

Direkt Etanol Enjeksiyonlu Kırmızıbiberlerdeki *Aspergillus Flavus* Küflerinin Büyüme Kinetiği

Ahmet Levent İNANÇ^{1*}

Ahmet AÇIK²

¹KSÜ, Müh.-Mim. Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü, 46100 Kahramanmaraş

²KSÜ, Fen Bilimleri Enst. Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 46100 Kahramanmaraş

✉: linanc@ksu.edu.tr

Geliş (Received): 29.04.2016

Kabul (Accepted): 3.10.2016

ÖZET: Bu çalışmada etanol miktarların ve iki farklı sıcaklığın *Aspergillus flavus* küf mantarı üzerine etkisi araştırılmıştır. Taze kırmızıbiber meyveleri tüm haliyle deneysel olarak, küf gelişimini sağlamak için *Aspergillus flavus* ile kontamine edilmiştir. Daha sonra biberlere 1 ml, 3 ml, 5 ml oranlarında etanol enjekte edilmiş, 28 ve 37 °C'de 21 gün depolanmıştır. Küf sayımı sonuçlarına göre etanolün küf gelişimi üzerine oldukça etkili olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). 28 ve 37 °C'deki etanol ilave edilmemiş (0 ml) kontrol örneklerindeki küf miktarlarında hızlı bir büyüme gözlemlenirken, kırmızıbiberlere enjekte edilen etanolün miktarı arttıkça küf gelişiminin azaldığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). 37 °C' de ki küf miktarlarının 28 °C' de ki küf miktarlarına göre aynı günler için daha fazla olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Logaritmik evredeki *Aspergillus flavus*'ların büyüme hız sabitlerini (k) belirlemek için birinci mertebeden hız denklemi kullanılmıştır. Her iki sıcaklıktaki k değerleri en yüksek kontrol örneklerinde bulunmuştur (28 °C' de 1.13 ve 37 °C' de 1.22 kob g⁻¹ gün⁻¹). 1, 3 ve 5 ml etanol enjekte edilmiş örneklerde ise sırayla 28 °C için 0.38, 0.23 ve 0.19 kob g⁻¹ gün⁻¹; 37 °C için 0.37, 0.26 ve 0.23 kob g⁻¹ gün⁻¹ olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Aspergillus flavus*, büyüme hız sabiti, etanol, kırmızıbiber, kinetik

Growth Kinetics of *Aspergillus Flavus* Moulds in Red Pepper with Direct Ethanol Injection

ABSTRACT: In this study, the effects of two different temperatures and different ethanol ratios on *Aspergillus flavus* moulds were investigated. Fresh whole red pepper fruits were experimentally contaminated with *Aspergillus flavus* to achieve mold growth. Then, *Aspergillus flavus* inoculated red peppers were injected ethanol (96%) at the ratios of 1, 3 and 5 ml and stored at 28 ve 37 °C for 21 days. The study showed that ethanol was highly effective on the mold growth ($p<0.05$). Albeit the rapid mould growth was observed in control samples without ethanol (0 ml) at 28 and 37 °C, the mold growths in the ethanol injected samples decreased by increasing amount of ethanol. The mould amounts in all red pepper samples at 37°C were found to be greater than those of 28 °C for the same storage times. First order kinetic equation was used to determine the growth rate constant (k) of *Aspergillus flavus*. The highest k values were found in control samples for both two temperatures (1.13 cfu g⁻¹ day⁻¹ at 28 °C, 1.22 cfu g⁻¹ day⁻¹ at 37 °C). Additionally, the study concluded the growth ratio of 0.38, 0.23 and 0.19 cfu g⁻¹ day⁻¹ at 28 °C, and 0.37, 0.26 and 0.23 cfu g⁻¹ day⁻¹ at 37 °C for 1, 3 and 5 ml ethanol injected samples, respectively.

Key words: *Aspergillus flavus*, ethanol, growth rate constant, kinetics, red pepper

GİRİŞ

Sağlık ve ekonomik değerler açısından taşıdığı önemin yanı sıra, gün geçtikçe artan dünya nüfusuna ve buna bağlı olarak gıda ihtiyacına karşılık verebilmesi açısından gıda endüstrisinin sorunları ve önemi her geçen gün daha da artmaktadır. Tarımsal üretimde toprak ve su gibi etmenlerin sınırlı olması nedeniyle yapılan toplam üretimin artırılması, birim alandan alınan verimin artırılmasıyla doğru orantılıdır. Verim artışı ise yetiştiriciliği yapılan çeşidin kalitesi, yetiştiricilik yöntemlerinin doğru uygulanması ve verim üzerinde doğrudan etkisi bulunan biyotik faktörlerin neden olduğu hastalıkların kontrolü ile sağlanabilir.

Dünyada tarımsal ürünlerin yaklaşık %5-10'u küfler tarafından bozulmakta, %25'ne mikotoksin bulaşmakta ve insan veya hayvanlar tarafından tüketilememektedir (Mannon ve Johnson, 1985; Erkmen ve Bozoğlu, 2008). Meyve ve sebzeler çabuk bozulan gıdalardır. Kırmızıbiber de bu gıdalar grubuna dahildir. Solanaceae

familyasının Kapsikum türlerindeki bitkilerin genel adı olan kırmızıbiber (*Capsicum annuum*) daha çok taze olarak tüketilen, ayrıca yemeklerde baharat olarak tat ve lezzet vermek amacıyla kullanılan bir besin maddesidir (Akıncı ve Akıncı, 1998). Kırmızıbiberlerin baharat olarak işleninceye kadar, özellikle de kurutulması aşamasına kadar, *Aspergillus* türü küf kontaminasyonuna yatkın olması ve bu küflerin neden olduğu aflatoksin oluşumu en önemli sorunlardan biri olarak görülmektedir (Makaracı, 2006). *Aspergillus* türü küflerin optimum gelişme sıcaklığı 35-38 °C arasında olduğu halde en fazla toksin konsantrasyonuna 25-30 °C aralığında ulaşırlar (Halkman, 2013).

Fizikokimyasal önleyiciler arasında etanol küf önleyici olarak tanımlanmıştır (Legan, 1993). Uzun bir süre etanol fungusit uygulamalarında kullanılmıştır. Ticari olarak parfüm, gıda boyası, alkollü içecekler ve katkı maddeleri gibi birçok üründe etanol kullanılır. Etanol kimyasal sentez ya da mikrobiyal fermentasyonla

üretilen küçük bir moleküldür ve bütün oranlarda suyla kolayca karışabilir. Son yıllarda biyolojik kontrol ajanları kadar nonbiyolojik kontrol ajanlarında da var olan kimyasal uygulamaların yerini alması için önemli çalışmalar mevcuttur (Karabulut ve ark., 2003; Karabulut ve ark., 2005; Romanazzi ve ark., 2007; Pilna ve ark., 2015). Gıda endüstrisinde de kullanılan etanol ayrıca birçok içeceğin ortak bileşenidir ve oda sıcaklığında tortu bırakmadan hızlıca buharlaşan düz zincirli alkoller (metanol, etanol, propanol, butanol vb.) en az toksik olan alkoller olarak değerlendirilir. Uzun süredir antibakteriyel özelliklerinden dolayı dezenfektan olarak kullanılır (Feliciano ve ark., 1992; Nitterus, 2000; Dao ve Dantigny, 2011; Yeon-Hee ve ark., 2013).

Etanol, gıdalarda özellikle de pastane ürünlerinde antimikotoksin etkisiyle bilinen bir bileşendir. Bu etki etanolü ürüne doğrudan uygulayarak ya da ticari adı Ethicap R. olan kapsül etanol kesesi kullanılarak elde edilir. Etanolün ekmeğin, pidenin, makarna ve fırınlanmış çöreklerin küfsüz raf ömrünü uzattığı görülmüştür ve etanolün yiyecek ürünlerinde fungal büyümenin baskılanmasında ilave bir bariyer olarak etkili olduğunu ve koruma için alternatif olabileceğini belirtmişlerdir. (Smith ve ark., 1987; Black ve ark., 1993; Salminen ve ark., 1996; Dantigny ve ark., 2005).

Baharatlık Maraş kırmızıbiber üretimi iki yöntemle yapılmaktadır. Birincisi konveksiyonel olarak güneşte kurutularak, ikincisi kurutucuda kurutularak üretilmesidir. Küf sorununun büyük çoğunluğu işletmelerde kurutma işleminden önce hasat ile kurutma arasında gerçekleşmektedir. Çiftçilerin güneşte kurutmasında ise kurutma süresince de devam etmektedir. *Aspergillus* türü küfler kırmızıbibere bulaşan en yaygın küf türleridir. Çalışma, deneysel olarak *Aspergillus flavus* küfü bulaştırılmış kırmızıbiberlere etanol ilavesinin küf gelişimi ve inaktivasyonuna etkilerinin araştırılması amaçlamıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Kırmızıbiberler Kahramanmaraş'taki bir tarladan 30 ağustos 2014 tarihinde toplanmıştır. %96'lık etanol (EtOH) Merck Firmasından satın alınmıştır. *Aspergillus flavus* KSÜ Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

Kırmızıbiber örneklerinin hazırlanması

Toplanan biberler laboratuvarında renk, irilik ve ağırlık kriterlerine bakılarak tasnif edilmiştir. Bütün haldeki biber meyvesinin kütlesi (g) tartılmış ve ölçü silindirininde hacmi bilinen su içerisine daldırılarak hacim değişikliği farkından biberin dış hacim yüzeyi ml cinsinden bulunmuştur. Yaş biberlerin (meyve halinde) yoğunluğu, kütle/hacim formülünden hesaplanmıştır. 10 tekerrürlü olarak gerçekleştirilen ölçümlerde, ortalama yoğunluk 1.02 ml g⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Ağırlıkça 8±0.2 g, hunter lab (Minolta Cr-200 kromometre, Osaka, Japon) cihazı ile yaklaşık aynı a* kırmızılık renk değerine (30±2) sahip taze bütün kırmızıbiber meyveleri örnek olarak kullanılmıştır (Pribis and Svirzic, 1995).

Seçilen örneklerinin uç kısımları bıçakla şapka şeklinde kesilmiştir. %96'lık etanol (EtOH) ile meyvelerin iç ve dış kısımları 3 kez yıkanarak sterilizasyon yapılmıştır. Daha sonra Örnekler etüvde 60 °C'de 30 dk tutulmuş, etanolün uzaklaştırılması sağlanmıştır. Son olarak örnekler iklimlendirme kabiniinde (TK120, Nüve, Ankara, Türkiye) 25 °C'de % 90 bağıl nem değerine ayarlanmıştır.

Aspergillus Flavus Sporunun Hazırlanması

Potato Dextrose Agar'a *Aspergillus flavus* sporu ekimi yapılmış ve 25 °C'de sporilasyon gerçekleşinceye kadar (24-48 s) inkübe edilmiştir. Daha sonra %0.005'lik Tween 80 ile spor suspansiyonu hazırlanmış ve 10⁴ oranında biber örneklerine bulaştırılmıştır.

Deneysel çalışma

Örneklerin uç kısımlarından biber içine hazırlanan *Aspergillus flavus* spor suspansiyonundan 20 µl enjekte edilmiş ve örnekler 25 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu tamamlanan kırmızı biber örneklerine %96'lık etanol 1ml, 3ml, 5ml oranlarında biberlerin uç kısımlarından steril enjektörler ile ilave edilmiştir. Etanol ilave edilmeyen bir örnek kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol örneği EtOH 0 olarak, diğer örnekler ise enjekte edilen etanol miktarına göre EtOH 1, 3 ve 5 olarak kodlanmıştır. Örnekler 28 ve 37 °C'de 21 gün depolanmıştır. Her iki sıcaklık için her gün örneklerin toplam küf sayımları yapılmıştır.

Toplam küf sayısı

Örnekler bir keski yardımıyla parçalanarak seyreltme çözeltilisine eklenmiş ve vortekslendikten sonra 6 kez daha seyreltme işlemi uygulanmış, her bir seyreltiden ekim yapılmıştır. Önceden petri kutularına dökülüp katılaştırılmış besiyeri üzerine 0.1 ml örnek aktararak drilgaski spatülü ile bu miktarın besiyeri yüzeyine yayılması prensibine dayanan yöntem (yayma yöntemi) kullanılarak her bir seyreltiden 2 tekerrürlü ekimler gerçekleştirilmiştir.

Koloni Sayısının Hesaplanması

İki seyreltiden yapılan ekim sonuçlarından hareketle ve ağırlıklı aritmetik ortalama ile örneklerdeki küf miktarı hesaplanmıştır (Halkman, 2005). Hesaplama kullanılan eşitlik 1'de verilmiştir.

$$N (kob g^{-1}) = \frac{c}{[V*(n_1+0,1*n_2)*d]} \quad \text{Eş. 1}$$

Burada;

N= Gıda örneğinin 1g'daki mikroorganizma sayısı

C= Sayımı yapılan petri kutularındaki koloni sayısı toplamı

V= Sayımı yapılan petri kutularına aktarılan hacim (ml)

n₁= İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

n_2 = İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

d = Sayımın yapıldığı ardışık iki seyreltiden daha konsantre olanın seyreltme oranı

Büyüme kinetiği

Kırmızıbiber örnekleri içerisindeki *Aspergillus flavus*'un logaritmik fazdaki büyüme hız sabitleri birinci mertebe kinetiği kullanılarak hesaplanmıştır (Bevilacqua ve ark., 2015 , 1908).

$$N = N_0 e^{-kt} \quad \text{Eş. 2}$$

Burada;

N = t zamandaki küf sayısı $kob\ g^{-1}$

N_0 = başlangıç zamanındaki küf sayısı $kob\ g^{-1}$

k = büyüme hız sabiti $kob\ g^{-1}\ gün^{-1}$

t = zaman $gün$

Eşitlik 2'in her iki tarafının e tabanına göre logaritması alınarak aşağıdaki eşitlik elde edilmiştir;

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = kt \quad \text{Eş. 3}$$

$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)$ Değerine karşılık t değerlerinin grafiği çizilmiş ve eğimlerden büyüme hız sabitleri (k) bulunmuştur.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen küf sayım değerleri logaritma dönüşümüne tabii tutulduktan sonra varyans analizi uygulanmıştır. Bu sonuçlara göre sıcaklık, süre, etanol miktarı, sıcaklık- süre, sıcaklık-etanol miktarı, süre-etanol miktarı ve sıcaklık-süre-etanol miktarları arasındaki ilişkilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için SPSS istatistik programı (IBM Statistics 23) kullanılmıştır. Muamele seviyelerine ait ortalamaların karşılaştırılmasında Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır. Elde edilen veriler % 95 önem seviyesinde değerlendirilmiştir (Efe ve ark., 2000).

BULGULAR

A.flavus küflerinin gelişiminin takibi için 28 ve 37 °C olmak üzere iki farklı sıcaklık seçilmiştir. Günlük küf sayım analizleri için her gün ve her sıcaklık değeri için ayrı ayrı kontrol gurubu (sadece *A.flavus* suspansiyonu ile kontamine edilmiş; 0 ml EtOH) ile birlikte 1 ml, 3 ml ve 5 ml etanol enjekte edilmiş kırmızıbiber örneklerinde 21 gün boyunca küf sayımı yapılmıştır (Şekil 1). İstatistiksel Duncan Testi sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

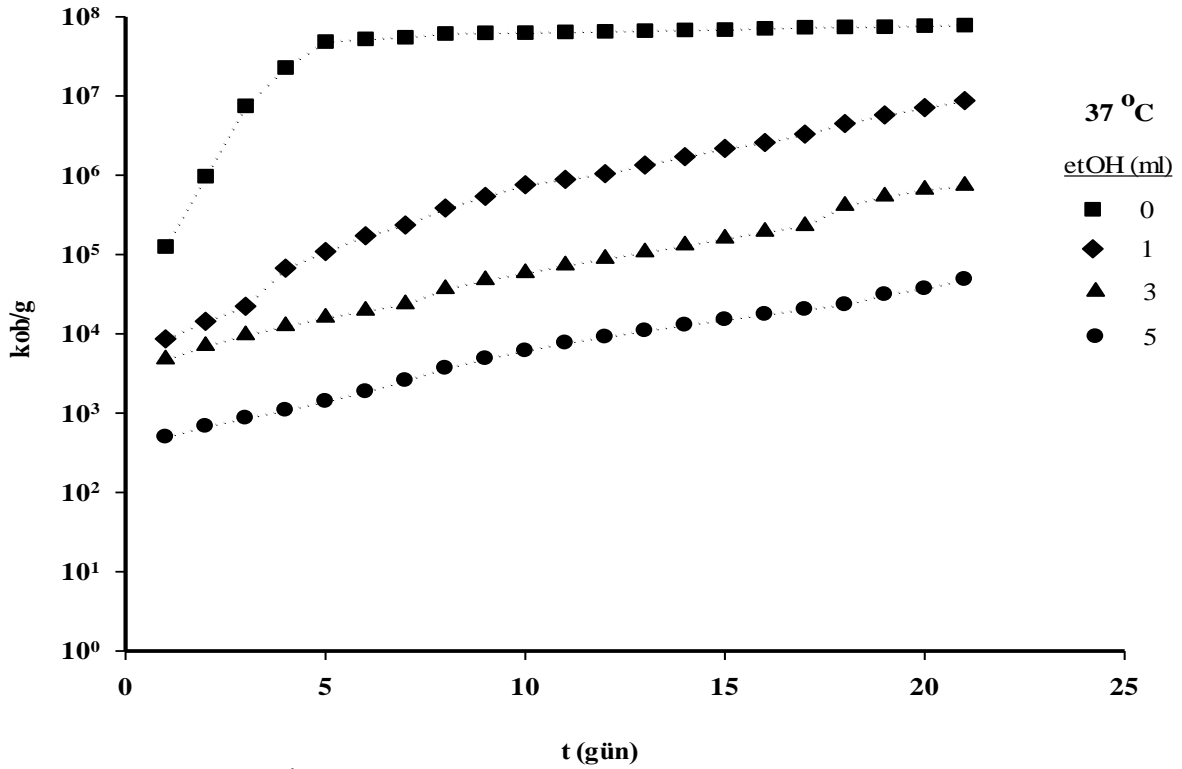
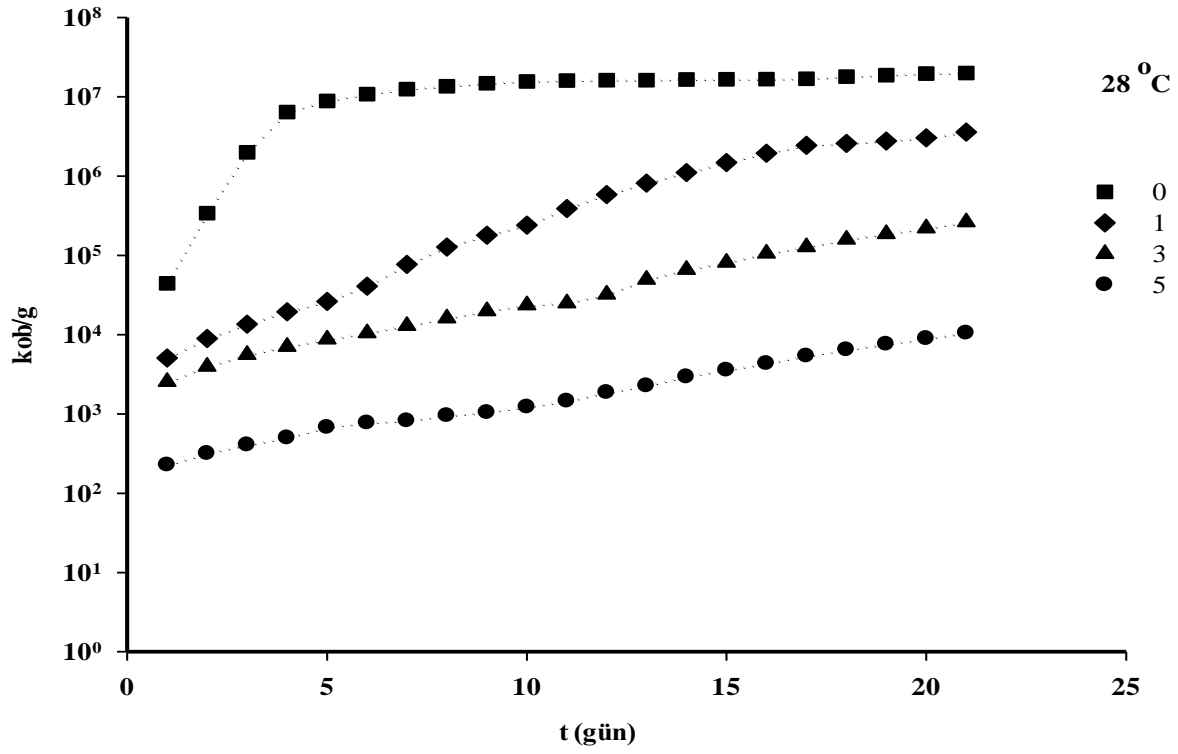
28 °C'deki kontrol grubu biber örneklerinde 6. güne kadar küf miktarları arasında önemli farklılıklar olduğu

($p<0.05$), bu günden 21. güne kadar bazı günlerde küf miktarları arasında fark bulunmadığı ($p>0.05$), diğer günlerinde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. 1 ml etanol enjekte edilen örnekte 17.güne kadar önemli farklılıklar olduğu, daha sonraki süreler arasında benzerlik bulunurken, 3 ve 5 ml etanol enjekte edilen örneklerde bu benzerlik 20. günden itibaren olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). 37 °C' de kontrol grubu biber örneklerinde küf miktarları arasında 7. güne kadar önemli farklılıklar bulunduğu, 8. günden 21. güne kadar küf miktarları arasında benzerlikler olduğu görülmüştür ($p<0.05$). 1ml, 3 ml ve 5ml etanol enjekte edilen kırmızıbiber örneklerinin tamamında 20. güne kadar ki küf miktarları arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Hem 28 °C'de hem de 37 °C'deki kırmızıbiber örneklerinin etanol miktarına bağlı incelendiğinde her iki sıcaklıkta da aynı süredeki etanolün kırmızıbiber örneklerindeki küf miktarları üzerinde etkili ve istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Buna göre etanol miktarının artırılmasının kırmızıbiber örneklerinde bulunan küf miktarının azalmasına neden olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Aynı etanol miktarında ve aynı sürelerdeki kırmızıbiber örneklerinin sıcaklığa bağlı değişimlerinde incelenmiştir. Küf miktarları üzerine sıcaklığın etkisinin, 1. günün sonunda kontrol grubu biber örnekleri, 1ml ve 3 ml etanol enjekte edilen biber örnekleri istatistiki olarak önemli olduğu ($p<0.05$), 5 ml etanol enjekte edilen biber örneklerinde ise önemsiz olduğu ($p>0.05$) görülmüştür. 1. günün dışındaki tüm günlerde kontrol grubu biber örnekleri ile 1ml, 3ml ve 5ml etanol enjekte edilen biber örneklerinde ki küf miktarlarının üzerine sıcaklığın etkisinin önemli olduğu ($p<0.05$) saptanmıştır.

Şekil 2'de küflerin logaritmik evredeki $\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)$ değerine karşılık t değerlerinin grafiği gösterilmiştir. Büyüme hız sabitleri (k) ve en uygun hız denklemleri Tablo 2'de verilmiştir. 28 °C'deki hız sabitleri kontrol (EtOH 0), EtOH 1, 3 ve 5 için sırası ile 1.13, 0.38, 0.23 ve 0.19 $kob\ g^{-1}\ gün^{-1}$ bulunurken, 37 °C için yine sırası ile 1.22, 0.37, 0.26 ve 0.23 $kob\ g^{-1}\ gün^{-1}$ olduğu belirlenmiştir. EtOH 1, 3 ve 5'in k değerleri EtOH 0'ki ile karşılaştırıldığında, kontrol grubunun 28 °C'deki hız sabitinin diğer k değerlerinden sırayla yaklaşık 3, 5 ve 6 kat daha büyük olduğu tespit edilmiştir. 37 °C için kontrol EtOH 3 ve 5'in k değerlerinden yaklaşık 5 kat, EtOH 1'in k değerinden 3 kat büyük olduğu bulunmuştur. Sıcaklıklar arasındaki farklar incelendiğinde EtOH 5 hariç, kontrolün (EtOH 0) hız sabitinin diğer etanol miktarlarındaki hız sabitlerine oranlarında fark bulunmazken, 28 °C'deki kontrolün k değerinin EtOH 5'in k değerine oranı (6 kat) ile 37 °C'deki kontrolün k değerinin EtOH 5'in k değerine oranı (5 kat) arasında fark bulunmuştur.



Şekil 1. İki farklı sıcaklıkta depolanan kırmızıbiberlerdeki *A. Flavus* küf miktarları

Tablo 1. Duncan Testi sonuçları

| °C | 28 | | | | 37 | | | |
|-----------|--|--------|--------|---------|---------|---------|--------|---------|
| | 0 | 1 | 3 | 5 | 0 | 1 | 3 | 5 |
| etOH (ml) | 0 | 1 | 3 | 5 | 0 | 1 | 3 | 5 |
| 1 | a ^α x ^β D ^γ | a x C | a x B | a x A | a y D | a y C | a y B | a x A |
| 2 | b x D | b x C | b x B | b x A | b y D | b y C | b y B | b y A |
| 3 | c x D | c x C | c x B | c x A | c y D | c y C | c y B | c y A |
| 4 | d x D | d x C | d x B | c x A | d y D | d y C | d y B | d y A |
| 5 | e x D | e x C | e x B | d x A | e y D | e y C | e y B | e y A |
| 6 | ef x D | f x C | f x B | de x A | ef y D | f y C | f y B | f y A |
| 7 | fg x D | g x C | g x B | de x A | g y D | g y C | g y B | g y A |
| 8 | h x D | h x C | h x B | ef x A | gh y D | h y C | h y B | h y A |
| 9 | i x D | i x C | i x B | fg x A | hi y D | i y C | i y B | i y A |
| 10 | i x D | j x C | j x B | gh x A | hi y D | j y C | j y B | j y A |
| 11 | ij x D | k x C | k x B | h x A | ij y D | k y C | k y B | k y A |
| 12 | j x D | l x C | l x B | i x A | ijk y D | l y C | l y B | l y A |
| 13 | j x D | m x C | m x B | i x A | jkl y D | m y C | m y B | m y A |
| 14 | j x D | n x C | n x B | j x A | kl y D | n y C | n y B | n y A |
| 15 | jk x D | o x C | o x B | jk x A | lm y D | o y C | o y B | o y A |
| 16 | jk x D | p x C | p x B | kl x A | mn y D | p y C | p y B | p y A |
| 17 | jk x D | r x C | r x B | lm x A | no y D | r y C | r y B | r y A |
| 18 | kl x D | rs x C | s x B | mn x A | op y D | s y C | s y B | s y A |
| 19 | l x D | st x C | t x B | lno x A | op y D | t y C | t y B | t y A |
| 20 | l x D | t x C | tu x B | op x A | pr y D | tu y C | tu y B | tu y A |
| 21 | l x D | t x C | tu x B | p x A | r y D | tuv y C | tu y B | tuv y A |

α: aynı etanol miktarı ve aynı sıcaklıktaki süreler arasındaki farkı gösteriyor (a-v serisi), a en küçük değer

β: aynı sürede ve aynı etanol miktarındaki sıcaklıklar arasındaki farkı gösteriyor (x-y serisi), x küçük değer

γ: aynı sürede ve aynı sıcaklıktaki etanol miktarları arasındaki farkı gösteriyor (A-D serisi), A en küçük değer

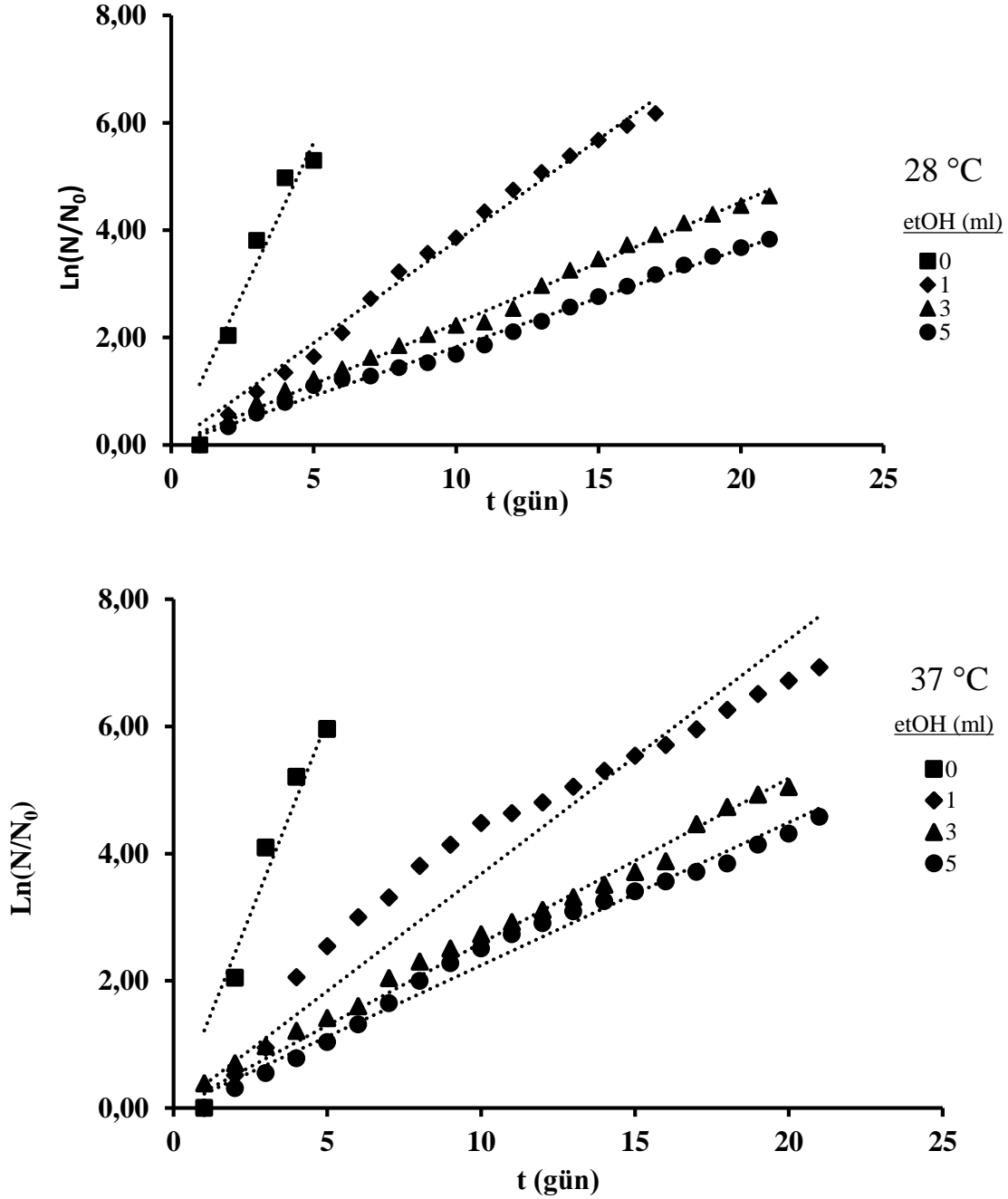
Tablo 2. A. *Flavus* küflerinin etanollü kırmızıbiber içerisindeki büyüme hız sabitleri ve hız denklemleri

| etOH (ml) | 28 °C | | | 37 °C | | |
|-----------|-------------------------------|--------------|----------------|-------------------------------|--------------|----------------|
| | hız sabiti (k ₂₈) | hız denklemi | R ² | hız sabiti (k ₃₇) | hız denklemi | R ² |
| 0 | 1.13 | y=1,1253x | 0.906 | 1.22 | y=1,2177x | 0.917 |
| 1 | 0.38 | y=0,3793x | 0.991 | 0.37 | y=0,3682x | 0.924 |
| 3 | 0.23 | y=0,2262x | 0.995 | 0.26 | y=0,2592x | 0.989 |
| 5 | 0.19 | y=0,1896x | 0.994 | 0.23 | y=0,2245x | 0.986 |

TARTIŞMA

Etanol, gıdalar üzerinde mikrobiyal aktiviteyi önleyici potansiyele sahip olduğu için yaygın olarak kullanılan bir bileşendir (Larson ve Morton, 1991). Etanol buharının ve sıvı etanole daldırma yönteminin şeftali, sofralık üzüm ve turunçgillerin hasat sonrası bozulmalarını kontrol altına almakta kullanıldığı bilinmektedir (Margosan ve ark., 1997; Mlikota Gabler ve ark., 2002; Karabulut ve ark., 2004). Kırmızıbiber de görülen en büyük sorun olan küf gelişimi özellikle hasat sonrası süreçte kontrol altına alınabilmesi açısından farklı bir uygulama olan etanol muamelesi ile yapılan çalışma sonrası, etanolün bu üründe ki küf gelişimini azaltıcı etkiye sahip olduğu fakat küflerin tamamını inhibe edemediği tespit edilmiştir.

Gıda kalitesi ve ekonomisi üzerinde küf kaynaklı bozulmalar bakımından, etanolün meyvelerin çürümelerinin kontrolü ve raf ömrünün uzatılması açısından önemli bir uygulamadır (Dao ve Dantigny, 2011). Küf sayımları sonucunda elde edilen değerlere göre etanolün taze kırmızıbiberinde ki küf gelişimi üzerine sınırlayıcı bir etki oluşturduğu, etanol miktarının artmasıyla bu etkinin daha da belirgin hale geldiği gözlemlenmiştir. Küflerin etanole karşı göstermiş olduğu hassasiyetin kırmızıbiberde ki depolama süresi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Sonuçların diğer ekmek gibi gıdaların raf ömürleri üzerine yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Black ve ark., 1993, El-Khoury, 1999, Franke ve ark., 2002, Dantigny ve ark., 2005; Dao ve Dantigny, 2011).



Şekil 2. A. *Flavus* küflerinin 28 ve 37 °C'deki büyüme hız grafikleri

Kırmızıbiberlerin dış yüzeylerinden ziyade biberlerin iç boşluğu ve iç yüzeyi fungal kanalizasyon için uygun bir ortamdır (Çoksöyler, 1999). Küf miktarlarının sürekli olarak artış göstermesinde, etanolün kaynama noktasının suya göre daha düşük olması (yaklaşık 78 °C), bundan dolayı daha çabuk buharlaşması nedeniyle, küfler üzerindeki etkisinin zamanla yok olması ve küf gelişimi için kırmızıbiber örneklerinin tekrardan uygun bir ortam oluşturmasının etkili olduğu düşünülmüştür. Kırmızıbiber örneklerinde etanol miktarı olarak sadece 5 ml'lik miktarın iç hacmi doldurmaya yakın bir miktar

olduğu, diğer etanol gruplarının biberlerin iç hacminin tamamına temas etmediği ve küf gelişiminin bu temas olmayan noktalarda olduğu sanılmaktadır. Küflerin bu inhibitöre karşı gösterdiği duyarlılık neticesinde biber örneklerinin bozulması gecikmiştir. Fakat etanol miktarı azalan örneklerdeki küf gelişiminin sürekli olarak artmasında, etanolün miktar ve hacim yönünden sürekli azalmasının etkili olduğu ve bu iki parametre arasında bir ters orantı olduğu düşünülmektedir. Mani-López, ve Palou (2016) etanol konsantrasyonlarının küfler üzerine çok etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Her iki sıcaklıkta ki küf miktarları artış hızlarının benzer olmasına karşın küf miktarlarında aynı gruplar arasında aynı gün değerleri için önemli farklılıklar bulunmaktadır. *Aspergillus* türü küflerinin 35-38 °C arasında gelişme gösterdiği, 25-30 °C aralığında toksin ürettiği düşünülürse (Halkman, 2013), 37 °C'de ki küf miktarlarının 28 °C'de ki aynı grupta ve aynı gün değerlerinde ki küf miktarlarına göre tamamında daha yüksek oluşu, *A. flavus* küflerinin optimum üreme sıcaklığı değerlerine yakın olduğundan kaynaklanmaktadır. Her ne kadar bu çalışmada 28 °C'de ki küf gelişimi 37 °C'de ki küf gelişimine oranla daha düşük olarak gözükse de 28 °C'de *Aspergillus* cinslerinin büyümeden ziyade optimum toksin oluşturduğu dikkate alındığında bu sıcaklık değerinde ki küf gelişimi de önem arz etmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada taze kırmızıbiber meyvelerinde ki küf gelişimi üzerine iki farklı sıcaklıkta ve farklı miktarlardaki etanolün etkisi araştırılmıştır. 21 gün boyunca yapılan küf sayımları sonucunda iki sıcaklık değerinde de küf gelişim hızları birbirine benzerlik gösterirken, 37 °C'deki etanol enjekte edilmeyen kontrol grubu, 1, 3 ve 5 ml etanol enjekte edilen biber örneklerindeki küf miktarlarının aynı günler için 28 °C'de ki aynı gruplara kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır.

Farklı oranlarda etanol enjekte edilen biber örneklerinin hiç birisinde küf gelişiminin tamamen önlenemediği fakat küf gelişimi üzerine etanolün sınırlayıcı bir etken olduğu saptanmıştır. Etanol miktarındaki artışın küf gelişimindeki azalmayla arasında ters bir orantı olduğu belirlenmiş, küf sayımı yapılan biber örneklerinde en az miktarda küf bulunan örneklerin her iki sıcaklıkta da 5 ml etanol enjekte edilen gruplar olduğu tespit edilmiştir.

Bu sonuçlardan yola çıkarak gıda ürünlerinde ki bozulmalarda en büyük sorunu teşkil eden küfler üzerine; etkisi daha önce yapılan çalışmalarda da tespit edilen etanolün, kullanım şekli de göz önünde bulundurularak uygulanması özellikle depolama sürecinde bir kazanım oluşturabilir. Meyve ve sebzelerin çabuk bozulabilir nitelikte gıdalar olması ve bu sebeple depolama süresi noktasında karşılaşılan olumsuzluklar açısından etanol ve türevi inhibitörlerin kullanımına yaygınlık kazandırmak gerekmektedir.

Taze olarak ve baharata işlenerek tüketilebilen kırmızıbiberde ki küf ve buna bağlı aflatoksin sorununun çözümlenmesi özellikle insan sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir. Hasat öncesi başlayıp özellikle hasat sonrası kurutma ve depolama aşamasında yoğun olarak gerçekleşen küf kontaminasyonunun daha az düzeylerde seyredilmesi; üretimde ki iyi tarım uygulamalarının doğru bir şekilde yürütülmesi, hasat ve sonrası uygulanacak proseslerde ki bilinçli yaklaşımların yanı sıra alternatif önleyicilerin bu ürün üzerinde ki etkilerinin araştırılması ile mümkün olabilir. Bu bakımdan küf kontaminasyonu ve küf gelişiminin

önlenmesine yönelik çalışmaların farklı ve alternatif yöntemlerle artırılması gıda sanayii açısından ihtiyaç duyulan bir zorunluluktur.

KAYNAKLAR

- Akıncı S, Akıncı İE 1998. Kahramanmaraş Kırmızı Biber Üretim Sorunları ve Bu Sorunların Çözümüne Yönelik Öneriler. Kahramanmaraş Kırmızı Biberinin Sorunları ve Çözüm Yolları Paneli, 6 Mart, Kahramanmaraş.
- Black RG, Quail KJ, Reyes V, Kuzyk M, Ruddick L 1993. Shelf-Life Extension of Pita Bread by Modified Atmosphere Packaging. Food Australia, 45: 387-391.
- Bevilacqua A, Speranza B, Sinigaglia M, Maria Rosaria Corbo MR 2015. A Focus on the Death Kinetics in Predictive Microbiology: Benefits and Limits of the Most Important Models and Some Tools Dealing with Their Application in Foods. Foods, 4: 565-580.
- Çoksöyler N 1999. Farklı Yöntemlerle Kurutulan Kırmızı Biberlerde *Aspergillus flavus* Gelişimi ve Aflatoksin Oluşumunun İncelenmesi. Gıda, 24(5): 297-306.
- Dantigny P, Guilmar A, Radoi F, Bensoussan M, Zwietering M 2005. Modelling the Effect of Ethanol on Growth Rate of Food Spoilage Moulds. International Journal of Food Microbiology, 98(3): 261-269.
- Dao T, Dantigny P 2011. Control of Food Spoilage Fungi by Ethanol. Food Control, 22 (3): 360-368.
- Efe E, Bek Y, Şahin M 2000. SPSS' te Çözümleri ile İstatistik Yöntemler II. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü, Yayın No: 9, Kahramanmaraş, 223s.
- El-Khoury A 1999. Shelf-Life Extension Studies on Pita Bread. McGill University, Department of Food Science and Agricultural Chemistry, Degree of Master of Science, 143 s.
- Erkmen O, Bozoglu TF 2008. Food Microbiology 2. Gazi Üniversitesi Vakfı, İlke Yayınevi, Yayın No: 1, Ankara, 173s.
- Feliciano A, Feliciano J, Vendrusculo J, Adaskaveg J, Ogawa JM 1992. Efficacy of Ethanol in Postharvest Benomyl-DCNA Treatments for Control of Brown Rot of Peach. Plant Disease, 76: 226-229.
- Franke I, Wijma E, Bouma K 2002. Shelf Life Extension of Prebaked Buns by an Active Packaging Ethanol Emitter. Food Additives and Contaminants, 19: 314-322.
- Halkman AK 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 358s.
- Halkman AK 2013. Gıda Mikrobiyolojisi II Ders Notları. Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 89s.
- Karabulut OA, Smilanick JL, Mlikota Gabler F, Mansour M, Droby S 2003. Near-Harvest Applications of Metschnikowia Fructicola, Ethanol, and Sodium Bicarbonate to Control Postharvest Diseases of Grape in Central California. Plant Disease, 87: 1384-1389.

- Karabulut OA, Gabler FM, Mansour M, Smilanick JL 2004. Postharvest Ethanol and Hot Water Treatments of Table Grapes to Control Gray Mold. *Postharvest Biology and Technology*, 34(2): 169-177.
- Karabulut OA, Romanazzi G, Smilanick JL, Lichter A 2005. Postharvest Ethanol and Potassium Sorbate Treatments of Table Grapes to Control Gray Mold. *Postharvest Biology and Technology*, 37: 129-134.
- Mani-López E, Palou E 2016. Effect of Different Sanitizers on the Microbial Load and Selected Quality Parameters of “Chile De Árbol” Pepper (*Capsicum Frutescens* L.) Fruit A. López-Malo. *Postharvest Biology and Technology*, 119: 94–100.
- Larson EL, Morton HE 1991. Alcohols, In: Block SS. ED. *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Lea and Febiger, 191–203.
- Legan JD 1993. Mould Spoilage of Bread: The Problem and Some Solutions. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 32: 33-53.
- Makaracı A 2006. Farklı Kurutma Yöntemlerinin Kırmızı Biberlerde Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi. *Trakya Üniversitesi. Fen Bil. Ens., Gıda Mühendisliği ABD, Yüksek Lisans Tezi*, 24 s.
- Mannon J, Jonhson E 1985. *Fungi Down by the Farm*. *New Scientist*, 195: 12-16.
- Margosan DA, Smilanick JL, Simmons GF, Henson DJ 1997. Combination of Hot Water and Ethanol to Control Postharvest Decay of Peaches and Nectarines. *Plant Disease*, 81: 1405–1409.
- Mlikota Gabler F, Smilanick J, Aiyabei J, Mansour M 2002. New Approaches to Control Postharvest Gray Mold (*Botrytis Cinerea* Pers.) on Table Grapes Using Ozone and Ethanol. In: *The World of Microbes, X. International Congress of Mycology*, 27 July–1 August, Paris.
- Nitterus M 2000. Ethanol as Fungal Sanitizer in Paper Conservation. *Restaurator*, 21: 101-115.
- Pilna E, Vlkova K, Krofta V, Nesvadba V, Rada L, Kokoska A 2015. In Vitro Growth-Inhibitory Effect of Ethanol GRAS Plant and Supercritical CO₂ Hop Extracts on Planktonic Cultures of Oral Pathogenic Microorganisms. *Fitoterapia*, 105: 260-268.
- Pribis V, Svirzic G 1995. Application of Modern Colour Systems in Investigation of Colour Changes in Dry Fermented Sausages During Production. *Fleischwirtschaft*, 75(6): 819-821.
- Romanazzi G, Karabulut OA, Smilanick JL 2007. Combination of Chitosan and Ethanol to Control Postharvest Gray Mold of Table Grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 134-140.
- Salminen A, Latva-Kala K, Rendell K, Hurme E, Linkot P, Ahvenainen R 1996. The Effect of Ethanol and Oxygen Absorption on the Shelf-Life of Packed Sliced Rye Bread. *Packaging Technology and Science*, 9: 29-42.
- Smith JP, Ooraikul B, Koersen WJ, Van de Voort FR, Jackson ED, Lawrence RA 1987. Shelf-Life Extension of a Bakery Product Using Ethanol Vapor. *Food Microbiology*, 4: 329-337.
- Yeon-Hee K, Jeong Hwan K, Hyung-Joo J, Si Young L 2013. Antimicrobial Activity of Ethanol Extracts of *Laminaria Japonica* Against Oral Microorganisms. *Anaerobe*, 21: 34-38.