yararlanılmıştır. Bu program kullanılarak her bir örneğe ait spektrumda düzleştirme (smoothing) yapılmıştır. Ham absorbans dosyaları ve düzeltilmiş absorbans dosyaları ayrı gruplar halinde birleştirilerek Microsoft Office Excel 2010 programına aktarılmıştır. Birleştirilen veriler model geliştirme amacıyla kullanılmıştır. Model geliştirme çalışmalarında spektral veride yüksek salınım bulunan 190-200 nm arası ile 300 nm'den sonra pik bulunmaması sebebiyle yalnızca 200-300 nm arası veri kullanılmıştır.

Ham yağ örneklerinden yağ asiti metil esterlerin (FAME) oluşturulması amacıyla yaklaşık 75 mikrolitre yağ 10 ml n-hexan bulunan santrifüj tüpüne konulmuştur. Üzerine 0.5 ml 2 N KOH-Metanol çözeltisi eklendikten sonra hafifçe çalkalanmıştır. Örnekler bir saat süre ile oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Her örnekten 2 ml'lik üst faz kromatografi vialine alınarak analizlerde kullanılmıştır. Örneklerin bu değişkenler bakımından içerik tayinleri gaz kromatografisi-alev iyonizasyon dedektörü (GC-FID) (Shimadzu, Japonya) cihazında HP-88 (Agilent, USA) kolon kullanılarak tespit edilmiştir. Analizlerde enjektör bloğu sıcaklığı 250°C, dedektör sıcaklığı 280°C olarak ayarlanmıştır. Split modda (70:1) yapılan enjeksiyonda 1 mikrolitre örnek enjekte edilmiştir. Analiz programı; kolon başlangıç sıcaklığı 150°C, 10°C/dakika artışla 230°C ve bu sıcaklıkta 30 dk bekleme şeklinde uygulanmıştır. Analiz sonucunda örneklerden elde edilen kromatogramlardaki piklerin kalitatif ayrımı 37 bileşenlik FAMEMix (Supelco, America) standardının alıkonulma zamanlarına göre tespit edilmiştir. Örneklerin oleik ve linoleik asit içerikleri ilgili piklerin toplam pik alanına oranı şeklinde hesaplanırken, toplam MUFA ve toplam PUFA içeriği bu bileşenleri oluşturan yağ asiti metil esterlerine ait piklerin toplam pik alanı içerisindeki payı olarak hesaplanmıştır.

Model geliştirme ve doğrulama işlemleri Matlab 7.0 programında gerçekleştirilmiştir. Model geliştirme amacıyla her bir özellik için 6 ayrı veri işleme+model geliştirme kombinasyonu denenmiş-

tir. Daha önce Excel dosyası olarak hazırlanan absorbans verileri ham (Şekil 1a) ve düzleştirilmiş (Şekil 1b) olarak 200-300 nm arası tüm verinin kullanıldığı kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS) kullanılarak temen modellerin yanı sıra, PLS yöntemi ile birleştirilmiş Rekabetçi Uyarlamalı Yeniden Ağırlıklandırılmış Örnekleme (PLS-CARS) ve çoklu doğrusal regresyon (MLR) ile birleştirilmiş Ardışık Projeksiyon Algoritması (SPA-MLR) yöntemlerinden yararlanılmıştır. Matlab programında model geliştirme ve doğrulama için CARS-PLS yöntemi lipPLS paketi (Li vd., 2014), SPA-MLR yöntemi ise (Galvão vd., 2007) tarafından MLR-SPA paketi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan yöntemlerle ilgili detaylı bilgiler paketlere atfedilen çalışmalarda mevcuttur. Örnek sayısı düşük olduğundan iç doğrulama ile geliştirilen modellerin güvenilirlikleri değerlendirilmiş ve kalibrasyon ve doğrulama setinden elde edilen R^2 , tahmine ait hata kareler ortalaması (RMSEP), r değerleri dikkate alınarak model güvenilirlikleri karşılaştırılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

İncelenen özellikler bakımından örneklere ait tanımlayıcı istatistikler Tablo 1'de sunulmuştur. Araştırmaya materyal teşkil eden örneklerin oleik asit ortalamaları %30.87, linoleik asit ortalaması %52.66, toplam MUFA ortalaması %31.22 ve toplam PUFA ortalaması %54.27 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan örneklerin oleik asit %29.14 ile %32.60, linoleik asit içerikleri %49.38 ile %55.60, toplam MUFA %29.85 ile %32.60, toplam PUFA %51.50 ile %57.05 arasında değişim göstermiştir. Söz konusu değerler farklı mısır genotiplerinin yağ asidi içeriklerinin ele alındığı çalışmalarda belirtilen sınır değerler içerisinde (Dunlap vd., 1995; Egesel vd., 2011). Bununla birlikte örneklere ait yağ asidi değişimlerinin nispeten düşük olduğu söylenebilir (Tablo 1).

Araştırmada veri ön işleme ve kemometrik yöntem kombinasyonlarına göre oluşturulan tahmin modellerine ilişkin RMSEP ve R^2 değerleri Tablo 2'de sunulmuştur. Çalışmada yağ asitleri için oluşturulan modeller içerisinde gerek tahmin gücü gerekse tahmin sapması bakımından en güvenilir modellerin düzleştirilmiş absorbans verileri kullanılarak SPA-MLR yöntemi ile geliştirilen modeller olduğu görülmektedir (Tablo 2). Öyle ki oleik asit için bu yöntemde referans ve tahmin değerleri arasındaki R^2 değer, 0.99 bulunmuş ve diğer kombinasyonlardan daha düşük sapma (RMSEP=0.235) gözlemlenmiştir. Benzer şekilde linolenik asit ($R^2=0.90$, RMSEP=1.613), toplam MUFA içeriği ($R^2=0.99$, RMSEP=0.444) ve toplam PUFA içeriğinde de ($R^2=0.96$, RMSEP=0.941) düzleştirilmiş absorbans verileri ile SPA-MLR yöntemi kullanılarak geliştirilen modellerin daha başarılı sonuçlar verdiği dikkat çekmektedir (Şekil 2a, Şekil 2b, Şekil 2c, Şekil 2d). Diğer ön işleme ve kemometrik yöntem kombinasyonlarından elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, 200-300 nm arasında tüm dalga boylarının modele dâhil edilmesi durumunda dahi SPA-MLR yöntemi ile seçilen dalga boyları ile kurulan modellere göre başarılı tahminleme yapılamayacağı görülmektedir. Diğer taraftan CARS metoduna dayalı olarak dalga boyu seçimi yapılması halinde özellikle ham absorbans verileri kullanılarak oluşturulacak modellerde tahmin güçlerinin dikkate değer şekilde düştüğü gözlemlenmiştir (Tablo 2). Bu bulgular dalga boyu seçim yöntemlerinde kullanılan algoritmaların farklı sonuçlar verdiğini ortaya koymaktadır. Elde ettiğimiz bulgular dalga boyu seçim yöntemlerinin etkinliği bakımından önceki araştırma bulgularına (Fernandes vd., 2011) benzerlik göstermektedir.

Tablo 1. İncelenen yağ asitleri (%) bakımından örnek setine ait tanımlayıcı istatistikler.

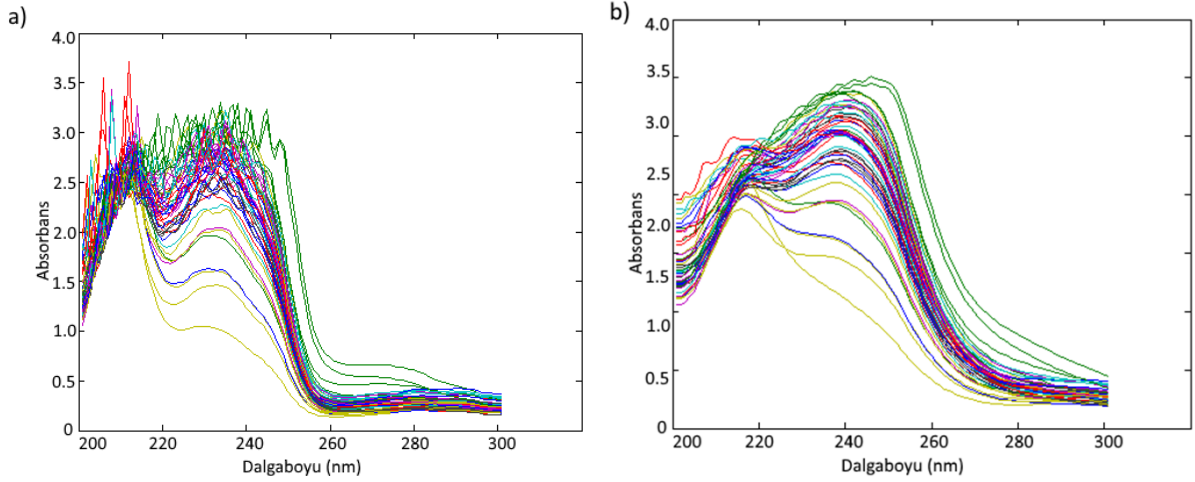
Table 1. Descriptive statistics of sample set for fatty acids (%) studied

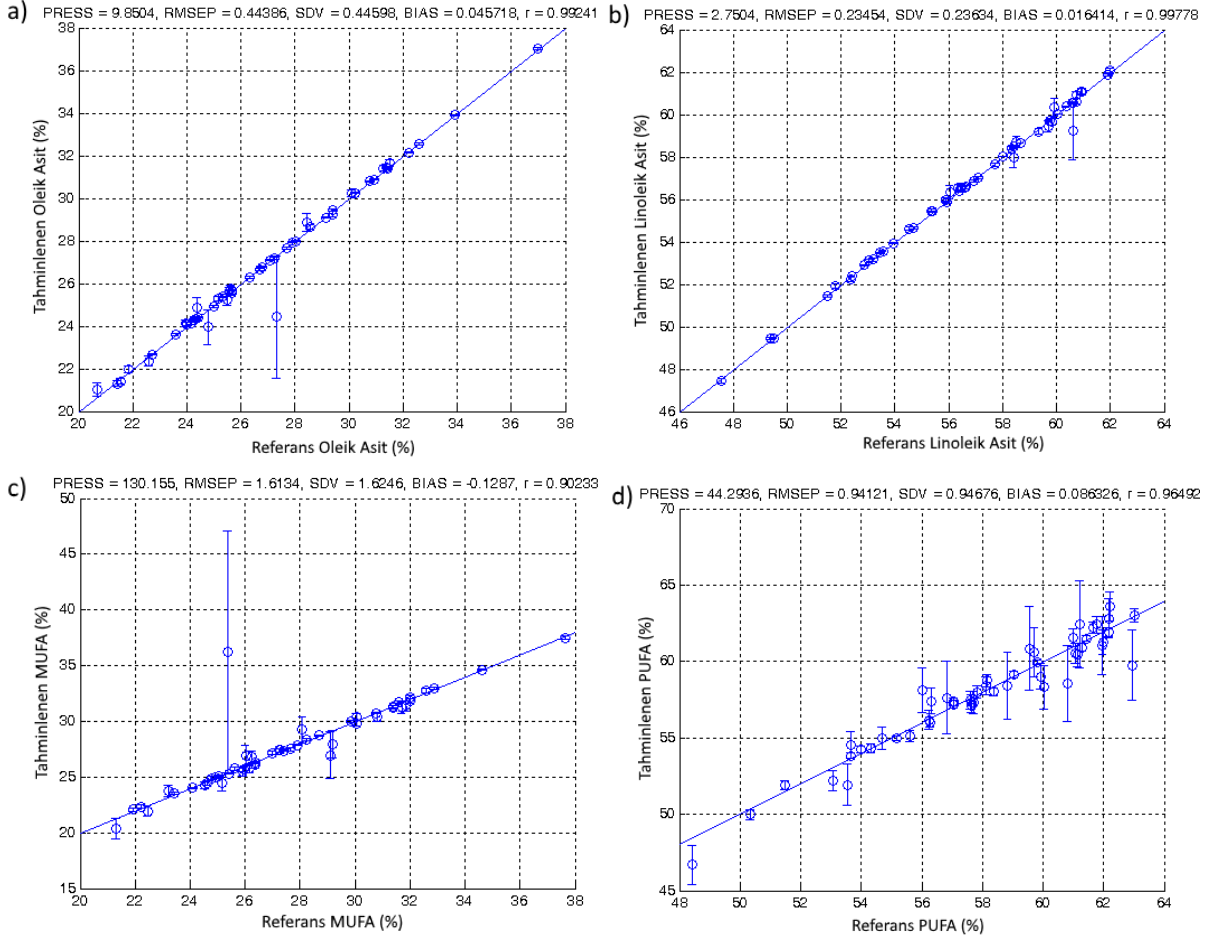
Yağ Asidi	Ortalama Yağ Asidi Miktarı	En Düşük Değer	En Yüksek Değer	Standart Sapma
Oleik Asit	30.87	29.14	32.60	3.59
Linoleik Asit	52.66	49.38	55.94	3.55
MUFA	31.22	29.85	32.60	3.55
PUFA	54.27	51.50	57.05	3.48

Tablo 2. İncelenen yağ asitleri için geliştirilen tahmin modellerine ait R² ve RMSEP değerleri**Table 2.** The R² and RMSEP values of prediction models developed for the fatty acids studied

Önişlem	Kemometrik Yöntem	Oleik Asit (%)		Linoleik Asit (%)	
		R ²	RMSEP	R ²	RMSEP
Ham Abs	PLS-Tüm	0.81	1.539	0.79	1.623
Düz. Abs	PLS-Tüm	0.76	1.749	0.72	1.874
Ham Abs	PLS-CARS	0.54	2.404	0.68	1.994
Düz. Abs	PLS-CARS	0.70	1.958	0.80	1.559
Ham Abs	SPA-MLR	0.96	1.233	0.55	2.946
Düz. Abs	SPA-MLR	0.99	0.235	0.90	1.613
Önişlem	Kemometrik Yöntem	Toplam MUFA (%)		Toplam PUFA (%)	
		R ²	RMSEP	R ²	RMSEP
Ham Abs	PLS-Tüm	0.81	1.511	0.80	1.554
Düz. Abs	PLS-Tüm	0.76	1.726	0.72	1.813
Ham Abs	PLS-CARS	0.46	2.593	0.55	2.301
Düz. Abs	PLS-CARS	0.80	1.558	0.77	1.645
Ham Abs	SPA-MLR	0.91	1.778	0.60	2.771
Düz. Abs	SPA-MLR	0.99	0.444	0.96	0.941

Düz.Abs: Düzleştirilmiş absorbanlar.

**Şekil 1.** UV-Vis spektroskopide 200-300 nm arasında alınan ham (a) ve düzleştirilmiş (b) absorbanlar**Figure 1.** The raw (a) and smoothed (b) absorbance values taken between 200-300 nm with a UV-Vis spectroscopy



Şekil 2. Oleik asit (a), linoleik asit (b), toplam MUFA (c) ve toplam PUFA (d) için düzleştirilmiş spektrumlar ve SPA-MLR yöntemi ile geliştirilen modellerin iç doğrulama sonuçları

Figure 2. The internal validation results of the models developed by the smoothed spectra and SPA-MLR method for oleic acid (a), linoleic acid (b), total MUFA (c) and total PUFA (d)

Çalışmada uygulanan ön işlem ve kemometrik metot kombinasyonlarına göre oluşturulan modellerde kullanılan dalga boyu sayıları Tablo 3'te sunulmuştur. Tüm dalga boylarının kullanıldığı modellerde toplam 101 dalga boyu bağımsız değişken olarak modellere dâhil edilmiştir. Hem CARS-PLS hem de SPA-MLR kombinasyonlarında seçilen dalga boyu sayısı düzleştirilmiş absorbans verileri ile oluşturulan modellerin hemen hepsinde ham absorbans verileri ile oluşturulan modellerden daha yüksektir (Tablo 3). Yalnızca toplam MUFA içeriği için SPA-MLR kombinasyonunda değişken sayısı ham ve düzleştirilmiş verilerle oluşturulan modelde eşit bulunmuştur. Bu bulgular düzleştirme uygulamasının modele dâhil edilen etkili dalga boyu sayısının artmasına neden olduğuna işaret etmektedir. Ham absorbans verilerinde gürültü ve diğer nedenlerle etkisi maskelenen dalga boylarının düzleştirme sonrasında net şekilde tespit edilebildiği de söylenebilir. Diğer taraftan

SPA-MLR yönteminin düzleştirilmiş verilere uygulanması ile seçilen dalga boyu sayısının CARS-PLS kombinasyonundan yüksek olduğu dikkat çekmiştir. SPA-MLR yönteminde oleik asit, linoleik asit ve toplam MUFA içeriği için 48, toplam PUFA içeriği için 47 dalga boyu bağımsız değişken olarak modellere dâhil edilirken, CARS-PLS yönteminde aynı özellikler için sırasıyla 20, 25, 20 ve 14 dalga boyu modellere dâhil edilmiştir. Bu sonuçtan anlaşılacağı üzere etkili dalga boyu seçiminde kullanılan algoritmanın modele dâhil edilen değişken sayısına önemli bir etkisi vardır. Her ne kadar bu araştırma modellerdeki dalga boylarının incelenen yağ asitleri ile ilişkisine odaklanılmamış olsa da, düzleştirilmiş spektral veride 220 nm ile 240-260 nm arasındaki bölgelerde bazı piklerin varlığı dikkat çekmektedir (Şekil 1b). Dumancas vd. (2011) asetil klorid / perklorik asit karışımı ile muamele ettikleri yağ örneklerinden aldıkları spektrumlarda oleik asitin 368 ve 442 nm'deki

piklerle, linoleik asitin 376 ve 426 nm'deki piklerle karakterize edilebileceğini belirtmiştir. Çalışmamızda bu alanlardaki spektral veride pik elde edilememiştir. Temel nedeni ise söz konusu araştırmada kimyasal ön işlem uygulanması ve yağ asitlerinin bu nedenle yapısal değişimlere maruz kalması olabilir. Nitekim farklı ham yağ örneklerinden alınan sepktrumlarda absorpsiyon 245-385

nm arasında yoğun bir absorpsiyon olduğu ve bu durumun $-C=O$ ve $-C=C$ fonksiyonel gruplarıyla ilişkili olan $n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri nedeniyle bu piklerin oluştuğu bildirilmiştir (Meghea vd., 2006). Söz konusu ilişkilerin daha detaylı çalışmalarla araştırılmasında yarar vardır.

Tablo 3. İncelenen yağ asitleri ilgili oluşturulan modellerde tahminleyici değişken olarak kullanılan dalga boyu sayıları

Table 3. The number of wavelengths used as predictor variables in the related models of fatty acids studied

Önişlem	Model	Oleik Asit	Linoleik Asit	Toplam MUFA	Toplam PUFA
Ham Abs	PLS-Tüm	101	101	101	101
Düz. Abs	PLS-Tüm	101	101	101	101
Ham Abs	PLS-CARS	6	15	6	9
Düz. Abs	PLS-CARS	20	25	20	14
Ham Abs	SPA-MLR	47	2	48	2
Düz. Abs	SPA-MLR	48	48	48	47

Düz. Abs: Düzleştirilmiş absorpsiyon.

Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, mısır yağında bir kısım yağ asitlerinin UV-Vis spektroskopisi ve uygun kemometrik yöntem kullanılarak tahmin edilebileceği anlaşılmıştır. Kemometrik yöntemlerden elde edilen sonuçlara göre, SPA ile etkin dalga boylarının seçimi ve basit doğrusal regresyon yöntemi ile modelleme yöntemlerinin birlikte kullanılması durumunda mısır yağında oleik asit, linoleik asit, toplam tekli doymamış yağ asitleri ve toplam çoklu doymamış yağ asitlerinin oransal miktarlarının başarılı şekilde tespit edilebildiği görülmüştür. Çalışmada tüm dalga boylarının (200-300 nm arası) modele dâhil edilmesinin oluşturulan modellerde tahmin başarısını olumsuz etkilediği görülmüştür. Bu durum etkisiz ya da incelenen özellikle ilişkili olmayan dalga boylarının model performansına olumsuz etki ettiğini göstermiştir.

Araştırmanın materyal ve ekipman yönünden bazı sınırlılıkları mevcuttur. Çalışma 50 farklı genotipe ait yağ örnekleri ile yürütüldüğü için oluşturulan modellerin dış doğrulaması yapılamamıştır. Diğer taraftan çalışmada tek ışın yollu bir spektrofotometre kullanılmıştır. İleriki çalışmalarda bu çalışmanın sınırlılıklarını ortadan kaldırabilecek müdahalelerin yapılması ile daha başarılı sonuçlar elde edilebilir. Bu konuda yapılacak çalışmalarda örnek sayısının artırılması ve dış doğrulama ile oluşturulan modellerin değerlendirilmesinin yanı sıra

çift ışık yollu cihazların kullanılması daha hassas sonuçlar elde edilmesine imkan verebilir. Ayrıca yağ örneklerine çeşitli önlemler (kimyasal uygulama gibi) yapılarak ışık ile örneğin etkileşimini artırmak yağ asiti metil esterlerinin tespitinde daha başarılı sonuçlar sunabilir.

Kaynaklar

- Araujo, M.C.U., Saldanha, T.C.B., Galvao, R.K.H., Yoneyama, T., Chame, H.C. & Visani, V. (2001). The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis. *Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems*, 57, 65–73.
- Dumancas, G.G., Muriuki, M., Purdie, N. & Reilly, L. (2011). Simultaneous spectrophotometric and chemometric determination of oleic, linoleic, and linolenic fatty acids in vegetable oils, Proceedings of the World Congress on Engineering 2011 Vol III WCE 2011, July 6 - 8, 2011, London, U.K.
- Dunlap, F.G., White, P.J., Pollak, L.M. & Brummd, T.J. (1995). Fatty acid composition of oil from adapted, elite corn breeding materials. *AOCS*, 72, 981-987.
- Egesel, C.O., Kahrıman, F. & Gül, M.K. (2011). Discrimination of maize inbreds for kernel quality traits and fatty acid composition by

- a multivariate technique. *Acta Scientiarum Agronomy Maringá*, 33, 613-620.
- Egesel C.Ö. & Kahrıman F. (2012). Determination of quality parameters in maize by NIR reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural Sciences*, 18, 43-53.
- Fernandes, D.D.S., Gomes, A.A., da Costa, G.B., da Silva, G.W.B. & Véras, G. (2011). Determination of biodiesel content in biodiesel/diesel blends using NIR and visible spectroscopy with variable selection. *Talanta*, 87, 30-34.
- Fülöp, A. & Hancsok, J. (2009). Comparison of calibration models based on near infrared spectroscopy data for the determination of plant oil properties. *Chemical Engineering Transactions*, 17, 445-450.
- Galvão, R.K.H., Araújo, M.C.U., Silva, E.C., José, G.E., Soares, S.F.C. & Paiva, H.M. (2007). On the use of Cross-validation for the selection of spectral variables using the successive projections algorithm, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18, 1580-1584.
- Kong, W., Zhao, Y., Liu, F., He, Y., Tian, T. & Zhou, W. (2012). Fast analysis of superoxide dismutase (SOD) activity in barley using visible and near infrared spectroscopy, *Sensors*, 12, 10871-10880.
- Kongbonga, Y.G.M., Ghalila, Onana, M.B., Majdi, Y., Lakhdar, Z.B., Mezlini, H. & Sevestre-Ghalila, S. (2011). Characterization of vegetable oils by fluorescence spectroscopy, *Food and Nutrition Sciences*, 2, 692-699.
- Li H.-D., Xu Q.-S. & Liang Y.-Z. (2014). libPLS: An integrated library for partial least squares regression and discriminant analysis. Peer J PrePrints 2:e190v1, source codes available at www.libpls.net.
- Meghea, A., Borlescu, C., Badea, N. & Demetrescu, I., (2006). Skin protective materials for human operators working in industrial environment, World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006 Volume 14 of the series IFMBE Proceedings pp 3322-3325.
- Öz, A. & Kapar, H. (2007). Mısırın yağ içeriği ve yağ sanayi açısından önemi. 1.Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu, 28-31 Mayıs 2007, Samsun, 388-391.
- Pajic, Z. (2007). Breeding of maize types with specific traits at the Maize Research Institute, Zemun polje. *Genetika*, 39, 169-180.
- Upstone S., (2010). Measurement of quality of crude palm oils used in margarine production by UV/Visible Spectroscopy, Perkin Elmer.
- Wang, H., Peng, J., Xie, C., Bao, Y. & He, Y. (2015). Fruit quality evaluation using spectroscopy technology: A Review, *Sensors*, 15: 11889-11927.
- Wójcicki, K., Khmelinskii, I., Sikorski, M., Caponio, F. & Paradiso, V. M. (2015). Spectroscopic techniques and chemometrics in analysis of blends of extra virgin with refined and mild deodorized olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117, 92-102.
- Yayar, R. & Bal, H.S.G. 2007. Forecasting of corn oil price in Turkey. *Journal of Applied Science Research*, 3, 706-712.
- Zai, S.W. & Gao, J. (2001). Nutritional value and developing prospect of high-oil corn. *Cereal Feed Ind.* 6, 41- 42.
- Zawadzki, A., Shrestha, D.S. & He, B. (2007). Biodiesel blend level detection using ultraviolet absorption spectra. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 50, 1349-1353.

ORIGINAL ARTICLE/ORIJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

EXTRACTION, CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HYDROXYAPATITE FROM SEABASS AND SEABREAM SCALE

Yunus Alparslan¹ ORCID ID: [0000-0002-8833-996X](https://orcid.org/0000-0002-8833-996X), Tuba Baygar² ORCID ID: [0000-0002-1238-3227](https://orcid.org/0000-0002-1238-3227),
Taçnur Baygar¹ ORCID ID: [0000-0001-8070-0653](https://orcid.org/0000-0001-8070-0653)

¹Mugla Sitki Kocman University, Faculty of Fisheries, Kotekli, Mugla, Turkey

²Mugla Sitki Kocman University, Research Laboratories Center, Kotekli, Mugla, Turkey

Received: 14.02.2017

Accepted: 18.04.2017

Published online: 21.05.2017

Corresponding author:

Tuba BAYGAR, Mugla Sitki Kocman University, Research Laboratories Center, Kotekli, TR-48000 Mugla, Turkey

E-mail: tubaygar@mu.edu.tr

Abstract:

The present study investigates the characterization of hydroxyapatite (HAp) extracted from seabass and seabream scales as by-product. Fish scales obtained from a seafood processing company were used to extract natural HAp powder. HAp powder was extracted by alkaline heat treatment of fish scales and the synthesized HAp (FS-HAp) was extensively characterized with Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD) analysis. Calcium to phosphate ratio of the HAp was confirmed by inductively coupled plasma (ICP) and elemental analysis of HAp were also carried out using energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS). The results of the characterization analysis were compared with commercial hydroxyapatite standard (CHAp) and it was clearly confirmed that the extracted FS-HAp exactly showed CHAp characteristics physicochemically which is used as biomaterial. However, well diffusion assay revealed out that synthesized hydroxyapatite showed no activity against *C. albicans*, *S. aureus* and *E. coli*. It was concluded that, instead of synthetic apatite, extracted FS-HAp presents a potential promising biomaterial as the raw materials are by-product which economically cheap and sustainable substances.

Keywords: Seafood Processing By-product, Fish Scale, Hydroxyapatite, Biomaterial

Introduction

There has been growing interest in developing bioactive synthetic ceramics that could closely mimic natural apatite characteristics. In recent years, environmental and economic conditions have raised concerns about the treatment and use of by-product. Fish by-product has tremendous unexploited potential for adding value. However, the use of fish by-product in foods and biochemical products for human consumption is still under intensive study in the aquaculture industry (Huang *et al.*, 2011). Hydroxyapatite (HAP), with a chemical formula of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, is one of constituent that had found in either in human bone or teeth and the major elements are including calcium and phosphorous. HAp is derived from natural materials such as fish bone (Jensen *et al.*, 1996; Ozawa and Kanahara, 2005) and fish scale (Mondal *et al.*, 2010; Zainon *et al.*, 2012), bovine sources (Sofronia *et al.*, 2014). Bovine and pork origins are often associated with disease transmission and religious sentiments (Gómez-Guillén *et al.*, 2011). Fish sources are presumably much safer, and the wide evolutionary gap between fish and humans suggests a low risk of disease transmission (Venkatesan *et al.*, 2015). The main by-product of the seafood processing industry is fish scales with a portion of 30-40 % of the total amount and managing those by-products is causing problems for the companies (Ozawa and Suzuki, 2002; Gumisiriza *et al.*, 2009). The Turkish seabass and seabream industry has been increasing production volumes recently, to the point where Turkey is now the world's major producer of seabass and also closing the gap on the Greek seabream sector (FAO, 2015). In 2015, total aquaculture amount of Turkey was 240334 tones while sea bream and sea bass production amounts were 51844 and 75164 tones, respectively (TUIK, 2015). There are lots of companies processing those species and marketing the processed fish so that the by-product amounts are gradually increase. Using by-products for creating a new bio-compatible material is an economical way to reduce the waste management costs and also provide a sustainable raw material. In this sense, fish-originated ceramics have a great potential for being bioactive media as they are environment-friendly materials (Ozawa and Kanahara, 2005). Therefore, this research aims to utilize the fish scales of sea bass and sea bream which have a great import and export capacity in Turkey.

Materials and Methods

Fish scale (FS) by-products was provided from a seafood processing company located in Aydın, Turkey which process sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) and sea bream (*Sparus aurata* L. 1758) with high import and export capacity. Commercial synthetic hydroxyapatite (CHAp) was purchased from Sigma-Aldrich (Switzerland). All other chemicals were reagent grade.

Extraction of Hydroxyapatites from Fish Scales

Scales of the fish were transferred to research laboratories and washed thoroughly in distilled water to remove the organic substances. Thereafter, scales were left to air dry in the laboratory conditions until dryness. Alkaline heat treatment method was used to obtain FS-HAp (Kongsri *et al.*, 2013). Dry scales was initially deproteinized with 0.1 M HCl and washed with distilled water for several times. The remaining proteins of scales were treated with 5% (w/v) NaOH, heated and stirred at 70 °C for 5 h. The obtained precipitate was washed with distilled water and dried at 60 °C. 50% (w/v) NaOH was added into the powder, heated up to 100 °C and stirred for 1 h. FS-HAp powder was washed with deionized water and then dried at 60 °C. Treated fish scales were subjected to calcinations at 800° C (NUVE, MF 120) for 1 h to synthesize HAp ceramics. The synthesized ceramics were milled with a mortar and sieved to obtain powder.

Characterization of FS-HAp Powder

Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectral Analysis

FT-IR characterization of the synthesized FS-HAp powder was performed by Fourier transform infrared spectroscopy (Thermo Scientific Nicolet iS10-ATR, USA) at a resolution of 4 cm^{-1} in KBr pellets and the spectra were recorded in the wavelength interval of 4000 and 400 nm^{-1} .

Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)

For taking the SEM images of the FS-HAp, a piece of powder was placed on specimen stub with double-sided adhesive carbon tape. Scanning electron microscopy study was performed on a JSM 7600F Field Emission Scanning Electron Microscope (JEOL, Japan) at an accelerating voltage of 15 kV. Elemental analysis of FS-HAp was also carried

out using energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS) (Oxford Instruments, UK) combined with SEM.

X-Ray Diffraction (XRD) Measurement

To examine the crystal structure of synthesized FS-HAp, X-ray diffraction (XRD) patterns were collected using Cu K α monochromatic radiation ($\lambda_{\text{Cu}} = 1.54018 \text{ \AA}$) at 40 kV/20 mA using continuous scanning 2θ mode on a X-ray diffractometer (Rigaku-SmartLab, Japan).

ICP-OES

In order to evaluate Ca/P molar ratio, inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) analysis was performed using a Perkin Elmer Optima 8000 Spectrometer (in house method). The sample (0.1–0.5 g) was weighted and 10 mL HCl (0.1 M) was added. After microwave digestion, the volume of the solution made up to 50 mL with distilled water. This aqueous solution was used to determine the Ca and P values (mg/L). Each assay was repeated two times and the results are presented as mean values.

Antimicrobial Activity

The antimicrobial activity of synthesized hydroxyapatite was tested against *Candida albicans* ATCC 10239, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 which were provided from Culture Collection of Mugla Sitki Kocman University (MUKK). *E. coli* and *S. aureus* strains were incubated at $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$ for 24–48 h, *C. albicans* was incubated at $30 \pm 0.1^\circ\text{C}$ for 24–48 h.

The antimicrobial activity of the synthesized hydroxyapatite was assayed by agar well diffusion method (NCCLS, 1993). Briefly, 20 milliliters of Mueller-Hinton Agar (Merck) sterilized and cooled to $45\text{--}50^\circ\text{C}$. After injecting 1000 μL microorganism cultures to sterile plates, media was distributed and mixed homogenously. Wells of 6-mm diameter were made on agar plates using a cork borer. 100 μL of hydroxyapatite solution (50 mg/mL dH $_2\text{O}$) was injected to the wells. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the zone of inhibition around the wells. Studies were performed in triplicate. Discs of ampicillin (10 μg), imipenem (10 μg) and nystatin (30 μg) were used as positive controls.

Results and Discussion

The obtained XRD spectra of FS-HAp have been compared with commercial HAp (CHAp). As shown in Figure 1, all the peaks corresponding to the FS-HAp (A) are close to the CHAp (B) in the spectra which emphasis that the proposed treatment process has produced clean and pure hydroxyapatite. Peaks were obtained at 2θ value of 25.9° , 31.84° , 32.98° , 34.12° , 39.84° , 46.76° , 49.54° corresponding to (002), (211), (300), (202), (310), (222), (213) planes, respectively. Well-resolved characteristic peak of highest intensity was obtained at 2θ value of 31.84° corresponding to 211 plane of HAp (Huang *et al.*, 2011; Panda *et al.*, 2014). Similar to Panda *et al.* (2014), crystallization of the FS-Hap powder has been also confirmed due to sharp peak intensity and well-resolved peaks in XRD pattern.

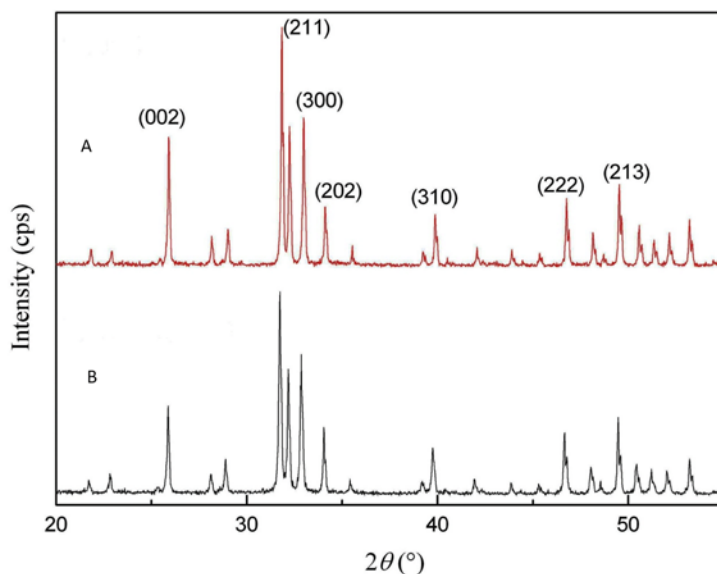


Figure 1. X-ray diffraction pattern of synthesized hydroxyapatite; A) FS-HAp and B) CHAp.

The broad patterns around (211) and (002) indicate low crystalline HAp phase (Sanosh *et al.*, 2009). This indicates a good result because low crystalline components may present an improved biodegradation behavior and are expected to be more metabolically active than the crystalline HAp (Bardhan *et al.*, 2011).

Formation of hydroxyapatite from fish scales are also confirmed by FT-IR spectroscopy. To make a comparative evaluation, FS-Hap and CHAp results are given in the same spectrogram in Figure 2. For FS-Hap, the bands located at 628, 599 and 567 cm^{-1} corresponds to asymmetric bending vibration of P-O band (Prabakaran *et al.*, 2005; Bardhan *et al.*, 2011). The strong peaks around 1043 cm^{-1} belong to asymmetric stretching mode of vibration of P-O bands of PO_4 tetrahedral (Mondal *et al.*, 2010). The medium sharp peak around 628 cm^{-1} is due to O-H bending deformation mode. Carbonate group (CO_3^{2-}) in the FTIR spectra was identified by intense bands at 1464 cm^{-1} (Stoch *et al.*, 2000). The band at approximately 3400 cm^{-1} corresponds to the O-H stretching of

nHA (Panda *et al.*, 2014). The band of carbonated group was at 1464 cm^{-1} . Similarly, there was a difference between HA Sigma and nHA salmon that carbonated groups were absent in the CHAp spectrogram (Venkatesan *et al.*, 2015).

SEM Images of the Synthesized HAp

The morphology of the obtained FS-Hap was checked by FE-SEM instrument (Figure 3). Images showed that the HAp particle size is $<1 \mu\text{m}$. The surface of the FS-Hap looks to be rough and exhibits a regular microscale spherical morphology. Similar observations were reported by Pon-On *et al.* (2016) and Muhammad *et al.* (2016) who also extracted HAp from fish scale.

The Ca/P molar ratio obtained by EDS is 1.70 for FS-HAp (Figure 4) and 1.61 for CHAp, which closely resembles the theoretical value of 1.67 (Mostafa, 2005). The high amount of carbon (C) is probably came from the double sided carbon tape and sodium (Na) is came from NaOH used for alkaline treatment.

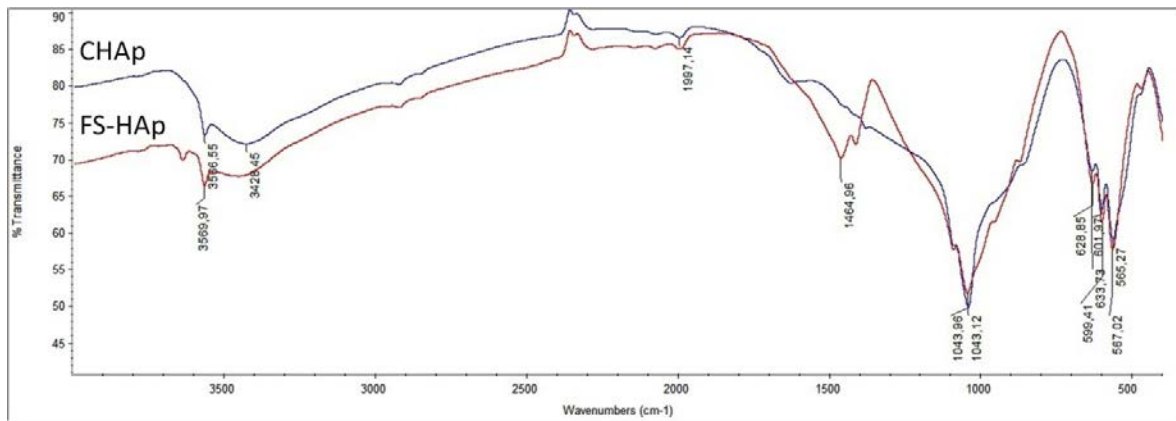


Figure 2. The fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) spectra of FS-Hap (red line) and CHAp (Black line).

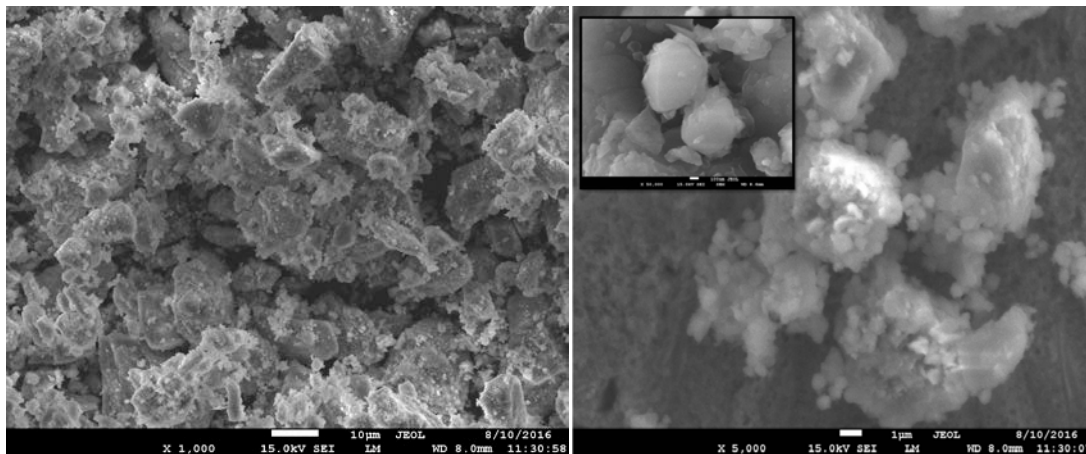


Figure 3. SEM images of FSHAp a) x1000, b) x5000 (small image on the left has x50.000 magnification)

The ICP-OES analysis demonstrated a Ca/P molar ratio of 2.18 ± 0.03 for FSHAp and 2.00 ± 0.02 for CHAp. On contrary to this work, Ca/P molar ratio obtained from ICP-OES is different from the EDS analysis results (Kongsri *et al.*, 2013). As the ratio is also high for CHAp, it can be concluded that ICP-OES analysis for this study does not clearly demonstrate the optimum Ca/P ratio. This might be caused by the different preparation technique for ICP-OES analysis, experience of the analyst or the microwave digestion conditions.

Biomaterials for medical applications should be evaluated with *in vitro* investigations of antimicrobial properties before clinical trials (Alt *et al.*, 2004). The antimicrobial activity of the synthesized hydroxyapatite was assessed by the well diffusion assay against human pathogenic strains including yeast, Gram-positive and Gram-negative bacteria. No zones of inhibition were observed for tested microorganisms (Figure 5).

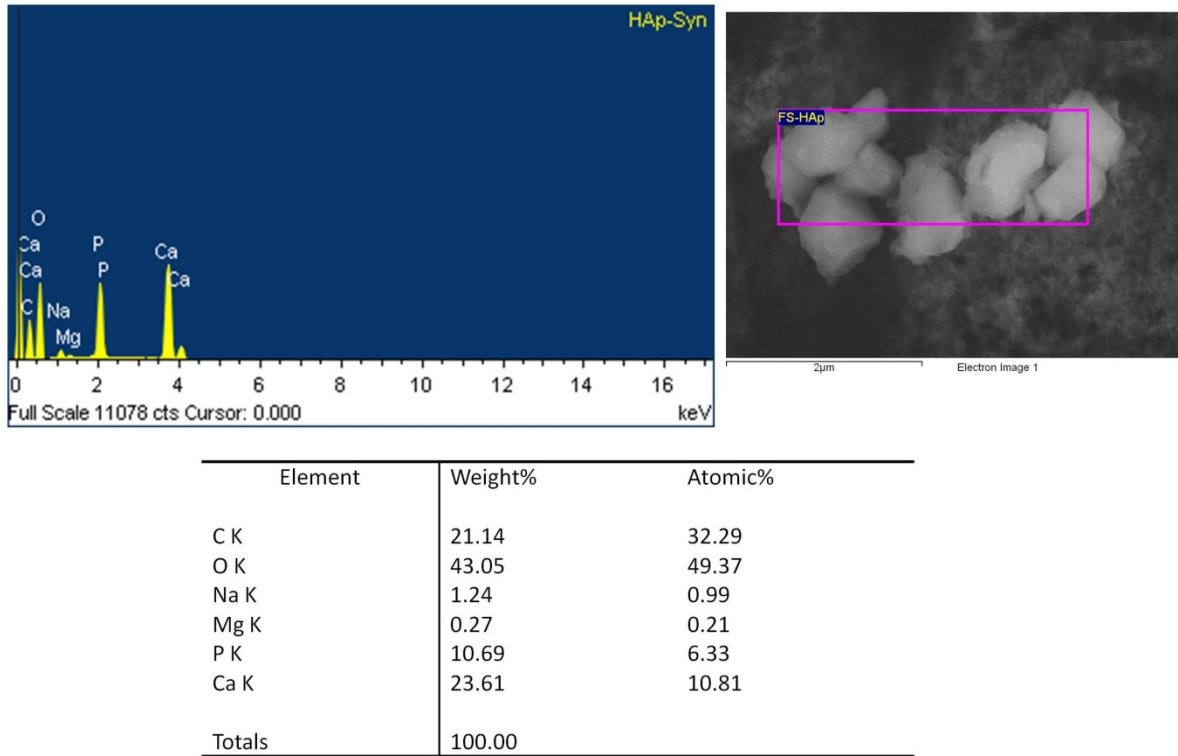


Figure 4. SEM-EDS results of FS-Hap

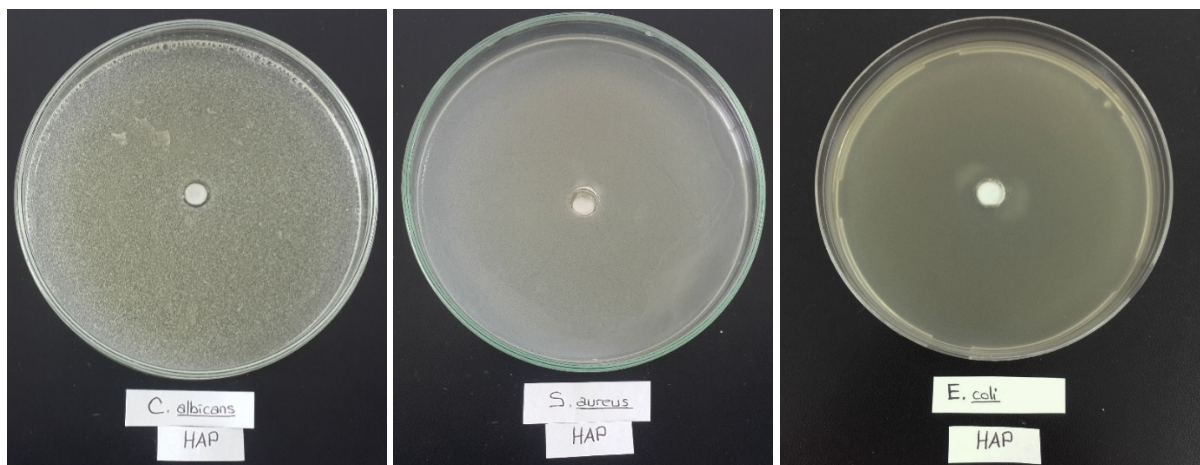


Figure 5. Agar well diffusion assay of fish scale-derived HAp against *C. albicans* (a), *S. aureus* (b) and *E. coli* (c).

Conclusions

In this study, the physicochemical characterization of HAp derived from sea bass and sea bream scale was investigated. The results of the obtained HAp were compared to synthetic HA which is commercially available. The characterizations reveal that the HAp extracted from fish scale has quite similarity to that synthetic HAp by its physicochemical features. Fourier transform infrared spectroscopy, XRD and EDS analyses indicated the crystalline and phase purity and of the obtained HAp powder. The SEM images of the fish scale-derived HAp show that microstructure form of the powder uniformly distributed and the particles have sub micrometer sizes. All characterization results compared with synthetic standard HAp and found to be nearly equivalent. As synthesized HAp exhibited no antimicrobial activity, it can be suggested that improving the antimicrobial activity of hydroxyapatite with new antibiotics or other antimicrobial agents will be useful for biomedical applications. It can be concluded that fish scales which are a high amount by-product of seafood processing companies may be regarded as an economical and accessible raw material for obtaining high quality HAp.

Acknowledgements

Authors would like to thank Agromey Food and Feed Industry & Trading Company (Aydın, Turkey) for providing fish scales.

References

- Alt, V., Bechert, T., Steinrücke, P., Wagener, M., Seidel, P., Dingeldein, E., Alt, V., Bechert, T., Steinrücke, P., Wagener, M., Seidel, P., Dingeldein, E., Domann, E. & Schnettler, R. (2004). In vitro testing of antimicrobial activity of bone cement. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(11), 4084-4088.
- Bardhan, R., Mahata, S. & Mondal, B. (2011). Processing of natural resourced hydroxyapatite from eggshell waste by wet precipitation method. *Advances in Applied Ceramics*, 110(2), 80-86.
- FAO, Globefish, (2015). Food and Agriculture Organization (FAO), Analysis and information on world fish trade, European Sea-bass and Gilthead seabream - March 2015, GLOBEFISH Market Reports, (<http://www.fao.org/in-action/globefish/market-reports/resource-detail/en/c/338048/>)
- Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., López-Caballero, M.A. & Montero, M.P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1813-1827.
- Gumisiriza, R., Mshandete, A.M., Rubindamayugi, M.S.T., Kansime, F. & Kivaisi, A. K. (2009). Nile perch fish processing waste along Lake Victoria in East Africa: Auditing and characterization. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 3(1), 013-020.
- Huang, Y.C., Hsiao, P.C. & Chai, H.J. (2011). Hydroxyapatite extracted from fish scale: Effects on MG63 osteoblast-like cells. *Ceramics International*, 37(6), 1825-1831.
- Jensen, S.S., Aaboe, M., Pinholt, E.M., Hjoerting-Hansen, E., Melsen, F. & Ruyter, I.E. (1996). Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 11(1), 55-66.
- Kongsri, S., Janpradit, K., Buapa, K., Techawongstien, S. & Chanthai, S. (2013). Nanocrystalline hydroxyapatite from fish scale waste: Preparation, characterization and application for selenium adsorption in aqueous solution. *Chemical engineering journal*, 215, 522-532.
- Mondal, S., Mahata, S., Kundu, S. & Mondal, B. (2010). Processing of natural resourced hydroxyapatite ceramics from fish scale. *Advances in Applied Ceramics*, 109(4), 234-239.
- Mostafa, N.Y. (2005). Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes. *Materials Chemistry and Physics*, 94(2), 333-341.
- Muhammad, N., Gao, Y., Iqbal, F., Ahmad, P., Ge, R., Nishan, U., Muhammad, N., Gao, Y., Iqbal, F., Ahmad, P., Ge, R., Nishan, U., Rahim, A., Gonfae, G. & Ullah, Z. (2016). Extraction of biocompatible hydroxyapatite from fish scales using novel approach of ionic liquid pretreatment. *Separation and Purification Technology*, 161, 129-135.

- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (1993). 'Approval standard M7-A3, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically', Villanova, PA, 1993.
- Ozawa, M. & Kanahara, S. (2005). Removal of aqueous lead by fish-bone waste hydroxyapatite powder. *Journal of Materials Science*, 40(4), 1037-1038.
- Ozawa, M. & Suzuki, S. (2002). Microstructural development of natural hydroxyapatite originated from fish-bone waste through heat treatment. *Journal of the American Ceramic Society*, 85(5), 1315-1317.
- Panda, N. N., Pramanik, K. & Sukla, L.B. (2014). Extraction and characterization of biocompatible hydroxyapatite from fresh water fish scales for tissue engineering scaffold. *Bio-process and Biosystems Engineering*, 37(3), 433-440.
- Prabakaran, K., Balamurugan, A. & Rajeswari, S. (2005). Development of calcium phosphate based apatite from hen's eggshell. *Bulletin of Materials Science*, 28(2), 115-119.
- Pon-On, W., Suntornsaratoon, P., Charoenphandhu, N., Thongbunchoo, J., Krishnamra, N. & Tang, I.M. (2016). Hydroxyapatite from fish scale for potential use as bone scaffold or regenerative material. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 183-189.
- Sanosh, K.P., Chu, M.C., Balakrishnan, A., Lee, Y.J., Kim, T.N. & Cho, S.J. (2009). Synthesis of nano hydroxyapatite powder that simulate teeth particle morphology and composition. *Current Applied Physics*, 9(6), 1459-1462.
- Sofronia, A.M., Baies, R., Anghel, E.M., Marinescu, C.A. & Tanasescu, S. (2014). Thermal and structural characterization of synthetic and natural nanocrystalline hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering: C*, 43, 153-163.
- Stoch, A., Jastrzębski, W., Brożek, A., Stoch, J., Szaraniec, J., Trybalska, B., & Kmita, G. (2000). FTIR absorption–reflection study of biomimetic growth of phosphates on titanium implants. *Journal of Molecular Structure*, 555(1), 375-382.
- Turkish Statistical Institute (TUIK), 2015, Fishery Statistics 2015. <https://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf> (accessed 02.05.2017)
- Venkatesan, J., Lowe, B., Manivasagan, P., Kang, K. H., Chalisserry, E. P., Anil, S., ... & Kim, S. K. (2015). Isolation and Characterization of Nano-Hydroxyapatite from Salmon Fish Bone. *Materials*, 8(8), 5426-5439.
- Zainon, I., Alwi, N.M., Abidin, M.Z., Haniza, H. M.Z., Ahmad, M.S. & Ramli, A. (2012). Physicochemical properties of hydroxyapatite extracted from fish scales. *Advanced Materials Research*, 545, 235-239.

ORIGINAL ARTICLE/ORİJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMALAR VE GIDALAR HAKKINDAKİ BİLGİ DÜZEYLERİ VE TUTUMLARI: BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ ÖRNEĞİ

¹Seda Oğur ORCID ID: [0000-0002-2041-0790](https://orcid.org/0000-0002-2041-0790), ²Aziz Aksoy ORCID ID: [0000-0002-9683-6691](https://orcid.org/0000-0002-9683-6691),

²Zülküf Yılmaz ORCID ID: [0000-0002-1343-1067](https://orcid.org/0000-0002-1343-1067)

¹Bitlis Eren Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Rahva Yerleşkesi, Merkez/Bitlis, Türkiye

²Bitlis Eren Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Rahva Yerleşkesi, Merkez/Bitlis, Türkiye

Received: 17.01.2017

Accepted: 18.04.2017

Published online: 21.05.2017

Corresponding author:

Seda OĞUR, Bitlis Eren Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Rahva Yerleşkesi, Merkez/Bitlis, Türkiye

E-mail: sdogur@beu.edu.tr

Öz:

Yürütülen çalışmada, 2015 yılının Şubat ayında, Bitlis Eren Üniversitesi'nde öğrenim gören 360 öğrencinin genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) hakkındaki genel bilgi düzeylerinin ve GDO'lu gıdalara karşı tutumlarının nasıl olduğunu tespit etmek amaçlanmıştır. Kesitsel araştırma olarak planlanan bu çalışmada öğrenciler tesadüfi örneklem yöntemiyle seçilmiştir. Veri toplama aracı olarak 9 soruluk ön bilgi formu ve GDO'lar hakkındaki genel bilgi düzeylerini ve GDO'lu gıdalara karşı tutumlarını değerlendirmeyi sağlayan 14 soruluk bir anket formu kullanılmıştır. Öğrencilerin %79.2'si Türkiye'de genetiği değiştirilmiş tohumlarla üretim yapılmasını doğru bulmamaktadır. Öğrencilerin cinsiyetleri ile "genetiği değiştirilmiş bir gıdayı tüketmekte bir sakınca görmem" ifadesine katılmaları arasındaki farkın anlamlı ($P<0.05$) ve kız öğrenciler arasında GDO'lu gıdaları tüketmek istemeyenlerin oranının (%79.5) erkeklere kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Öğrencilerin eğitim düzeyleri ile "Toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterince bilgilendirildiğini düşünüyorum." ifadesine katılmaları arasındaki farkın anlamlı olduğu ($P<0.05$), lisans öğrencilerinde bu ifadeye katılmayanların oranının ön lisans öğrencilerinden daha yüksek (%79.3) olduğu bulunmuştur. Yürütülen çalışma sonucunda öğrencilerin GDO'lar hakkındaki bilgi düzeyleri düşük, fakat GDO'lu gıdalara karşı hassasiyetle yaklaştıkları bulunmuştur. Konuyla ilgili eksik veya yanlış bilgilerin düzeltilmesi amacıyla ön lisans ve lisans eğitim programlarının düzenlenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Genetiği değiştirilmiş organizma, GDO'lu gıdalar, Üniversite öğrencisi, Bilgi, Tutum

Abstract:

KNOWLEDGE LEVELS AND ATTITUDES OF UNIVERSITY STUDENTS ABOUT GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS AND FOODS: BITLIS EREN UNIVERSITY EXAMPLE

In the conducted study it has been aimed to determine that the general knowledge level about genetically modified organisms (GMOs) and their attitudes towards food products with GMOs of 360 students studying at Bitlis Eren University in February 2015. Students have been selected by random sampling method in this study which has been planned as cross-sectional study. A preliminary information form of 9 questions and a questionnaire form of 14 questions which provides to evaluate general knowledge levels of they about GMOs and their attitudes towards foods with GMOs was used as a data collection tool. 79.2% of the students do not find it appropriate to make production with genetically modified seeds in Turkey. Significant difference ($P<0.05$) were found between gender of the students and participation in the expression "I did not mind eating a genetically modified food" and it was seen that among female students, the proportion of those (79.5%) who did not want to consume foods with GMOs was found to be higher than that of men. Significant difference ($P<0.05$) were determined between education level of the students and participation in the expression "I think that society is well informed about genetically modified foods" and who did not participate in this expression were found to be higher (79.3%) in undergraduate students than pre-license students. As a result of the conducted study it has been found that the knowledge levels of the students are low about GMOs, but they are sensitive to foods with GMOs. It is considered that it may be useful to organize pre-license and undergraduate training programs in order to correct incomplete or inaccurate informations related to the subject.

Keywords: Genetically modified organism, Foods with GMOs, University student, Knowledge, Attitude

Giriş

Biyoteknolojik yöntemlerle canlıların sahip olduğu gen dizilimleri ile oynanarak, mevcut özelliklerinin değiştirilmesi veya canlılara yeni özellikler kazandırılması ile elde edilen organizmalara “genetik olarak değiştirilmiş organizmalar”, kısaca “GDO’lar” denilmektedir (Beyatlı, 2000). Aktarılmış gen transgen olarak tanımlanırken yeni elde edilen ürünler de “Genetik Olarak Modifiye Edilmiş Organizmalar (GMO)”, “Gen Aktarımlı Organizmalar” ya da “Transgenetik Ürünler” olarak isimlendirilmektedirler (Meseri, 2008; Kaynar, 2009; Nofouzi, 2013).

GDO’lar gıda sektöründe farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Besin içeriğini zenginleştirmeye yönelik biyoteknolojik çalışmalar ile A vitamini yönünden zengin pirinç (golden rice) üretimi, transgenik yöntemlerle balıklardaki büyüme hormonu salgısının artırılarak et miktarını çoğaltma çalışmaları (Dawe ve ark., 2002; Lessick ve ark., 2002; Kulaç ve ark., 2006; Topal, 2009), alerjik reaksiyonlara sebep oldukları belirlenen bazı gıdaların içindeki alerjik proteinlerin çıkartılarak veya yapılarının değiştirilerek bu gıdaların neden olduğu reaksiyonların azaltılması, etkin aşılama yöntemleri için patojen mikroorganizmaların çeşitli proteinlerini sentezleyen genlerin muz, patates, marul, tütün gibi bitkilere aktarılması, tedavi amacıyla laktoz intoleransı olan bireyler için laktoz içeriği azaltılmış süt üretilmesi bazı örneklerdir. Bunların dışında, meyvelerin olgunlaşma sürecinin değiştirilmesi, depolama ve raf ömrünün uzatılması, tadının artırılması gibi çeşitli uygulamalar da bulunmaktadır. Ayrıca, tarımda biyoteknolojiden daha çok yararlanılmasıyla herbisit ve pestisit gibi tarım ilaçlarının kullanımının azalması sonucu sağlık sorunlarının ve çevre kirliliğinin azalacağı düşünülmektedir (Bredahl ve ark., 1998; Frewer ve ark., 2003; Goldstein ve ark., 2005; Kulaç ve ark., 2006; Yorulmaz ve Ay, 2006).

GDO’lar teknolojik açıdan faydalı olarak görülmelerine rağmen; doğa ve insanlar üzerinde oldukça zararları olduğu da ileri sürülmektedir. GDO’larla ilgili en önemli riskler; genetik çeşitliliğin kaybı ile bitkilerin tek tip hale gelmesi, doğadaki biyolojik çeşitliliğin azalması, gıdalar yoluyla alınan DNA’nın insan hücrelerine taşınması ve gelecek nesillere aktarılması endişelerine neden olan toksik veya alerjik etkilerinin olmasıdır (WHO, 2005; Bayraç ve ark., 2007). Bazı araştırmalarda yabancı otlardan kurtulmak için kullanılacak ilaçların toprak kirlenmesi gibi birçok çevre sorununa yol açacağı, ayrıca GDO’ların biyoterör

ajanı olarak kötü amaçlı kullanımı gibi önemli bir potansiyel risk taşıdıkları vurgulanmıştır (Tiryaki, 2007). GDO’ların ekosistemdeki tür dağılımına etki ederek dengeleri bozabileceği ve bu nedenle küresel bir çevre ve gıda krizine yol açabileceği belirtilmiştir (Hails, 2000; Altıntaş, 2004; Çelik ve Turgut Balık, 2007).

Dünya genelinde 125 milyon hektar GDO ekimi yapılmaktadır ve ülke bazında en fazla ekim yapan ülke ABD’dir. En çok ekimi yapılan ürünler arasında soya, mısır ve pamuk yer almaktadır (Meseri, 2008).

GDO’lara karşı organik tarımcılar, çevreci örgütler, tüketici örgütleri, bazı politikacılar, tarımsal üretici örgütleri, küreselleşme karşıtları ve bazı akademisyenlerin olumsuz görüşleri bulunurken; bazı üretici firmalar, tarımsal üreticiler, bilimsel kurumlar, uzman kamu kuruluşları ile bazı ülkelerdeki tüketiciler ise desteklemektedir (Tiryaki, 2007).

Günümüzde her geçen gün önemi artan GDO’lar hakkında yapılan çalışmalarda, birçok ülkede insanların bu konu hakkındaki bilgi ve tutumlarında büyük farklılıklar olduğu bulunmuştur (Magnusson ve Hursti, 2002; Pardo, 2002; Huang ve ark., 2006; Lan, 2006; Februhartanty ve ark., 2007; Christoph ve ark., 2008).

Türkiye’deki tüketiciler de bugüne kadar GDO’lu gıdalar hakkında pek fazla bilgi sahibi değil iken; çeşitli örgütler, çiftçiler ve gönüllü kuruluşlar, üniversiteler ile yerel ve ulusal basının çeşitli organları aracılığıyla GDO’lu gıdaları Türkiye gündemine taşımaktadırlar. Bu şekilde gerek çevre, ekolojisi ve sağlık riskleriyle; gerekse getireceği olumlu yanlarıyla üreticisi ve tüketicisiyle birlikte milyonlarca insanın GDO kavramı ile tanışmasını sağlamışlardır (Tiryaki, 2007). Ülkemizde de tüketicilerin (Gülbay ve ark., 2006; Demir ve Pala, 2007; Özdemir ve Duran, 2010; Özmert ve Yaman, 2011; Hıdıroğlu ve ark., 2013; Haspolat Kaya ve ark., 2013; Taş ve ark., 2015), üniversite öğrencilerinin (Ergin ve ark., 2008; Çabuk Özer ve ark., 2009; Koçak ve ark., 2010; Özdemir ve ark., 2010; Durukan ve ark., 2011; Kaya ve ark., 2012; Türker ve ark., 2013; Abacı ve Abacı, 2014; Adana ve ark., 2014; Ergin ve ark., 2015; Yılmaz ve ark., 2015) ve lise öğrencilerinin (Özel ve ark., 2009; Gürbüzöğlü Yalmanlı, 2016) GDO’lar ve GDO’lu gıdalar hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumlarının belirlenmesi amacıyla farklı anket formları kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Yeterli sayıda çalışma yapılmış gibi görünse de toplum tarafından GDO konusuna gereken önemin verilmediği, halen tüketicilerin GDO'lar ile ilgili yanlış veya eksik bilgilerinin olduğu görülmektedir.

Bu yüzden yürütülen araştırmada Bitlis Eren Üniversitesi öğrencilerinin GDO'lar hakkındaki genel bilgi düzeylerinin ve GDO'lu gıdalara karşı tutumlarının nasıl olduğunu tespit etmek ve böylece konuyla ilgili yeni bir farkındalık yaratmak amaçlanmıştır. Ayrıca, araştırmaya katılan öğrencilerin GDO'lar hakkındaki genel bilgi düzeyleri ve GDO'lu gıdalara karşı tutumları öğrencilerin ve ebeveynlerinin demografik özelliklerine göre de değerlendirilmiştir.

Materyal ve Metot

Evren ve örneklem: Kesitsel araştırma olarak planlanan bu çalışmaya başlamadan önce Bitlis Eren Üniversitesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan izin alınmıştır. Araştırmanın evreni olan Bitlis Eren Üniversitesi'nde, 2015 yılının Şubat ayında farklı lisans ve ön lisans bölümlerinde ve farklı sınıflarda öğrenim görmelerine özen gösterilerek, 360 öğrenci tesadüfi örneklem yöntemiyle seçilmiştir.

Veri toplama araçları: Araştırmada veri toplama aracı olarak kendisi ve ebeveyniyle ilgili 9 soruluk ön bilgi formu ve genetiği değiştirilmiş organizmalar hakkındaki bilgi düzeylerini ve GDO'lu gıdalara karşı tutumlarını (3'lü Likert skalası ile) değerlendirmeyi sağlayacak 14 soruluk bir anket formu kullanılmıştır (Koçak ve ark., 2010).

İstatistiksel analizler: Elde edilen veriler IBM SPSS 20® programında sıklık testiyle değerlendirildikten sonra öğrencilere ve ebeveynlerine ait genel bilgilere göre GDO'larla ilgili sorulara verdikleri yanıtlar ve GDO'lu gıdalar ile ilgili ifadelerle katılma durumları arasında anlamlı fark olup olmadığı Pearson ki-kare testi ile değerlendirilmiş, $P < 0.05$ düzeyi istatistik açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Araştırmaya katılan öğrencilerin ve ebeveynlerinin bazı demografik özelliklerinin dağılımı Tablo 1'de sunulmuştur.

Öğrencilerin %37.5'inin lisans, %62.5'inin ön lisans düzeyinde öğrenim gördüğü ve %56.9'unun

kız, %43.1'inin erkek olduğu bulunmuştur. Öğrencilerin %37.5'i 1. sınıfta, %38.6'sı 2. sınıfta, %20.0'si 3. sınıfta ve %3.9'u 4. sınıfta öğrenim görmektedir. Araştırma kapsamına alınan öğrencilerin çoğunluğunu Beslenme ve Diyetetik (%14.2), Lojistik (%13.1) ve Yaşlı Bakımı (%11.9) bölümünde okuyan öğrenciler oluşturmaktadır. Öğrencilerin %46.9'unun öğrenimleri süresince yurttan kaldığı, %28.1'inin ise ailesiyle yaşadığı ve yaş ortalamalarının (2015) 21.28 ± 2.04 olduğu belirlenmiştir.

Öğrencilerin %47.8'inin annesinin okur-yazar olduğu, %52.2'sinin babasının ilköğretim mezunu olduğu ve %44.4'ünün ailesinin il merkezinde yaşadığı tespit edilmiştir (Tablo 1).

Araştırmaya katılan öğrencilerin GDO'lar hakkındaki genel bilgi düzeylerinin dağılımları Tablo 2'de sunulmuştur.

Öğrencilerden %83.3'ü GDO terimini duyduğunu ve bunların %37.2'si TV/radyodan duyduğunu, %9.7'si ise anketten duyduğunu belirtmiştir (Tablo 2). Tıp fakültesi öğrencileriyle yürütülen çalışmada prelinik dönem öğrencilerin %82.3'ü, klinik dönem öğrencilerin %92.1'i GDO terimini duyduğunu ifade etmiştir (Koçak ve ark., 2010). Öğrencilerin GDO terimini duyma oranının yüksek olması, medyada GDO konusunun işlendiğini, tartışıldığını göstermektedir. GDO terimini TV/radyodan duyduğunu beyan edenlerin oranı Koçak ve ark., (2010)'nın çalışmasında %67.8, Türker ve ark., (2013)'nin çalışmasında %74.3, Ergin ve ark., (2015)'nin çalışmasında %63.4; anketten duyanlar ise Koçak ve ark., (2010)'nin çalışmasında %8.4, Türker ve ark., (2013)'nin çalışmasında %9.2, Ergin ve ark., (2015)'nin çalışmasında %3.4, Abacı ve Abacı (2014)'nin çalışmasında %4.4 olarak bulunmuştur. Üniversite öğrencileriyle yürütülen diğer çalışmalarda katılımcıların %54.6'sı (Yılmaz ve ark., 2015) ve %62.7'si (Abacı ve Abacı, 2014) GDO hakkındaki bilgiyi televizyondan edindiğini belirtmiştir. Çabuk Özer ve ark., (2009) yaptığı çalışmada, katılımcıların GDO konusunda en çok televizyonu bilgi kaynağı olarak seçtikleri (%66.7) bildirilmiştir. Huang ve ark., (2006)'nın yapmış oldukları çalışmada GDO'lu gıdayı duyanların Çin'de %67, ABD'de %77, Avrupa Birliği ülkelerinde %77-92, Japonya'da ise %87 olduğu ifade edilmiştir.

Tablo 1. Öğrencilerin ve ebeveynlerinin bazı demografik özelliklerinin dağılımı**Table 1.** Distribution of students's and their parents's some demographic characteristics

		S	%
Cinsiyet	Kız	205	56.9
	Erkek	155	43.1
Eğitim Düzeyi	Lisans	135	37.5
	Ön Lisans	225	62.5
Sınıf	1. Sınıf	135	37.5
	2. Sınıf	139	38.6
	3. Sınıf	72	20.0
	4. Sınıf	14	3.9
	Lojistik (Ön Lisans)	47	13.1
	Beslenme ve Diyetetik (Lisans)	51	14.2
	Sosyal Hizmet (Lisans)	34	9.4
Bölüm	Yaşlı Bakımı (Ön Lisans)	43	11.9
	Otomotiv Teknolojisi (Ön Lisans)	10	2.8
	Bankacılık ve Sigortacılık (Ön Lisans)	21	5.8
	Laborant ve Veteriner Sağlık (Ön Lisans)	33	9.2
	Maliye (Ön Lisans)	19	5.3
	Hemşirelik (Lisans)	16	4.4
	İktisat (Lisans)	10	2.8
	Engelli Bakımı ve Rehabilitasyon (Ön Lisans)	13	3.6
	Diğerleri*	63	17.5
	Öğrenimleri Süresince Kaldıkları Yer	Ailesiyle	101
Arkadaşlarıyla Evde		90	25.0
Yurtta		169	46.9
Okur-Yazar		172	47.8
Anne Öğrenim Düzeyleri	İlköğretim	151	41.9
	Lise	31	8.6
	Ön Lisans	2	0.6
	Lisans	2	0.6
	Yüksek Lisans	1	0.3
	Doktora	1	0.3
	Okur-Yazar	36	10.0
Baba Öğrenim Düzeyleri	İlköğretim	188	52.2
	Lise	83	23.1
	Ön Lisans	24	6.7
	Lisans	23	6.4
	Yüksek Lisans	5	1.4
Ailesinin Yaşadığı Yer	Doktora	1	0.3
	Köy	60	16.7
	Kasaba	11	3.1
	İlçe Merkezi	129	35.8
Yaş Ortalamaları (2015)	İl Merkezi	160	44.4
		21.28±2.04	

*Sayıları 10'un altında olan, Ön Lisans bölümlerinden Tıbbi Tanıtım ve Pazarlama, Muhasebe ve Vergi Uygulamaları, Optisyenlik, Patoloji Laboratuvar Teknikleri, Büro Yönetimi ve Sekreterlik, Çocuk Gelişimi, Çağrı Merkezi Hizmetleri, Anestezi, Dış Ticaret, Yapı Denetimi Yardımcılığı, Mekatronik, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri ve İşletme programlarındaki öğrenciler ile Lisans bölümlerinden Edebiyat, Tarih, Matematik, Çevre Mühendisliği, İnşaat Mühendisliği, Makine Mühendisliği, Elektrik Mühendisliği ve Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliği bölümlerindeki öğrencilerden oluşmaktadır.

Tablo 2. Öğrencilerin genetiği değiştirilmiş organizmalar hakkındaki genel bilgi düzeylerinin dağılımı**Table 2.** Distribution of students's general knowledge levels about genetically modified organisms

		S	%
Genetiği değiştirilmiş organizma terimini duydunuz mu?	a) Evet	300	83.3
	b) Hayır	60	16.7
Genetiği değiştirilmiş organizma terimini ilk nereden duydunuz?*	a) İnternette	70	19.4
	b) TV/radyodan	191	53.0
	c) Gazeteden	27	7.5
	d) Çevreden	86	23.8
Genetiği değiştirilmiş organizmalar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünler nelerdir?	e) Bu anketten	35	9.7
	a) Soya/Mısır/Pamuk	67	18.6
	b) Domates/Biber/Kabak	243	67.5
	c) Mango/Kivi/Papatya	13	3.6
	d) Patates/Buğday/Pathican	28	7.8
En çok genetiği değiştirilmiş organizma üretimi yapılan ülke hangisidir?	e) Bilmiyorum	9	2.5
	a) ABD	190	52.8
	b) Hindistan	26	7.2
	c) Brezilya	14	3.9
	d) Çin	122	33.9
	e) Bilmiyorum	8	2.2

*Katılımcılar bu soruya birden fazla cevap vermişlerdir.

Öğrencilerin çoğu (%67.5) Koçak ve ark., (2010)'nın ve Türker ve ark., (2013)'nin çalışmalarıyla benzer şekilde (sırasıyla %47.4 ve %58.4), GDO'lar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünlerin domates/biber/kabak olduğunu ifade etmiştir (Tablo 2). Tıp fakültesi öğrencileriyle yürütülen çalışmada ise hem prelinik hem de klinik dönem öğrencilerin yaklaşık yarısı en çok tarımsal üretimi yapılan GDO'lu ürünün soya-mısır-pamuk olduğunu doğru olarak bilmiştir (Ergin ve ark., 2015). Öğrencilerin %52.8'i en çok GDO üretimi yapılan ülkenin ABD olduğunu, %33.9'u ise Çin olduğunu belirtmiştir. Koçak ve ark., (2010)'nın ve Türker ve ark., (2013)'nin çalışmalarında da ABD seçeneği ilk sırada, Çin seçeneği 2. sırada yer almıştır. Tıp fakültesi öğrencileriyle yürütülen çalışmada hem prelinik hem de klinik dönem öğrencilerin üçte biri GDO'yu en çok üreten ülkenin ABD olduğunu doğru olarak bilmiştir (Ergin ve ark., 2015). Hemşirelik ve ebellek bölümü öğrencileri ile yürütülen çalışmada ise GDO üretiminde etkili ülkelerin en çok ABD (%43.3) ve İsrail (%25.1) olduğu ifade edilmiştir (Adana ve ark., 2014).

Araştırmaya katılan öğrencilerin GDO'lu gıdalar ile ilgili tutumlarının dağılımları Tablo 3'te sunulmuştur.

Öğrencilerin %79.2'si Türkiye'de genetiği değiştirilmiş tohumlarla üretim yapılmasını doğru bulmadığını söylemiştir (Tablo 3). Bu oran Koçak ve

ark., (2010)'nın çalışmasında %62.4 olarak, Türker ve ark., (2013)'nin çalışmasında %84.1, Ergin ve ark., (2008)'nin yapmış olduğu çalışmada ise %81.6 olarak tespit edilmiştir. Tıp fakültesi öğrencileriyle yürütülen çalışmada ise prelinik dönem öğrencilerin %90.7'si, klinik dönem öğrencilerin %74.2'si (Ergin ve ark., 2015) ve Biyoloji ve Gıda Mühendisliği bölümü öğrencileriyle yürütülen çalışmada ise %22.8'i (Abacı ve Abacı, 2014) Türkiye'de genetiği değiştirilmiş tohumlarla üretim yapılmasını doğru bulmadığını ifade etmiştir.

Öğrencilerin %71.9'u "Genetiği değiştirilmiş bir gıdayı tüketmekte sakınca görmem." ifadesine katılmadığını belirtmiştir (Tablo 3). Bu değer Koçak ve ark., (2010)'nın çalışmasında %54.4 olarak, Türker ve ark., (2013)'nin çalışmasında %72.8, Ergin ve ark., (2008)'nin yapmış olduğu çalışmada %66.7, Ergin ve ark., (2015)'nin çalışmasında ise %86.5 olarak saptanmıştır. Diğer bir çalışmada üniversite öğrencilerinin %83.2'si GDO'ların uzun süreli kullanımlarının zararlı olduğunu ve %83.7'si beslenme alanında GDO kullanımına karşı olduğunu belirtmiştir (Yılmaz ve ark., 2015). Benzer olarak Özdemir ve ark., (2010)'nın yürüttüğü çalışmada da %73'lük büyük bir bölüm GDO'ları güvenilir bulmadıklarını belirtmiştir. Taş ve ark., (2015)'nin çalışma sonucunda tüketicilerin büyük kısmının, GDO teknolojisinin gıdalarda kullanımına karşı oldukları bildirilmiştir.

Yürütülen araştırmada olduğu gibi Kaya ve ark., (2012)'nin çalışmasında da genel olarak katılımcı üniversite öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş gıdaları alma ve tüketme konusunda olumsuz bir tuma sahip oldukları, bu ürünlerin yerine organik ürünleri tercih ettikleri tespit edilmiştir. Katılımcıların %48.0'i genetiği değiştirilmiş gıdaların güvenilir olduğuna ikna oldukları takdirde tüketebileceklerini belirtmişlerdir (Kaya ve ark., 2012).

Türk tüketicisinin genetiği değiştirilmiş (GD) gıdalar hakkındaki bilgi ve düşüncelerinin öğrenilmesi amacıyla çeşitli illerdeki 408 kişiye uygula-

nan anket çalışmasına göre de; yürütülen araştırmada olduğu gibi, Türk tüketicisinin GD gıdaları kullanma konusunda olumsuz fikirlere sahip olduğu görülmüştür. Katılımcıların %67'si GD gıdaları kesinlikle reddederken, ürünün sağlıklı olduğuna inanılması durumunda reddetme oranı %54'e düşmüştür. Tüketicilerin %60'ı GD gıdaların güvenilir olmadığını ya da sağlığa zararlı olduğunu düşünmektedir. Eğitim seviyesi arttıkça GD ürünü kullanabileceğini belirten tüketici yüzdesi de artmıştır (Gülbay ve ark., 2006). Adana ve ark., (2014)'nin çalışmasında öğrencilerin %74.3'ü GDO'lu gıdaların insan sağlığına zararlı olduğunu düşündüklerini belirtmiştir.

Tablo 3. Öğrencilerin GDO'lu gıdalar ile ilgili tutumlarının dağılımı

Table 3. Distribution of students' attitudes towards foods with GMOs

	Katılıyorum		Emin Değilim		Katılmıyorum	
	S	%	S	%	S	%
Türkiye'de genetiği değiştirilmiş tohumlarla üretim yapılmasını doğru buluyorum.	41	11.4	34	9.4	285	79.2
Şu anda satın aldığım gıdaların içinde genetiği değiştirilmiş ürünler olabileceğini düşünüyorum.	294	81.7	36	10.0	30	8.3
Toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterince bilgilendirildiğini düşünüyorum.	46	12.8	61	16.9	253	70.3
Genetiği değiştirilmiş gıda üretimi doğadaki tüm canlılar açısından risklidir.	254	70.6	63	17.5	43	11.9
Dünyadaki açlığın giderilmesi için gıdaların genetiklerinin değiştirilmesini doğru buluyorum.	49	13.6	71	19.7	240	66.7
Gıdaların besin içeriklerinin zenginleştirilmesi için genetiklerinin değiştirilmesini doğru buluyorum.	62	17.2	55	15.3	243	67.5
Gıdaların raf ömürlerini uzatmak, böceklere ve tarım ilaçlarına daha dayanıklı ürün elde etmek için genetiklerinin değiştirilmesini uygun buluyorum.	73	20.3	76	21.1	211	58.6
Bir gıdanın etiketinde genetiği değiştirilmiş gıda olup olmadığının mutlaka belirtilmesi gerektiğini düşünüyorum.	291	80.8	29	8.1	40	11.1
Genetiği değiştirilmiş bir gıdayı tüketmekte bir sakınca görmem.	39	10.8	62	17.2	259	71.9
Genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterli düzeyde bilgiye sahip olduğumu düşünüyorum.	83	23.1	158	43.9	119	33.1

Februhartanty ve ark., (2007)'nin Endonezya'daki bilim adamlarında yapmış oldukları çalışmada katılımcıların %78'inin GDO'lu gıdaları tüketebileceğini ifade etmesi; yürütülen araştırmada elde edilen ilgili sonuçla uyuşmamaktadır. Christoph ve ark., (2008)'nin yapmış oldukları çalışmada da, ülke genelindeki tüketicilerin sadece %40'ının genetiği değiştirilmiş gıdaları sağlık ve çevresel yararları olsa bile tüketmeyeceklerini ifade etmeleri de yürütülen araştırmada elde edilen ilgili sonuçla uyuşmamaktadır. Ancak bunun yanı sıra İngiltere, Fransa, İspanya ve İtalya'daki tüketiciler genetiği değiştirilmiş organizmalar yoluyla elde edilen gıdaları kullanmayacağını belirtmişlerdir (Christoph ve ark., 2008).

Öğrencilerin %81.7'si şu anda satın aldıkları gıdaların içinde genetiği değiştirilmiş ürünler olabileceğini düşünmektedir (Tablo 3). Ülkemizde yürütülen diğer çalışmalarda da (Ergin ve ark., 2008; Koçak ve ark., 2010; Türker ve ark., 2013; Ergin ve ark., 2015) bu değer yüksekken (%77.7, %83.2, %85.5, %74.3); Avrupa Birliği ülkeleri, Çin ve Endonezya'da yapılan çalışmalarda bu değer %43.2 ile %62 arasında değişmektedir (Pardo ve ark., 2002; Huang ve ark., 2006; Februhartanty ve ark., 2007). Bu durum Türk toplumunun diğer ülkelere göre piyasadaki gıdalara karşı daha fazla şüpheli yaklaştığını göstermektedir. Öğrencilerin %20.3'ü gıdaların raf ömürlerini uzatmak, böceklerle ve tarım ilaçlarına daha dayanıklı ürün elde etmek için genetiklerinin değiştirilmesini uygun bulduğunu ifade etmiştir (Tablo 4). Bu oran Koçak ve ark., (2010)'nin çalışmasında %27.3, Türker ve ark., (2013)'nin çalışmasında %61.0, Ergin ve ark., (2008)'nin çalışmasında %21.8, Ergin ve ark., (2015)'nin çalışmasında %83.5, Avrupa Birliği ülkeleri ve Çin'de yapılan çalışmalarda ise %54 ile %69 arasında değişmektedir (Huang ve ark., 2006; Magnusson ve Hursti, 2002). Bu değerlerin yürütülen araştırma ile bazı çalışmalarda benzer iken; bazı çalışmalarda oldukça farklı olması örneklem olarak seçilen popülasyonların GDO'lu gıdalar hakkındaki bilgi düzeylerinin farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Öğrencilerin sadece %23.1'i genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterli düzeyde bilgi sahibi olduğunu ifade etmiştir. Bu değer Koçak ve ark., (2010)'nin çalışmasında %18.0, Türker ve ark., (2013)'nin çalışmasında %16.8, Ergin ve ark., (2008)'nin çalışmasında %13.0, Ergin ve ark., (2015)'nin çalışmasında %18.8 olarak bulunmuştur. Yılmaz ve ark., (2015)'nin çalışmasında öğrencilerin %48.7'si GDO'lar hakkında kısmen

bilgi sahibiyim, %40.0'ı ise evet bilgi sahibiyim yanıtını vermiştir. Kaya ve ark., (2012)'nin çalışmasında katılımcıların %47.3'ü ise tüketici olarak genetiği değiştirilmiş ürünler konusunda kısmen bilgi sahibi olduklarını düşünmektedirler. Tıp fakültesi öğrencileriyle yürütülen çalışmada öğrencilerin %81.4'ünün GDO'lu gıdalar hakkında yeterli düzeyde bilgiye sahip olmadığını düşündükleri rapor edilmiştir (Ergin ve ark., 2015). Yürütülen araştırmayla benzer şekilde, Durukan ve ark., (2011)'nin 3. ve 6. sınıf tıp fakültesi öğrencilerinde yapmış olduğu çalışmada öğrencilerin çoğunluğu GDO hakkında yeterli düzeyde bilgi sahibi olmadıklarını belirtmişlerdir. Abacı ve Abacı (2014)'nin çalışmasında da öğrencilerin %49.4'ünün GDO hakkında yeterince bilgiye sahip olmadığını düşünmekteyken; %38.6 gibi büyük bir kısmının kararsız kalması yürütülen araştırmada elde edilen ilgili sonuçla uyuşmaktadır.

GDO'lu gıdalara karşı olan endişeleri ortadan kaldırmamanın tek çaresi bu ürünlerin etiketlenmesidir. Ülkemizde ilgili yönetmeliğe göre eğer bir ürün %0.9'dan daha fazla GDO içeriyorsa etiketlenmesi gerekmektedir (Mevzuat Bilgi Sistemi, 2010). Avrupa Birliği'ne bağlı ülkelerde de aynı değer uygulanmakla birlikte, bu değer Norveç'te %2'dir (Maekawa ve Macer, 2004). Çalışmamızda katılımcıların %80.8'i GDO'lu gıdaların ambalajında GDO'lu olduğunu belirten etiketlerin bulunması gerektiğini beyan etmiştir. Gülbay ve ark., (2006)'nin çalışmasında katılımcıların büyük çoğunluğu (%90), ürünün GD olduğunu etikette belirtilmesi gerektiğini düşünmektedir. Türkiye, Çin ve Endonezya'da yapılan bazı çalışmalarda da GDO'lu gıdalarda zorunlu etiketlenmenin uygun olacağı değerlendirilmiştir (Demir ve Pala, 2007; Ergin ve ark., 2008; Türker ve ark., 2013; Ergin ve ark., 2015; Lan 2006; Februhartanty ve ark., 2007).

Araştırmaya katılan öğrencilerin cinsiyetlerine ve eğitim düzeylerine göre GDO'lu gıdalar ile ilgili ifadelerle katılma durumlarının dağılımı Tablo 4'te sunulmuştur.

Öğrencilerin cinsiyetleri ile "Genetiği değiştirilmiş bir gıdayı tüketmekte bir sakınca görmem." ifadesine katılmaları arasındaki farkın anlamlı ($P<0.05$) ve kız öğrenciler arasında GDO'lu gıdaları tüketmek istemeyenlerin oranının (%79.5) erkeklerle kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Eğitim düzeyleri ile "Toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterince bilgilendirildiğini düşünüyorum." ifadesine katılma durumları

arasındaki farkın anlamlı olduğu ($P<0.05$) ve lisans öğrencilerinde bu ifadeye katılmayanların oranının daha yüksek olduğu (%79.3) bulunmuştur (Tablo 4). Ergin ve ark., (2008)'nin çalışmasında da bu ifadeye katılmayanların oranı bizim çalışmamızda olduğu gibi yüksek (%78.4) bulunmuştur. Tıp fakültesi öğrencileriyle yürütülen çalışmada öğrencilerin sadece %12.6'sı GDO'lu bir gıdayı tüketebileceğini belirtmiştir (Ergin ve ark., 2015).

Araştırmaya katılan öğrencilerin eğitim düzeylerine ve sınıflarına göre GDO'lar ile ilgili bazı sorulara verdikleri yanıtların değişimi Tablo 5'te sunulmuştur.

Öğrencilerin eğitim düzeyleri ve sınıfları ile "GDO'lar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünler nelerdir?" ve "En çok GDO üretimi yapılan ülke hangisidir?" sorularına verdikleri yanıtlar arasındaki farkın anlamlı ($P<0.05$) olduğu ortaya çıkmıştır. Ön lisans öğrencilerinin %70.7'si ve lisans öğrencilerinin %62.2'si GDO'lar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünlerin domates/biber/kabak olduğunu belirtmiş ve bütün sınıflarca bu seçenek en çok işaretlenen şık olmuştur. Ön lisans öğrencilerinin %48.9'u, lisans öğrencilerinin %59.3'ü en çok GDO üretimi yapılan ülkenin ABD olduğunu ifade etmiş ve bu seçenek bütün sınıflarca en yüksek oranda işaretlenmiştir (Tablo 5).

Öğrencilerin bölümleri ile "GDO'lar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünler nelerdir?" sorusuna verdikleri cevaplar arasındaki farkın ($P=0.002$, $\chi^2=180.454$), "Türkiye'de genetiği değiştirilmiş tohumlarla üretim yapılmasını doğru buluyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.011$, $\chi^2=92.641$), "Gıdaların besin içeriklerinin zenginleştirilmesi için genetiklerinin değiştirilmesini doğru buluyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.044$, $\chi^2=84.491$) ve "Gıdaların raf ömürlerini uzatmak, böceklere ve tarım ilaçlarına daha dayanıklı ürün elde etmek için genetiklerinin değiştirilmesini uygun buluyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.011$, $\chi^2=92.643$) anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Öğrencilerin kaldıkları yer ile "En çok GDO üretimi yapılan ülke hangisidir?" sorusuna verdikleri

yanıtlar arasındaki farkın ($P=0.016$, $\chi^2=18.820$), "Şu anda satın aldığım gıdaların içinde genetiği değiştirilmiş ürünler olabileceğini düşünüyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.001$, $\chi^2=17.790$), "Toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterince bilgilendirildiğini düşünüyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.047$, $\chi^2=9.640$), "Genetiği değiştirilmiş gıda üretimi doğadaki tüm canlılar açısından risklidir." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.014$, $\chi^2=12.432$) ve "Gıdaların besin içeriklerinin zenginleştirilmesi için genetiklerinin değiştirilmesini doğru buluyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.042$, $\chi^2=9.907$) anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Öğrencilerin yaşları ile "En çok GDO üretimi yapılan ülke hangisidir?" sorusuna verdikleri yanıtlar arasındaki farkın ($P=0.035$, $\chi^2=62.405$), "Şu anda satın aldığım gıdaların içinde genetiği değiştirilmiş ürünler olabileceğini düşünüyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.011$, $\chi^2=39.789$) ve "Bir gıdanın etiketinde genetiği değiştirilmiş gıda olup olmadığının mutlaka belirtilmesi gerektiğini düşünüyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.018$, $\chi^2=38.092$) anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır.

Öğrencilerin annelerinin öğrenim düzeyleri ile "GDO'lar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünler nelerdir?" sorusuna verdikleri cevaplar arasındaki farkın ($P=0.007$, $\chi^2=44.562$), "En çok GDO üretimi yapılan ülke hangisidir?" sorusuna verdikleri yanıtlar arasındaki farkın ($P=0.000$, $\chi^2=65.746$), "Türkiye'de genetiği değiştirilmiş tohumlarla üretim yapılmasını doğru buluyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.000$, $\chi^2=38.154$), "Toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterince bilgilendirildiğini düşünüyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.001$, $\chi^2=34.246$), "Genetiği değiştirilmiş gıda üretimi doğadaki tüm canlılar açısından risklidir." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.022$, $\chi^2=23.749$), ve "Bir gıdanın etiketinde genetiği değiştirilmiş gıda olup olmadığının mutlaka belirtilmesi gerektiğini düşünüyorum." ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.001$, $\chi^2=31.959$) anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4. Öğrencilerin cinsiyetlerine ve eğitim düzeylerine göre GDO'lu gıdalar ile ilgili ifadelerle katılma durumlarının dağılımı (P<0.05)**Table 4.** Distribution of students's the participation situations to expressions related food products with GMOs according to their gender and education level (P<0.05)

	Cinsiyet	Katılıyorum		Emin Değilim		Katılmıyorum		P, χ^2
		S	%	S	%	S	%	
Türkiye'de genetiği değiştirilmiş tohumlarla üretim yapılmasını doğru buluyorum. Genetiği değiştirilmiş bir gıdayı tüketmekte bir sakınca görmem.	Kız (s=205)	18	8.8	11	5.4	176	85.9	0.001, 13.920
	Erkek (s=155)	23	14.8	23	14.8	109	70.3	
	Kız (s=205)	14	6.8	28	13.7	163	79.5	
	Erkek (s=155)	25	16.1	34	21.9	96	61.9	
Eğitim Düzeyi								
Toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterince bilgilendirildiğini düşünüyorum.	Ön lisans (s=225)	35	15.6	44	19.6	146	64.9	0.004, 8.517
	Lisans (s=135)	11	8.1	17	12.6	107	79.3	
Genetiği değiştirilmiş bir gıdayı tüketmekte bir sakınca görmem.	Ön lisans (s=225)	32	14.2	31	13.8	162	72.0	0.005, 10.494
	Lisans (s=135)	7	5.2	31	23.0	97	71.9	

Tablo 5. Öğrencilerin eğitim düzeylerine ve sınıflarına göre GDO'lar ile ilgili bazı sorulara verdikleri yanıtların dağılımı (P<0.05)**Table 5.** Distribution of students's responses given to some questions related GMOs according to their education level and classes (P<0.05)

		Eğitim Düzeyi								P, χ^2	
		Ön lisans (s=225)				Lisans (s=135)					
		S	%	S	%	S	%	S	%		
GDO'lar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünler nelerdir?	Soya/mısır/pamuk	34	15.1	33	24.4	0.009, 13.484					
	Domates/biber/kabak	159	70.7	84	62.2						
	Mango/kivi/papatya	5	2.2	8	5.9						
	Patates/buğday/ patlıcan	18	8.0	10	7.4						
	Bilmiyorum	9	4.0	0	0						
En çok GDO üretimi yapılan ülke hangisidir?	ABD	110	48.9	80	59.3	0.002, 16.722					
	Hindistan	22	9.8	4	3.0						
	Brezilya	5	2.2	9	6.7						
	Çin	80	35.6	42	31.1						
	Bilmiyorum	8	3.6	0	0						
Sınıf											
GDO'lar kapsamında en çok ekimi yapılan biyoteknolojik ürünler nelerdir?	Soya/mısır/pamuk	1 (s=135)		2 (s=139)		3 (s=72)		4 (s=14)		P, χ^2	
		S	%	S	%	S	%	S	%		
		22	16.3	27	19.4	16	22.2	2	14.3		
En çok GDO üretimi yapılan ülke hangisidir?	Domates/biber/kabak	90	66.7	96	69.1	45	62.5	12	85.7	0.033, 22.412	
		Mango/kivi/papatya	1	0.7	8	5.8	4	5.6	0		0
		Patates/buğday/ patlıcan	14	10.4	7	5.0	7	9.7	0		0
En çok GDO üretimi yapılan ülke hangisidir?	Bilmiyorum	8	5.9	1	0.7	0	0	0	0	0.004, 28.650	
	ABD	58	43.0	76	54.7	46	63.9	10	71.4		
	Hindistan	13	9.6	9	6.5	2	2.8	2	14.3		
	Brezilya	3	2.2	7	5.0	4	5.6	0	0		
	Çin	53	39.3	47	33.8	20	27.8	2	14.3		
Bilmiyorum	8	5.9	0	0	0	0	0	0			

Öğrencilerin babalarının öğrenim düzeyleri ile “Genetiği değiştirilmiş gıda üretimi doğadaki tüm canlılar açısından risklidir.” ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.022$, $\chi^2=23.684$) ve öğrencilerin ailelerinin yaşadığı yer ile “Toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında yeterince bilgilendirildiğini düşünüyorum.” ifadesine katılma durumları arasındaki farkın ($P=0.036$, $\chi^2=13.500$) anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç

Yürütülen çalışma sonucunda öğrencilerin GDO'lara yönelik bilgi düzeylerinin düşük olduğu, bununla birlikte GDO'lu gıdaların güvenli olmadıklarını düşündükleri saptanmıştır. Konuyla ilgili eksik veya yanlış bilinen olguların düzeltilmesi amacıyla ön lisans ve lisans eğitim programlarının düzenlenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu tür, aydınlatılması, daha fazla araştırılması ve topluma doğru şekilde aktarılması gereken konularda yazılı ve görsel medyada gereken önemin verilmesine özen gösterilmelidir. Tüketicilerin doğru bilgilendirilmesi gerektiğine özen gösterilerek bu ürünlerin ambalajlarında genetiği değiştirilmiş ürünler oldukları etiketlerinde belirtilmelidir. Bu ürünlerin üretimi ve tüketimi devlet kontrolünde olmalı, gıda güvenliği kapsamına alınmalı ve risk analizleri yapılmalıdır.

Kaynaklar

Abacı, Z.M. & Abacı, Z.T. (2014). İnönü Üniversitesi biyoloji ve gıda mühendisliği bölümü öğrencilerinde genetiği değiştirilmiş organizma bilinci ve bilgi düzeyi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(2), 31-37.

Adana, F., Gezer, N. & Öğüt, S. (2014). Sağlık yüksekokulu öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara ilişkin bilgi ve görüşleri. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(4), 276-280.

Altıntaş, A. (2004). Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) ile ilgili genetik ve çevre sorunları. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, 4(3-4), 23-26.

Bayraç, A.T., Baloğlu, M.C., Kalemtaş, G. & Kavas, M. (2007). *Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar* (s. 4-5). Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık.

Beyatlı, Y. (2000). *Biyoteknoloji Ders Notları* (s. 146). Ankara: Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü.

Bostan, A. & Gün, S. (2013). Türkiye’de genetiği değiştirilmiş gıda ve yem konusunda mevzuat uygulamaları ve denetimler. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(1), 90-98.

Bredahl, A., Grunert, K.G. & Frewer, L.J. (1998). Consumer attitudes and decision-making with regard to genetically engineered food products-a review of the literature and a presentation of models for future research. *Journal of Consumer Policy*, 21(3), 251-277.

Christoph, I.B., Bruhn, M. & Roosen, J. (2008). Knowledge, attitudes towards and acceptability of genetic modification in Germany. *Appetite*, 51(1), 58-68.

Çabuk Özer, B., Duman, G. & Çabuk, B. (2009). Turkish preschool staff’s opinions about hormones, additives and genetically modified foods. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 1(1), 1734-1743.

Çelik, V. & Turgut-Balık, D. (2007). Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO). *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1-2), 13-23.

Dawe, D., Robertson, R. & Unnevehr, L. (2002). Golden rice: what role could it play in alleviation of vitamin a deficiency?. *Food Policy*, 27(5-6), 541-560.

Demir, A. & Pala, A. (2007). Genetiği değiştirilmiş organizmalara toplumun bakış açısı. *Hayvansal Üretim*, 48(1), 33-43.

Durukan, E., Erdal, R., Aykut, N. B., Mihçioğur, S. & Akın, A. (2012). Tıp fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalı ürünlerle ilgili bilgi düzeyi. 15. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi; 2-6 Ekim 2012; Bursa, Türkiye.

Ergin, A., Uzun, S.U. & Bozkurt, A.İ. (2015). Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalarla ilgili bilgi ve görüşleri. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 8(2), 92-98.

Ergin, I., Gürsoy, Ş.T., Öcek, Z.A. & Çiçeklioğlu, M. (2008). Sağlık meslek yüksekokulu öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara dair bilgi tutum ve davranışları. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 7(6), 503-508.

Febrehartanty, J., Widayastuti, T.N. & Iswarawanti, D.N. (2007). Attitudes of agricultural scientists in Indonesia towards genetically modified foods. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(2), 375-380.

- Frewer, L.J., Scholderer, J. & Bredahl, L. (2003). Communicating about the risks and benefits of genetically modified foods: the mediating role of trust. *Risk Analysis*, 23(6), 1117-1133.
- Goldstein, D.A., Tinland, B., Gilbertson, L.A., Staub, J.M., Bannon, G.A., Goodman, R.E., McCoy, R.L. & Silvanovich, A. (2005). Human safety and genetically modified plants: a review of antibiotic resistance markers and future transformation selection technologies. *Journal of Applied Microbiology*, 99(1), 7-23.
- Gülbay, D., Özçelik, B. & Kahveci, D. (2006). Türk tüketicisinin genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkındaki görüşleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi (24-26 Mayıs 2006, Bolu) Bildiriler Kitabı, 845-848.
- Gürakan, C. (2010). Genetiği değiştirilmiş mikroorganizmalar analiz yöntemleri. Farklı boyutlarıyla genetiği değiştirilmiş organizmalar (içinde s. 23-25). 1. Basım, Ankara: Ankara Tabip Odası.
- Gürbüzöglü Yalmanlı, S. (2016). Lise öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara yönelik algılarının belirlenmesi, determining the perceptions of high school students against genetically modified organisms. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 37, 89-111.
- Hails, R.S. (2000). Genetically modified plants-the debate continues. *Trend in Ecology and Evolution*, 15(1), 14-18.
- Haspolat Kaya, I., Konar, N., Poyrazoğlu, E.S. & Artık, N. (2013). Genetik modifikasyon ve Türk tüketiciler-kentli tüketicilerin genetik modifiye organizma ve gıdalara yönelik farkındalıkları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 60, 213-220.
- Hidroğlu, S., Önsüz, M.F., Kalafat, C.E. & Karavuş, M. (2013). Ümraniye İlçesinde 1. basamakta sağlık kuruluşlarına başvuran hastaların genetiği değiştirilmiş organizmalar konusunda bilgi, tutum ve davranışları. *Fırat Tıp Dergisi*, 18(3), 176-181.
- Huang, J., Qiu, H., Bai, J. & Pray, C. (2006). Awareness, acceptance of and willingness to buy genetically modified foods in Urban China. *Appetite*, 46(2), 144-151.
- Kaya, E., Gürbüz, H. & Derman, M. (2012). Üniversite öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş gıda ürünlerine bakışı. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(3), 55-60.
- Kaynar, P. (2009). Genetik olarak değiştirilmiş organizmalar (GDO)'a genel bir bakış. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(4), 177-185.
- Keskin, Y., Lüleci, N.E., Özyaral, O., Altıntaş, Ö., Sağlık, A., Lisar, H., Turan, A. & Top, Y. (2010). Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrencilerinin Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Hakkında Bilgi, Tutum ve Davranışları. *Maltepe Tıp Dergisi*, 2(1), 14-23.
- Koçak, N., Türker, T., Kılıç, S. & Hasde, M. (2010). Tıp fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalar hakkındaki bilgi, tutum ve davranışlarının belirlenmesi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 52, 198-204.
- Kulaç, İ., Ağırıldil, Y. & Yakın, M. (2006). Sofralarımızdaki tatlı dert, genetiği değiştirilmiş organizmalar ve halk sağlığına etkileri. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31(3), 151-155.
- Lan, L. (2006). Chinese public understanding of the use of agricultural Biotechnology-a case study from Zhejiang Province of China. *Journal of Zhejiang University Science B*, 7(4), 257-266.
- Lessick, M., Keithley, J., Swanson, B. & Lemon, B. (2002). Genetically modified foods: a tasted of the future. *Medsurg Nursing*, 11(5), 242-246.
- Maekawa, F. & Macer, D. (2004). How Japanese students reason about agricultural biotechnology. *Science and Engineering Ethics*, 10(4), 705-716.
- Magnusson, M.K. & Koivisto Hursti, U.K. (2002). Consumer attitudes towards genetically modified foods. *Appetite*, 39(1), 9-24.
- Meseri, R. (2008). Beslenme ve genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO). *TAF Prev. Med. Bulletin*, 7(5), 455-460.
- Mevzuat Bilgi Sistemi (2010). Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik. <http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=7.5.14203&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=genetik> (erişim 12.01.2017)
- Nofouzi, F. (2013). Genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) nedir ve nasıl yapılmaktadır? *Güncel Gastroenteroloji*, 17(4), 1-7.

- Özdemir, O. & Duran, M. (2010). Biyoteknolojik uygulamalara ve genetiği değiştirilmiş organizmalara (GDO) ilişkin tüketici davranışları. *Akademik Gıda*, 8(5), 20-28.
- Özdemir, O., Güneş, M. H. & Demir, S. (2010). Üniversite öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara (GDO'lara) yönelik bilgi düzeyleri-tutumları ve sürdürülebilir tüketim eğitimi açısından değerlendirilmesi. *OMÜ Eğitim Fakültesi Dergisi*, 29(1), 53-68.
- Özel, M., Erdoğan, M., Uşak, M. & Prokop, P. (2009). Lise öğrencilerinin biyoteknoloji uygulamalarına yönelik bilgileri ve tutumları. *Kuram ve Uygulamada Eğitim Bilimleri*, 9(1), 297-328.
- Özmert, S. & Yaman, H. (2011). Tüketicilerin genetiği değiştirilmiş gıdalara karşı tutumlarının ve bilgi düzeylerinin belirlenmesi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 4(1), 31-41.
- Pardo, R., Midden, C. & Miller, J. D. (2002). Attitudes toward biotechnology in the European Union. *Journal of Biotechnology*, 98(1), 9-24.
- Resmi Gazete (2010). 5977 sayılı biyogüvenlik kanunu. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/03/20100326-7.htm> (erişim 12.01.2017)
- Resmi Gazete (2014). Genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar ve ürünlerine dair yönetmelikte değişiklik yapılmasına dair yönetmelik. <http://www.resmigazete.gov.tr/main.aspx?home=http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler//2014/05/20140529-2.htm/20140529.htm&main=http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler//2014/05/20140529-2.htm> (erişim 12.01.2017)
- Taş, M., Balcı, M., Yüksel, A. & Şahin Yesilçubuk, N. (2015). Consumer awareness, perception and attitudes towards genetically modified foods in Turkey. *British Food Journal*, 117(5), 1426-1439.
- Tiryaki, İ. (2007). Soru ve cevaplar ile tarımsal biyoteknoloji. <http://ciftci.ksu.edu.tr/dokumanlar.htm> (erişim 12.01.2017)
- Topal, Ş. (2009). Genetik değiştirme işlemleri ve biyogüvenlik. http://www.bugday.org/portal/haber_detay.php?hid=305 (erişim 12.01.2017)
- Türker, T., Koçak, N., Aydın, İ., İstanbulluoğlu, H., Yıldırım, N., Türk, Y. Z., & Kılıç S. (2013). Determination of knowledge, attitude, behavior about genetically modified organisms in nursing school students. *Gülhane Tıp Dergisi*, 55, 297-304.
- WHO (2005). Modern food biotechnology, human health and development: an evidence-based study. World Health Organization Food Safety Department. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43195/1/9241593059_eng.pdf?ua=1 (erişim 12.01.2017)
- Yılmaz, B., Üner, A.K. & Ercan A. (2015). Üniversite öğrencilerinin biyoteknoloji ve genetiği değiştirilmiş gıdalar ile ilgili tutumları. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 14(2), 64-71.
- Yorulmaz S. & Ay R., (2006). Genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) entomoloji alanındaki uygulama olanakları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(2), 53-59.

MEYVE VE SEBZElerde KARŞILAŞILABİLEN BAZI PESTİSİT KALINTILARININ UZAKLAŞTIRILMASINDA KULLANILAN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLER

Fikret Pazır ORCID ID: [0000-0003-3997-4892](https://orcid.org/0000-0003-3997-4892), **Funda Turan** ORCID ID: [0000-0003-3451-6745](https://orcid.org/0000-0003-3451-6745)

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Received: 10.02.2017

Accepted: 01.05.2017

Published online: 18.06.2017

Corresponding author:

Fikret PAZIR, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

E-mail: fikret.pazir@gmail.com

Öz:

Pestisitler, canlıların yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmek amacı ile ihtiyaç duydukları besin maddelerinin üretim aşamasından tüketime kadar korunabilmeleri için kullanılan madde veya madde karışımlarıdır.

Etki mekanizmalarına göre kontak, sistemik ve yarı sistemik etki gösterenler olarak üç gruba ayrılan pestisitler, bitkilerde yaygın kullanım alanına sahiptirler. Bu pestisitlerin bilinçsiz kullanımı kalıntıya neden olmaktadır. Bu kalıntılar uzaklaştırılmalı veya yok edilmelidir.

Kalıntıları uzaklaştırmak amacı ile ürün çeşidi ve etki mekanizmasına (kontak-sistemik-yarı sistemik) göre yöntem belirlenmelidir. Çeşme suyu, klordioksit çözeltisi ve peroksiasetik asit çözeltileri gibi çözeltiler ile yıkama işlemi, ısı işlem uygulaması, ozon, ultrases, vurgulu elektrik alan, yüksek hidrostatik basınç ve gama ışını uygulamaları kalıntıları uzaklaştırmak veya azaltmak amacı ile uygulanabilecek işlemler arasında yer almaktadırlar.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, Meyve-sebze, Kalıntı, Kalıntı uzaklaştırma

Abstract:

VARIOUS REMOVAL METHODS OF SOME PESTICIDE RESIDUES IN FRUITS AND VEGETABLES

Pesticides are mixtures of substances or substances that are used to maintain the vital activities of living things and to protect the nutrients they need from their production stage to their consumption.

Pesticides, which are divided into three groups according to their mechanism of action, as contact, systemic and semi-systemic effect, are widely used in plants. The unconscious use of these pesticides causes the residue. These residues should be removed or destroyed.

The method should be determined according to the product type and the mechanism of action (systemic-contact) in order to remove the residues. Washing with solutions such as tap water, chlorine dioxide solution and peroxyacetic acid solutions, heat treatment application, ozone, ultrasonic, pulsed electric field, high hydrostatic pressure and gamma radiation applications are among the processes that can be applied with the aim of removing or reducing residues.

Keywords: Pesticide, Fruit-vegetable, Residue, Reducing residue

Giriş

Vücudun gelişmesi, onarımı ve yenilenmesi için uygun bileşenleri sağlayan gıda ürünleri içerisinde meyve ve sebzeler önemli bir yere sahiptir. Ancak, meyve ve sebzeler böceklere ve hastalıklara oldukça duyarlıdır. Bu durumun önlenmesi için tarım ilacı kullanılmaktadır.

Tarım ilaçları; insan ve hayvanların gereksinimi olan besin maddelerinin üretim ile tüketim aşamaları arasında korunması için kullanılan madde veya madde karışımlarıdır. Bunlara genel olarak pestisit adı verilmektedir (Tanrıvermiş,2000). Pestisitler, tarım için kullanılacak alanların sınırlı olması ve zararlıların neden olduğu hastalıkların kontrolü nedeniyle, uygun gıda tedarikinde üretimde artan miktarlarda kullanılmaya başlanmıştır (Adachi ve Okano 2006; Bajwa ve Sandhu 2014).

Bitkilerde kullanılan pestisitler etki şekillerine göre kontak etkili, sistemik etkili ve yarı sistemik etkili olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Kontak etkili pestisitler, atıldıklarında bitki, meyve-sebze yüzeyinde kalırlar ve temas ettikleri canlıları öldürürler. Sistemik etkili pestisitler, bitki bünyesi içerisinde hareket ederek meyveye, yaprağa ve bitki köküne ulaşabilirler. Dolayısıyla içsel beslenen zararlı ve hastalıkları da öldürürler. Yarı sistemik etkili pestisitler, atıldıkları yüzeyde tutunma özelliklerinin yanında bitki dokusuna penetre olduklarından hem sistemik hem kontak etki gösterirler (Eryüce, 2012).

Pestisitlerin bilinçli ve yerinde kullanımı, hedeflenen zararlı böcek ve yabancı otların yok edilmesini sağlarken, öneriler doğrultusunda kullanıldığı zaman kalıntıya neden olup insan sağlığı ve çevrede olumsuz etkilere yol açmaktadır (Demircan ve Yılmaz,2005;Tiryaki vd., 2010).

Bu kalıntılar, tarım ürünü dış pazarını ve iç tüketimini olumsuz etkilemektedir (Tiryaki vd., 2010). Bu nedenle, hükümetler ve uluslararası organizasyonlar pestisit kullanımını düzenlerler ve gıdalardaki kabul edilebilir maksimum kalıntı seviyelerini belirlerler (Cengiz vd., 2006). Tüm denetleme ve düzenlemelere rağmen, meyve-sebzelerde pestisit kalıntılarının miktarları günden güne artmaktadır. Ancak, meyve-sebzelerdeki bu kalıntıları azaltma ya da giderme ile ilgili çalışmalara da devam edilmektedir.

Pestisit Kalıntılarının Uzaklaştırılması-Azaltılması Yöntemleri

Hasat öncesi ve hasat sonrası işlemler ile depolamanın pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Pestisit kullanımında hasat öncesi işlemler olarak uygulamanın yapıldığı bitki çeşidi, etkili maddenin kimyasal yapısı ve özellikleri, kullanım dozu, etkili maddenin formülasyonu, pestisit uygulama ile hasat arasındaki geçen süre (bekleme süresi) en fazla dikkat edilmesi gereken konulardır (Tiryaki vd., 2010). Hasat sonrası işlemler arasında yıkama, kabuk soyma ve depolama pestisit azaltılmasında uygulanabilecek işlemler arasında yer almaktadır (Karakaya ve Boyraz 1992).

Pestisit uygulama ile hasat arasındaki geçen süre (bekleme süresi), yıkama, kabuk soyma ve depolama etkisinin salatalık örneklerine hasat öncesi tarlada uygulanan dichlorvos (sistemik etkili) ve diazinon (sistemik etkili) pestisitlerinin kalıntıları üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, bekleme süresi olarak 4 saat ve 4 gün seçilmiştir. Depolama 4°C'de 3 gün ve 6 gün olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar incelenmiştir. Bekleme süresi uzadıkça pestisitlerde %80-95 düzeyinde azalma görülmektedir. Depolama süresi 3 günden 6 güne çıkarıldığında pestisitlerde yaklaşık %35-40 düzeylerinde azalma görülmektedir. Yıkama ve kabuk soyma gibi ön işlemlerde de yıkama da %25-30 oranında, kabuk soyma işleminde %30-50 oranında azalma olduğu tespit edilmiştir. En etkin uygulama pestisit uygulamasından 4 gün sonra hasat edilmiş salatalıkları 4°C'de 6 gün depolama olduğu tespit edilmiştir (Cengiz vd., 2006).

Şarap üretimi amacı ile kullanılacak olan üzümlere bağlarda hasat öncesi uygulanan azoxystrobin (sistemik etkili), fluazinam (kontak etkili), kresoxim-methyl (yarı sistemik etkili), mepanipyrim (kontak etkili) pestisitlerinin kalıntıları üzerine pestisit uygulama ile hasat arasındaki geçen sürenin (bekleme süresi) etkilerinin incelendiği bir çalışmada, bekleme süreleri 7, 14 ve 21 gün olarak belirlenmiştir. Başlangıçtaki miktarları sırası ile 0.5, 1.21, 0.15 ve 1 ppm olan pestisitlerin 7 günlük bekleme süresi sonunda kalan miktarları sırası ile 0.31, 0.51, 0.08 ve 0.55 ppm olarak tespit edilmiştir. Kresoxim-methyl (yarı sistemik etkili) için 14 günlük bekleme süresi sonunda herhangi bir kalıntıya rastlanmamış ve azoxystrobin (sistemik etkili) 0.23 ppm, fluazinam (kontak etkili) 0.15 ppm ve mepanipyrim (kontak etkili) 0.34 ppm düzeyinde

kalıntı bırakmıştır. 21 gün bekleme süresinin ardından azoxystrobin (sistemik etkili), fluazinam (kontak etkili) ve mepanipyrim (kontak etkili) için kalıntı miktarları sırası ile 0.19, 0.04 ve 0.31 ppm olarak saptanmıştır (Cabras vd., 1998).

Su veya çeşitli çözeltiler ile yıkamanın pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Gıda maddelerinin yıkanma amaçları, gıdayı toz-toprak gibi kaba kirlerinden ayırmak, uygulanacak olan ısıl işlemin etkinliğini arttırmak ve tarım ilaç kalıntılarını gidermektir (Yaralı,2014). Tarım ilacı kalıntılarını gidermek amacı ile çeşme suyu, klordioksit çözeltisi, sodyum karbonat çözeltisi, asetik asit çözeltisi, sodyum hipoklorit çözeltisi ve gliserol çözeltisi gibi çözeltiler kullanılabilir. Nitekim, marul örneklerine hasat sonrası 5 dakika daldırılarak uygulanan diazinon (sistemik etkili) ve phorate (yarı sistemik etkili) pestisitlerinin çeşme suyu, 10 ve 20 mg/L klordioksit çözeltileri ile 5-20 dakika süre ile yıkanması işleminin ardından pestisitlerdeki azaltılma yüzdelerinin incelendiği bir çalışmada, phorate (yarı sistemik etkili) pestisiti için %75, diazinon (sistemik etkili) pestisiti için %60 azalma sağlanması nedeni ile en etkili çözeltinin 20 mg/L klordioksit çözeltisi ile 20 dakika boyunca yıkama işlemi olduğu sonucuna varılmıştır (Chen vd., 2014).

Çeri domates ve tatlı kırmızıbiberlere hasat sonrası 3 dakika daldırılarak uygulanan myclobutanil (kontak etkili), fenhexamid (kontak etkili), boscalid (yarı sistemik etkili) pestisitlerinin çeşme suyu, % 5 sodyum karbonat, % 5 asetik asit, % 5 sodyum hipoklorit , % 5 gliserol çözeltileri ile 22°C sıcaklık ve 3 dakika süre ile gerçekleştirilen yıkama işlemlerinin kalıntı uzaklaştırmadaki etkinlikleri araştırılmıştır. Domateste çeşme suyu ile yıkama myclobutanil (kontak etkili), fenhexamid (kontak etkili), boscalid (yarı sistemik etkili) pestisitleri için sırası ile %36, % 53, %65 oranında azalma sağlamıştır. Tatlı kırmızıbiberde çeşme suyu ile yıkama myclobutanilde (kontak etkili) %30 azalma sağlamıştır. Fenhexamid (kontak etkili) için %53 lük azaltma oranıyla en etkili çözelti %5 asetik asit çözeltisi iken, boscalid (yarı sistemik etkili) için %52 azaltma oranı ile en etkili yıkama çözeltisi %5 sodyum karbonat olarak belirlenmiştir (Ghani vd., 2010).

Domateslere hasat öncesi tarlada uygulanan chlorpyrifos (kontak etkili) pestisitinin kalıntısının ve metaboliti olan 3,5,6-trichloro-2-pyridinolun (kontak etkili) 10-15°C çeşme suyu ile 10 dakika boyunca yıkanmasının ardından, başlangıçta

5.15 ppm olan chlorpyrifos (kontak etkili) miktarının 3.61 ppm düzeyine kadar azaldığı, ancak metabolitinin miktarının 0.15 ppm düzeyinde sabit kaldığı tespit edilmiştir (Han vd., 2013).

Isıl işlem uygulamanın pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Isıl işlem uygulamaları uzun yıllardır gıdaların muhafazası ve tüketimi için uygulanan işlemlerdir. Pestisit kalıntılarının azaltılmasında ısıl işlemlerin etkileri endotermik veya ekzotermik olabilir. Pestisitlere ısıl işlem uygulanması sonucunda kristal yapılarında değişimler meydana gelmekte ve birtakım kimyasal olaylar (yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları, dehidrasyon, dekompozisyon) neticesinde kalıntı miktarlarında azalmalar olmaktadır. Bu değişimlerin çoğu endotermik ısı etkisi sonucunda meydana gelmektedir (Karakaya ve Boyraz, 1992). Domateslere hasat öncesi tarlada uygulanan chlorpyrifos (kontak etkili) pestisitinin kalıntısının ve metaboliti olan 3,5,6-trichloro-2-

pyridinolun (kontak etkili) ısıl işlem ile uzaklaşma miktarının incelenmesi amacı ile pestisit uygulanmış domateslerden salça üretilmiş ve pestisit miktarları belirlenmiştir. Hammadde olarak kullanılan domateslerde chlorpyrifos (kontak etkili) pestisiti 5.15 ppm (mg/kg) ve metaboliti 0,15 ppm düzeyindedir. Isıl işlemden önce yıkanan domateslerde kalıntı miktarı chlorpyrifos (kontak etkili) için 3.61 ppm ve metaboliti için 0.15 ppm düzeyindedir. Haşlama (80-90°C, 30 dakika) işleminden sonra chlorpyrifos (kontak etkili) miktarı 0.43 ppm ve metabolit miktarı 0.11 ppm olarak tespit edilmiştir. Sterilizasyon (120°C, 30 dakika) işleminden sonra ise chlorpyrifos (kontak etkili) pestisitinin kalıntı miktarının 0.33 ppm ve metabolitlerinin 0.12 ppm düzeyinde olduğu saptanmıştır (Han vd., 2013).

Güneşte ve etüvde kurutma işlemlerinin üzüm-lerde yer alan diazinon (sistemik etkili), dimethoate (yarı sistemik etkili), chlorpyrifos (kontak etkili), iprodione (sistemik etkili), methidathion (sistemik etkili) pestisitleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, kontrollü şartlarda yetiştirilen üzümlere hasat sonrası pestisitler konsantrasyonları belirli olan çözeltiler şeklinde püskürtülerek uygulanmıştır. Chlorpyrifos (sistemik etkili) güneşte kurutma işlemiyle %73, diazinon (sistemik etkili) %92, methidathion (sistemik etkili) %82, dimethoate (yarı sistemik etkili) %39 oranında azalmasına rağmen, iprodione (sistemik etkili) miktarında bir azalma gözlenmemiştir. Etüvde kurutma işleminde ise chlorpyrifos (sistemik etkili)

ve methidathion (sistemik etkili) 70°C ve 80°C, diazinon (sistemik etkili) ve dimethoate (yarı sistemik etkili) 60°C, 70°C ve 80°C sıcaklık uygulamalarında % 90'ın üzerinde uzaklaştırıldığı, ancak iprodione (sistemik etkili) miktarında herhangi bir azalma olmadığı sonucu elde edilmiştir (Cingöz, 2013).

Maserasyon ve fermantasyon işlemlerinin pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Maserasyon, suda bekleterek yumuşatma ve bileşenlerine ayırma anlamına gelir. Şarap üretiminde maserasyon sırasında üzümün kabuk, çekirdek ve saplarında bulunan çeşitli maddeler sıraya geçer (Kırmızı Şarap Yapımı, 2013). Şarap üretimi amacı ile kullanılacak olan üzümlere bağlarda hasat öncesi uygulanan azoxystrobin (sistemik etkili), fluazinam (kontakt etkili), kresoxim-methyl (yarı sistemik etkili), mepanipirim (kontakt etkili) pestisitlerinin kalıntıları üzerine maserasyonun etkilerinin incelendiği bir çalışmada, maserasyon süresi 15 gün olarak belirlenmiştir. Üzümlerde uygulamanın hemen ardından kalıntı miktarları azoxystrobin (sistemik etkili), fluazinam (kontakt etkili), kresoxim-methyl (yarı sistemik etkili) ve mepanipirim (kontakt etkili) için sırası ile 0.5, 1.21, 0.15 ve 1 ppm olarak belirlenmiş ve maserasyon işleminin ardından azoxystrobin (sistemik etkili) 0.12 ppm, kresoxim-methyl (yarı sistemik etkili) 0.09 ppm düzeyine azalmış ve fluazinam (kontakt etkili) ve mepanipirim (kontakt etkili) kalıntılarında rastlanmamıştır (Cabras vd., 1998).

Asmalara yapraklar hasat edilmeden önce uygulanan ve önerilen bekleme sürelerine uyularak toplanan yapraklarda folpet (kontakt etkili), triadimenol (sistemik etkili), carbendazim (sistemik etkili), metalaxyl (sistemik etkili), mancozeb (kontakt etkili) pestisitlerinin, % 8 oranında tuz (NaCl) ve % 0,25 laktik asit içeren 100°C'ye kadar ısıtılıp ilave edilen salamura (sıcak salamura) ve oda koşullarında (20-24°C) ilave edilen salamura (soğuk salamura) ile 3 ay boyunca fermantasyonu sonucunda kalıntılarının araştırıldığı çalışmada, sıcak salamura fermantasyonu gerçekleştirilen yapraklarda soğuk salamura fermantasyonu gerçekleştirilenlere göre daha iyi sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir. Fermantasyon öncesi taze yapraklarda folpet (kontakt etkili) ve mancozeb (kontakt etkili) kalıntısına rastlanmamıştır. Diğer pestisitler için miktarlar triadimenol (sistemik etkili) 0.473 ppm, carbendazim (sistemik etkili) 0.259 ppm, metalaxyl (sistemik etkili) 0.520 ppm olarak tespit edilmiştir. Sıcak salamura fermentasyonu sonucunda bu kalıntıların miktarlarının triadimenol (sistemik

etkili) 0.213 ppm, carbendazim (sistemik etkili) 0.065 ppm, metalaxyl (sistemik etkili) 0.045 ppm düzeyine azaldığı sonucuna varılmıştır (Cangi vd., 2014).

Ozon uygulamasının pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Ozon, atmosferimizde doğal halde bulunan oldukça önemli bir maddedir. Üretimi ise ozon jeneratörleri ile mümkündür (Ekici,2006). Ozonlama işlemi ile meyve ve sebzelerde pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasında ozon gaz olarak veya su içerisinde çözündürülerek kullanılabilir. Bu amaçla, hasat edilmiş marul, çeri domates ve çileklere püskürtülerek uygulanan fenitrothion (kontakt etkili) pestisit kalıntısının basınç azaltımı yöntemi ve gaz-su sirkülasyon yöntemi ile üretilen ozon kullanılarak uzaklaştırma miktarı incelenmiştir. Basınç azaltımı yöntemi ile uygulanan ozonun etkinliğinin gaz-su sirkülasyon yöntemi ile uygulanan ozondan daha yüksek olduğu görülmüştür. Basınç azaltımı yöntemi ile 2 ppm dozunda, 20°C sıcaklıkta 10 dakika süre ile uygulanan ozonun, marul örneğinde 356 ppm olan pestisitinin 92 ppm, domateste 3 ppm olan pestisitinin 2 ppm, çilekte 43 ppm olan pestisitinin 23 ppm miktarına kadar azalmasını sağladığı görülmüştür (Ikeura vd., 2011).

Pak çoy (çin lahanası) bitkisine hasat sonrası püskürtülerek uygulanan methyl-parathion (kontakt etkili), parathion (kontakt etkili), diazinon (sistemik etkili) ve cypermethrin (yarı sistemik etkili) pestisitlerinin uzaklaştırılmasında ozon dozu (1.4 ve 2.0 mg/L), sıcaklık (14 ve 24°C) ve ozon uygulama süresinin (15 ve 30 dakika) etkisinin belirlenmesi amacı ile çalışma gerçekleştirilmiş ve 2 mg/L ozon dozu, 24°C sıcaklık ve 30 dakika uygulama süresi diazinon (sistemik etkili) için 346 ppm'den 290 ppm'e, methyl-parathion (kontakt etkili) için 441 ppm'den 322 ppm'e, parathion (kontakt etkili) için 541 ppm'den 348 ppm'e ve cypermethrin (yarı sistemik etkili) için 361 ppm'den 302 ppm'e azalma sağlanması nedeni ile en etkin parametreler olarak tespit edilmiştir (Wu vd., 2009).

Domateslere hasat öncesi tarlada uygulanan imidacloprid (sistemik etkili), fenazaquin (kontakt etkili), lambdacyhalothrin (yarı sistemik etkili) pestisitlerinin kalıntılarının uzaklaştırılması amacı ile 600 ml/dk ve 15°C'de uygulanan ozonun imidacloprid (sistemik etkili) pestisitinde %40.88, fenazaquin (kontakt etkili) pestisitinde %57.76 ve

lambdacyhalothrin (yarı sistemik etkili) pestisitinde %20.4 oranında azalma sağladığı sonucuna varılmıştır (Baltacı-Yiğit, 2015).

Ultrases uygulamasının pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Ses enerjisi sürekli dalga-tipi hareket oluşturarak ortama girdiğinde, bu hareketin bir sonucu olarak boylamsal dalgalar oluşur ve bu durumda ortamdaki partiküller üzerinde sıkışma ve gevşeme yaratır. Uygulanan ses dalgasının büyüklüğü ve kullanılan frekansa bağlı olarak çok çeşitli uygulamalara olanak sağlar (Sayın ve Tamer,2014). Yüksek güçlü ultrases teknolojisi hücre parçalama, partikül (boyut) küçültme ve bakteri sporlarının öldürülmesinde etkili olabilmektedir (Yüksel, 2013).

Ultrasesin hücre parçalama özelliğinden yola çıkarak pestisit uzaklaştırmadaki etkinliği ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla, elma suyuna karıştırılan 7.82 µmol/L diazinon (sistemik etkili) pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması amacı ile 15±2°C sıcaklıkta farklı güç (100, 300 ve 500 W) ve farklı sürelerde (15-120 dk.) gerçekleştirilen ultrases uygulamasının sonuçları incelendiğinde, ultrases gücü arttıkça ve süre uzadıkça etkinliğin arttığı sonucuna varılmıştır. En etkili parametreler 500 W gücünde 120 dakika uygulanan ultrases işleminin 7.82 µmol/L olan pestisit miktarını, 1.9 µmol/L miktarına azaldığı işlem parametreleri olarak belirlenmiştir (Zhang vd., 2010).

Domateslere hasat sonrası 5 saniye daldırılarak uygulanan acephate (sistemik etkili), malathion (kontakt etkili), carbaryl (sistemik etkili), bifenthrin (yarı sistemik etkili), cypermethrin (yarı sistemik etkili), permethrin (kontakt etkili), cyhalothrin (sistemik etkili), chlorothalonil (kontakt etkili) ve imidacloprid (sistemik etkili) pestisitlerinin çeşitli çözeltilerle (su, sodyum hipoklorit, peroksiasetik asit, tween 20) ultrases destekli yıkama işlemindeki pestisit giderimi etkinliği araştırılmış ve ultrases destekli çeşme suyu ve peroksiasetik asit çözeltileri ile yıkama en etkili işlemler olarak saptanmıştır. Ultrases destekli çeşme suyu ile yıkama sonucunda acephate (sistemik etkili) %40, malathion (kontakt etkili) %29, carbaryl (sistemik etkili) %30, bifenthrin (yarı sistemik etkili) %70, cypermethrin (yarı sistemik etkili) %60, permethrin (kontakt etkili) %55, cyhalothrin (sistemik) %60, chlorothalonil (kontakt etkili) %65 ve imidacloprid (sistemik etkili) %65 oranında ve ultrases destekli peroksiasetik asit çözeltisi ile yıkama işleminin ardından acephate (sistemik etkili) %30, ma-

lathion (kontakt etkili) %10, carbaryl (sistemik etkili) %60, bifenthrin (yarı sistemik etkili) %60, cypermethrin (yarı sistemik etkili) %60, permethrin(kontakt etkili) %40, cyhalothrin (sistemik etkili) %60, chlorothalonil (kontakt etkili) %60 ve imidacloprid (sistemik etkili) %50 oranında azalmıştır (Al-Taher vd., 2013).

Vurgulu elektrik alan uygulamanın pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Vurgulu elektrik alan (VEA) uygulaması, bir seri elektrot arasına yerleştirilen ürüne µs-ms arasında değişen sürelerde elektrik vurguları uygulanması prensibine dayanır (etki şiddeti 2-80 kV/cm). VEA daha çok sıvı gıdalarda başarılı olmaktadır (Güleç,2006). Elma suyuna karıştırılan 2.9 mg/L methamidophos (kontakt etkili) ve 2.1 mg/L chlorpyrifos (kontakt etkili) pestisitlerinin kalıntılarının uzaklaştırılmasının incelenmesi amacı ile 8-20 kV/cm etki şiddetinde ve 6-26 atış sayısında vurgulu elektrik alan uygulaması gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre her iki pestisit için de etki şiddeti ve atış sayısı arttıkça uzaklaşma miktarının arttığı belirlenmiş ve en etkili parametrelerin methamidophos (kontakt etkili) 2.05 mg/L, chlorpyrifos (kontakt etkili) 0.4 mg/L kalıntı bırakan 26 kV/cm etki şiddeti ve 26 atış olduğu saptanmıştır(Chen vd., 2009).

Yüksek hidrostatik basınç uygulamanın pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Yüksek hidrostatik basınç sistemlerinde temel prensip gıdayı çevreleyen suyu sıkıştırmaktır (Tülek ve Filizay,2006).

Çeri domateslere hasat sonrası püskürtülerek uygulanan chlorpyrifos (kontakt etkili) pestisitinin kalıntılarının uzaklaştırılması amacı ile iki farklı sıcaklık (5 ve 25°C) ve 30 dakika boyunca uygulanan farklı basınçların (25-400 MPa) etkinliği araştırılmıştır. Düşük sıcaklıkta (5°C) 75 MPa düzeyinde uygulanan basınç %76 uzaklaştırma oranı ile en etkili koşul olarak tespit edilmiştir. 75 MPa değerinin altında ve üstünde uygulanan basınç değerlerinde uzaklaştırma verimliliği azalmaktadır (Iizuka vd., 2013).

Brüksel lahanasına hasat sonrası püskürtülerek uygulanan chlorpyrifos (kontakt etkili) pestisitinin yüksek hidrostatik basınç uygulaması ile uzaklaştırılma etkinliğinin incelendiği diğer bir çalışmada, 5°C ve 25°C sıcaklıklarda 30 dakika süre ile 0.1-400 MPa basınçlarında uygulanan işlemde,

yaklaşık %80 uzaklaştırma yüzdesi ile 5°C sıcaklık ve 200 MPa basınç optimum işlem koşulları olarak tespit edilmiştir (Iizuka ve Shimizu, 2014).

Gama ışını uygulamasının pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine etkisi

Gıda ışınlama, gıda maddesinin istenilen bir teknolojik amaca ve usulüne uygun olarak yeterli bir dozda ışınlanmasıdır. Gıdaların muhafazasında en yaygın olarak kullanılan ışın, gama ışınlarıdır. Işımlar direkt olarak ışınlanacak gıdanın üzerine verilir (Aydemir-Atasever ve Atasever, 2007). Gama ışınlarının pestisit kalıntıları üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile üzüm, hurma, patates ve soğanlara hasat sonrası püskürtülerek malathion (kontakt etkili), pirimiphos-methyl (yarı sistemik etkili), cypermethrin (yarı sistemik etkili) pestisitleri uygulanmış ve sonuçları değerlendirilmiştir. Gama ışını uygulaması 23°C sıcaklıkta 0.15-7 kGy dozunda ve 0.4-29 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçları incelendiğinde patatete 1 kGy doz pirimiphos-methylde (yarı sistemik etkili) 0.009 ppm, üzümde 7 kGy doz malathionda (yarı sistemik etkili) 0.31 ppm, pirimiphos-methylde (yarı sistemik etkili) 0.191 ppm, cypermethrinde (sistemik etkili) 0.052ppm, hurmada 1 kGy doz pirimiphos-methylde (yarı sistemik etkili) 0.0444 ppm azalma sağlamıştır (Basfar vd., 2012).

Hasat öncesi uygulanan kırmızıbiberde diazinon (sistemik etkili), salatalıkta chlorpyrifos (kontakt etkili) ve domatete phosphamidon (sistemik etkili) pestisiti üzerine gama ışınlarının etkisinin incelendiği çalışmada, 0.5 ve 1.0 kGy dozlarındaki gama ışınları, ön işlemlerden geçirilmiş ve polietilen poşetlerde yer alan örnekler üzerine uygulanmıştır. Örneklerde bulunan chlorpyrifos (kontakt etkili), diazinon (sistemik etkili) ve phosphamidon (sistemik etkili) pestisitlerinin 0.5 kGy radyasyon dozunda azalma yüzdeleri sırası ile %35-43, %40-48, ve %30-45 olarak bulunmuştur. Radyasyon dozu iki katına çıkarıldığı zaman azalma yüzdeleri sırası ile %80-91, %85-90 ve %90-95 olarak tespit edilmiş ve en uygun dozun 1 kGy olduğu sonucuna varılmıştır (Chowdhury vd., 2014).

SONUÇ

Bitkilerde pestisitler yaygın kullanım alanına sahiptirler. Ancak bilinçsiz kullanımları kalıntıya neden olmaktadır. Pestisitlerin kalıntıları uzaklaştırılmalı veya yok edilmelidir.

Kalıntıları uzaklaştırmak amacı ile ürün çeşidi ve etki mekanizmasına (sistemik-kontakt) göre yöntem belirlenir. Çeşme suyu, klordioksit çözeltisi ve peroksiasetik asit çözeltileri gibi çözeltiler ile yıkama işlemi ve ısı işlem uygulaması ile en fazla kontakt etkili pestisitlerin uzaklaştırılması sağlanırken, aynı zamanda bu işlemler yarı sistemik pestisitlerde de belirli düzeyde etki yaratmaktadır. Ozon, ultrases, vurgulu elektrik alan, yüksek hidrostatik basınç ve gama ışını uygulamaları en fazla kontakt etkili pestisitlerde azaltma yüzdesine sahipken, yarı sistemik ve sistemik etkili pestisitlerin kalıntılarının azaltılmasında da yarar sağlamaktadır.

Pestisit kalıntılarının uzaklaştırma işlemine başvurmamak adına kalıntıya neden olmamak en önemli parametredir. Uygulama dozu, uygulama ile hasat arasında geçen süreye (bekleme süresi) dikkat edilmesi kalıntıya neden olmamak adına uyulabilecek ilk kurallar arasında yer almaktadır. Pestisit kalıntısına neden olmamak için uygulama öncesi gerekli önlemler alınmalı, uygulayıcılar eğitilmeli ve bilinçsiz kullanımdan kaçınılmalıdır.

Kaynaklar

- Adachi, A. & Okano, T. (2006). Pesticide Residue Reduction in Selected Vegetables Using Rice-Bran. *Journal of Health Science*, 52(3), 320-323.
- Al-Taher, F., Chen, Y., Wylie, P. & Cappozzo, J. (2013). Reduction of pesticide residues in tomatoes and other produce. *Journal of Food Protection*, 76(3), 510-510.
- Kırmızı Şarap Yapımı*, (16 Ocak 2013) http://bag-vesarap.org/index.php?option=com_content&view=article&id=33:kirmizi-sarap-yapimi&catid=25:sarap-yapimi&Itemid=54 (Erişim Tarihi: 19.01.2016)
- Aydemir-Atasever, M. & Atasever, M. (2007). Işınlamanın Gıda Teknolojisinde Kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2(3), 107-116.
- Bajwa, U. & Sandhu, K.S. (2014). Effect of handling and processing on pesticide residues in food- a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(2), 201-220.
- Baltacı-Yiğit, H.M. (2015). Ozonla pestisit giderimi uygulamasının domatete renk ve C vitaminine etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

- Basfar, A.A., Mohamed, K.A. & AlSager, O.A. (2012). De-contamination of pesticide residues in food by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 81, 473-478.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Pirisi, F.M., Espinoza, J. & Mendoza, A. (1998). Fate of azoxystrobin, fluazinam, kresoxim-methyl, mepanipyrim and tetraconazole from vine to wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 319-321.
- Cangi, R., Yanar, Y., Yağcı, A., Topçu N., Sucu, S. & Dülgeroğlu, Y. (2014). Narince Üzüm Çeşidinin Yapraklarında Farklı Fungusit Uygulamaları ve Salamura Yöntemlerine Bağlı Olarak Fungusit Kalıntı Düzeylerinin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 31 (2), 23-30.
- Cengiz, M.F., Certel, M. & Göçmen, H. (2006). Residue contents of DDVP (Dichlorvos) and diazinon(kontak) applied on cucumbers grown in greenhouses and their reduction by duration of a pre-harvest interval and post-harvest culinary applications. *Food Chemistry*, 98(1), 127-135.
- Chen, F., Zeng, L., Zhang, Y., Liao, X., Ge, Y., Hu, X. & Jiang, L. (2009). Degradation behaviour of methamidophos and chlorpyrifos in apple juice treated with pulsed electric fields. *Food Chemistry*, 112 (4), 956-961.
- Chen, Q., Wang, Y., Zhang, Y. & Liao, X. (2014). Chlorine dioxide treatment for the removal of pesticide residues on fresh lettuce and in aqueous solution. *Food Control*, 40, 106-112.
- Chowdhury, M.A.Z., Jahan, I., Karim, N., Alam, M.K., Rahman, M.A., Moniruzzaman, M., Gan, S.H. & Fakhrudin, A.N.M. (2014). Determination of Carbamate and Organophosphorus Pesticides in Vegetable Samples and the Efficiency of Gamma-Radiation in Their Removal. *BioMed Research International*, 2014, 9.
- Cingöz, Ş. (2013). Kurutma işleminin üzümlerdeki bazı pestisit kalıntıları üzerine etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 60 syf.
- Demircan, V. & Yılmaz, H. (2005). Isparta İli Elma Üretiminde Tarımsal İlaç Kullanımının Çevresel Duyarlılık ve Ekonomik Açından Analizi, *Ekoloji Dergisi*, 15-25.
- Ekici, L., Sağdıç, O. & Kesmen, Z. (2006). Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan: Ozon. *Gıda Teknolojileri Dergisi*, 1(1), 47-57.
- Eryüce, B. (2012). Tarım İlacı Nedir? http://www.izto.org.tr/portals/0/iztogenel/dokumanlar/tarim_ilaci_nedir_b_eryuce_26.04.2012%2022-03-49. (Erişim Tarihi: 10.01.2016)
- Ghani, B.A., Hanafi, A. & Nasr, I.N. (2010). Non-toxic Washing Solutions for Decreasing Myclobutanil, Fenhexamid and Boscalid Residues in Sweet Pepper and Cherry Tomatoes. *Journal of Basic and Applied Sciences* 4(8), 3360-3365.
- Güleç, A.H. (2006). Modern Gıda Muhafazasında Vurgulu Elektrik Alan ve Ultrason Uygulamaları. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, 73-76.
- Han, Y., Li, W., Dong, F., Xu, J., Liu, X., Li, Y., Kong, Z., Liang, X. & Zheng, Y. (2013). The behavior of chlorpyrifos and its metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in tomatoes during home canning. *Food Control*, 31(2), 560-565.
- Iizuka, T., Maeda, S. & Shimizu, A. (2013). Removal of pesticide residue in cherry tomato by hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, 116(4), 796-800.
- Iizuka, T. & Shimizu, A. (2014). Removal of pesticide residue from Brussels sprouts by hydrostatic pressure. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 70-75.
- Ikeura, H., Kobayashi, F. & Tamaki, M. (2011). Removal of residual pesticide, fenitrothion, in vegetables by using ozone microbubbles generated by different methods. *Journal of Food Engineering*, 103(3), 345-349.
- Karakaya, M. & Boyraz, N. (1992). Gıda Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları. <http://docplayer.biz.tr/3391422-Gida-kirlenmesinde-pestisitler-ve-korunma-yolları.html> (Erişim Tarihi: 05.02.2017).
- Sayın, L. & Tamer, C.E. (2014). Yüksek Hidrostatik Basınç ve Ultrasonun Gıda Koruma Yöntemi Olarak Kullanımı. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(1), 83-94.

- Tanrıvermiş, H. (2000). Orta sakarya havzası'nda domates üretiminde tarımsal ilaç kullanımının ekonomik analizi. Ankara Üniversitesi, Proje Raporu 2000-4.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. & Horuz, S.(2010) Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 154-169
- Tülek, Y. & Filizay, G. (2006). Gıda endüstrisinde yüksek hidrostatik basınç uygulamaları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12(3), 369-377.
- Wu, J., Lan, C. & Sing-Chan, G. Y. (2009). Organophosphorus pesticide ozonation and formation of oxon intermediates. *Chemosphere*, 76(9), 1308-1314.
- Yaralı, E. (2014). Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler I. <http://www.akademik.adu.edu.tr/myo/cine/webfol-ders/File/ders%20notlari/gida%20temel%20islemler%20I.pdf> (Erişim Tarihi: 16.01.2016).
- Yüksel, F. (2013). Gıda Teknolojisinde Ultrases Uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Dergisi*, 8(2), 29-38.
- Zhang, Y., Zhang, W., Liao, X., Zhang, J., Hou, Y., Xiao, Z., Chen, F., & Hu, X. (2010). Degradation of diazinon in apple juice by ultrasonic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(4), 662-668.

MOLECULAR PROFILE OF ORAL PROBIOTIC BACTERIA TO BE USED WITH FUNCTIONAL FOODS

Rafiq Gurbanov^{1,2} ORCID ID: [0000-0002-5293-6447](https://orcid.org/0000-0002-5293-6447), **Fatih Yıldız**³ ORCID ID: [0000-0003-4475-5379](https://orcid.org/0000-0003-4475-5379)

¹ Department of Molecular Biology and Genetics Bilecik Şeyh Edebali University, Bilecik, Turkey

² Biotechnology Application and Research Center, Bilecik Şeyh Edebali University, Bilecik, Turkey

³ Department of Food Engineering and Biotechnology, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

Received: 20.02.2017

Accepted: 26.05.2017

Published online: 18.06.2017

Corresponding author:

Fatih YILDIZ, Department of Food Engineering and Biotechnology, Middle East Technical University, 06800 Ankara, Turkey

E-mail: fatih@metu.edu.tr

Abstract:

In this work, we present thermal and IR spectral profile and thereby molecular information about the probiotic bacteria- *Streptococcus salivarius* K12 (SsK12) to be further used with functional foods. In this context, for the first time, we characterized the global cellular constituents of this bacteria i.e. its proteins, lipids, polysaccharides, ribosomes, nucleic acids and cell wall by powerful calorimetric (differential scanning calorimetry) and infrared spectroscopic techniques, which are widely applied bioanalytical methods especially in the food microbiology and industry. Our results can be used by food specialists for the development of probiotic functional foods such as cheese, kefir, yogurt, buttermilk, pickle and chewing gum enriched with viable lyophilized bacteria to preserve oral health. Furthermore, the information we present here, would contribute for the development of prophylactic strategies and for the generation of recombinant probiotic SsK12 strains, which would help to launch out a new public health-care action plans.

Keywords: Probiotics, FTIR, Differential Scanning Calorimetry, Functional Foods, Freeze Drying, *Streptococcus salivarius* K12 (SsK12)

Introduction

Recent literature on oral and nasopharyngeal infectious diseases advice the use of preventive approaches to eradicate them before appearance of the symptoms rather than their symptomatic and post-symptomatic treatment (Tagg and Dierksen, 2003; Guglielmetti *et al.*, 2010; Santagati *et al.*, 2012; Yildiz, 2016). In this context many strategies have been developed and generally they are based on the application of different probiotic bacteria for the prevention and therapy of various diseases (Wescombe *et al.*, 2009; Wescombe *et al.*, 2010; Wescombe *et al.*, 2012; Di Pierro *et al.*, 2014). In this article we concentrated on one of these probiotic bacteria namely *Streptococcus salivarius* K12 (SsK12), by considering its strong preventive potential for infectious disease control (Tagg, 2004; Tagg, 2009). It should be noted that, this non-pathogenic strain has been successfully applied for the prevention and therapy of different bacterial and viral infectious diseases infecting oral and nasopharyngeal cavities (Power *et al.*, 2008; van Zon *et al.*, 2012; Di Pierro *et al.*, 2013; Di Pierro *et al.*, 2014; Di Pierro *et al.*, 2015). Children taking SsK12 appear to have had significantly fewer group A beta-hemolytic streptococci (GABHS) infections both during the 90-day period of prophylaxis and during the following 9 months (Gregori *et al.*, 2016). Another study also demonstrated its preventive role in reducing the incidence of both streptococcal (90 %) and viral pharyngitis (80 %) and/or tonsillitis in children (Di Pierro *et al.*, 2014). Patras *et al.* showed the effectiveness of SsK12, even in the preventive therapy against the vaginal colonization of group B streptococcus (GBS) and its spread to the newborn (Patras *et al.*, 2015). Interestingly, it has shown to increase the salivary interferon- γ and decrease the interleukin-8 levels in adults, affecting neither interleukin-1 β nor the tumor necrosis factor- α (Mostefaoui *et al.*, 2004; Wescombe *et al.*, 2012). Although, a plenty of research have been conducted in the scientific and engineering community to study this strain, it is surprising that the global cellular constituents of this bacteria i.e. its proteins, lipids, polysaccharides, ribosomes, nucleic acids and cell wall have not been comprehensively characterized yet. Considering its great therapeutic potential and a lack of sufficient knowledge about its molecular constituents, we devoted effort to characterize SsK12 in a holistic way, by powerful calorimetric

(differential scanning calorimetry- DSC) and infrared (IR) spectroscopic techniques for the first time, which are widely applied bioanalytical methods especially in the food microbiology and industry for their ultimate and explicit capacities for providing qualitative and quantitative information about a specimen simultaneously (Naumann *et al.*, 1991).

DSC is a thermal fingerprint technique measuring thermally induced conformational changes and phase transitions in the molecules (Kaletunç *et al.*, 2004; Abuladze *et al.*, 2009). Several endothermic transitions are being observed in the microorganisms under the thermal effect which correspond to the conformational alterations in the molecular ingredients of the studied microorganism such as lipids, proteins, nucleic acids and cell wall components (Lee and Kaletunc, 2002; Chiu and Prenner, 2011). DSC measures these thermal events and delivers the unique structural and functional information about the microbial molecules and various intracellular processes (Mackey *et al.*, 1991; Brannan *et al.*, 2015). DSC profiles reminds the gel electrophoresis profiles, however in DSC the specific peaks are identified according to the thermal stability rather than the mass and charge (Lepock *et al.*, 1990). Although, DSC has been mostly used for the analysis of single molecules, sophisticated biological systems like mammalian cells (Lepock *et al.*, 1990), vegetative bacterial cells (Miles *et al.*, 1986; Anderson *et al.*, 1991; Mackey *et al.*, 1991) and bacterial spores (Maeda *et al.*, 1978; Miles *et al.*, 1986; Anderson *et al.*, 1991) have also been studied.

IR spectroscopy has been extensively used as a tool for the classification, identification and discrimination of microorganisms by producing unique finger-prints of whole-organism (Wenning and Scherer, 2013). For example, Dziuba *et al.* used IR spectroscopy to identify several lactic acid bacteria at the genus level (Dziuba *et al.*, 2007), while Erukhimovitch *et al.* showed that it can be used for rapid discrimination of bacterial infections from fungal infections (Erukhimovitch *et al.*, 2005). This technique is a quick, relatively inexpensive, easy to use, non-destructive and sensitive method, requiring a relatively small amount of sample with no excessive sample preparation steps like amplification, labelling or staining (Naumann *et*

al., 1991; Haris and Severcan, 1999; Maquelin *et al.*, 2003).

In this study, for the first time, we obtained thermal and IR spectral profile and thereby molecular information about the SsK12 cell which can be exploited in the development of preventive treatment and post-disease prophylactic strategies and/or for the generation of recombinant probiotic SsK12 strains. In its turn, this would help to launch out a new public health-care action plan and reduce the treatment expenses and antibiotic consumption significantly.

Materials and Methods

Bacteria growth conditions, determination of colony forming units (CFU) and lyophilization experiments

SsK12 was obtained from BLIS Technologies Ltd. manufactured as a fast-melt tablet (BLIS K12) and was grown 37°C temperature in an orbital shaker (*Zhicheng*, CN) at 150 rpm for 40 h. Skim milk (1L for a tablet) was used as a growth medium. The incubated medium was poured into 300 mL Fast-Freeze Flasks (*Labconco*, US) which were autoclaved before and lyophilized in a benchtop Freeze Dry System (*FreeZone 6 Liter*, *Labconco*, US). Before and after lyophilization the grown culture was inoculated to nutrient agar (NA) for the determination of CFU in order to calculate the viable cell counts and thereby evaluate the effect of lyophilization on bacteria.

DSC experiments

Lyophilized bacteria cells were grown at 37 °C temperature in an orbital shaker (*Zhicheng*, CN) at 150 rpm for 24 h. Nutrient broth (NB) medium was used as a growth medium. All bacteriological procedures were performed in sterile conditions under a laminar flow hood (*Esco*, US). Bacteria cells were centrifuged (*Spectrafug 6C*, *LABNET*, US) at 4.000 rpm for 15 minutes in 15 mL volumes at a final optical density (OD₆₀₀) of 1 using UV-visible spectrophotometer (*UV-5100*, *SOIF*, CN). To provide isotonic environment for the cells and to discard the dead and clumped cells, the obtained pellet was washed twice with 1 mL of Phosphate buffered saline (PBS) buffer solution. The pellet was centrifuged (*Sigma 1-14 Microfuge*, *SciQuip*, UK) again at 4.000 rpm for 1 minute in 1 mL volume and all the remaining water was removed by a micropipette. The pellets were prepared in the aluminum hermetic DSC

sample pans and the pans were sealed for the experiment. To avoid the calorimetric pan effect the empty and sealed pan was used as a reference. DSC thermograms were obtained at a thermal region from 30°C to 110°C at a rate of 2°C/min. Enthalpies (ΔH° J/g) were calculated by dividing the peak area to the sample weight. All the experiments and analyses of the obtained thermograms were performed using DSC Q2000 instrument (*TA Instruments*, US) and thermal analysis software (*Universal Analysis 2000*, *TA Instruments*, US), respectively.

IR spectroscopy experiments and data analyses

The IR spectra of bacteria were obtained using Frontier FTIR Spectrometer (*PerkinElmer*, US) equipped with a universal ATR Miracle accessory. The spectrum of air was used as a reference. 10 μ L of sample was placed on a diamond/ZnSe crystal plate (*PerkinElmer*, US) and dried with a mild nitrogen flux for 2 minutes. The samples were scanned over the spectral range 4000 to 650 cm^{-1} , at room temperature, with a resolution of 4 cm^{-1} and 32 scans.

In data analyses, the second derivative and vector-normalized IR spectra were used in order to increase accuracy during the determination of band positions. For visual demonstration of the changes in the spectra in the figures, the absolute band intensities were expressed as percent intensity and normalized to 100 %. *Opus 5.5* software (*Bruker*, US) was utilized for all data pre-processing.

Results and Discussion

Before lyophilization CFU was calculated as 1.7×10^8 CFU/mL for fast-melt tablet form of SsK12 grown in skim milk medium. After lyophilization CFU was calculated as 3.3×10^9 CFU/mL. On the upshot, it seems that lyophilization process did not affect the viability and activity of the bacteria and can be utilized for the production of dry SsK12 pellets safely. Dry pellet form of probiotics is important in food industry since they increase the shelf-life of the product and keep the bacteria in an active state. In this framework, the administration of lyophilization process to probiotic bacteria has also many advantages such as convenient and economical handling, transport and storage at ambient conditions (*Dianawati et al.*, 2013).

The positions and enthalpies of the DSC thermal peaks for SsK12 were assigned according to a literature and summarized at Table 1. As shown in the table, the thermal profile of bacteria was divided into three regions. In the literature these regions are respectively referred as ribosomal proteins, nucleic acids and cell wall components. Totally 9 thermal peaks were found for SsK12. The peak located at the 64.0 °C was found to be emerging from the degradation and/or denaturation of 50S ribosomes. Enthalpy value ΔH° for this peak was determined as 0.5000 J/g. Although the peaks specific for other ribosomes were expected, they were not located at SsK12 thermogram. This finding points out a significant denaturation of cellular proteins as a part of sophisticated ribosome disintegration (Mackey *et al.*, 1991; Mohácsi-Farkas *et al.*, 1999).

At the nucleic acid region of the thermogram the peaks located at 81.5°C (ΔH° 0.2000) and 86.3°C (ΔH° 1.0300) were assigned for the denaturation of RNA, while the peaks at 96.2°C (ΔH° 0.0004), 97.5°C (ΔH° 0.0003), 98.4°C (ΔH° 0.0005) and 99.2°C (ΔH° 0.0009) were considered specific for DNA denaturation. Cell wall components were

melted and degraded at 104.0°C and 109.0°C with ΔH° 0.0100 and 0.0600, respectively.

The whole thermogram was also shown in the Figure 1A, in which all the peaks were labelled accordingly. In addition, 90.0-110.0°C region was shown in Figure 1B for the better illustration and resolution of thermal peaks at that region.

For efficient food production and processing, special considerations should be taken in account related to thermal inactivation of microorganisms. In these technologies, the heat-associated destruction of bacteria is primarily measured through denaturation of important major cellular constituents (cell wall, proteins, lipids and nucleic acids) by using DSC (Mohácsi-Farkas *et al.*, 1999). Knowledge on thermal profile of vegetative SsK12 as a part of functional food can be useful for food industry to concurrently check the adequacy of probiotic product before their marketing. This is very important problem related to probiotic functional foods since according to newest clinical reports and numerous complaints of consumers to European Food Safety Authority (EFSA), these products are not effective at all, most probably due to the lack of viable probiotic bacteria in content of these foods.

Table 1. Thermal profile of *Streptococcus salivarius* K12 (Anderson *et al.*, 1991; Mackey *et al.*, 1991; Alpas *et al.*, 2003; Kaletunç *et al.*, 2004; Tunick *et al.*, 2006; Brannan *et al.*, 2015).

Thermal Region (°C)	#	Peak position (°C)	Enthalpy- ΔH° (J/g)	Assignment
Ribosomal proteins 45-75	1	64.0	0.5000	Degradation and/or denaturation of 50S ribosomes
Nucleic acids 75-100	2	81.5	0.2000	RNA denaturation
	3	86.3	1.0300	
	4	96.2	0.0004	DNA denaturation
	5	97.5	0.0003	
	6	98.4	0.0005	
	7	99.2	0.0009	
Cell wall 100-110	8	104.0	0.0100	Melting and degradation of cell wall components
	9	109.0	0.0600	

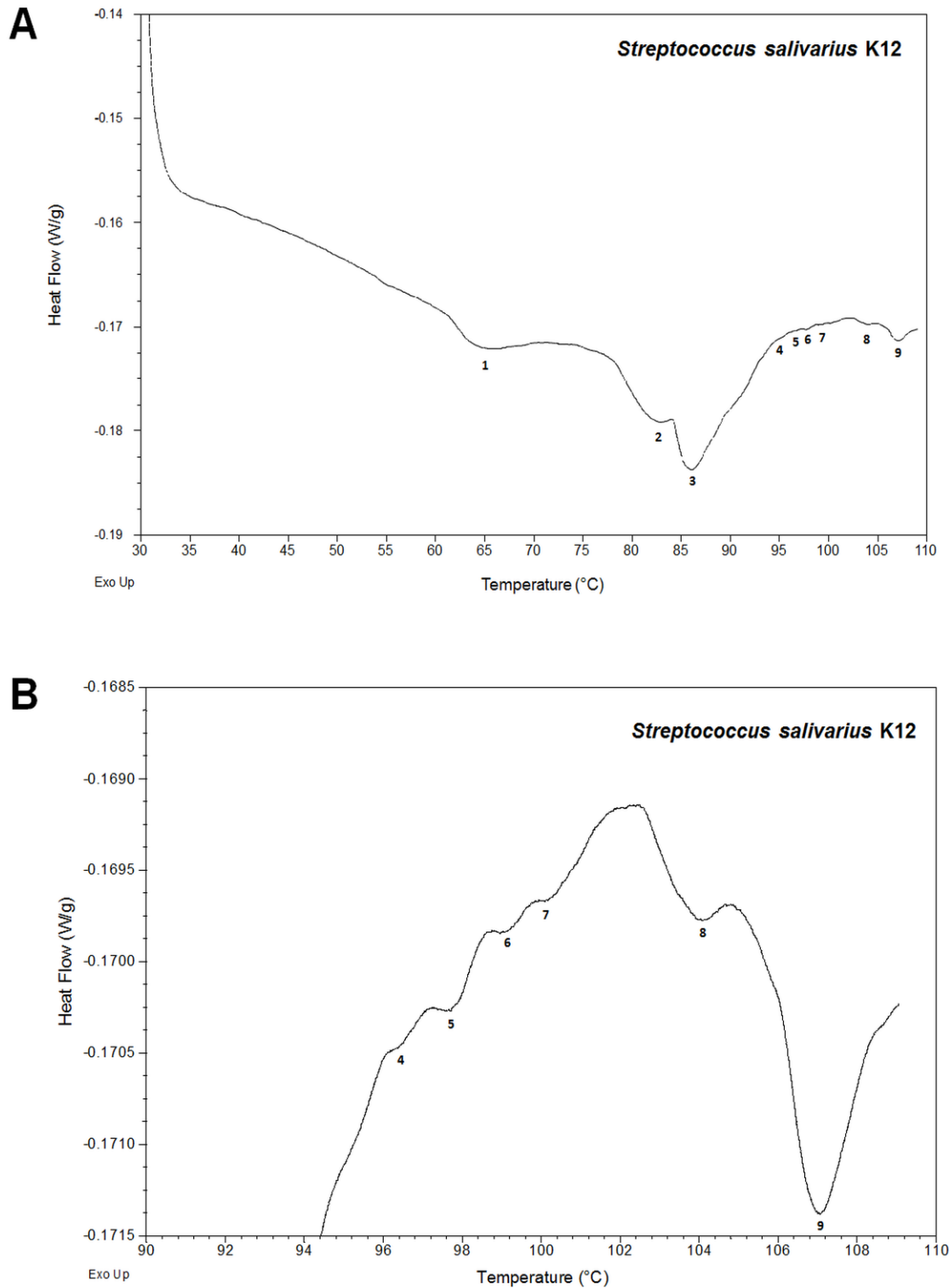


Figure 1. DSC thermograms of *Streptococcus salivarius* K12 A) at 30-110 °C and B) at 90-110 °C thermal regions.

IR spectra of SsK12 are demonstrated in Figure 2A and B, at C-H ($3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$) and fingerprint ($1800\text{-}650\text{ cm}^{-1}$) IR regions, respectively. The spectra contains many bands which give molecular information on different functional groups emerging from lipids, polysaccharides, cholesterol, proteins and nucleic acids. The main bands which were assigned according to literature are labeled and also specified at Table 2. These molecular informations are important for the characterization of specific strains. Since every bacteria has its own molecular IR fingerprint, these molecules can be spotted in any kind of heterogeneous environment i.e. food products and used as biomarkers for the identification of SsK12 and simultaneous quality check i.e. probiotic capacity of particular functional food for oral health.

IR spectrum of SsK12 at $1750\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ region originating from ester CO stretchings of polyester storage compounds is shown in Figure 3A. The bands located at 1746 and 1713 cm^{-1} are specified for polyhydroxyalkanoates (PHAs), while the bands at 1739 and 1731 cm^{-1} are assigned for polyhydroxyoctanoates (PHOs). The band at 1721 cm^{-1} is qualified for polyhydroxybutyrate (PHB) (Naumann *et al.*, 1994; Helm and Naumann, 1995; Randriamahefa *et al.*, 2003; Kamnev, 2008). The percent (%) intensities, i.e. % concentration of these polyester storage compounds are demonstrated in Figure 3B. As shown in the figure, the total % concentrations of PHAs, PHOs and PHB are calculated as 52.2 %, 28.3% and 19.5 %, respectively for bacteria. Polyester storage compounds are the main carbon and energy reservoirs of most bacteria. During the starvation or stress circumstances the bacteria utilizes these polysaccharides to survive and maintain at these life-limiting conditions. In addition, these high molecular weight sugars are also known as extracellular polysaccharides (EPS) which is the most important sugar molecule maintaining removal of toxic compounds by directly binding and disabling their actions. The production of these compounds in SsK12 can give clues on how and when it interacts and combats with other pathogenic microorganisms in specific environment which can be targeted to design smart applications considering probiotic functional foods.

IR spectrum of SsK12 at amide I ($1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$) region corresponding to proteins is presented in

Figure 4A. As can be seen from the figure, the different secondary structures of proteins are measured as antiparallel β -sheet (1691 cm^{-1}), β -turns (1680 cm^{-1}), α -helices (1660 and 1650 cm^{-1}) and β -sheet (1622 cm^{-1}) for SsK12 (Kong and Yu, 2007; Yang *et al.*, 2015; Gurbanov *et al.*, 2016). The % intensities of these protein conformational structures are provided in Figure 4B. It was found that the proteins of SsK12 are predominantly in α -helix conformation (49.5 %). The proteins at β -sheet conformation was measured as 28.8 %, while antiparallel β -sheet and β -turn conformations were calculated as 12.5 % and 9.2 %, respectively. SsK12 mainly produces peptide/protein origin, new generation and broad-spectrum lantibiotics known as salivaricins (A, A2, B and etc.) to fight against infections by secreting them outside of the cell. Determination of protein composition of intact bacteria and also protein secondary structures of its proteins can be helpful for the understanding antibiotic production mechanisms and thereby developing better treatment systems for infectious diseases using probiotics as a component of functional fermented foods. In addition, knowledge about the secondary structures of salivaricins can be used for the design of recombinant or synthetic lantibiotics to get a prompt, effective and safe response in clinics.

IR spectrum of SsK12 at nucleic acid ($1270\text{-}1210\text{ cm}^{-1}$) region emerging from PO_2^- antisymmetric stretchings of different conformational forms of DNA is illustrated in Figure 5A. As shown, A-form (at 1241 and 1234 cm^{-1}) and B-form (at 1219 cm^{-1}) DNA conformations were found at spectrum (Banyay *et al.*, 2003; Whelan *et al.*, 2011; Whelan *et al.*, 2014). The % intensities of DNA conformational forms are given in Figure 5B. The total A-form DNA was measured as 55.0 %, while total B-form DNA was found as 45.0 %.

As known, the DNA and RNA encodes for all metabolic activities happening in the cell. Protein synthesis are controlled by nucleic acids, so the information we obtained can be interpreted to extract the relationship between transcription and translation processes for full active salivaricins. Here in special attention should be paid for conformational forms of DNA, since the predominance of particular conformational form (A or B-form) and/or supercoiling degrees directly affects the protein synthesis pathways for these small molecule and heat-stable compounds.

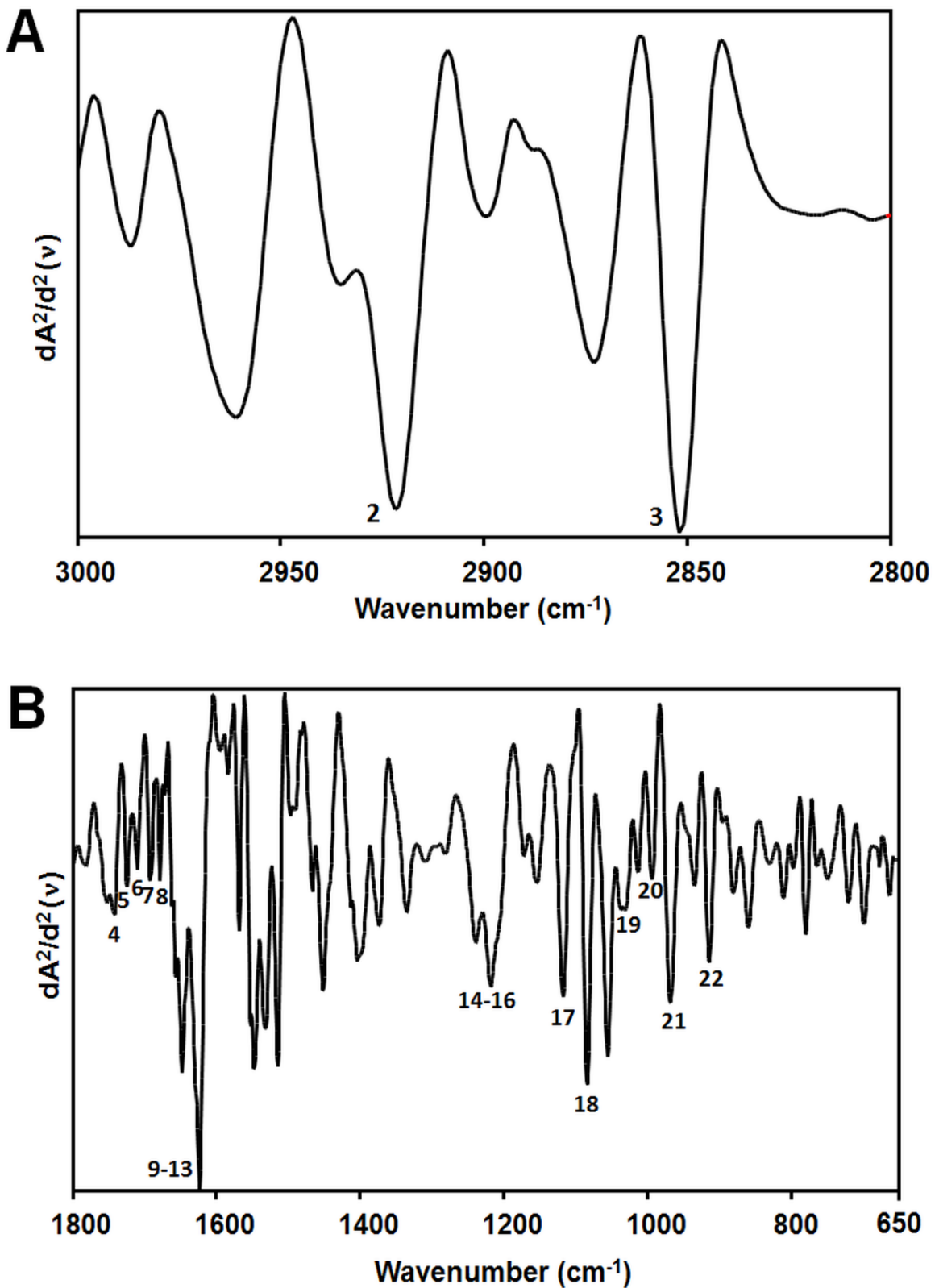


Figure 2. IR spectra of *Streptococcus salivarius* K12 at C-H (A) and fingerprint (B) IR regions.

Table 2. IR spectral profile of *Streptococcus salivarius* K12 (Naumann *et al.*, 1991; Naumann *et al.*, 1994; Helm and Naumann, 1995; Haris and Severcan, 1999; Banyay *et al.*, 2003; Randriamahahefa *et al.*, 2003; Kamnev, 2008; Whelan *et al.*, 2011; Wenning and Scherer, 2013; Wenning *et al.*, 2014; Whelan *et al.*, 2014; Gurbanov *et al.*, 2015).

#	Wavenumber (cm ⁻¹)	Assignment
1	3008	Olefinic = CH: unsaturated lipids
2	2921	CH₂ antisymmetric stretching: mainly lipids
3	2852	CH₂ symmetric stretching: mainly lipids
4	1746	Ester CO stretch: polyester storage compounds, polyhydroxyalkanoates (PHAs)
5	1739	Ester CO stretch: polyester storage compounds, polyhydroxyoctanoates (PHOs)
6	1731	Ester CO stretch: polyester storage compounds, polyhydroxyoctanoates (PHOs)
7	1721	Ester CO stretch: polyester storage compounds, polyhydroxybutyrates (PHBs)
8	1713	Ester CO stretch: polyester storage compounds, polyhydroxyalkanoates (PHAs)
9	1691	Amide protein region: Antiparallel β -sheet
10	1680	Amide protein region: β -turns
11	1660	Amide protein region: α -helix
12	1650	Amide protein region: α -helix
13	1622	Amide protein region: β -sheet
14	1241	PO₂⁻ antisymmetric stretching: A-form DNA
15	1234	PO₂⁻ antisymmetric stretching: A-form DNA
16	1219	PO₂⁻ antisymmetric stretching: B-form DNA
17	1173	CO—O—C antisymmetric stretching: phospholipids, triglycerides and cholesterol esters
18	1118	C-O stretching: RNA ribose
19	1086	PO₂⁻ symmetric stretching: nucleic acids
20	1057	C—O stretching: polysaccharides
21	970	C-C stretching: DNA backbone
22	914	Ribose ring vibrations: RNA/DNA

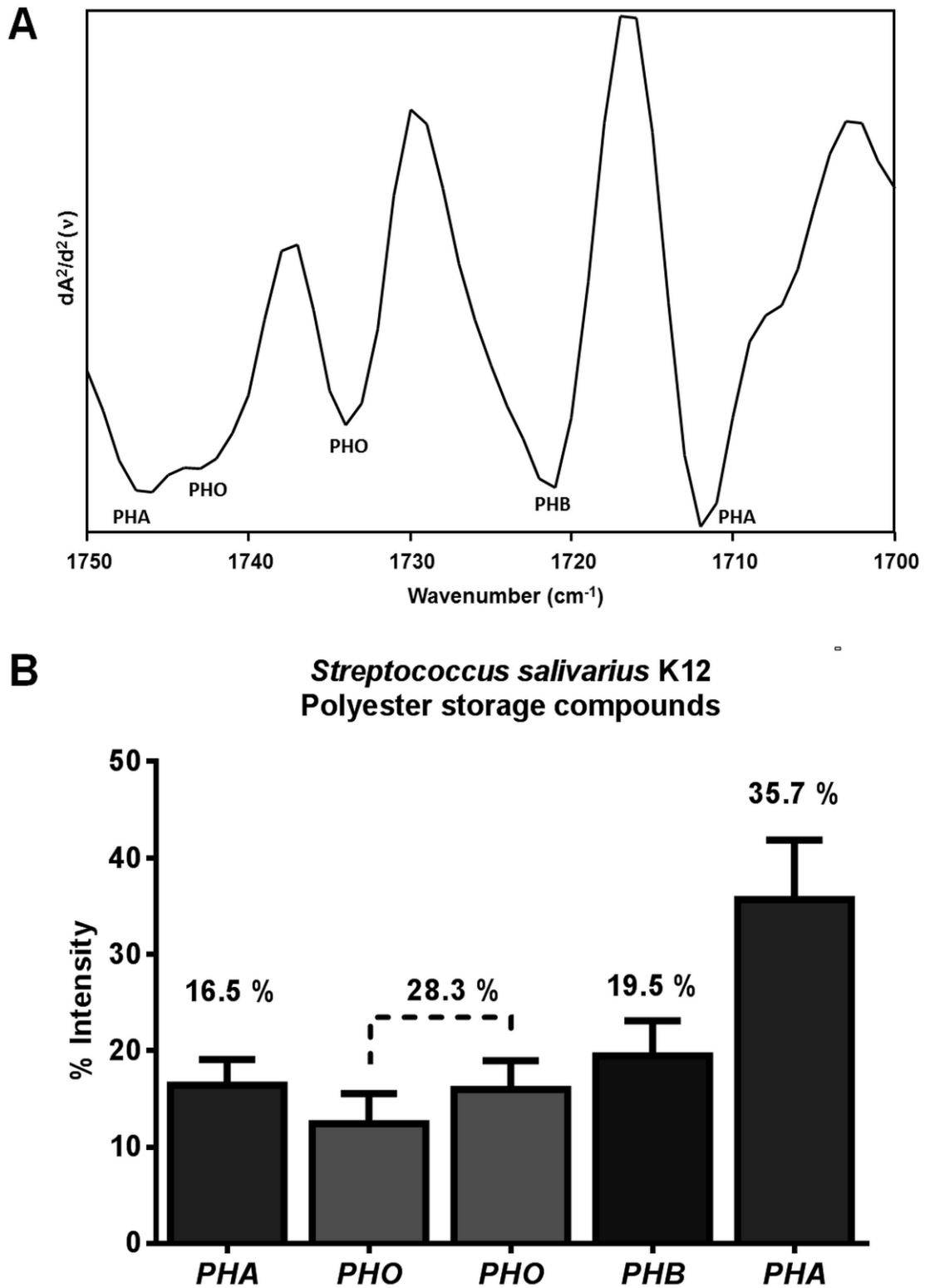


Figure 3. IR spectra of *Streptococcus salivarius* K12 at 1750-1700 cm^{-1} (A) and % intensities of polyester storage compounds (B).

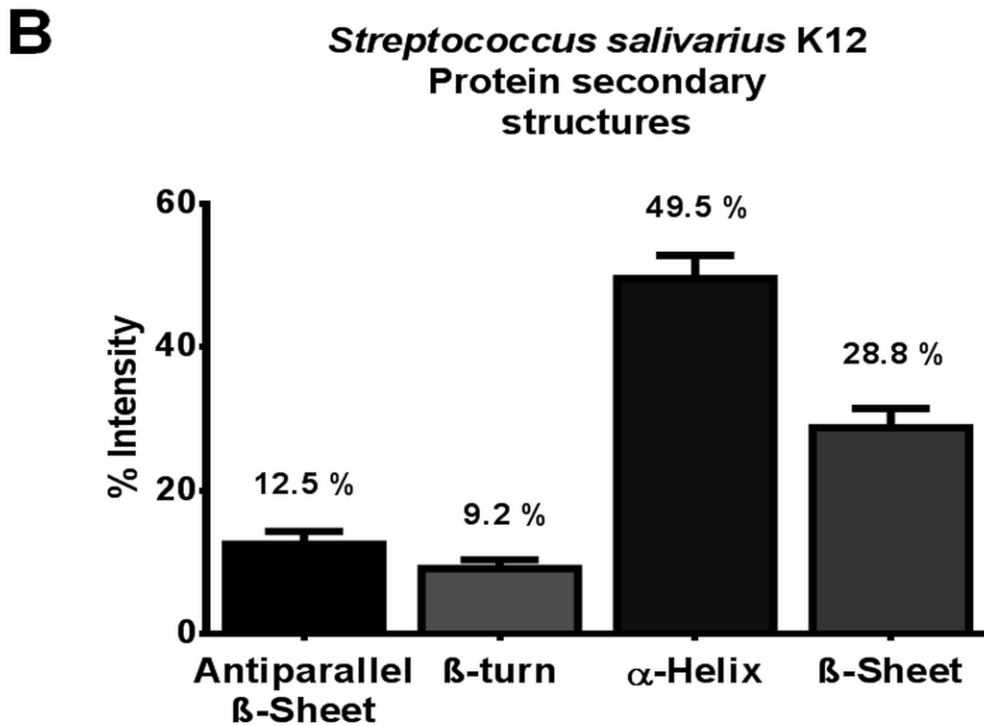
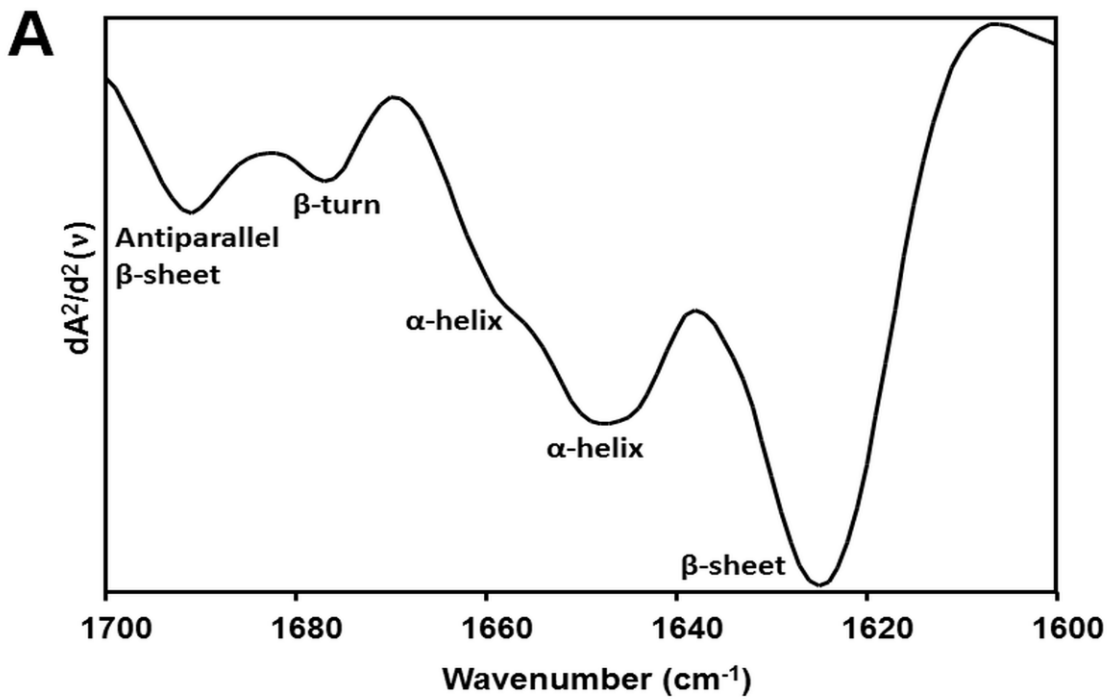


Figure 4. IR spectra of *Streptococcus salivarius* K12 at main protein (1700-1600 cm^{-1}) IR region (A) and % intensities of protein secondary structures (B).

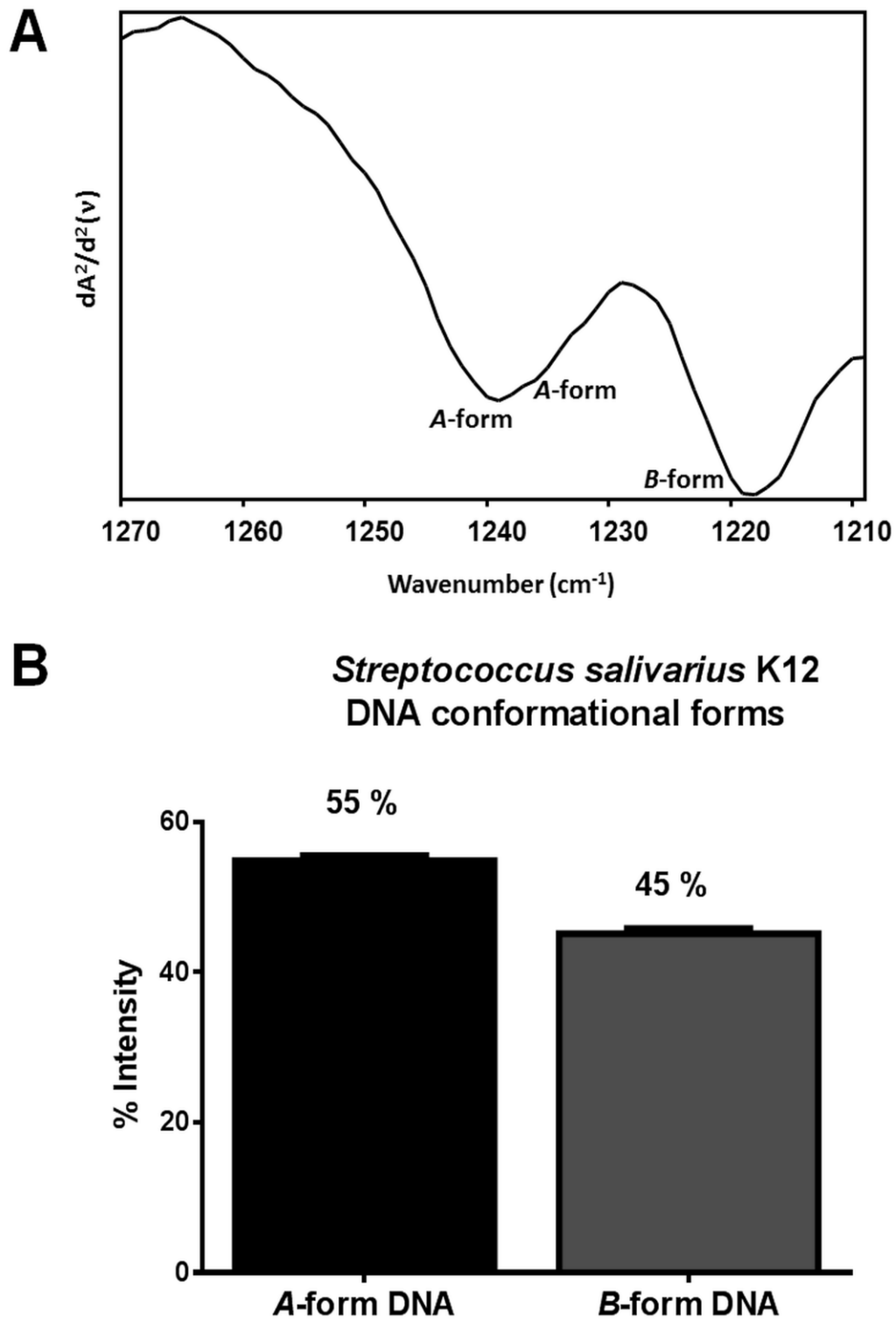


Figure 5. IR spectra of *Streptococcus salivarius* K12 at nucleic acid ($1270\text{-}1210\text{ cm}^{-1}$) IR region (A) and % intensities of DNA conformational forms (B).

Conclusion

SsK12 is an important non-pathogenic and probiotic bacteria especially for oral microbiota. It's beneficial and protective effects against infectious diseases have already been described in both clinical and laboratory studies. It colonizes in oral cavity, teeth and upper respiratory tract by forming chain and biofilm. In this study we determined the global molecular profile of SsK12 to better understand its cell biochemistry. Information we present here, can be used by food specialists for the development of probiotic functional foods such as cheese, kefir, yogurt, buttermilk, pickle and chewing gum. Functional foods especially fermented ones can be enriched with an adequate number of viable bacteria to be applied for the maintenance of oral health.

Acknowledgements

The authors would like to thank National Nanotechnology Research Center (UNAM) of Bilkent University and Chemistry Department of Bilecik Şeyh Edebali University for their kind permit to access DSC instrument, FTIR Spectrometer and Freeze Dry System.

References

- Abuladze, M.K., Sokhadze, V.M., Namchevadze, E.N., Kiziria, E., Tabatadze, L. V., Lejava, L.V., Gogichaishvili, Sh, Bakradze, N.B. (2009). Thermal analysis of whole bacterial cells exposed to potassium permanganate using differential scanning calorimetry: a biphasic dose-dependent response to stress. *The Scientific World Journal*, 9, 109-117.
- Alpas, H., Lee, J., Bozoglu, F. & Kaletunç, G. (2003). Evaluation of high hydrostatic pressure sensitivity of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 by differential scanning calorimetry. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 229-237.
- Anderson, W.A., Hedges, N.D., Jones, M.V. & Cole, M. B. (1991). Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* studied by differential scanning calorimetry. *Journal of General Microbiology*, 137(6), 1419-1424.
- Banyay, M., Sarkar, M. & Graslund, A. (2003). A library of IR bands of nucleic acids in solution. *Biophysical Chemistry*, 104(2), 477-488.
- Brannan, A.M., Whelan, W.A., Cole, E. & Booth, V. (2015). Differential scanning calorimetry of whole *Escherichia coli* treated with the antimicrobial peptide MSI-78 indicate a multi-hit mechanism with ribosomes as a novel target. *Peer J*, 3, e1516.
- Chiu, M.H. & Prenner, E.J. (2011). Differential scanning calorimetry: An invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(1), 39-59.
- Di Pierro, F., Adami, T., Rapacioli, G., Giardini, N., & Streitberger, C. (2013). Clinical evaluation of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* K12 in the prevention of recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by *Streptococcus pyogenes* in adults. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 13(3), 339-343.
- Di Pierro, F., Colombo, M., Zanvit, A., Risso, P., & Rottoli, A. S. (2014). Use of *Streptococcus salivarius* K12 in the prevention of streptococcal and viral pharyngotonsillitis in children. *Journal of Drug, Healthcare and Patient Safety*, 6, 15-20.
- Di Pierro, F., Di Pasquale, D., & Di Cicco, M. (2015). Oral use of *Streptococcus salivarius* K12 in children with secretory otitis media: preliminary results of a pilot, uncontrolled study. *International Journal of General Medicine*, 8, 303-308.
- Dianawati, D., Mishra, V., & Shah, N. P. (2013). Effect of drying methods of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* on secondary protein structure and glass transition temperature as studied by Fourier transform infrared and differential scanning calorimetry. *Journal of Dairy Science*, 96(3), 1419-1430. doi: 10.3168/jds.2012-6058
- Dziuba, B., Babuchowski, A., Nałęcz, D., & Niklewicz, M. (2007). Identification of lactic acid bacteria using FTIR spectroscopy and cluster analysis. *International Dairy Journal*, 17(3), 183-189.
- Erukhimovitch, V., Pavlov, V., Talyshinsky, M., Souprun, Y., & Huleihel, M. (2005). FTIR microscopy as a method for identification of bacterial and fungal infections. *Journal*

- of *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(5), 1105-1108.
- Gregori, G., Righi, O., Risso, P., Boiardi, G., Demuru, G., Ferzetti, A., . . . Suzzani, L. (2016). Reduction of group A beta-hemolytic streptococcus pharyngo-tonsillar infections associated with use of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* K12: a retrospective observational study. *Journal of Therapeutics and Clinical Risk Management*, 12, 87-92.
- Guglielmetti, S., Taverniti, V., Minuzzo, M., Arioli, S., Stuknyte, M., Karp, M., & Mora, D. (2010). Oral Bacteria as Potential Probiotics for the Pharyngeal Mucosa. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(12), 3948-3958.
- Gurbanov, R., Bilgin, M., & Severcan, F. (2016). Restoring effect of selenium on the molecular content, structure and fluidity of diabetic rat kidney brush border cell membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1858(4), 845-854.
- Gurbanov, R., Simsek Ozek, N., Gozen, A. G., & Severcan, F. (2015). Quick Discrimination of Heavy Metal Resistant Bacterial Populations Using Infrared Spectroscopy Coupled with Chemometrics. *Analytical Chemistry*, 87(19), 9653-9661.
- Haris, P. I., & Severcan, F. (1999). FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 7(1), 207-221.
- Helm, D., & Naumann, D. (1995). Identification of some bacterial cell components by FT-IR spectroscopy. *FEMS Microbiology Letters*, 126(1), 75-79.
- Kaletunç, G., Lee, J., Alpas, H., & Bozoglu, F. (2004). Evaluation of structural changes induced by high hydrostatic pressure in *Leuconostoc mesenteroides*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2), 1116-1122.
- Kamnev, A. A. (2008). FTIR spectroscopic studies of bacterial cellular responses to environmental factors, plant-bacterial interactions and signalling. *Spectroscopy*, 22(2-3).
- Kong, J., & Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549-559.
- Lee, J., & Kaletunc, G. (2002). Evaluation of the heat inactivation of *Escherichia coli* and *Lactobacillus plantarum* by differential scanning calorimetry. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), 5379-5386.
- Lepock, J. R., Frey, H. E., Heynen, M. P., Nishio, J., Waters, B., Ritchie, K. P., & Kruuv, J. (1990). Increased thermostability of thermotolerant CHL V79 cells as determined by differential scanning calorimetry. *Journal of Cellular Physiology*, 142(3), 628-634.
- Mackey, B. M., Miles, C. A., Parsons, S. E., & Seymour, D. A. (1991). Thermal denaturation of whole cells and cell components of *Escherichia coli* examined by differential scanning calorimetry. *Journal of General Microbiology*, 137(10), 2361-2374.
- Maeda, Y., Kagami, I., & Koga, S. (1978). Thermal analysis of the spores of *Bacillus cereus* with special reference to heat activation. *Canadian Journal of Microbiology*, 24(11), 1331-1334.
- Maquelin, K., Kirschner, C., Choo-Smith, L. P., Ngo-Thi, N. A., van Vreeswijk, T., Stammler, M., . . . Puppels, G. J. (2003). Prospective study of the performance of vibrational spectroscopies for rapid identification of bacterial and fungal pathogens recovered from blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(1), 324-329.
- Miles, C. A., Mackey, B. M., & Parsons, S. E. (1986). Differential scanning calorimetry of bacteria. *Microbiology*, 132(4), 939-952.
- Mohácsi-Farkas, C., Farkas, J., Mészáros, L., Reichart, O., & Andrásy, É. (1999). Thermal Denaturation of Bacterial Cells Examined by Differential Scanning Calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 57(2), 409-414.
- Mostefaoui, Y., Bart, C., Frenette, M., & Rouabhia, M. (2004). *Candida albicans* and *Streptococcus salivarius* modulate IL-6, IL-8, and TNF-alpha expression and secretion by engineered human oral mucosa cells. *Cellular Microbiology*, 6(11), 1085-1096.

- Naumann, D., Helm, D., & Labischinski, H. (1991). Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy. *Nature*, 351(6321), 81-82.
- Naumann, D., Helm, D., & Schultz, C. (1994). Characterization and Identification of Micro-Organisms by FT-IR Spectroscopy and FT-IR Microscopy. In F. G. Priest, A. Ramos-Cormenzana, & B. J. Tindall (Eds.), *Bacterial Diversity and Systematics* (pp. 67-85). Boston, MA: Springer US.
- Patras, K. A., Wescombe, P. A., Rosler, B., Hale, J. D., Tagg, J. R., & Doran, K. S. (2015). Streptococcus salivarius K12 Limits Group B Streptococcus Vaginal Colonization. *Infection and Immunity*, 83(9), 3438-3444.
- Power, D. A., Burton, J. P., Chilcott, C. N., Dawes, P. J., & Tagg, J. R. (2008). Preliminary investigations of the colonisation of upper respiratory tract tissues of infants using a paediatric formulation of the oral probiotic Streptococcus salivarius K12. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27(12), 1261-1263.
- Randriamahefa, S., Renard, E., Guerin, P., & Langlois, V. (2003). Fourier transform infrared spectroscopy for screening and quantifying production of PHAs by Pseudomonas grown on sodium octanoate. *Biomacromolecules*, 4(4), 1092-1097.
- Santagati, M., Scillato, M., Patane, F., Aiello, C., & Stefani, S. (2012). Bacteriocin-producing oral streptococci and inhibition of respiratory pathogens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 65(1), 23-31.
- Tagg, J. R. (2004). Prevention of streptococcal pharyngitis by anti-Streptococcus pyogenes bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by Streptococcus salivarius. *Indian Journal of Medical Research*, 119 Suppl, 13-16.
- Tagg, J. R. (2009). Streptococcal Bacteriocin-Like Inhibitory Substances: Some Personal Insights into the Bacteriocin-Like Activities Produced by Streptococci Good and Bad. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1(1), 60-66.
- Tagg, J. R., & Dierksen, K. P. (2003). Bacterial replacement therapy: adapting 'germ warfare' to infection prevention. *Trends in Biotechnology*, 21(5), 217-223.
- Tunick, M. H., Bayles, D. O., & Novak, J. S. (2006). DSC Analysis of foodborne bacteria. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 83(1), 23-26.
- van Zon, A., van der Heijden, G. J., van Dongen, T. M., Burton, M. J., & Schilder, A. G. (2012). Antibiotics for otitis media with effusion in children. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (9), Cd009163.
- Wenning, M., Breitenwieser, F., Konrad, R., Huber, I., Busch, U., & Scherer, S. (2014). Identification and differentiation of food-related bacteria: A comparison of FTIR spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods*, 103, 44-52.
- Wenning, M., & Scherer, S. (2013). Identification of microorganisms by FTIR spectroscopy: perspectives and limitations of the method. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(16), 7111-7120.
- Wescombe, P. A., Hale, J. D., Heng, N. C., & Tagg, J. R. (2012). Developing oral probiotics from Streptococcus salivarius. *Future Microbiology*, 7(12), 1355-1371.
- Wescombe, P. A., Heng, N. C., Burton, J. P., & Tagg, J. R. (2010). Something Old and Something New: An Update on the Amazing Repertoire of Bacteriocins Produced by Streptococcus salivarius. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2(1), 37-45.
- Wescombe, P. A., Heng, N. C. K., Burton, J. P., Chilcott, C. N., & Tagg, J. R. (2009). Streptococcal bacteriocins and the case for Streptococcus salivarius as model oral probiotics. *Future Microbiology*, 4(7), 819-835.
- Whelan, D. R., Bambery, K. R., Heraud, P., Tobin, M. J., Diem, M., McNaughton, D., & Wood, B. R. (2011). Monitoring the reversible B to A-like transition of DNA in eukaryotic cells using Fourier transform infrared spectroscopy. *Nucleic Acids Research*, 39(13), 5439-5448.
- Whelan, D. R., Hiscox, T. J., Rood, J. I., Bambery, K. R., McNaughton, D., & Wood, B. R.

- (2014). Detection of an en masse and reversible B-to A-DNA conformational transition in prokaryotes in response to desiccation. *Journal of The Royal Society Interface*, 11(97), 20140454.
- Yang, H., Yang, S., Kong, J., Dong, A., & Yu, S. (2015). Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. *Nature Protocols*, 10(3), 382-396.
- Yildiz, F. (2016). *Oral Microbiotada, Yeni bir Probiyotik: Streptococcus salivarius K12 ve Streptococcus salivarius M18*. Paper presented at the 3.Bağırsak Mikrobiyotası ve Probiyotikler Kongresi, Gazi University, Ankara, Turkey. www.probiyotik2016.org