

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
NEVŞEHİR BİLİM VE TEKNOLOJİ DERGİSİ

Nevsehir Hacı Bektaş Veli University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Nevsehir Journal of Science and Technology

Cilt/Volume : 11
Sayı/Issue : 1
e-ISSN: 2148-4651

Haziran 2022

June 2022

SAHİBİ/
Prof. Dr. Semih AKTEKİN - Nevşehir HBV Üniversitesi Rektörü
EDİTÖR / EDITOR-IN-CHIEF
Prof. Dr. Şahlan ÖZTÜRK - Nevşehir HBV Üniversitesi sahlan.ozturk@nevsehir.edu.tr
YARDIMCI EDİTÖR/CO-EDİTÖR
Doç.Dr. Musa KAR - Nevşehir HBV Üniversitesi musa.kar@nevsehir.edu.tr
Dil Editörü
Öğrt. Gör. Erçin ÖZZADE- Nevşehir HBV Üniversitesi
Yayın Kurulu/ Bölüm Editörleri
Prof. Dr. Bayram DEVİREN - Nevşehir HBV Üniversitesi
Prof. Dr. Aslıhan KARATEPE - Nevşehir HBV Üniversitesi
Prof. Dr. Nesimi AKTAŞ - Nevşehir HBV Üniversitesi
Prof. Dr. Ersan KABALCI - Nevşehir HBV Üniversitesi
Doç. Dr. Cemal ÇARBOĞA - Nevşehir HBV Üniversitesi
Dr. Öğretim Üyesi - Ahmet ORHAN - Nevşehir HBV Üniversitesi
Dr. Öğretim Üyesi Ömer BİLHAN - Nevşehir HBV Üniversitesi

Danışma/Bilim Kurulu

Doç. Dr. Abdullah DİKİCİ – Uşak Üniversitesi

Prof. Dr. Halil İbrahim OĞUZ – Adıyaman Üniversitesi

Prof. Dr. Okan KARAHAN – Erciyes Üniversitesi

Prof. Dr. Abdullah ALGAN – Pamukkale Üniversitesi

Doç. Dr. Mustafa TÜRKMEN – Erciyes Üniversitesi

Prof. Dr. Mustafa Serdar GENÇ – Erciyes Üniversitesi

Prof. Dr. Şükrü ÇELİK – Sinop Üniversitesi

Doç. Dr. Meryem SEFERİNOĞLU - Sinop Üniversitesi

Prof. Dr. Salih ATEŞ – Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet ARIKAN - Gazi Üniversitesi

Assit. Prof. Dr. Adi Jassim Abd Al_Rezzaq - University of Babylon

Doç. Dr. Hikmet KATIRCIOĞLU - Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Zehra Nur YÜKSEKDAĞ - Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Beril AKIN - Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Yüksel ALTUN - Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Gül GÜLPINAR – Dokuz Eylül Üniversitesi

Prof. Dr. Orhan BAYRAK – Akdeniz Üniversitesi

Prof.Dr. Serkan TEKİN- Akara Üniversitesi

Prof.Dr. Mustafa Hilmi ÇOLAKOĞLU- Nevşehir HBV Üniversitesi

Prof.Dr. Uğur TIRNAKLI – Ege Üniversitesi

Prof. Dr. Murat AYGÜN – Bitlis Eren Üniversitesi

İçindekiler/Contents	Sayfa /Page
Derleme Makalesi(Review Article) Yeni Nesil Dizileme Verilerinin Analizinde Bulut Teknolojisi Cloud Computing in Next Generation Sequencing Data Analysis Sema KARABUDAK Meryem Sena AKKUŞ	1-10
Araştırma Makelesi (Research Article) Nevşehir İlinde Yetişen Pinus nigra jf. arnold ve Thuca occidentalis L. Türü Ağaçlardan Toplanan Kozalakların Antioksidan ve Antibakteriyel Aktiviteleri Antioxidant and Antibacterial Activities Of Cone From Pinus nigra JF. Arnold and Thuca occidentalis L. Trees in Nevşehir Mustafa AKAR	11-19
Araştırma Makelesi (Research Article) Çam (Pinus pinea) Kozalağının Sulardaki Cd²⁺ Metal İyonlarının Giderilmesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi Investigation of the Effects of Pine (Pinus pinea) Cone on the Removal of Cd ²⁺ Metal Ions from Waters İsmail TASA Yavuz SÜRME	20-27
Araştırma Makelesi (Research Article) Nevşehir İli Süt Toplama Merkezlerindeki Çiğ Sütün Mikrobiyal Kalite Yönünden İncelenmesi GC-MS Investigation of Raw Milk in terms of Microbial Quality at Milk Collection Units in Nevşehir Province Serkan TEKİN Zeliha LEBLEBİCİ	28-36



Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

Derleme Makalesi(Review Article)

Makale Doi: 10.17100/nevbiltek.1005534

Geliş Tarihi:06-10-2021

Kabul Tarihi:25-01-2022



Yeni Nesil Dizileme Verilerinin Analizinde Bulut Teknolojisi

Sema KARABUDAK ^{1*}, Meryem Sena AKKUŞ ²

¹Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara
ORCID ID: 0000-0002-3646-0442

²Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara
ORCID ID: 0000-0003-2550-550X

Öz

Yeni nesil dizileme (YND) araçları, büyük miktarda veri üretme kapasitesine sahiptir ancak bu araçların hesaplama ve depolama kapasiteleri büyük ölçekli dizileme verilerinin analizi için yetersiz kalmaktadır. Bulut bilişim altyapılarını kullanmak YND verilerinin analizi, depolanması ve aktarılması ile ilgili sorunlara alternatif bir seçenek olmuştur. Bulut bilişim, kullanıcılara dizileme verilerinin analizi için gerekli hesaplama kapasitesi ve bilişim altyapılarına erişim sunmakta ve biyoinformatik altyapıları için gerekli olan ön sermaye harcamalarının çoğunu ortadan kaldırmaktadır. Bu çalışmada yeni nesil dizileme yöntemi hakkında bilgi verilmiş ve elde edilen dizileme verilerinin analizinde kullanılan yazılımlar bulut bilişim servis modellerine ve son kullanıcılara göre sınıflandırılarak özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bulut Bilişim, Veri Analizi, Yeni Nesil Dizileme, Biyoinformatik

Cloud Computing in Next Generation Sequencing Data Analysis

Abstract

Next-generation sequencing (NGS) tools are capable of generating large amounts of data, but their computational and storage capacity is insufficient for analysis of large-scale sequencing data. Using cloud computing infrastructures has been an alternative option to problems related to analysis, storage and transfer of NGS data. Cloud computing provides users with the computing capacity and access to computing infrastructures required for analysis of sequencing data, and eliminates most of the up-front capital expenditure required for bioinformatics infrastructures. In this study, information is given about the next generation sequencing method and the software used in the analysis of the obtained sequencing data are summarized by classifying them according to cloud computing service models and end-users.

Keywords: commaCloud computing, Data Analysis, Next Generation Sequencing, Bioinformatics

* Sorumlu yazar: skarabudak@ybu.edu.tr

1. Giriş

Yeni nesil dizileme (YND) teknolojisi tüm genomun veya genomun bir kısmının nükleotid dizisini belirlemek için kullanılan yüksek verimli dizileme yöntemidir [1]. Günümüzde yaygın olarak kullanılan YND teknolojisinin kökleri 1953 yılında Watson, Crick ve Franklin'in DNA'nın yapısını keşfetmelerine kadar uzanmaktadır. 1964'te Richard Holley tRNA'nın dizilimini gerçekleştirerek nükleik asitleri dizilemeye yönelik ilk girişimde bulunmuştur. Walter Fiers 1972'de, 2 boyutlu fraksiyonlama yöntemini kullanarak bakteriyofaj MS2'nin kaplama proteinini ve bundan dört yıl sonra da tam genomunu dizilemiştir. 1977 yılında DNA dizilimi için Fredrick Sanger zincir sonlandırma yöntemini önerirken aynı yıl Maxam ve Gilbert, DNA'nın kimyasal modifikasyonuna dayanan dizileme yöntemini tanıtmışlardır. Applied Biosystems, 1987 yılında yarı otomatik DNA dizileme yöntemini geliştirmiş ve 1996 yılında dizileme ve fragment analizi yaklaşımları için tasarlanmış otomatik tek kapiler genetik analiz cihazı ABI 310'u tanıtmıştır. 2004 yılında 454 Life Sciences, Roche GS20 olarak adlandırılan ve pazardaki ilk YND platformu olan piro-dizileme teknolojisini pazarlamıştır. 2007'de SOLiD sistemi tanıtılmış ve 2011 yılında hidrojen iyonlarını tespitine dayalı olarak nükleotidleri tespit eden Ion Torrent teknolojisi geliştirilmiştir [2 ve 3].

YND platformları tüm genom dizileme, ekzom dizileme, transkriptom dizileme (RNA-dizileme), protein-DNA etkileşimlerinin analizi (Chip-Seq) ve dizileme tabanlı DNA metilasyon analizi gibi pek çok farklı uygulama alanına sahiptir. Geliştirilen veri analizi araçlarıyla birlikte YND platformlarının artan kullanımı; biyolojik araştırmalar, klinik tanı ve tıbbi uygulamaların kapasitesini önemli ölçüde arttırmıştır. [4]. YND aracılığıyla üretilen veriler, hastalıkların biyo-belirteçlerinin doğru bir şekilde tanımlanması, kalıtsal bozuklukların tespit edilmesi, tedavilere verilen yanıtların tahmin edilmesine yardımcı olabilecek genetik faktörlerin belirlenmesi ve kanserin erken saptanması gibi önemli faydalar sağlamaktadır [5]. Hızlı ve maliyeti uygun biçimde dizilemeye olanak veren teknolojileri tanımlamada kullanılan YND, yüksek verimli dizileme olarak da bilinmektedir [6].

Son yıllarda, YND teknolojilerindeki teknik iyileştirmelere bağlı olarak dizileme maliyetlerinin önemli ölçüde düşmesi dizileme çalışmalarını kolaylaştırmış ve üretilen veri hacminde muazzam bir artışa neden olmuştur [7]. Büyük hacimli YND verilerinin işlenmesi, analizi, depolanması ve yönetilmesi için yüksek kapasiteli sabit disk ve yüksek düzeyde hesaplama gücüne ihtiyaç duyulmaktadır. YND cihazları tarafından üretilen büyük miktarda genomik verinin depolanması, aktarılması ve analizi ile ilgili problemler, iyi bilinen "büyük veri" sorununun bir örneğidir [6 ve 8]. Üretilen verinin hacmi, üretim hızı ve formatı (çeşitliliği) veriden alınacak değeri etkilemektedir. Bu nedenle, verileri güvenli bir şekilde depolayabilen ve yeterli bilgi işlem gücüne sahip altyapının seçimi, dizilemeden sonraki adımlarda kritik önem taşımaktadır. Bulut bilişim, birden fazla bilgisayardan yararlanarak hesaplama ve depolama kaynaklarını internet üzerinden sanal bir şekilde sağlamaktadır. Son yıllarda geliştirilen YND yazılım sistemlerinin çoğu, bulut tabanlı platformlar üzerinden bulut tabanlı hizmet sağlamaktadır. Bulut bilişim teknolojisi, hesaplama kaynaklarının sonsuz kullanılabilirliği sayesinde hızlı veri işlemeye olanak sağlayarak veri işleme ile ilgili sorunları çözmeyi sağlayan önemli bir teknoloji haline gelmiştir [6 ve 9]. Karşılaştırmalı genomik, genom analizi, SNP araştırmaları ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi çalışmalar YND verilerinde bulut bilişimin kullanıldığı başlıca alanlara örnek olarak verilebilir [8].

2. Bulut Bilişim Teknolojisi

Bulut bilişim kavramı, John McCarthy'nin 1965'te "hesaplamanın bir gün kamu hizmeti olacak şekilde organize edilebileceği" fikrini dile getirmesiyle ortaya çıkmıştır [4]. ABD Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü bulut bilişimi "minimum yönetim çabası veya hizmet sağlayıcı etkileşimi ile hızla sağlanabilen ve serbest bırakılabilen, ortak bir yapılandırılabilir bilgi işlem kaynakları havuzuna her yerde, uygun, isteğe bağlı ağ erişimi sağlayan bir model" olarak tanımlamaktadır. Kısaca ifade etmek gerekirse, bulut bilişim, kullanıcıların bilgi işlem kaynaklarını satın almak yerine bunları kolayca kiralayabilmeleri için organize edilmiş bir modeldir [10].

Bulut bilişim modelinde, işlemciler ve sabit diskler gibi hesaplama kaynakları, bir sağlayıcıdan kiralanabilen yardımcı programlar olarak düşünülmektedir. "Bulut sağlayıcı" terimi çoğunlukla Amazon Web Services (AWS), Google Cloud Platform veya Microsoft Azure gibi ABD merkezli başlıca ticari hizmetleri tanımlamak için kullanılır. Sağlayıcılar, veri merkezlerinde düzenlenen geniş bilgisayar ve depolama havuzlarını kontrol ederler. Kullanıcılar ise bu kaynakları talep eder, kullanır ve iş tamamlandığında bu kaynakları havuza geri verirler [10].

Bulut bilişim; geniş ağ erişimi, hızlı esneklik, kaynak havuzu, isteğe bağlı self servis ve ölçülebilir hizmet olarak beş temel özellikten oluşur. Bulut bilişimde genel bulut, özel bulut, hibrit bulut ve topluluk bulutu olmak üzere dört dağıtım modeli bulunmaktadır.

Bulut bilişim modelinin temel özellikleri:

1. İsteğe bağlı self servis: Müşteri, hizmet sağlayıcıyı dahil etmeden bilgi işlem kaynaklarını tek taraflı olarak sağlayabilir.
2. Geniş Ağ Erişimi: Bulut bilgi işlem kaynaklarına bilgisayar ve akıllı telefon gibi çeşitli müşteri platformları tarafından ağ üzerinden erişilebilir.
3. Kaynak Havuzu: Birden çok kullanıcı aynı kaynaklardan geçici ve ölçeklenebilir hizmet alabilmektedir.
4. Hızlı esneklik: Sağlayıcı tarafından esnek yönetim sayesinde kullanıcı sınırsız bilgi işlem kaynaklarına erişebilir.
5. Ölçülebilir Hizmet: Kaynak kullanımı otomatik olarak izlenebilir ve kontrol edilebilir [4].

Bulut bilişim teknolojisinin dağıtım modelleri:

1. Özel Bulut: Tek bir kullanıcı veya birden fazla istemciye sahip bir kuruluş tarafından çalıştırılan bulut türüdür [11]. Diğer bulut türlerine göre performans, güvenilirlik ve güvenlik bakımından en yüksek düzeyde kontrol sunan bulut türüdür[12].
2. Genel Bulut: Bulut kaynakları üçüncü şahıslar tarafından sağlanmakta ve web tarayıcıları aracılığıyla kaynaklara erişilebilmektedir. Amazon Elastic Compute Cloud, Google Apps Engine ve Microsoft Azure bu tip bulutlara örnek olarak verilebilir [11]. Veri, ağ ve güvenlik ayarları üzerinde denetimden yoksun olmaları genel bulutların eksik yanlarıdır [12].
3. Topluluk Bulutu: Üçüncü kişiler tarafından yönetilebilen bir bulutu çeşitli organizasyonların ortaklaşa paylaştığı bulut bilişim türüdür [11]. Bu tür bulut modelinde, altyapı ve hesaplama kaynakları, tek bir kuruluş yerine ortak gizlilik, güvenlik ve yasal düzenlemelere sahip iki veya daha fazla kuruluşa özeldir [13].
4. Hibrit Bulut: Genel, özel veya topluluk bulutlarından oluşmuştur ve veri güvenliği sağlamak için daha güvenli bir seçenektir. Salesforce hibrit buluta örnek olarak verilebilir [11].

3. Yeni Nesil Dizilemede Kullanılan Bulut Tabanlı Uygulamaların Sınıflandırılması

Son yıllarda ortaya çıkan ABI SOLiD, Illumina, Ion Torrent gibi YND platformları, yüzlerce gigabayt boyutunda veri kümeleri oluşturmaktadır. Bu cihazlar dizileme sırasında veri toplamak için yeterli hesaplama ve depolama kapasitesine sahiptir. Ancak bu cihazların hesaplama gücü, genom montajı ve okumaların referans genoma hizalanması gibi dizileme sonrası veri analizi basamaklarını gerçekleştirmek için yetersizdir. Veri miktarının sürekli artması yüksek maliyetli bilişim altyapılarının kurulmasını gerektirmekte ve veri işlemeyi zorlaştırmaktadır [13]. Dizileme teknolojilerinin yaygın kullanımı ile birlikte güvenli şekilde veri depolayabilen, ulaşılabilirliği ve kullanımı kolay, büyük ölçekli verilerde hızlı analiz imkanı sunabilen, veri paylaşımına izin veren, veri görselleştirme olanağı sunan bulut

sistemlerine ihtiyaç her geçen gün artmaktadır [14]. Bulut bilişim sağlayıcılarının maliyetleri sürekli olarak düşürmesi biyoinformatik topluluğunda YND analizleri için bulut bilişimin kullanımına yönelik ilgiyi arttırmıştır [15].

Bulut bilişim, yazılım servisi (SaaS), platform servisi (PaaS), altyapı servisi (IaaS) ve veri servisi (DaaS) olmak üzere dört farklı servis modelinde hizmet vermektedir.

Bulut sağlayıcı, kendi bulutunda çalışan uygulamalar sunduğunda Yazılım Hizmeti (Software as a Service (SaaS)) terimi kullanılır [4]. SaaS modelinde, yazılım bakımları ve güncellemeleri kolaylaşmıştır. Ağ altyapısı ve bileşenleri gibi unsurları yönetemeyen kullanıcılar sadece bulut yöneticisinin izin verdiği uygulamaları kullanabilirler. SaaS servis modelinde çalışan bir web portalı olan SNP2Structure, yabancı ve mutant tip proteinleri karşılaştırarak sessiz tekli nükleotid değişimlerinin (msNP) protein yapısını nasıl değiştirdiğini görselleştirmekte ve analizleri kolaylaştırmaktadır[16].

İkinci servis modeli olan Platform Hizmeti (Platform as a Service (PaaS)) modelinde müşteriye, bulut sağlayıcı tarafından desteklenen geliştirme araçlarını kullanarak uygulamalar oluşturma yetkisi verilmektedir. PaaS, hızlı uygulama geliştirme ve iyi ölçeklenebilirlik özelliklerine sahip olup büyük biyolojik verilerin analizi için özel uygulamalar geliştirmeye olanak sunmaktadır. PaaS modeli, programlama dili ortamları, web sunucuları ve veri tabanlarını kapsamaktadır [8]. Dizileme verilerinin analizinde de bu servis modelinde çalışan yazılımlar tercih edilmektedir. Örneğin, CLUSTOM-CLOUD yazılımı, bulut ortamında 16S rRNA dizi verilerini kümelemek için bellek içi veri sistemi tabanlı bir yazılım olup, PaaS servis modelinde çalışmaktadır[17].

Ayrıca, mRNA ve kodlayıcı olmayan RNA analizi için gen ifade düzeylerini incelemeyi amaçlayan Bio-VLAB-MMIA-NGS yazılımı, hem PaaS hem de SaaS servis modellerinde çalışmaktadır[18].

Altyapı Hizmeti (Infrastructure as a Service (IaaS)) modelinde müşterilere hizmet olarak bilgi işlem altyapısı (IaaS), bilgisayarlar, disk alanı ve ağ bant genişliği gibi düşük seviyeli yetenekler sunulmaktadır [10]. Bu modelde müşteri, sadece izin verilen işletim sistemi ve uygulamalar üzerinde tam kontrole sahiptir [8]. Amazon EC2 başlıca ticari IaaS bulut sağlayıcılarından biridir. Metagenomik çalışmaların yazılım araçları genellikle IaaS servis modelindeki bulutları kullanmakta olup bu alanda kullanılan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) gibi pek çok uygulama Amazon EC2'de test edilmiştir. Cloud Virtual Resource (CloVR)-16S, CloVR-Metagenomics, CloVRMicrobe ve CloVR-Search IaaS servis modelinde çalışan uygulamalara örnek olarak verilebilir. Cloud Virtual Resource (CloVR)-16S, Sanger ve 454 dizi verilerinin 16S rRNA tabanlı mikrobiyal topluluk kompozisyon analizini sunarken [19] CloVR-Metagenomics, metagenomik tüm genom shotgun dizileme verilerinin taksonomik ve işlevsel kompozisyon analizine olanak vermektedir[20]. CloVR Microbe, Sanger, 454 veya Illumina dizi verileri için IGS Annotation Engine'i kullanan bir bakteriyel tek genom dizisi oluşturma programı iken [21] CloVR-Search, Sanger, 454 veya Illumina dizi verilerinin büyük ölçekli bir BLAST arayıcısı olarak çalışmaktadır [22]. Metagenomik çalışmalara ek olarak, hastalıklar ve genler arasındaki bağlantıda önem taşıyan Tekli nükleotid değişimlerinin (SNP'ler) araştırılmasında kullanılan Fasta, BLAT, MUMmer ve GATK gibi biyoinformatik araçları da IaaS bulutlarında konuşlandırılmıştır. Bakteriyel genlerin tanımlanması yoluyla bulaşıcı hastalıkların teşhisini kolaylaştıran ERGATIS de IaaS bulut modelinde çalışan uygulamalara örnek olarak verilebilir[23].

Son servis modeli olan veri hizmeti (Data as a Service (DaaS)) modeline göre verilere ağ üzerinden isteğe bağlı olarak erişilebilmekte ve verilerin dağıtılması sağlanabilmektedir. Kullanıcının herhangi bir yerden veri depolamasına ve verilere erişebilmesine olanak sağlayarak veri erişim sınırlamalarının üstesinden gelebilen DaaS modeli biyoinformatik çalışmalarda çok önemli bir servis modelidir. Amazon Web Service (AWS), kullanıcıların verilere erişimini sağlayan bulut tabanlı bir uygulamadır. AWS, DaaS modeline örnek olup Ensembl ve GenBank gibi büyük biyolojik veri bankaları da dahil olmak üzere pek çok kaynaktan herkese açık veri kümeleri içermektedir[24].

Son kullanıcılara göre değerlendirildiğinde, YND verilerinin bulut bilişimde analiz açık kaynak kodlu araçlar, ticari sistemler ve özelleştirilmiş sistemler olmak üzere üç seçenek bulunmaktadır. Ticari sistemlere örnek olan DNAnexus ve Seven Bridges gibi araçlar veri analizi için doğrudan kullanılabilirler. İkinci türde, ticari veya açık biyoinformatik platformları, kullanıcıların hesaplama ihtiyaçlarını karşılamak için daha da özelleştirilmiştir. Üçüncü tür olan açık kaynaklı araçlar herhangi bir özelleştirilmiş veri analizi için buluta yerleştirilebilir[8]. Şu anda bulut bilişimi destekleyen birçok işlem hattı ve iş akışı vardır. Tablo 1’de Bulut ortamında YND veri analizi için kullanılan araçlar bulut bilişim teknolojisi servis modellerine ve son kullanıcılara göre sınıflandırılmış ve kullanım amaçları özetlenmiştir.

Tablo 1: Bulut ortamında YND veri analizi için kullanılan araçların bulut bilişim teknolojisi servis modellerine ve son kullanıcılara göre sınıflandırılması

Servis Modeli	YND Aracı	Kullanım Amacı	Son kullanıcılara Göre Sınıflandırma	Kaynak
DaaS	Amazon Web Servisi	GenBank, Ensembl, 1000 Genomes, Model Organism Encyclopedia of DNA Elements, Unigene gibi veritabanlarında bulunan genel verilere kontrollü erişim sağlamaktadır.		
SaaS	SNP2Structure	msSNP’lerin protein yapısına etkisinin araştırılması	Açık kaynak	[25]
	Rainbow	Bulut bilişim kullanarak büyük ölçekli tüm genom dizileme veri analizi için bir araç	Açık kaynak	[15]
	CloudBurst	MapReduce ile son derece hassas okuma haritalama	Açık kaynak	[26]
	VAT	Varyant anotasyonu	Açık kaynak	[27]
	Myrna	RNA dizileme verilerinden gen ifade farklılıklarının hesaplanması	Açık kaynak	[28]
	BlastReduce	Kısa okumaların haritalanması	Açık kaynak	[29]
	Seal	Burrows-Wheeler Aligner eşlemeleriyle tutarlı olan kısa okuma çift eşlemeleri	Açık kaynak	[30]
	CloudBrush	Yeni nesil dizileme verilerinin de novo birleştirilmesi	Açık kaynak	[31]
	Cloudgene	Genel bulutta büyük ölçekli veri işleme ve özel bulutlar üzerinde iş akışı yeniden üretilebilirliği için MapReduce tabanlı Grafik kullanıcı arabirimi çerçevesi	Açık kaynak	[32]
	Cumulus	Tek-hücre ve tek-çekirdek RNA-seq verilerinin analizi	Açık kaynak	[33]
	Peak ranger	Chip-Seq verilerinin analizi	Açık kaynak	[34]
	Atlas2	Varyantların belirlenmesi	Açık kaynak	[35]
	FX	RNA-Seq analizi aracı	Açık kaynak	[36]
	YunBe	Gen Set Analizi	Açık kaynak	[37]
	StormSeq	Okumaların haritalanması	Açık kaynak	[38]
	StormBow	RNA-Seq analizi aracı	Açık kaynak	[39]
	Jnomics	Java tabanlı dizi analizi paketi	Açık kaynak	[40]
	Seq-Map-Reduce	Dizi haritalama algoritması	Açık kaynak	[41]
	Crossbow	SNP’leri araştırılması	Açık kaynak	[42]
PaaS	Euolsan	Yüksek Verimli Dizileme analizleri için tasarlanmış modüler ve ölçeklenebilir iş-akış motoru	Açık kaynak	[43]
	Galaxy	Biyomedikal araştırmalar için açık kaynaklı, web tabanlı platform	Açık kaynak	[44]
	GalaxyCloud	Büyük ölçekli analizlerin tekrarlanabilirliğini sağlayan genomik araştırmalar için bulut tabanlı çerçeve	Açık kaynak	[45]
	SparkSeq	RNA ve DNA dizileme verilerinin nükleotid hassasiyetiyle işlenmesi	Açık kaynak	[46]

	Cloud Biolinux	Yüksek performanslı biyoinformatik bilgi işlem için talep üzerine hızlı bir şekilde altyapı hazırlanmasına olanak tanıyan, herkese açık bir sanal makinedir.	Açık kaynak	[47]
	CloudMan	YND verilerinin, analizlerin ve analiz araçlarının paylaşılmasını sağlayan platform	Açık kaynak	[48]
	ClustomCloud	16S dizileme verilerinin analizi	Açık kaynak	[49]
	SeqPig	Hadoop'ta büyük veri dizileme kümeleri için basit ve ölçeklenebilir komut dosyası oluşturma	Açık kaynak	[50]
	DNANexus	Dizileme verileri için bulut tabanlı veri analizi ve yönetim platformu sağlar	Ticari	[51]
	BioPig	Büyük ölçekli sekans verileri için Hadoop tabanlı bir analitik araç seti	Açık kaynak	[52]
IaaS	Cloud Virtual Resource (CloVR)-16S	16S rRNA tabanlı mikrobiyal topluluk kompozisyon analizi	Açık kaynak	[19]
	CloVR-Metagenomics,	Tüm genom shotgun dizileme verilerinin taksonomik ve işlevsel kompozisyon analizi	Açık kaynak	[20]
	CloVRMicrobe	Bakteriyel tek genom dizisi oluşturma programı	Açık kaynak	[21]
	CloVR-Search	Sanger, 454 veya Illumina dizi verilerinin büyük ölçekli bir BLAST arayıcısı	Açık kaynak	[22]
	ERGATIS	Genomik verilerin analizi için işlem hatları oluşturmaya, yürütmeye ve izlemeye olanak tanıyan iş akışı yönetim sistemi	Açık kaynak	[23]
	RAP-Search2	YND verilerini kullanarak protein benzerliklerini arama aracı	Açık kaynak	[53]
	GalaxyCloudman	Amazon'un EC2 bulut altyapısında bilgi işlem kümelerini yapılandırmaya yönelik çözümler sunan bulut yönetim sistemi	Açık kaynak	[54]
	Cloud Aligner	Dizilerin haritalanması için hızlı ve tam özellikli MapReduce tabanlı bir araç.	Açık kaynak	[55]
	Genome Analysis Toolkit	YND araçları için verimli ve sağlam analiz araçlarının geliştirilmesini kolaylaştırmak üzere tasarlanmış yapılandırılmış bir programlama çerçevesidir	Açık kaynak	[56]
	MEGAN	Metagenomik ve metatranskriptomik verilerin taksonomik ve işlevsel olarak analizi	Açık kaynak	[57]
	MG-RAST	Metagenomik dizileme verilerinden Mikrobiyal Topluluk Yapısı ve İşlevinin Analizi	Açık kaynak	[58]
	DIYA	Bakteriyel genomların görselleştirilmesi için bakteriyel genom dizilerinin annotasyonu	Açık kaynak	[59]

4. Sonuç

Yeni nesil dizileme yöntemi, başta tıp olmak üzere birçok bilim dalında çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Bu yöntemin önemi ve değeri her geçen gün artmaktadır. Yüksek miktardaki YND verilerinin analizi bulut bilişim sistemi kullanılarak hızlı bir şekilde yapılabilmektedir. Bu çalışmada YND veri analizinde en çok kullanılan bulut tabanlı araçlar bulut bilişim servis modeline ve son kullanıcılara göre sınıflandırılmıştır. Servis modeline göre 4 tipe ayrılan toplam 42 bulut tabanlı aracın tıbbi ve biyolojik alanlarda kullanım amaçları özetlenmiştir. İncelenen araçların çoğu açık kaynaklı olup içlerinden sadece DNANexus ticari araçlara örnek olarak verilebilmektedir. Her geçen gün düşen dizileme maliyetleri ve artan hesaplama olanakları sayesinde bulut bilişim teknolojisine olan ihtiyaç artacak ve bu çalışmada örnek verilen araçlar gibi YND verileri için geliştirilen araç sayısı da artacaktır.

5. Teşekkür ve Katkı Beyanı

S.K.: Çalışmanın dizayn edilmesi, çalışma için kaynakların taranması, makale yazımı M.S.A.: Çalışma için kaynakların taranması, makale yazımı

6. Kaynaklar

- [1] Behjati S., Tarpey P. S., "What is next generation sequencing?," *Archives of Disease in Childhood. Education and Practice Edition*, 98, 236-238, 2013.
- [2] Barba, M., Czosnek, H., & Hadidi, A." Historical perspective, development and applications of next-generation sequencing in plant virology," *Viruses*, 6, 106–136, 2014.
- [3] Goodwin, S., McPherson, J. & McCombie, W., "Coming of age: ten years of next-generation sequencing Technologies," *Nat Rev Genet*, 17, 333–351, 2016.
- [4] Kwon T., Yoo W. G., W.-J. Lee W.J., Kim W., Kim D.W., "Next-generation sequencing data analysis on cloud computing," *Genes & Genomics*, 37, 489-501, 2015.
- [5] Pereira M., Malta F., Freire M., and Couto P., "Application of Next-Generation Sequencing in the Era of Precision Medicine. In Applications of RNA-Seq and Omics Strategies – From Microorganisms to Human Health", *Intech Open*, 2017.
- [6] Celesti F., Celesti A., Carnevale L., Galletta A., Campo S., Romano A., "Big data analytics in genomics: The point on Deep Learning solutions," *22nd IEEE Symposium on Computers and Communications (ISCC), Abstract Book*, 306-309, 2017.
- [7] Schmidt B. , Hildebrandt A., "Next-generation sequencing: Big data meets high performance computing," *Drug Discovery Today*, 22, 712-717, 2017.
- [8] Zhao S., Watrous K., Zhang C., and Zhang B., "Cloud Computing for Next-Generation Sequencing Data Analysis," *InTechOpen*, 29–51, 2017.
- [9] Thakur R., Bandopadhyay R., Chaudhary B., Chatterjee S., "Now and next-generation sequencing techniques: Future of sequence analysis using cloud computing," *Frontiers in Genetics*, 3, 280-280, 2012.
- [10] Langmead B. and Nellore A., "Cloud computing for genomic data analysis and collaboration," *Nature Reviews Genetics*, 19, 208-219, 2018.
- [11] Baker Q. B., Al-Rashdan W., and Jararweh Y., "Cloud-Based Tools for Next-Generation Sequencing Data Analysis," *2018 5th International Conference on Social Networks Analysis, Management and Security (SNAMS), Abstract Book* 99-105s, Valencia-Spain, 2018.
- [12] Zhang Q., Cheng L., and Boutaba R., "Cloud Computing: State-of-the-art and research challenges," *Journal of Internet Services and Applications*, 1, 7-18, 2010.
- [13] Dai, L., Gao, X., Guo, Y., Xiao, J., Zhang, Z., "Bioinformatics clouds for big data manipulation," *Biology direct*, 7, 1-7, 2012.
- [14] Goyal S., "Public vs private vs hybrid vs community - cloud computing: A critical review," *International Journal of Computer Network and Information Security*, 6, 20-29, 2014.
- [15] Zhao S., Prenger K., Smith L., Messina T., Fan H., Jaeger E., "Rainbow: a tool for large-scale whole-genome sequencing data analysis using cloud computing," *BMC Genomics*, 14, 425-425, 2013.
- [16] Wang, D., Song, L., Singh, V., Rao, S., An, L., Madhavan, S., "SNP2Structure: a public and versatile resource for mapping and three-dimensional modeling of missense SNPs on human protein structures," *Computational and structural biotechnology journal*, 13, 514-519, 2015.
- [17] Oh, J., Choi, C. H., Park, M. K., Kim, B. K., Hwang, K., Lee, S. H., Kim, K. M., "Clustom-cloud: In-memory data grid-based software for clustering 16s rRNA sequence data in the cloud environment," *PloS one*, 11, e0151064, (2016).

- [18] Chae, H., Rhee, S., Nephew, K. P., Kim, S., "BioVLAB-MMIA-NGS: microRNA–mRNA integrated analysis using high-throughput sequencing data," *Bioinformatics*, 31, 265-267, 2015.
- [19] White, J., Arze, C., Matalaka, M., Team, T. C., Angiuoli, S., Fricke, W. F., "CloVR-Metagenomics: Functional and taxonomic microbial community characterization from metagenomic whole-genome shotgun (WGS) sequences–standard operating procedure," *Nature Precedings*, 1, 1-1, 2011.
- [20] Fricke, W., White, J., Arze, Matalaka, M., White, O., Angiuoli, S., "CloVR-Metagenomics: Functional and taxonomic microbial community characterization from metagenomic whole-genome shotgun (WGS) sequences – standard operating procedure, version 1.0." *Nature Precedings*, 1, 1-1, 2011.
- [21] White, O., Angiuoli, S., Fricke, W. F., Galens, K., White, J., Arze, C., Team, T. C., "CloVR-Microbe: Assembly, gene finding and functional annotation of raw sequence data from single microbial genome projects–standard operating procedure," *Nature Precedings*, 1, 1-1, 2011.
- [22] <http://clovr.org/methods/clovr-search/>
- [23] Orvis, J., Crabtree, J., Galens, K., Gussman, A., Inman, J. M., Lee, E., Angiuoli, S. V., "Ergatis: a web interface and scalable software system for bioinformatics workflows," *Bioinformatics*, 26, 1488-1492, 2010.
- [24] Dai, L., Gao, X., Guo, Y., Xiao, J., Zhang, Z., "Bioinformatics clouds for big data manipulation," *Biology direct*, 7, 1-7, 2012.
- [25] Wang, D., Song, L., Singh, V., Rao, S., An, L., Madhavan, S., " SNP2Structure: A Public and Versatile Resource for Mapping and Three-Dimensional Modeling of Missense SNPs on Human Protein Structures," *Computational and structural biotechnology journal*, 13, 514-519, 2015.
- [26] Schatz, M., "CloudBurst: highly sensitive read mapping with MapReduce" *Bioinformatics*, 25, 1363-1369, 2009.
- [27] Habegger, L., Balasubramanian, S., Chen, DZ., Khurana, E., Sboner, A., Harman, A., Rozowsky, J., Clarke, D., Snyder, M., Gerstein, M., "VAT: a computational framework to functionally annotate variants in personal genomes within a cloud-computing environment," *Bioinformatics*, 28, 2267-2269, 2012.
- [28] Langmead B., Hansen K., Leek J., "Cloud-scale RNA-sequencing differential expression analysis with Myrna," *Genome Biology*, 11, R83, 2010.
- [29] Schatz, Michael C. "BlastReduce: high performance short read mapping with MapReduce." *University of Maryland*, <http://cgis.cs.umd.edu/Grad/scholarlypapers/papers/MichaelSchatz.pdf>, 2008.
- [30] Pireddu, L., Leo, S., Zanetti, G., "SEAL: a distributed short read mapping and duplicate removal tool," *Bioinformatics*, 27, 2159-2160, 2011.
- [31] Chang, Y. J., Chen, C. C., Ho, J. M., & Chen, C. L., "De novo assembly of high-throughput sequencing data with cloud computing and new operations on string graphs," *In 2012 IEEE Fifth International Conference on Cloud Computing IEEE*, 155-161, 2012.
- [32] Schönherr, S., Forer, L., Weißensteiner, H., Kronenberg, F., Specht, G., & Kloss-Brandstätter, A., "Cloudgene: a graphical execution platform for MapReduce programs on private and public clouds," *BMC bioinformatics*, 13, 1-9, 2012.
- [33] Li, Bo, Gould, J., Yang, Y., Sarkizova, S., Tabaka, M., Ashenberg, O., Regev, A. "Cumulus provides cloud-based data analysis for large-scale single-cell and single-nucleus RNA-seq." *Nature methods*, 17, 793-798, 2020.
- [34] Nordberg H., Bhatia K., Wang K., Wang Z., "Biopig: a Hadoop-based analytic toolkit for large-scale sequence data," *Bioinformatics*, 29, 23, 2013.

- [35] Challis, D., Yu, J., Evani, U. S., Jackson, A. R., Paithankar, S., Coarfa, C., Yu, F., "An integrative variant analysis suite for whole exome next-generation sequencing data," *BMC bioinformatics*, 13, 1-12, 2012.
- [36] Lu W., Jackson J., Barga R., "AzureBlast: A case study of developing science applications on the cloud," 2010. *Conference: Proceedings of the 19th ACM International Symposium on High Performance Distributed Computing, HPDC 2010*, 21-25 June 2010, 413-420, Chicago, Illinois, USA, 2010.
- [37] Zhang L., Gu S., Liu Y., Wang B., Azuaje F., "Gene set analysis in the cloud," *Bioinformatics*, 28, 294-295, 2012.
- [38] Karczewski, K. J., Fernald, G. H., Martin, A. R., Snyder, M., Tatonetti, N. P., Dudley, J. T., "STORMSeq: an open-source, user-friendly pipeline for processing personal genomics data in the cloud," *PLoS one*, 9, e84860, 2014.
- [39] Zhao, S., Prenger, K., Smith, L., Stormbow: a cloud-based tool for reads mapping and expression quantification in large-scale RNA-Seq studies," *ISRN Bioinformatics*, 2013, 1-8, 2013.
- [40] Zhao, S., Prenger, K., Smith, L., Stormbow: a cloud-based tool for reads mapping and expression quantification in large-scale RNA-Seq studies," *ISRN Bioinformatics*, 2013, 1-8, 2013.
- [41] Li, Y., Zhong, S., "SeqMapReduce: software and web service for accelerating sequence mapping," *Critical Assessment of Massive Data Analysis (CAMDA)*, 2009, 1-5, 2009.
- [42] Gurtowski J., Schatz M. C., Langmead B., "Genotyping in the cloud with Crossbow," *Current Protocols in Bioinformatics*, 15, Unit15.3, 2012.
- [43] Jourden L., Bernard M., Dillies M.-A., Crom S. Le, "Eoulsan: A cloud computing-based framework facilitating high throughput sequencing analyses," *Bioinformatics*, 28, 1542-1543, 2012.
- [44] Blankenberg, D., Hillman-Jackson, J., "Analysis of next-generation sequencing data using Galaxy," *In Stem cell transcriptional networks*, Humana Press, New York, 21-43, 2014.
- [45] Afgan, E., Baker, D., Coraor, N., Goto, H., Paul, I. M., Makova, K. D., Taylor, J., "Harnessing cloud computing with Galaxy Cloud," *Nature biotechnology*, 29, 972-974, 2011.
- [46] Wiewiórka M. S., Messina A., Pacholewska A., Maffioletti S., Gawrysiak P., Okoniewski M. J., "SparkSeq: fast, scalable and cloud-ready tool for the interactive genomic data analysis with nucleotide precision," *Bioinformatics*, 30, 2652-2653, 2014.
- [47] Krampis K., Booth T., Chapman B., Tiwari B., Bicak M., "Cloud BioLinux: Pre-configured and on-demand bioinformatics computing for the genomics community," *BMC Bioinformatics*, 13, 42, 2012.
- [48] Afgan, E., Chapman, B., Taylor, J., "CloudMan as a platform for tool, data, and analysis distribution," *BMC bioinformatics*, 13, 1-7, 2012.
- [49] Oh, J., Choi, C. H., Park, M. K., Kim, B. K., Hwang, K., Lee, S. H., Kim, K. M., "Clustom-cloud: In-memory data grid-based software for clustering 16s rRNA sequence data in the cloud environment," *PLoS one*, 11, e0151064, 2016.
- [50] Schumacher A., Pireddu L., Niemenmaa M., Kallio A., Korpelainen E., Zanetti G., "SeqPig: simple and scalable scripting for large sequencing data sets in Hadoop," *Bioinformatics*, 30(1), 119-120, 2013.
- [51] Navale V., Bourne P. E., "Cloud computing applications for biomedical science: A perspective," *PLoS Computational Biology*, 14, 1006144, 2018.
- [52] Nordberg H., Bhatia K., Wang K., Wang Z., "Biopig: a Hadoop-based analytic toolkit for large-scale sequence data," *Bioinformatics*, 29, 23, 2013.
- [53] Zhao, Y., Tang, H., Ye, Y., "RAPSearch2: a fast and memory-efficient protein similarity search tool for next-generation sequencing data," *Bioinformatics*, 28, 125-126, 2012.

- [54] Afgan, E., Baker, D., Coraor, N., Chapman, B., Nekrutenko, A., Taylor, J., "Galaxy CloudMan: delivering cloud compute clusters," *BMC bioinformatics*, 11, 1-6, 2010.
- [55] Nguyen T., Shi W., Ruden D., "CloudAligner: A fast and full-featured MapReduce based tool for sequence mapping," *BMC Research Notes*, 4, 171, 2011.
- [56] McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., DePristo, M. A., "The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data," *Genome research*, 20, 1297-1303, 2010.
- [57] Huson, D. H., Weber, N., "Microbial community analysis using MEGAN," *Methods in enzymology*, 531, 465-485, 2013.
- [58] Keegan, K. P., Glass, E. M., Meyer, F., "MG-RAST, a metagenomics service for analysis of microbial community structure and function. *Microbial environmental genomics*," Humana Press, New York, 207-233, 2016.
- [59] Stewart, A. C., Osborne, B., Read, T. D., "DIYA: a bacterial annotation pipeline for any genomics lab.," *Bioinformatics*, 25, 962-963, 2009.



Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi (Research Article)

Makale Doi: **10.17100/nevbiltek.1023406**

Geliş Tarihi:14-11-2021

Kabul Tarihi: 04-02-2022



Nevşehir İlinde Yetişen *Pinus nigra* JF. *arnold* ve *Thuca occidentalis* L. Türü Ağaçlardan Toplanan Kozalakların Antioksidan ve Antibakteriyel Aktiviteleri*

Mustafa AKAR

¹Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi

ORCID ID:0000-0001-8241-0414

Öz

Bu çalışmada Nevşehir ilinde yetişen *Pinus nigra* JF. *arnold* ve *Thuca occidentalis* L. türlerine ait kozalakların antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Antioksidan aktivite tayini için DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, metal iyonları şelatlama aktivitesi, total fenol, βkaroten, likopen miktarı tayini yapılmıştır. Antibakteriyel aktivite tayini için toplam 6 test bakterisi (*Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 11229) kullanılmıştır. Bu çalışmada *Pinus nigra* türünde yüksek oranda DPPH süpürme aktivitesi ve Metal iyonları şelatlama aktivitesi tespit edilmiştir. Çalışmada total fenol miktarı ve Likopen içeriği bakımından en yüksek değer *Pinus nigra* türünde tespit edilmiştir. β-karoten miktarı bakımından ise en yüksek değer *Thuca occidentalis* L. türünde belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Antibakteriyel, *Pinus nigra*, *Thuca occidentalis*

Antioxidant and Antibacterial Activities Of Cone From *Pinus nigra* JF. Arnold and *Thuca occidentalis* L. Trees in Nevşehir

Abstract

In this study, antioxidant and antibacterial activities of cones belonging to *Pinus nigra* JF Arnold and *Thuca occidentalis* species growing in Nevşehir were investigated. In terms of antioxidant activity, DPPH free radical scavenging activity, metal ions chelating activity, total phenolic, carotene and lycopene amount were determined. A total of 6 test bacteria (*Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 11229) were used for the determination of antibacterial activity. In this study, The best DPPH scavenging activity and chelating activity of metal ions was observed in *Pinus nigra* species. In the study, the highest total phenolic and lycopene contents was determined at *Pinus nigra* species. B-carotene content was determined highest at *Thuca occidentalis* species

Keywords: Antioxidant, Antibacterial, *Pinus nigra*, *Thuca occidentalis*

* Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Sorumlu yazar: mustafaakar@gmail.com

1. Giriş

Arkeolojik bulgularda rastlanan verilere göre ilk çağ insanları beslenme ihtiyaçlarını gidermek ve sağlık sorunlarına çözüm bulmak için öncelikle bitkilerden faydalanmışlardır[1].

Modern bilimin bitkisel kaynaklı temeller üzerinde kurulu olmasının yanı sıra günümüzdeki haline ulaşması uzun yıllar almıştır. DNA'nın keşfedilmesi, aşının bulunması, mikroskopun icadı gibi çeşitli buluşlar bilimin gelişmesinde çok büyük rol almıştır. Bitkilerin çeşitli alanlarda kullanılıyor olması tarih boyunca insanlar tarafından araştırılıp incelemeye tabi tutulmuştur. Bu araştırmalar sonucunda bitkilerin yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri için sentezledikleri bazı moleküller keşfedilmiştir. Bu moleküller primer metabolitler olarak isimlendirilir. Primer metabolitlerin yanısıra bitkilerin sentezlediği diğer moleküllere ise sekonder metabolitler denilmektedir. Sekonder metabolitler yapı bakımından fenolik bileşikler, alkaloidler, terpenoidler, glikozitler, ribozomal olmayan peptitler gibi özel bileşikler barındırır[2]. Aynı zamanda antioksidan ve antibakteriyel özellikte olan sekonder metabolitler enfeksiyon hastalıkları başta olmak üzere birçok sağlık probleminde kullanılan başlıca doğal ilaçlardır.

Farklı amaçlar doğrultusunda kullanılan antioksidanlar insan vücudunda serbest radikal olarak adlandırılan son yörüngelerinde bir atom eksiği olan ve sürekli bu açığı kapatmak için diğer moleküllerin atomlarına saldıran oksijen(ROS) ve nitrojen(RNT) türevi tehlikeli bileşikler veya atomlardır[3]. Bu atom veya bileşiklerin etkilerini ortadan kaldıran veya aktivitelerini yavaşlatan moleküllere antioksidan adı verilir. İnsanda var olan antioksidanlar vücut tarafından doğal olarak üretilir veya dışarıdan ek olarak alınırlar. Hem endojen hem de ekzojen antioksidanlar serbest radikallere karşı temizleyici görev üstlenirler. Böylelikle savunma sistemini güçlendirerek hastalık riskini azaltırlar[4].

Bu bağlamda bilim insanları ve sanayiciler ilaç, gıda, plastik sanayisi gibi alanlarda yararlanabilmek için sentetik ve doğal antioksidanları kullanmışlardır. Sanayide koruyucu veya katkı maddesi olarak kullanılması için laboratuvar ortamında üretilen antioksidanlara sentetik antioksidan denir, bitkilerin gerek koruma gerek gelişimlerine destek olması amacı ile ürettikleri antioksidanlara doğal antioksidanlar denir.

Günümüzde birçok araştırmacı, tıbbi öneme sahip olduğu düşünülen bitkilerin kimyasal içeriklerinin bulunması için çalışmaktadır. Geçmişten günümüze sağlık başta olmak üzere birçok alanda kullanılan bitkiler günümüzde hala ilk gün ki değerini korumaktadır. Bitkiler kullanılarak tedavi etme yöntemleri ilk kayıtlara göre M.Ö. 5000'lerde Mezopotamya bölgesinde rastlanmış, 250 bitkisel ilacın kullanıldığı belirlenmiştir[5].

Özellikle kozalak gibi sert ve faydasız görünen meyveler uzun yıllardan beri tıbbi destek amacı ile farklı alanlarda kullanılmaktadır. Antioksidan ve antibakteriyel özellikleri bakımından zengin olan kozalaklar günümüzde hâla şerbet şeklinde tüketilmektedir. Herhangi bir bilimsel temele dayanmadan yapılan bu tedaviyi destekleyecek çalışmalar bilim insanları tarafından yapılmaktadır.

Herhangi bir bilimsel temele dayanmaksızın yeşil haldeki kozalaklar toplanıp kaynatılarak şerbet veya reçel halinde tüketilmektedir. Bu işlem için Nisan – Mayıs aylarında taze yeşil çam kozalakları toplanır. Bir miktar su içerisinde uzun süre kaynatılarak kozalak özütü elde edilir. Daha sonra çeşitli maddeler ile karıştırılarak tüketilir.

Bitkisel kaynaklı ilaçların temeli bitkilerin kaynatılarak veya havan benzeri aletler ile dövülerek özütlerinin çıkartılmasına dayanır. Bu işlem bilim insanlarının günümüzde içerik analizi, etken madde tayini yapmalarına öncü olmuştur. Böylece bitki içerisinde yer alan ve hastalığa sebep olan faktöre tesir eden asıl maddenin bulunup ticari olarak satılmaya hazır hale getirilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada halk tarafından balgam sökücü, ateş düşürücü vb. rahatsızlıkların giderilmesi için tüketilen yeşil kozalakların laboratuvar ortamında deneysel olarak antibakteriyel ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. Bitkisel ilaçlara her geçen gün rağbetin artması göz önüne alındığında bu çalışma ilaç sanayisine ve ekonomiye büyük oranda katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada Nevşehir ilinde yetişen iğne yapraklılar sınıfına ait *Pinus nigra* ve *Thuca occidentalis*'in kozalaklarının ilk aşamada antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerinin tayini amaçlanmıştır. Toplanan ağaç kozalaklarının etanol yardımı ile ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda DPPH serbest radikal absorpsiyonu, metal iyonları şelatlama aktiviteleri, toplam fenolik içeriği ve β -karoten ve likopen miktar tayini hedeflenmiştir. Elde edilen bulgular bu alanda yapılacak çalışmalara öncü olacaktır.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan bakteriler *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 11229 suşları Gazi üniversitesi biyoteknoloji laboratuvarından temin edilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan kozalaklar Nevşehir ilinin farklı lokasyonların'dan toplanmıştır. Toplanan kozalaklar (Sinbo scn-2934 marka) baharat öğütücü yardımı ile öğütülmüştür. Her öğütme işleminden sonra öğütücünün temizlenmesine dikkat edilmiştir. Her örnek ayrı ayrı öğütülüp 60-150 g arası tartılıp (Sohn GmbH marka hassas terazi) paketlenmiştir. Örnekler filtre kâğıdı içerisinde soxhlet cihazına yerleştirilmiştir. Her bir örnek için 350 mL etanol kullanılarak özüt çıkarma işlemi başlatılmıştır. Her bir örnek için özüt çıkarma süresi ortalama 24 saat olarak ayarlanmış olup örneklerin tam anlamı ile özütün çıkartılması sağlanmıştır. Özüt çıkarma işlemi biten her örnek ağzı kapalı bir cam şişe içerisinde +4°C'de (VESTEL marka buzdolabı) muhafaza edilmiştir.

Özüt çıkarma işlemi bittikten sonra yaklaşık 350 mL içerisinde çözünmüş olan özütteki alkolü uzaklaştırmak için evoperatör (BUCHI marka rotary evaporatör) cihazı kullanılmıştır. Evoperatör cihazından alınan örnekler eser miktarda alkol içerdiği için ağzı açık bir şekilde cam petrielerde +60°C' de etüvde (SELECTA 2001244 00-E 53034 marka etüv), kalan alkol uçurularak saf halde özüt elde edilmiştir.

Kullanılan ekstraktın serbest radikal yakalama yeteneği, güçlü bir radikal olan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)' ı indirgeme yeteneğine göre ölçülmüştür. Sonuçların doğru alınması ve hesaplama aşamasında kullanılmak üzere negatif ve pozitif kontrollere ihtiyaç vardır[6]. Negatif kontrol için 1 mL metanol + 1 mL DPPH çözeltisi, pozitif kontrol için belirlenen konsantrasyonlarda ekstrakt + 2 mL ye tamamlayacak kadar metanol kullanılarak 517nm' de absorpsiyon değeri okunmuştur.

DPPH % süpürme yeteneği şu formüle göre belirlenir. $\{[A - [B - C] / A] * 100\}$

A= Negatif absorpsiyon değeri, B= Örnekten absorpsiyon değeri, Pozitif absorpsiyon değeri olarak belirlenmiştir.

Çalışmanın bu aşamasında kullanılan özütlerin metal iyonlarına karşı gösterdikleri şelatlama etkisi ölçülmüştür. Çalışmada 100ppm, 150ppm, 200ppm, 250ppm konsantrasyon değerleri kullanılmıştır. Pozitif kontrol için belirlenen konsantrasyondaki ekstrele 2 mM FeCl₂ ve 5 mM ferrozin çözeltisi eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon sağlanmıştır. Bu işlemden sonra karışımın spektrometrik değeri 562 nm de okunup kayıt altına alınmıştır. Absorpsiyon değerleri $\{(A - (B - C) / A) * 100\}$ formülüne göre değerlendirilip % şelatlama değeri hesaplanmıştır. Formülde belirtilen kısaltmalar: A= Negatif kontrol değeri B= Örnek absorpsiyon değeri C= Pozitif kontrol değerini sembolize etmektedir. Negatif kontrol olarak tüpte yalnızca 2 mM FeCl₂ ve 5 mM ferrozin çözeltisi ve 2ml Metanol çözeltisi eklenir.

Toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu reaktif biyomolekülü kullanılarak, gallik asit eşdeğeri olarak belirlenmiştir[7]. Bu aşamada 0,1 mL bitki ekstresi + metanol karışımına 0,2 mL %50 folin biyomolekülü eklenerek homojen bir karışım elde edene kadar vortex cihazı ile karıştırılmış ve 3 dk inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda karışıma 1 mL % 2'lik Na₂CO₃ eklenerek 45 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda her örneğin absorpsiyon değeri 760 nm dalga boyunda ölçülüp belirlenen formül yardımı ile örneklerdeki total fenol miktarı belirlenmiştir.

Total fenol: $y = 0,0063x - 0,0101$ $x = (y + 0,0101) / 0,0063$

y: ABS değeri

x: fenol miktarı (μg cinsinden)

Bu bölümde kullanılan örneklerin β -karoten ve likopen miktarının tayininde önceden aseton ve hekzan 4mL – 6mL oranlarında karıştırılmış ve önceden tartılan 0,1g kuru kozalak ekstraktı ile homojen olarak karıştırılmıştır. Burada aseton hekzan karışımı çözücü görevi görmüştür. Karışım sonucunda tüm örnekler 453 nm, 505 nm, 663 nm dalga boylarında ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Aşağıda belirtilen formüllerden yararlanarak β -karoten ve likopen miktarları belirlenmiştir.

β -karoten: $[(0,216 \times a(663) \text{ nm}) - (0,304 \times a(505) \text{ nm}) + (0,452 \times a(453) \text{ nm})]$

Likopen: $[(0,0458 \times a(663) \text{ nm}) + (0,372 \times a(505) \text{ nm}) + (0,0806 \times a(453) \text{ nm})]$ sonuçlar 100 mL'de var olan mg (mg / 100 mL'deki) cinsinden β -karoten ve likopen miktarını ifade eder.

a= belirlenen dalga boyunda okunan değeri ifade etmektedir.

Çalışmada toplam 6 bakteri türü (ATCC 7644, ATCC 27853, ATCC 4698, ATCC 29212, ATCC 11229, ATCC 6051 suşları) kullanılmıştır. Kullanılan bakteriler aktifleştirilerek nutrient sıvı besiyerine 100 μL aktarılmış ve 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. Aktif bakteriler ekilmiş petrilere 8 mm lik kuyucuklar açılarak, her bir kuyuya 100 μL bitki özütü eklenmiştir. 37°C sabit sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılarak oluşan zon çapları cetvel yardımı ile ölçülmüştür.

Sıvı besiyerleri içerisinde aktifleştirilen bakteri örneklerin her birinden 100 μL alınarak nutrient agar bulunan petri kaplarına aktarılmıştır. Bu aşamadan sonra antibiyotik diskler besiyeri üzerine yerleştirilmiş ve 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu çalışmada 10 farklı antibiyotik kullanılmıştır. Kullanılan antibiyotikler (Ampisilin AM10, Erythromcin E15, Gentamisin CN10, Cefixim CFM5, Oksalisin OX1, Penisilin P10, Ceftriakson CRO30, Amoksilin AMC30, Amoksilin AMC30) olup kozalak özütlerinin antiakteriyel aktivitelerini mukayese etmek amacı ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır.

Elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 21,0 programında ortalama değer ve standart sapma testleri yapılarak yorumlanmıştır. Çalışmada kullanılan metotlar 3 tekrarlı yapılmış olup elde edilen değerlerin ortalaması kullanılmıştır.

3. Bulgular

3.1 DPPH serbest radikal yakalama yeteneği

Bu çalışmada 100ppm, 150ppm, 200ppm, 250ppm konsantrasyonlarında kozalak ekstraktları kullanılmıştır. Konsantrasyon arttıkça DPPH süpürme aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir. DPPH süpürme yetenekleri göz önüne alınıp IC₅₀ değerleri hesaplandığında serbest radikal yakalama aktivitesi en yüksek olan tür *Pinus nigra* (55,8 μg / mL süpürme aktivitesi % 60,1– % 98,6) iken, en düşük olan tür *Thuca occidentalis* (200,4 μg / mL süpürme aktivitesi %33,14 - %58,45)'dir. Sonuçlar Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1: Örneklere ait DPPH serbest radikali süpürme yetenekleri ve IC₅₀ değerleri

Bitki türleri	IC ₅₀ Değerleri [μg / mL]	DPPH süpürme yeteneği[%]
<i>Thuca occidentalis</i>	200,4	%33,14 - %58,45
<i>Pinus nigra</i>	55,8	%60,1 - %98,6

3.2 Metal iyonları şelatlama yeteneği

Bu çalışmada 100ppm, 150ppm, 200ppm, 250ppm konsantrasyonlarda kozalak ekstraktları kullanılmıştır. Konsantrasyon arttıkça metal iyonları şelatlama aktivitesinde orantılı bir artış gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan tüm bitki ekstraktlarının

metal iyonları inhibisyon yetenekleri göz önünde bulundurularak IC₅₀ değerleri tespit edilmiştir. En iyi aktivite *Pinus nigra* (61,0 mg / mL şelatlama aktivitesi %55,5 - %74,6) türünde en düşük aktivite ise *Thuca occidentalis*(236,2 mg / mL şelatlama aktivitesi %22,3 - %52,8) türünde tespit edilmiştir. Tüm sonuçlar tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 2: Örneklere ait ekstrelerin metal iyonları şelatlama yetenekleri ve IC₅₀ değerleri

Bitki türleri	IC ₅₀ değerleri [mg / mL]	Yüzde aralıkları [%]
<i>Thuca occidentalis</i>	236,2	%22,3 - %52,8
<i>Pinus nigra jf. arnold</i>	61,0	%55,5 - %74,6

3.3. Biyoaktif içerik tayini

Antioksidan yeteneğinin varlığı araştırılan ekstrelerin biyoaktif içeriğine bağlıdır. Bu bağlamda örneklerimizin biyoaktif içeriği belirlenmiştir. Total fenol içerik bakımından *Pinus nigra* (340,23 mg/ml) türünün *Thuca occidentalis* (320,03mg/ml) türünden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Likopen içeriği bakımından *Pinus nigra* (0,590mg/ml) türü *Thuca occidentalis* (0,574 mg/ml) türünden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

β-karoten içeriği bakımından *Thuca occidentalis* (0,79 mg / g) türünün *Pinus nigra* (0,39 mg / g) türünden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

3.4 Antibakteriyel Etki

Çalışmada kullanılacak özütler önceden hazırlanmış besiyerindeki kuyucuklara taşmayacak biçimde (100µl) aktarılmıştır. 37°C’ de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda örneklerin bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri gözlemlenmiştir. Sonuçlar Tablo 3 de detaylı olarak verilmiştir. Deney sonucunda *Pinus nigra* tüm bakteriler üzerinde yüksek etki gösterirken(*E. coli* 25±2, *L. monocytogenes* 35±3, *E. faecalis* 30±3, *B. subtilis* 30±4, *P. aeruginosa* 21±1, *M. luteus* 30±2) en düşük etki *Thuca occidentalis* bitkisinde görülmüştür(*E. Coli* -, *L. monocytogenes*20±2, *E. faecalis* 25±3, *B. subtilis* 20±2, *P. aeruginosa* 12±1, *M. luteus* 16±2).

Tablo 3: Bitkilere ait Antibakteriyel etki sonuçları.(mm)

BİTKİLER	Bakteriler					
	<i>Escherihia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomons aeruginosa</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Thuca occidentalis</i>	-	20±2	25±3	20±2	12±1	16±2
<i>Pinus nigra</i>	25±2	35±3	30±3	30±4	21±1	30±2

‘-’ aktivite görülmemiştir

3.5 Antibiyotik duyarlılık testi

Çalışmada kullanılan bakterilerin antibiyotiklere karşı ne derece duyarlı oldukları test edilmiştir. Hazır halde bulunan besiyerine antibiyotik diskleri yerleştirilerek uygun şartlarda 24 saat beklendi. Sürenin sonunda antibiyotik disklerinin bakteriler üzerindeki inhibisyonu ölçülmüş olup detaylı bilgi Tablo 4 de verilmiştir. Tabloda ‘-’ ile belirtilen yerlerde bakteri üremesi görülmemiştir.

Tablo 4: Antibiyotiklere karşı direnç (mm).

ANTİBİYOTİKLER	BİTKİLER					
	<i>Escherihia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomons aeruginosa</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
Ampisilin AM10	19±1	-	25±0	16±1	-	-
Erythromcin E15	14±1	-	18±0	20±0	-	52±4
Gentamisin CN10	16±1	16±1	14±0	-	-	11±1
Cefiksim CFM5	-	-	-	10±1	23±2	9±0
Oksalisin OX1	-	-	-	-	-	32±2
Penisilin P10	18±1	-	21±1	11±1	-	-
Ceftriakson CRO30	14±0	10±0	11±0	13±0	25±0	-
Amoksimin AMC30	18±2	-	0±0	30±2	4±1	-
Cefuroksim CXM30	13±0	-	9±0	17±1	9±1	7±3
Cefoksitin FOX30	-	-	-	-	20±2	31±3

(-) direnç yok

4 Tartışma ve Sonuç

Bitkiler günümüzde ilaç sanayi, çevre düzenlemesi, ağır sanayi, fenni yem, gıda sanayi olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Bitkiler çevresel şartlara uyum sağlamak için primer ve sekonder metabolitleri üretirler. Bu bileşikler ilaç sanayinde vazgeçilmez bir öneme sahiptir.

Bu çalışmada Nevşehir ilinde yetişen bazı iğne yapraklı ağaçların(*Thuca occidentalis*, *Pinus nigra*) kozalaklarından elde edilen özütlerin DPPH serbest radikal süpürme, metal iyonları şelatlama aktiviteleri, antibakteriyel etkileri, total fenol içerik, β -karoten ve likopen miktarları incelenmiştir.

Bir maddenin antioksidan özelliğinin varlığı DPPH radikali süpürme aktivitesi yöntemine göre belirlenmektedir. Kullanılan ekstrelerin konsantrasyonu arttıkça antioksidan aktivitelerinde artış görülmüştür. Bu çalışmada 100ppm, 150ppm, 200ppm, 250ppm konsantrasyonda ölçüm yapılmıştır. DPPH radikali süpürme aktivitesi bakımında en iyi değer *Pinus nigra* (IC₅₀: 55,8 μ g / ml % 60,1– % 98,6), en düşük değer *Thuca occidentalis* (IC₅₀: 200,4 μ g / ml %33,14 - %58,45) türünde görülmüştür. Bu çalışmada sentetik bir antioksidan türü BHT molekülü kullanılmıştır. BHT molekülü IC₅₀ değeri 43 μ g / mL olarak belirlenmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığı zaman bizim örneğimizin sentetik olarak üretilen BHT molekülüne yakın değerler görülmüştür.

Karapandzova ve arkadaşlarının[8] yaptığı çalışmada Pinaceae ailesine ait bazı türlerin esansiyel yağ analizlerini yapmış ve uçucu yağların ana bileşenleri olan monoterpenleri ortaya çıkarmışlardır. Bu çalışmaya göre bulunan monoterpenler şunlardır: α -pinen (% 23,8–39,9, % 21,2–23,3), kamfen (% 2,2–5,5, % 0,7–2,0), β -pinen (% 10,1–17,1, % 8.2–16.4), mirsen (% 1.2–1.41, % 1.6–2.5), limonen + β -phellandrene (% 6.8–14.0, % 8.8–23.6) ve bornil asetat (% 2.3–6.9, % 1.1–3.4). Sunulan değerlere göre α -pinen miktarı yüksek çıkmıştır.

Şahin ve arkadaşlarının[9] yaptığı çalışmada biberiye bitkisinden elde edilen α -pinen molekülünün yüksek derecede antioksidan etkisi(Biberiye ekstraktı için IC₅₀ 54 μ M) gözlemlenmiştir. Bu çalışmada *Pinus nigra* kozalağının en yüksek etkiye sahip olması içeriğinde yüksek aktiviteye sahip α -pinen fenolik bileşiğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hofmann ve arkadaşlarının[10] yaptıkları çalışmada *Pinus nigra* türüne ait olgun kozalaklardan elde edilen metanol özütlerinde DPPH süpürme aktivitesi IC₅₀ değerini 40.63 \pm 0.86 bulmuştur. Bu çalışmaya kıyasla daha iyi bir sonuç elde etmiştir. Hofmann deneyde özüt çıkartma aşamasında çözücü olarak aseton ve su kullanmıştır. Bu çalışmada çözücü olarak metanol kullanıldı sonuçların farklı çıkmasının çözücü farkından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Metaller bağlanma eğilimi olan moleküller ile yeni bileşikler oluşturma gücüne sahiptir. Fe^{+3} iyonun Fe^{+2} iyonuna yükseltgenmesi demir metalinin başka bir molekül ile bileşik oluşturduğu anlamına gelir. Bu çalışmada bitki ekstralarının demir iyonu ile bileşik yapabilme kapasiteleri ölçülüp karşılaştırılmıştır. Bu yöntem renk değişimi esasına dayanır. Normalde sarı renkte olan karışımın, reaksiyonun gerçekleşmesi ile Prusya mavisine dönüşümü esas alınır[11].

Bu çalışmada kullanılan örnekler arasında en iyi sonuç *Pinus nigra* (IC_{50} 61,0 %55,5 - %74,6) türünde gözlemlenmiştir. Konsantrasyon arttıkça şelatlama oranının arttığı gözlemlenmiştir. En düşük aktivite *Thuca occidentalis* (236,2 %22,3 - %52,8) örneğinde gözlemlenmiştir.

Üstün ve arkadaşlarının[12] yaptığı çalışmada Türkiye'deki *Pinus* türlerinin dal ve yapraklarından elde edilen uçucu yağların yüksek derecede antioksidan etki gösterdikleri belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışmada metal iyonları şelatlama aktivitesi incelenmiş ve en yüksek değer *Pinus nigra* (IC_{50} 67,77) cinsinde bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan sonuçlar üstün ve arkadaşlarının bulduğu sonuçtan daha iyidir. Üstün ve arkadaşlarının[15] yaptığı çalışmada *Pinus nigra*'nın uçucu yağının GC-MS ile fenolik bileşen analizinde % 69.5 oranında α -Pinen maddesi bulunmuştur. Bu çalışmada yüksek oranda metal şelatlama aktivitesinin α -Pinen varlığına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çalışmanın bu bölümünde elimizde bulunan 2 farklı örneğin (*Thuca occidentalis*, *Pinus nigra*) Total fenol, likopen ve β -karoten miktarları belirlendi. Antioksidan aktivite ile bağlantılı çalışan fenolik bileşikler lipid oksidasyonunun düzenlenmesinde önemli bir yere sahiptir[13]. Fenolik bileşiklerin günde 1g'a kadar alınması mutajenez ve karsinogenez üzerinde engelleyici rol aldığı ileri sürülmüştür[14]. Bu çalışmada total fenol miktarı bakımından en zengin tür *Pinus nigra* türü olarak belirlenmiştir, içerik bakımından en düşük miktar *Thuca occidentalis* türünde gözlemlenmiştir. Total fenol içeriği ve antioksidan aktivitenin birbirine bağlı olduğu daha önce belirtilmiştir. Bu çalışmada hem total fenol içeriğinin hem de antioksidan etkinin aynı türde yüksek oranlarda görülmesi tezimizi destekler durumdadır.

Üstün ve arkadaşlarının[15] yaptıkları çalışmada *Pinus nigra* türünün diken yaprak ekstraktına ait total fenol miktarı 63.14 ± 2.35 mg/g'dır. Bu çalışmada alınan sonuç çok daha fazladır. Bu farkın temel sebebi bu çalışmada kozalak ekstraktı kullanılmış olmasıdır.

Likopen bitkilerde renk pigmenti olarak bilinen koyu kırmızı renkte bir maddedir. Güçlü antioksidan aktiviteye sahip bir bileşendir. Bu çalışmada likopen miktarı *Pinus nigra* (0,590 μ g/g) türünde *Thuca occidentalis* (0,574 μ g/g) türüne oranla daha yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir.

β -karoten vitamin A'nın hammaddesidir. Yağda çözünen bir pigmenttir. Oksidasyon sonucu meydana gelen serbest radikalleri scavenging mekanizması ile ortadan kaldırarak oluşabilecek hastalıkların önüne geçmektedir. Bu çalışmada β -karoten miktarı *Thuca occidentalis* (0,79 mg / g), türünde *Pinus nigra* (0,39 μ g / g) türü ne oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada bitkilerin kozalak kısmının kullanılması β -karoten ve likopen miktarında düşük sonuç alınmasına sebep olmuştur.

Bu aşamada Nevşehir ilinde yetişen 2 farklı iğne yapraklı ağacın kozalak ekstralarının antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada kullanılan 2 türden 1 tanesi tüm patojenler üzerinde etki göstermiştir. *Pinus nigra* *jf. arnold* türünün *Thuca occidentalis* türüne oranla daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada ayrıca patojen bakteriler üzerinde antibiyotik disk çalışması yapılmıştır. Burada amaç bu çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin, günümüzde ticari olarak kullanılan kimyasal antibiyotiklerin (Ampisilin AM10, Erythromcin E15, Gentamisin CN10, Cefiksim CFM5, Oksalisin OX1, Penisilin P10, Ceftriakson CRO30, Amoksilin AMC30, Amoksilin AMC30) patojenler üzerindeki etkisi ile mukayese etmektir. Patojenlere karşı en iyi etkiyi Cefuroksim CXM30 antibiyotiği göstermiştir. Bu çalışmada en iyi etki gösteren kozalak ekstraktı (*Pinus nigra*) ile karşılaştırıldığında, Cefuroksim CXM30 antibiyotiğinin etkisinin zayıf olduğu görülmektedir. Burada anlaşılacağı üzere bu çalışmada kullanılan metanol ekstralarının piyasada var olan antibiyotiklere oranla çok daha iyi

sonuç verdiği görülmektedir. Kullanılan kozalak ekstraktlarının antibakteriyel etki göstermesi yüksek derecede biyoaktif içeriğe sahip olması ile açıklanabilir.

Demirci ve arkadaşlarının [16] yaptığı çalışmada Eylül ayında toplanan *Pinus nigra* türüne ait kozalaklardan elde edilen uçucu yağların *B.subtilis* ATTC6633 suşu üzerinde 12 mm zon çapı, *E.coli* ATTC39628 suşu üzerinde 12 mm zon çapı, *P.aeruginosa* ATTC27853 suşu üzerinde 13 mm zon çapı ölçmüştür. Bu çalışmada *Pinus nigra* türüne ait kozalaklardan elde edilen etanol ekstraktı *B.subtilis* ATTC6633 suşu üzerinde 30 mm zon çapı, *E.coli* ATTC39628 suşu üzerinde 25 mm zon çapı, *P.aeruginosa* ATTC27853 suşu üzerinde 21 mm zon çapı ölçmüştür. Bu çalışmada metanol ekstraktı kullanmamıza rağmen uçucu yağlardan elde edilen sonuçlardan çok daha yüksek sonuç alınmıştır. Demirci ve arkadaşlarının [16] yaptığı çalışmada antimikrobiyal aktivitenin uçucu yağ içeriğinde olan α -pinen miktarı ile orantılı olduğunu savunmuştur. Bu çalışmada antibakteriyel, DPPH ve metal iyonları şelatlama aktivitesi göz önüne alındığında en iyi sonuçların *Pinus nigra* türünde görülmesi, bu türe ait yapılan GC MS analizinde[16] yüksek oranda α -pinen maddesinin bulunması ile açıklanabilir.

Dığrak ve arkadaşlarının[17] yaptığı çalışmada *Pinus nigra* türüne ait kozalaklardan elde edilen metanol ekstraktının *Escherichia coli* bakterisine karşı aktivite gözlenmediği, cloroform ekstraktının *Escherichia coli* bakterisine karşı 10 mm çapında zon oluşturduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada metanol ekstraktının *Listeria monocytogenese* karşı 16 mm zon çapı, *Enterobacteraerogenese* karşı 15 mm zon çapı, *Bacillussubtilise* karşı 16 mm zon çapı oluşturduğu kaydedilmiştir. Bu çalışmada alınan metanol ekstreleri sonucu Dığrak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya kıyasla çok daha iyi sonuç vermiştir. Elde edilen veriler bir sonraki çalışmalar için kaynak olacak ve ticari olarak satılan antibiyotiklere karşı alternatif oluşturacaktır.

Sonuçlar göz önüne alındığında *Pinus nigra* türünün DPPH radikali süpürme aktivitesi sentetik bir antioksidan olan BHT molekülüne yakın değerde seyretmiştir. Antibakteriyel etkisi piyasada satılan antibiyotiklere oranla çok daha yüksek çıkmıştır. Günümüzde doğal antioksidan ve antibakteriyel ilaçlara eğilim arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler *Pinus nigra* türünün doğal bir antioksidan ve antibakteriyel etkiye sahip olduğunu göstermektedir, elde edilen sonuçlar bundan sonra yapılacak çalışmalara kaynak niteliğinde olup ticari olarak satılan ilaçlara karşı alternatif olacaktır.

5. Kaynaklar

- [1] Koçyiđit., M. “Yalova Đlinde Etnobotanik Bir Araştırma”, İstanbul Üniversitesi *Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul 2005..
- [2] Astley, S. B., “Dietary antioxidants-past, present and future?”, *Trends in Food Science & Technology*, 14(3): 93–98, 2003.
- [3] Shinde A, Ganu J, Naik P. “Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A Review” **J Dent Allied Sci.** 1,2, 63- 66, 2012;.
- [4] Ceran, B., “Antik Mısır Ve Anadolu Uygarlıklarında Tıp”, Selçuk Üniversitesi *Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Konya 2008.
- [5] Miao V, Legal MFC, Brown D, Sinnemann S, Donaldson G, Davies J. “Genetic approaches to harvesting lichen products”. *Trends in Biotechnol*, 19: 349-355, 2001.
- [6] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity”, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologies*, 28: 25-30, 1995.
- [7] Singleton, V.L., Rossi, J.A.,”Clorimetry of total phenolics with phosphomolybdeid-phosphotungstic acid reagents”, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158, 1995.

- [8] Karapandzova, M , Stefkov, G , Cvetkovikj, I , Trajkovska-Dokik, E , Kaftandzieva, A , Kulevanova, S. (2014) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pinus peuce* (Pinaceae) growing wild in R. Macedonia. *Natural Product Communications*, 9, 1623–1628.
- [9] Şahin, Serpil, et al. "Yeni teknolojilerle baharatlardan esansiyel yağ ekstraksiyonu ve bu yağların fiziksel, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri." (2007).
- [10] Hofmann, Tamás, Eszter Visi-Rajczi, and Levente Albert. "Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays." *Industrial Crops and Products* 145 [2020]: 111935.
- [11] Stamets, P., "Mycelium running", Ten speed press, 399 Berkeley, 2005.
- [12] Üstün, Osman, vd. "Türk *Pinus* türleri ve piktogenolün ekstrakt ve uçucu yağlarının kimyasal bileşimi, antikolinesteraz ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması." *Sanayi bitkileri ve ürünleri* 38, 115-123, 2012.
- [13] GC Yen , PD Duh , CL "TsaiFıstık kabuğunun antioksidan aktivitesi ile olgunluğu arasındaki ilişki" *Tarım Journal of Food Chemistry* , 41, s. 67 – 70, 1993
- [14] M. Tanaka, CW Kuei , Y. Nagashima , T. "TaguchiAntioksidativ maillrad reaksiyon ürünlerinin histidin ve glikozdan sardalya ürünlerine uygulanması" *Nippon Suisan Gakkaishil* , 54,] ,1409 – 1414, 1998.
- [15] Ustun, Osman, et al. "Investigation on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant activities of extracts and essential oils of Turkish *Pinus* species and pycnogenol." *Industrial crops and products* 38, 115-123,2012.
- [16] Demirci, Ayşe Nur, Nazan Çömlekçioğlu, and Ashabil Aygan. "Determination of the Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Flavonoid Content of the Essential Oils of *Cedrus libani* and *Pinus nigra* subsp. *pallasiana*." *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 8.8, 1747-1754, 2020.
- [17] Dığrak, Metin, Ahmet İlçim, and M. Hakkı Alma. "Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*." *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 13.7, 584-587, 1999.



Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi (Research Article)

Makale Doi: 10.17100/nevbiltek.1067121

Geliş Tarihi:02-02-2022

Kabul Tarihi:18-02-2022



Çam (*Pinus pinea*) Kozalağının Sulardaki Cd²⁺ Metal İyonlarının Giderilmesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

İsmail TASA ^{1*}, Yavuz SÜRME ²

¹Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Niğde
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1819-6051>

²Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Niğde
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4368-6658>

Öz

Bu çalışmada, sulu ortamda bulunabilen Cd²⁺ metal iyonlarının katı faz ekstraksiyonu yöntemi ile uzaklaştırılması için gereken optimum şartlar belirlenmiştir. Katı faz olarak bir biyo-adsorban olan çam kozalağı (*Pinus pinea*) kullanılmıştır. Cd²⁺ metal iyonları içeren analit çözeltilerde, çözelti pH'sının etkisi, denge zamanı, biyo-adsorban miktarı ve yabancı iyonların etkileri incelenerek optimizasyon sağlanmıştır. Optimizasyon basamakları sonucunda ortam pH'sı 5,0 olduğunda, 60 dakika denge zamanı sonrasında, sulu ortamda bulunan Cd²⁺ metal iyonları kantitatif olarak uzaklaştırılmıştır. Kadmiyum derişimleri alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem gerçek su örneklerinde bulunan kadmiyum iyonlarının uzaklaştırılmasında başarıyla uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyo-adsorban; katı faz ekstraksiyonu; ağır metal; kadmiyum; adsorpsiyon.

Investigation of the Effects of Pine (*Pinus pinea*) Cone on the Removal of Cd²⁺ Metal Ions from Waters

Abstract

In this study, optimum conditions were determined for the removal of Cd²⁺ metal ions that can be found in aqueous media by solid phase extraction method. Pine cone (*Pinus pinea*), a bio-adsorbent, was used as the solid phase. In analyte solutions containing Cd²⁺ metal ions, the effect of solution pH, equilibrium time, bio-adsorbent amount, and effects of foreign ions were examined and optimization was achieved. As a result of the optimization steps, the Cd²⁺ metal ions in the aqueous medium were quantitatively removed when the pH of the environment was 5.0, after 60 minutes of equilibrium time. The concentrations of Cd²⁺ metal ions in the aqueous medium were determined by a flame atomic absorption spectrophotometer. The developed method has been successfully applied in the removal of cadmium ions in real water samples.

Keywords: Bio-adsorbent; solid phase extraction; heavy metal; cadmium; adsorption

* Bu çalışma, yüksek lisans öğrencisi İsmail TASA'nın Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir.

Sorumlu yazar e-mail: ysurme@ohu.edu.tr

1. Giriş

Ağır metaller, nispeten yüksek yoğunluğa sahip olan ve ppb seviyelerinde bile toksik olan bir grup metal ve metaloiddir. Bu metallere örnek olarak kurşun (Pb), civa (Hg), kadmiyum (Cd), bakır (Cu), kobalt (Co), demir (Fe), krom (Cr), nikel (Ni) gibi elementlerdir.

Ağır metaller endüstriyel deşarj, otomobil egzozu ve madencilik gibi hem doğal hem de antropojenik kaynaklarla çevreye salınmaktadır. Organik kirleticilerden farklı olarak, ağır metaller biyolojik olarak parçalanmaz ve canlılarda birikme eğilimindedirler. Ayrıca, çoğunun potansiyel kanserojen olduğu bilinmektedir [1,2].

Kadmiyum metali, günümüzde çeşitli kullanım alanlarıyla ve çevre kirliliğindeki önemli rolü ile gündeme gelmiş oldukça zehirli bir metaldir [3]. Çoğunlukla bakır, çinko ve kurşun gibi bazı metallerin üretiminde alt ürün olarak çevreye kadmiyum metalinin kullanımı giderek artmaktadır [4]. Canlı bir organizma kadmiyuma maruz kaldığında, alınan kadmiyum on yıllar boyunca sistemde kalır. Kadmiyuma uzun süreli maruz kalınması sonucunda, böbrek fonksiyon bozukluğu, obstrüktif akciğer hastalıkları, osteomalazi ve osteoporoz gibi hastalıklara neden olabilmektedir [5]. Kadmiyum metali, çok düşük dozlarda bile zehirli etki gösterebilen bir element olduğundan, sulu ortamda bulunan kadmiyum metal iyonlarının sulu ortamdan uzaklaştırılması büyük önem arz etmektedir.

Adsorpsiyon olayı, çözülmüş moleküllerin veya iyonların bir katı maddenin yüzeyine, yani iki boyutlu bir yüzeye fiziksel olarak veya kimyasal olarak bağlanmasıdır. Bu durumda ara yüzeyde biriken madde adsorbat, katı yüzey ise adsorban olarak adlandırılır. Adsorban olarak seçilen maddeler çok gözenekli, yüzey alanı büyük ve yapısında fiziksel ya da kimyasal bağ oluşturabilecek fonksiyonel gruplar barındıran dayanıklı malzemelerden seçilir ve adsorpsiyon olayı çoğunlukla gözenek yüzeylerinde belirli bölgelerde meydana gelir [6].

Adsorbanlar yapay veya doğal maddeler olabilmektedir. Doğal maddeler arasında biyolojik kaynaklı maddelerin adsorban olarak kullanılması oldukça yaygındır. Bu durumun nedenleri; düşük maliyet, yüksek adsorpsiyon kapasiteleri, farklı fonksiyonel grupların varlığı ve yüksek metal iyonu giderimi, olarak sıralanabilir. Biyolojik kökenli adsorbanlar, boyaların, ağır metallerin giderilmesinde, toksik endüstriyel etkenlerin adsorpsiyonunda, gübre ve/veya böcek ilaçlarının ve atmosferik kirleticilerin sulardan uzaklaştırılmasında yaygın uygulamalara sahiptir [7].

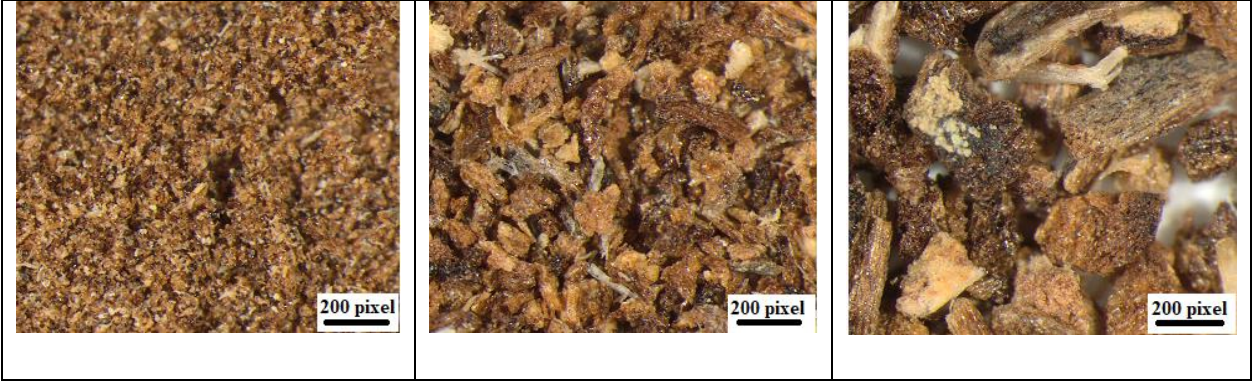
Çam kozalağı, ormanlarda büyük miktarlarda ve atık olarak bulunabilen ve yapısında lignin, selüloz, hemiselüloz, reçine ve tanen bulunan bir orman ürünüdür [8-10].

Bu çalışmada *P. pinea* kozalakları kullanılarak, sulu ortamda bulunan kadmiyum metal iyonlarının uzaklaştırılması, katı faz ekstraksiyonu yöntemi ve alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi ölçümleri ile araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Çam kozalaklarının biyo-adsorban haline getirilmesi

Niğde bölgesinde bulunan çam ağaçlarından düşen çam kozalakları toplanarak yıkanmış ve 40 °C'de 48 saat boyunca etüvde kurutulmuştur. Kurutulan kozalaklar öğütme cihazında öğütülmüş ve bir kurutma kâğıdına alınmıştır. Toz hale getirilen çam kozalakları sırasıyla saf su, etil alkol, aseton ve tekrar saf su ile yıkanarak kurutulmuştur ve kurutulan çam kozalağı tozları elek yardımıyla tanecik boyutları 0,5 mm–0,25 mm olacak şekilde ayarlanarak adsorban amaçlı kullanıma hazır hale getirilmiştir. Şekil 1'de çalışmada kullanılan *P. pinea* biyo-adsorban yüzeyinin mikrografı verilmiştir.



Şekil 1. Öğütülüp kullanıma hazır hale getirilen *P. pinea* biyo-adsorban yüzey mikrografları

Şekil 1’de görüldüğü gibi öğütülen biyo-adsorban yüzeyi oldukça pürüzlü ve asimetrik yapıdadır. Bu durum yüzey alanını genişleteceğinden, biyo-adsorban yüzeyine tutunabilecek analit miktarının daha fazla olmasını sağlayacaktır.

Çalışmada analit olarak kullanılan Cd^{2+} iyonlarının kaynağı olarak 1000 ppm’lik Cd^{2+} içeren stok çözeltiler kullanılmıştır. Bu çözelti, 1,5320 g $Cd(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (Merck, Germany, % 99,9, 344,42 g/mol) bileşiğinin tartılıp 500 mL’lik balon jode distile su ile seyreltilmesi yoluyla hazırlanmış ve model çözeltiler, bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır. Ortam pH’sını ayarlamak için ilgili pH’daki (pH=2 - pH=8) tampon çözeltiler kullanılmıştır. Tampon çözeltiler hazırlanırken pH 2 tamponu için sitrik asit/hidroklorik asit, pH 3–pH 4 aralığındaki tampon çözeltiler için sodyum dihidrojen fosfat/fosforik asit ve pH 5–pH 8 aralığındaki tampon çözeltiler için sodyum dihidrojen fosfat/disodyum hidrojen fosfat eşlenik maddeleri kullanılmıştır.

2.2. Model çözeltiler kullanılarak kadmiyum iyonlarının uzaklaştırılması

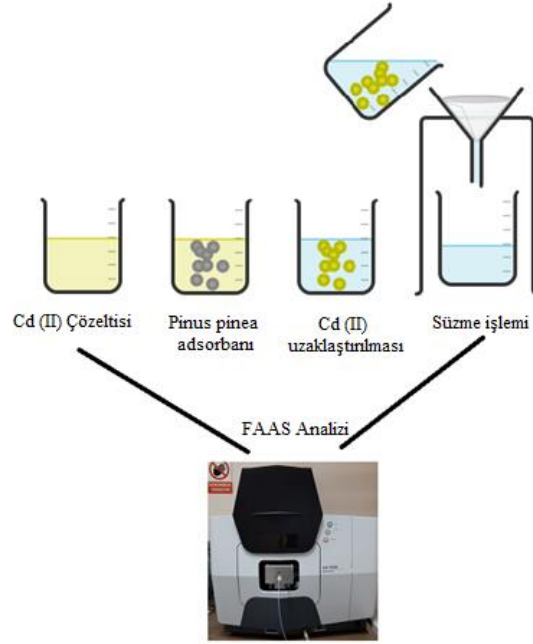
Kadmiyum iyonlarının çam kozalağı tarafından gideriminin araştırılması model çözeltiler üzerinde batch yöntemi ile incelenmiştir. Batch yöntemi; adsorbat ve adsorban belirli bir beher içerisinde belirli bir hızda karıştırılarak, adsorbanın tutabileceği en yüksek analit miktarını tutması ve daha sonra ortamda kalan analitin Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (FAAS) ile ölçülmesi yoluyla tutulan miktarın belirlenmesi esasına dayanır. Bu amaçla bir beher içerisine 0.100 g çam kozalağı tozu doldurulmuştur ve 1,0 mg/L derişimde kadmiyum iyonlarını içeren pH’sı 5,0 mL tampon çözeltiyle ayarlanmış 100 mL çözelti, adsorban üzerine eklenmiştir. 60 dakika boyunca karıştırılan çözelti ve adsorban süzme yoluyla birbirinden ayrılmış ve çözeltinin kadmiyum derişimi FAAS ile ölçülerek adsorbanın tutabildiği kadmiyum miktarı Eşitlik 1 yardımıyla belirlenmiştir.

$$E(\%) = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Eşitlik 1

Burada A_0 ve A_t sırasıyla sulu ortamda başlangıçta ve t anında belirlenen Cd^{2+} FAAS absorbans değerleri E (%) ise kullanılan biyo-adsorbanın yüzde ekstraksiyon etkinliğidir.

Yöntemin optimizasyonu, yöntem üzerine, çözelti pH’sının etkisi, denge zamanı ve yabancı iyonların etkileri; her seferinde tek değişken değiştirilerek incelenmiş ve kadmiyum iyonlarının çam kozalağı tarafından sulu çözeltilerden uzaklaştırılması için en uygun şartlar belirlenmiştir. Yöntemin grafik özeti Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Model çözeltilerdeki kadmiyum iyonlarının biyo-adsorban yüzeyine tutunarak uzaklaştırılmasının şematik gösterimi

2.3. Kullanılan enstrümental cihazlar

Kadmiyum iyonlarının derişimleri, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünde yer alan Shimadzu marka AA 7000 (Shimadzu, Japan) model atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiştir. Kadmiyum iyonlarının absorpsiyon ölçümleri sırasındaki FAAS çalışma şartları Çizelge 1’de verilmiştir. Kadmiyum çözeltilerinin karıştırılma işlemi Velp marka Arex model manyetik karıştırıcı ile gerçekleştirilmiştir. Çözelti pH ölçümleri için Hanna marka 8521 model cam elektrotlu pH metre kullanılmıştır. *P. pinea* kozalaklarının biyo-adsorban yüzeyinin mikrografları Olympus marka SZX7 model stereo mikroskop ve görüntüleme sistemleri kullanılarak elde edilmiştir.

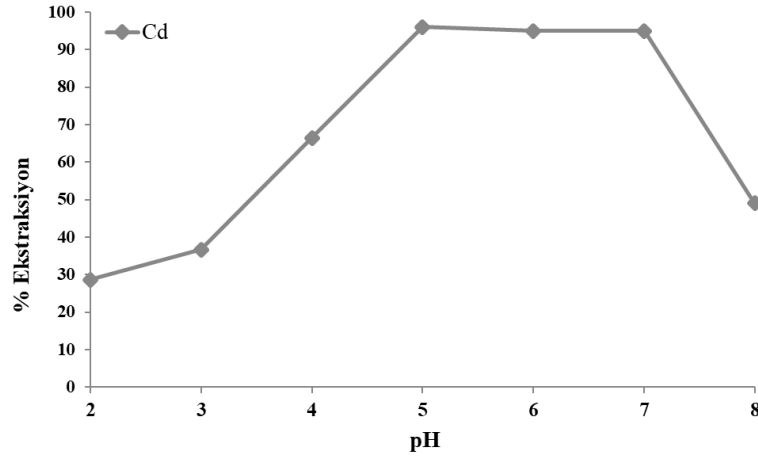
Tablo 1. Cd²⁺ absorpsiyon ölçümü için kullanılan FAAS cihazı çalışma koşulları

Lamba Akımı	8 mA	Yakıcı yüksekliği	7 mm
Dalgaboyu	228,8 nm	Yakıcı açısı	0 °
Slit genişliği	0,7 nm	Yanıcı gaz ve akış hızı	Asetilen/1,8 L dak ⁻¹
Işın modu	BCG-D ₂	Yakıcı gaz	Hava

3. Bulgular

3.1. Cd²⁺ iyonlarının geri kazanımına çözelti pH’sının etkisi

Kadmiyum iyonlarının doğal bir adsorban olan *P. pinea* kozalakları kullanılarak giderilmesi yöntemi üzerinde çözelti pH’sının etkisini incelemek için yapılan denemelerde 5 mL tampon çözelti kullanılarak pH 2 ile pH 8 arasındaki sabit çözelti pH’larında yöntem uygulanmıştır ve elde edilen sonuçlar Şekil 3’te verilmiştir.

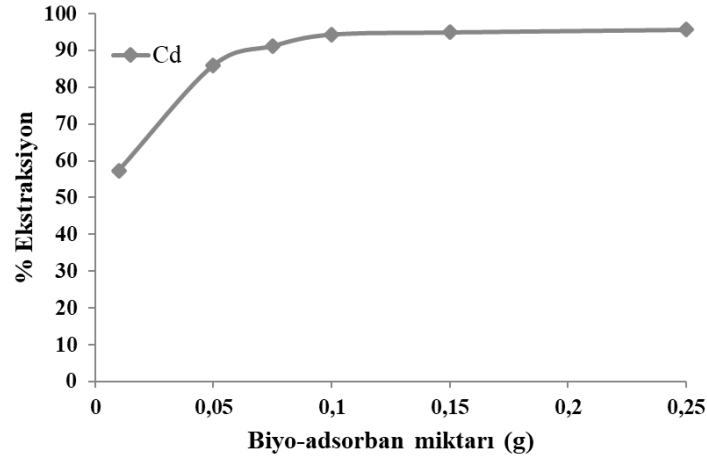


Şekil 3. Çözelti pH'sının kadmiyum iyonlarının uzaklaştırılmasına etkisi (Cd^{2+} : 1 ppm, adsorban: 0.100 g, denge: 60 dakika)

Şekil 3'te verilen sonuçlarda görüldüğü gibi model çözeltilerde bulunan kadmiyum iyonlarının giderilme değerlerine göre kadmiyum iyonları, çözelti pH'sı pH=5, pH=6 ve pH=7 olduğunda kantitatif (%95'in üzerinde) olarak ortamdan uzaklaştırılabilmektedir. Sonraki deneyler, hafif asidik pH'larda iyonların çözünmesi daha kolay olacağından, pH 5'te gerçekleştirilmiştir.

3.2. Cd^{2+} iyonlarının *P. pinea kozalağı* üzerinde alıkonmasında biyo-adsorban miktarının etkisi

Kadmiyum iyonlarının uzaklaştırılmasına *P. pinea* kütesinin etkisini incelemek amacıyla 0,010 -0,250 g aralığında adsorban kullanılarak yapılan denemelerde elde edilen sonuçlar Şekil 4'te verilmiştir.

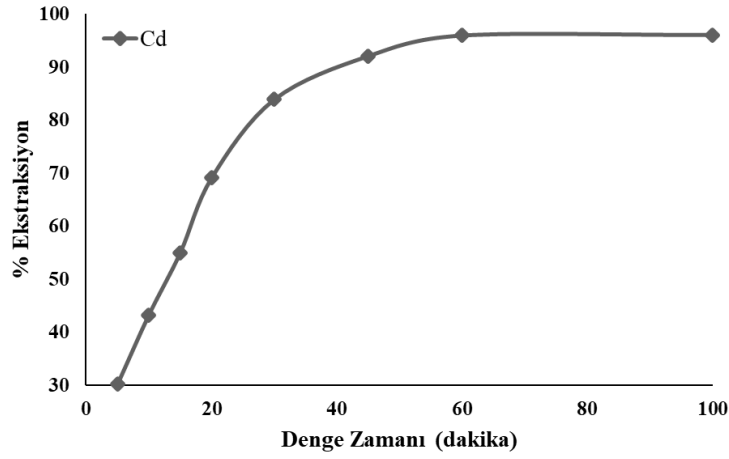


Şekil 4. Kadmiyum iyonlarının uzaklaştırılmasına çam kozalağı kütesinin etkisi (pH:5, Cd^{2+} : 1 ppm, denge: 60 dakika)

Şekil 4'te görüldüğü gibi, 1 ppm derişimde kadmiyum iyonu içeren model çözeltilerde bulunan kadmiyum iyonlarını ortamdan uzaklaştırmak için 0,10 g biyo-adsorban yeterli olmuştur. Bu değerinde daha üzerindeki kütlelerde yapılan denemelerde ise herhangi bir azalma gözlemlenmemiştir. Bu nedenle, 0,10 g *P. pinea* kozalağı optimum değer olarak kabul edilmiştir.

3.3. Denge zamanının Cd^{2+} iyonlarının *Pinus pinea* ile uzaklaştırılmasına etkisi

Kadmiyum iyonlarının *P. pinea* biyo-adsorbani kullanılarak giderilmesi yöntemi üzerinde, biyoadsorban ve analit (Cd^{2+}) temas süresinin (denge zamanı) etkisini incelemek amacıyla; pH 5'te, 1 ppm kadmiyum iyonları varlığında, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 ve 100 dakika temas sürelerinde kadmiyum iyonlarının giderimi incelenmiş ve sonuçlar Şekil 5'te verilmiştir.



Şekil 5. Cd²⁺ iyonlarının *Pinus pinea* üzerinde alıkonmasında denge zamanının etkisi (pH:5, adsorban: 0.100 g, Cd²⁺: 1 ppm)

Şekil 5'te verilen sonuçlar, 5-45 dakika denge zamanında kadmiyum giderimi değerlerinin %45-%89 aralığındayken; 60 dakika ve üzeri denge zamanı değerlerinde kadmiyum giderme değerleri kantitatif olarak gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak 60 dakika denge zamanı optimum değer olarak belirlenmiştir.

3.4. Cd (II) İyonlarının *P. pinea* kozalağı ile Giderilmesine Yabancı İyonların Etkisi

Doğal ve atık sularda bulunabilmesi olası bazı temel anyon ve katyonlar ile yöntemi etkileyebilecek bazı metal iyonlarının, yöntem üzerine etkisini incelemek amacıyla; pH 5'te, çeşitli derişimlerde yabancı iyonlar model çözeltiler içerisinde eklenmiş ve geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Bazı yabancı iyonların Cd²⁺ iyonlarının *P. pinea* ile giderilmesine etkisi

Yabancı İyon	Eklenen tür	Derişim (ppm)	% Ekstraksiyon
			Cd ²⁺
Ni ²⁺	Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	20	98±4
Pb ²⁺	Pb(NO ₃) ₂	20	96±3
Cu ²⁺	Cu(NO ₃) ₂ .5H ₂ O	20	95±3
Cr ³⁺	Cr(NO ₃) ₃ .3H ₂ O	20	95±1
Al ³⁺	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	20	93±3
Na ⁺	NaNO ₃	1000	97±1
K ⁺	KNO ₃	100	95±1
Ca ²⁺	CaCl ₂	100	95±2
Mg ²⁺	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	50	101±5
Cl ⁻	NaCl	100	92±2
NO ₂ ⁻	NaNO ₂	100	96±2
NO ₃ ⁻	NaNO ₃	1000	97±3
SO ₄ ²⁻	Na ₂ SO ₄	100	92±4

Tablo 2'de görüldüğü gibi, sulu ortamda bulunabilecek bazı temel anyon ve katyonların, kadmiyum iyonlarının bulunduğu çözeltilere bilinen derişimlerde eklenmesi sonucunda, kadmiyum iyonlarının sulu ortamdan giderilmesi üzerine oldukça sınırlı etkileri olmuştur. Bu sonuçlar; gerçek su örneklerinde bulunabilecek kadmiyum iyonlarının *P. pinea* biyo-adsorbantı kullanılarak uzaklaştırılabileceğinin bir kanıtı olarak ileri sürülebilir.

3.5. Geliştirilen yöntemle gerçek örneklerde bulunan Cd²⁺ iyonlarının giderilmesi

Geliştirilen ve optimizasyon basamakları sonucunda en uygun değerleri belirlenen yöntemin, fabrika atık suyu ve doğal su örneklerinde bulunabilecek olan kadmiyum iyonlarını giderebilme kapasitesini belirlemek amacıyla, ilgili su numunelerinden 50'şer mL alınarak üzerlerine 2,5 ve 5,0 mikrogram Cd²⁺ içeren metal çözeltileri ilave edilmiş ve optimize edilen yöntem uygulanarak elde edilen sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Gerçek su örneklerine analit ilavesi yapılarak ortamda bulunan Cd²⁺ iyonlarının giderilmesi

Fabrika Atık Suyu (50 mL)	Eklenen Cd ²⁺ (µg)	Uzaklaştırılan Cd (II) (%)
	2,5	%99 ± 2
	5,0	% 96 ± 4
Doğal Su Numunesi (50 mL)	Eklenen Cd ²⁺ (µg)	Uzaklaştırılan Cd (II) (%)
	2,5	%100 ± 3
	5,0	% 98 ± 3

Tablo 3’de verilen sonuçlar net bir şekilde göstermektedir ki geliştirilen ve optimize edilen yöntemle gerçek örneklerde bulunabilecek Cd²⁺ iyonları hızlı ve etkili biçimde giderilebilmektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Optimizasyon deneyleri sonucunda gerçek örneklerde bulunabilecek Cd²⁺ iyonları hızlı ve etkili biçimde giderilmiştir. Yapılan optimizasyon deneylerinde kadmiyum metalinin sulu ortamdan giderilmesi için en uygun şartlar belirlenmiştir. Ağır metallerin etkileri hesaba katıldığında, hem sulu ortamdaki yaşam hem de insan sağlığı bakımından, kadmiyum ağır metal iyonlarının sulu ortamlardan giderilmeleri büyük bir önem arz etmektedir.

Geliştirilen yöntem, sulu ortamda bulunan kadmiyum metal iyonlarını gerçek örneklerde % 100’e kadar uzaklaştırabilmiştir. Optimize edilen yöntem; basit ve duyarlı olmasının yanında, maliyeti pahalı adsorbanlarla kıyaslandığında atık bir madde olarak kabul edilen *P. pinea* kozalağının bir biyo-adsorban olarak kullanılması yönünden, hem yenilikçi hem de maliyeti düşük bir yöntem olarak kabul edilebilir.

5. Teşekkür ve katkı beyanı

Yazarlar, yüzey mikrograf ölçümlerinde laboratuvarlarını kullanmamıza izin veren Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Osman SEYYAR ve Prof. Dr. Tuncay TÜRKES’e teşekkür eder. İ.T. yüksek lisans öğrencisi, biosorbentlerin toplanması, adsorpsiyon çalışmalarının yürütülmesi sonuçların tartışılması ve makale yazımı. Y.S. metodolojinin geliştirilmesi, adsorpsiyon çalışmalarının yürütülmesi sonuçların tartışılması ve makale yazımı.

6. Kaynaklar

- [1]. Yadav M., Gupta R., Sharma R.K., “Green and sustainable pathways for wastewater purification” *Advances in Water Purification Techniques* 14, 355-383, 2019
- [2]. Burakov A.E., Galunin E.V., Burakova I.V., Kucherova A.E., Agarwal S., Tkachev A.G., Gupta V.K., “Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: A review” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148, 702-712, 2018
- [3]. Okcu M., Tozlu E., Kumlay A.M., Pehlivan M., “Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri” *Alınları Zirai Bilimler Dergisi* 17, 14-26, 2009
- [4]. Kayhan F. E., “Su ürünlerinde kadmiyumun biyobirikimi ve toksisitesi” *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* 23, 1-2, 215-220, 2006
- [5]. Hajiaghababaei L., Badiei A., Ganjali M. R., Heydari S., Khaniani Y., Ziarani G.M., “Highly efficient removal and preconcentration of lead and cadmium cations from water and wastewater samples using ethylenediamine functionalized SBA-15” *Desalination* 266, 182–187, 2011
- [6]. Mathew B.B., Jaishankar M., Biju V.G., Beeregowda K.N., “Role of bioadsorbents in reducing toxic metals” *Journal of Toxicology* 1-13, 2016

- [7]. Singh S. , Kumar V. , Datta S. , Dhanjal D.S. , Sharma K. , Samuel J. & Singh J., “Current advancement and future prospect of biosorbents for bioremediation” *Science of the Total Environment*, 709, 135895-135919, 2020
- [8]. Tanyıldızı M.Ş., Uygut M.A., “Çam kozalağıyla bazik mavi 3 adsorpsiyonu” *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 28 (2), 169-174, 2016
- [9]. Schwantes D., Gonçalves Jr A.C., Campagnolo., M.A., Tarley C.R.T., Dragunski D.C., Varennes A., Silva A.K.S., Junior E.C., “Chemical modifications on pinus bark for adsorption of toxic metals” *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6, 1271–1278, 2018
- [10]. Angelis M., Romagnoli M., Vek V., Poljanšek I., Oven P., Thaler N., Lesar B., Kržišnik D., Humar M., “Chemical composition and resistance of Italian stone pine (*Pinus pinea* L.) wood against fungal decay and wetting” *Industrial Crops & Products* 117, 187–196, 2018



Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi (Research Article)

Makale Doi: 10.17100/nevbiltek.1119510

Geliş Tarihi:21-05-2022

Kabul Tarihi:13-06-2022



Nevşehir İli Süt Toplama Merkezlerindeki Çiğ Sütün Mikrobiyal Kalite Yönünden İncelenmesi*

Serkan TEKİN¹, Zeliha LEBLEBİCİ²

¹Nevşehir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Nevşehir

ORCID ID: 0000-0002-4953-7074

²Nevşehir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Nevşehir

ORCID ID: 0000-0002-6127-3809

Öz

Bu çalışmada, Nevşehir ilinde faaliyet gösteren süt toplama merkezlerinden alınan çiğ süt örneklerinde temel mikrobiyolojik kriterlerin (aerobik koloni sayımı, somatik hücre sayımı) araştırılması ve süt toplama merkezlerindeki çiğ sütün mikrobiyal kalite yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın yapıldığı 2021 yılı Ocak-Aralık ayları arasında 84 adet çiğ süt örneğinde yapılan analizlerde somatik hücre sayısı ortalama 451.974 ± 40.1 hücre/ml; 168 adet çiğ süt örneğinde yapılan analizlerde aerobik koloni sayısı ise ortalama $8 \pm 0,17$ log kob/ml bulunmuştur. Gerçekleştirdiğimiz somatik hücre sayımı analizleri neticesinde; alınan numunelerin sadece % 21'inin Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olduğu görülürken; aerobik koloni sayımı analizleri neticesinde numune alınan çiğ süt örneklerinin tamamının Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çiğ Süt; Mikrobiyal Kalite; Somatik Hücre Sayısı; Aerobik Koloni Sayısı

Investigation of Raw Milk in terms of Microbial Quality at Milk Collection Units in Nevşehir Province

Abstract

In this study, it is aimed to investigate the basic microbial criteria (aerobic colony count, somatic cell count) in raw milk samples taken from milk collection units in Nevşehir Province and to evaluate the raw milk in term of microbial quality. Mean values of somatic cell count was found 451.974 ± 40.1 cell/ml and mean values of aerobic colony count was found $8 \pm 0,17$ log kob/ml in January-December 2021. As a result of somatic cell count analyzes; only 21% of the samples did not exceed the limits of Turkish Food Codex. As a result of aerobic colony count analyzes; all of the samples exceeded the limits of Turkish Food Codex.

Keywords: Raw Milk; Microbial Quality; Somatic Cell Count; Aerobic Colony Count

1. Giriş

*Bu makale doktora tezinden üretilmiştir.

Sorumlu yazar e-mail: serkantekinn@gmail.com

Süt, içerdiği çok çeşitli besin maddelerinden dolayı tüm memeli canlılarda organizmanın gereksinimlerini karşılayabilen hayati temel bir gıdadır [1].

Kompleks biyokimyasal yapısı ve yüksek su kapasitesi nedeniyle süt, mikroorganizmalar için mükemmel bir besin ortamı oluşturmaktadır [2]. Sütün gerek içme sütü gerekse mamule işlenmesinde birincil belirleyici unsur mikrobiyolojik yapısı ve somatik hücre sayısı bakımından içeriğidir. Sütün mikroorganizma yükü hem süt kalitesinin belirlenmesinde hem de çiğ süt üretiminden tüketimine kadar geçen süreçte sütün hijyenik özelliklerinin belirlenmesinde en önemli indikatörlerdendir [3-4].

Çiğ sütlere uygun olmayan sağım koşullarında ve depolama sırasında bulaşan mikroorganizmaların, hızlı bir şekilde çoğalması sonucu, asitlik gelişmekte ve sütte önemli derecede kalite kaybı ortaya çıkmaktadır. Somatik hücre sayısı sütün kalitesini belirlemede önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Çiğ süt içeriğinde saptanan somatik hücre sayısı hayvanın meme sağlığının göstergesi olması özelliği ile yetiştiricinin, kaliteyi arttırması açısından güvenilir bir kriter olma özelliği nedeniyle de sanayicinin dostu konumundadır [5-6].

Asgari teknik koşullar ve hijyen şartları sağlanmadan elde edilen inek sütünün, tekniğine uygun olmadan depolanması, işlenmesi ve gerekli fiziksel, kimyasal ve biyolojik kontroller yapılmadan tüketime sunulması halinde insan sağlığını tehdit edebilmektedir. Sütte mikroorganizma yükü ve somatik hücre sayısının normal sınırların üzerinde olmasının süt ürünlerinin işlenmesinde kaliteye yönelik sorunlar oluşturacağı ve ayrıca süt üretim kayıplarına neden olacağı ifade edilmektedir [2].

Ülkemizde süt işleme tesisleri işlenecek çiğ sütü ağırlıklı olarak toplama merkezlerinden tedarik etmektedirler. Hâlihazırda ülkemizde çiftliklerde üretilen çiğ süt hakkında bilimsel araştırmalar bulunmakla birlikte yeterli düzeyde değildir. Süt toplama merkezleri tarafından toplanan çiğ sütün mikrobiyal kalite yönünden incelendiği mevcut herhangi bir bilimsel veri bulunmamaktadır ve bu doğrultuda alınması gereken önlemler etkin bir şekilde alınmamaktadır.

Bu çalışma ile Nevşehir ilinde faaliyet gösteren süt toplama merkezlerinden alınan çiğ süt örneklerinde temel mikrobiyolojik kriterler (aerobik koloni sayısı, somatik hücre sayısı) araştırılarak, çiğ sütün mikrobiyal kalite yönünden değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Çalışmamız; Nevşehir ilinde toplanan çiğ sütün mikrobiyal kalite yönünden incelenmesi konusunda mevcut bilimsel verilerin bulunmaması açısından özgün bir değere sahip olacaktır.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada Nevşehir'in Acıgöl, Avanos, Gülşehir, Derinkuyu, Hacıbektaş, Kozaklı ve Ürgüp ilçelerinde faaliyet gösteren bir adet onaylı süt toplama merkezi belirlenmiştir. Toplamda 7 adet süt toplama merkezinden toplanan çiğ süttten numune alma kurallarına uygun olarak steril numune kaplarına alınan örnekler materyal olarak kullanılmıştır.

2.1. Çiğ Sütte Somatik Hücre Sayımı

Çalışma kapsamında Nevşehir'in her bir ilçesinde belirlenen 7 adet onaylı süt toplama merkezinden somatik hücre sayımı analizleri için 2021 yılı Ocak-Aralık ayları arasında ayda 1 kez olmak üzere toplam 84 adet çiğ süt örneği alınarak somatik hücre sayımı analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çiğ sütte somatik hücre sayımı analizleri için 0,01 mL çiğ süt örneğindeki somatik hücreler modifiye Newman-Lampert boyası ile boyanmış ve çiğ süt numunesinin 1 ml'sindeki somatik hücre sayısı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır [7].

$$C=f_w \times [N_t/N_f \times 1/d]$$

- f_w : Mikroskop çalışma faktörü
 N_t : Toplam sayılan hücre sayısı
 N_f : Toplam sayılan alan sayısı
 d : Dilüsyon faktörü (Dilüsyon yapılmadığında $d=1$)

2.2. Aerobik Koloni Sayımı

Çalışma kapsamında belirlenen 7 adet onaylı süt toplama merkezinden aerobik koloni sayımı analizleri için 2021 yılı Ocak-Aralık ayları arasında ayda 2 kez olmak üzere numune alma kurallarına uygun olarak toplam 168 adet çiğ süt örneği steril numune kaplarına alınarak analizleri gerçekleştirilmiştir.

Aerobik koloni sayımı; Plate Count Agar (PCA) besiyeri ve 25 ml çiğ süt örneğinden hazırlanan iki ardışık dilüsyonun karıştırılması ile hazırlanan petri plaklarının 30°C 'de 72 saat aerobik olarak inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda sayım için dikkate alınan petrilerden numunenin mililitresinde mikroorganizma sayısı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır [8-9].

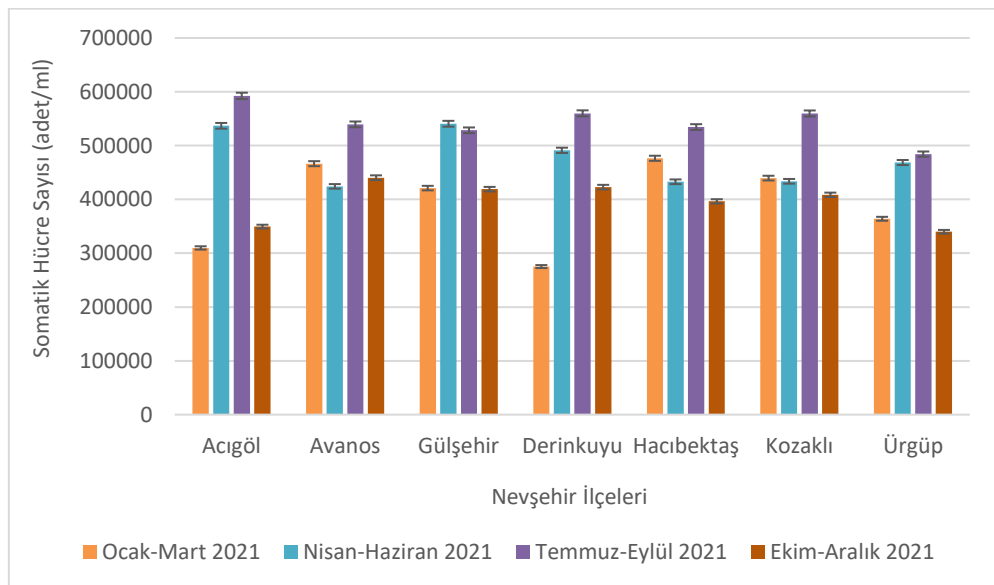
$$N=\sum C / [V \times 1.1 \times d]$$

- N : ml'de koloni oluşturan birim
 $\sum C$: Ardışık 2 seyreltiden sayılan tüm plaklardaki kolonilerin toplamı
 V : Her petriye bırakılan inokulum hacmi, ml
 d : Sayım yapılan petrilerin ilkinin dilüsyon katsayısı

3. Bulgular

3.1. Somatik Hücre Sayım Sonuçları

Ülkemizde Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği uyarınca; somatik hücre sayısı (her mililitrede), ayda en az 1 numune ile 3 aylık bir periyodun yuvarlanmış geometrik ortalaması ≤ 400.000 hücre/ml olmalıdır [10]. Avrupa Birliği, Yeni Zelanda, Avustralya ve Kanada'da somatik hücre sayısı için yasal limit 400.000 hücre/ml iken, ABD'de 750.000 hücre/ml ve Brezilya'da 1.000.000 hücre/ml'dir [11]. Bu çalışmada somatik hücre sayısı analizleri sonucunda; Nevşehir il genelinde elde edilen bulgular Şekil 3.1'de verilmektedir.



Şekil 3.1. Nevşehir il genelinde toplanan süt örneklerinin somatik hücre sayım sonuçları (ayda 1 numune alınarak 3 aylık bir dönemin geometrik ortalaması alınmıştır)

Şekil 3.1 incelendiğinde; Acıgöl ilçesinde Ocak-Mart 2021 ve Ekim-Aralık 2021 dönemlerinde, Derinkuyu ilçesinde Ocak-Mart 2021 döneminde, Hacıbekttaş ilçesinde Ekim-Aralık 2021 döneminde ve Ürgüp ilçesinde Ocak-Mart 2021 ve Ekim-Aralık 2021 dönemlerinde alınan çiğ süt örneklerinin somatik hücre sayım sonuçlarının ülkemizin mevzuatında bildirilen 400.000 adet/ml'nin altında olduğu belirlenmiştir [10].

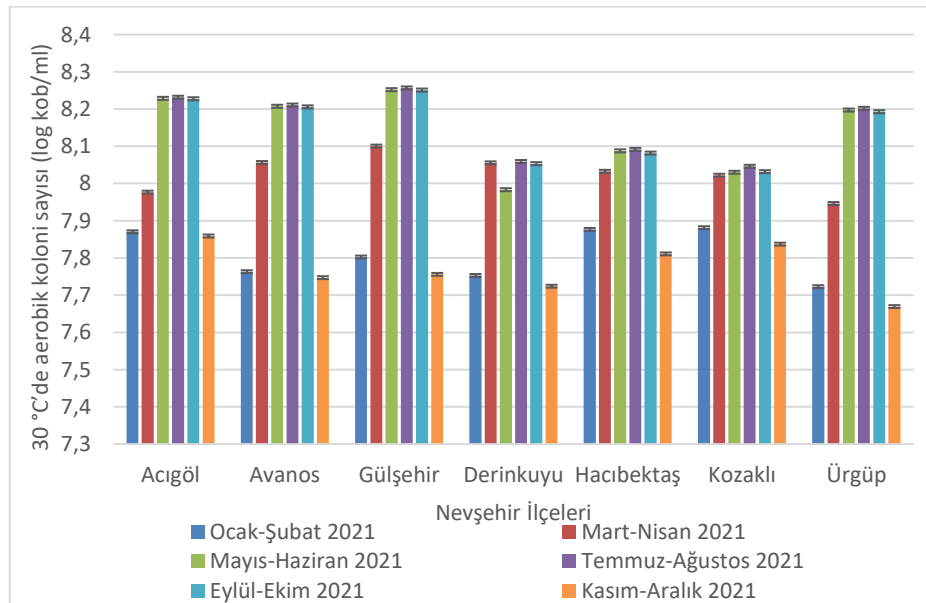
Çalışmanın yapıldığı 2021 yılı Ocak-Aralık ayları arasında somatik hücre sayısı ortalama 451.974 ± 40.1 hücre/ml bulunmuştur. Ocak-Mart 2021 döneminde bu değer ortalama 393.204 ± 28.3 ; Nisan-Haziran 2021 döneminde 475.395 ± 39.2 ; Temmuz-Eylül 2021 döneminde 542.654 ± 33.6 ve Ekim-Aralık 2021 döneminde ise 396.641 ± 18.0 hücre/ml olarak belirlenmiştir. Ortalama somatik hücre sayısı en düşük Ocak-Mart 2021 döneminde; en yüksek ise Temmuz-Eylül 2021 döneminde tespit edilmiştir.

Somatik hücre analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS 15.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bulguların öncelikle normal dağılıma sahip olup olmadığının tespiti için Shapiro-Wilk testi uygulanmış ve verilerin normal dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular Test of Homogeneity of Variances ile değerlendirilmiş ve varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir. Daha sonra dönemler arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının incelenmesi için bulgular Anova ve çoklu karşılaştırma testlerine tabi tutularak değerlendirilmiştir. Somatik hücre sayım sonuçları değerlendirildiğinde Ocak-Mart 2021 dönemi ile Temmuz-Eylül 2021 dönemi arasında; Nisan-Haziran 2021 dönemi ile Ekim-Aralık 2021 dönemi arasındaki fark Anova ve çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Temmuz-Eylül 2021 dönemi ile Ocak-Mart 2021 ve Ekim-Aralık 2021 dönemleri arasında; Ekim-Aralık 2021 dönemi ile Nisan-Haziran 2021 ve Temmuz-Eylül 2021 dönemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

3.2. Aerobik Koloni Sayım Sonuçları

Ülkemizin yasal düzenlemeleri gereğince; $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de aerobik koloni sayısı (her mililitrede), ayda en az 2 numune ile 2 aylık bir periyodun yuvarlanmış geometrik ortalaması ≤ 100.000 ($5 \log \text{ kob/mL}$) olmalıdır [10]. Bu çalışmada aerobik analizleri sonucunda; Nevşehir il genelinde elde edilen bulgular Şekil 3.2'de verilmektedir.



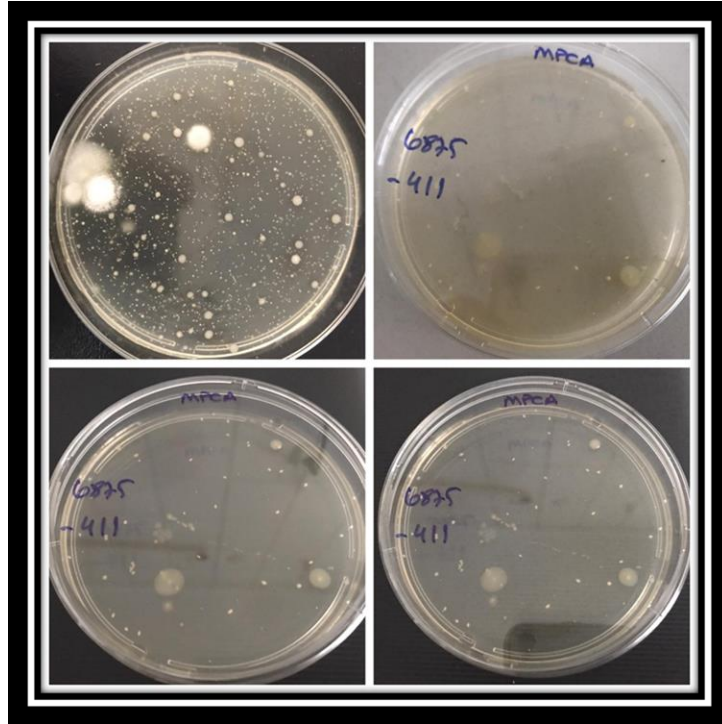
Şekil 3.2 .Nevşehir il genelinde toplanan süt örneklerinde $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de aerobik koloni sayısı (log kob/ml) (ayda 2 numune alınarak 2 aylık bir dönemin geometrik ortalaması alınmıştır)

Şekil 3.2 incelendiğinde süt toplama merkezlerinden alınan çiğ süt örneklerinin tamamının ülkemiz mevzuatına uygun olmadığı gözlenmektedir [10].

Çalışmanın yapıldığı 2021 yılı Ocak-Aralık ayları arasında aerobik koloni sayısı ortalama $8 \pm 0,17$ log kob/ml bulunmuştur. Ocak-Şubat 2021 döneminde bu değer ortalama $7,8 \pm 0,06$; Mart-Nisan 2021 döneminde $8,01 \pm 0,05$; Mayıs-Haziran 2021 döneminde $8,15 \pm 0,09$; Temmuz-Ağustos 2021 döneminde $8,15 \pm 0,08$; Eylül-Ekim 2021 döneminde $8,14 \pm 0,09$ ve Kasım-Aralık 2021 döneminde ise $7,77 \pm 0,06$ log kob/ml olarak belirlenmiştir. Ortalama aerobik koloni sayısı en düşük Kasım-Aralık 2021 döneminde; en yüksek ise Temmuz-Ağustos 2021 döneminde tespit edilmiştir.

Aerobik koloni sayımı analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS 15.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bulguların öncelikle normal dağılıma sahip olup olmadığının tespiti için Shapiro-Wilk testi uygulanmış ve verilerin normal dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular Test of Homogeneity of Variances ile değerlendirilmiş ve varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir. Daha sonra dönemler arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı için bulgular Anova ve çoklu karşılaştırma testlerine tabi tutularak değerlendirilmiştir. Aerobik koloni sayımı analiz sonuçları değerlendirildiğinde; Ocak-Şubat 2021 dönemi ile Kasım-Aralık 2021 dönemi arasında; Eylül-Ekim 2021 dönemi ile Mart-Nisan 2021, Mayıs-Haziran 2021, Temmuz-Ağustos 2021 dönemleri arasında fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Aerobik koloni sayımı kapsamında yapılan çalışmalara ait petri görselleri Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Aerobik koloni sayımına ait petri görselleri

4. Tartışma ve Sonuç

Çalışmamızda; Nevşehir ilinde faaliyet gösteren süt toplama merkezlerinden alınan çiğ süt örneklerinde temel mikrobiyolojik kriterler olan aerobik koloni sayısı ve somatik hücre sayısı araştırılarak, çiğ sütün mikrobiyal kalite yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Patir ve çalışma arkadaşları, yapmış oldukları bir çalışmada; somatik hücre sayısının $1.000.000$ hücre/ml’ den fazla olduğu ve bu sütün tamamının Türk Gıda Kodeksine uygunluk göstermediğini belirtmiştir [12].

Çoban ve çalışma arkadaşları, yapmış oldukları bir çalışmada; ortalama somatik hücre sayısını 5.73 log/ml olarak belirlendiğini ve bu değer Türk Gıda Kodeksine uygun olmadığını belirtmiştir [13].

Temelli ve Şerbetcioğlu, bir süt işletmesinde işlenen inek sütlerinin Somatik Hücre Sayısının dört yıllık periyottaki değişimini incelediği bir çalışmada; ortalama Somatik Hücre Sayısını 2005 yılında 96.130 adet/ml, 2006 yılında 99.650 adet/ml, 2007 yılında 104.490 adet/ml ve 2008 yılında 104.190 adet/ml olarak belirlemiştir [14].

Kaygısız ve Karnak, yapmış oldukları bir çalışmada; somatik hücre sayısının aritmetik ortalamasını $506,9 \times 10^3$ olarak belirlemiş ve toplanan örneklerin %35'inin Türk Gıda Kodeksine uygun olmadığını ifade etmişlerdir [15].

Green ve çalışma arkadaşları; İngiltere ve Galler'de bulunan 33 sürüden elde edilen dökme sütte somatik hücre sayısının mevsimsel değişimini inceledikleri çalışmalarında 3 aylık geometrik ortalamalarının her mililitresinde 65.000-489.000 aralığında değiştiğini bildirmişlerdir [16].

Hagnestam-Nielsen ve çalışma arkadaşları; 1989-2004 yılları arasında yaptıkları çalışmada klinik mastitis olmayan ineklerden elde edilen çiğ sütün somatik hücre sayısının mililitrede geometrik ortalamasının 55.000-95.000 aralığında olduğunu ifade etmişlerdir [17].

Olde-Riekerink ve çalışma arkadaşları; Kanada'da 1992-1995 yılları arasında Kanada'da 300 çiftlikten elde edilen dökme sütte yürüttükleri çalışmada, somatik hücre sayısının 28.000 – 740.000 hücre/mL aralığında olduğunu, geometrik ortalamasının ise 187.000 hücre/ml olduğunu ifade etmişlerdir [18].

Bu çalışmada somatik hücre sayımı analizleri neticesinde elde edilen bulgular; Patır ve çalışma arkadaşları, Çoban ve çalışma arkadaşları, Kaygısız ve Karnak tarafından bildirilen bulgulardan düşük bulunmuştur [6-7,9]. Temelli ve Şerbetcioğlu, Hagnestam-Nielsen ve çalışma arkadaşları, Olde-Riekerink ve çalışma arkadaşları tarafından bildirilen bulgulardan ise yüksek bulunmuştur [14,17-18].

Önal ve Öder yaptıkları çalışmada; ortalama toplam bakteri sayısını 385.000 adet/ml olarak bulmuş ve bu değerini Türk Gıda Kodeksinde belirtilen değerlerin üzerinde olduğunu ifade etmişlerdir [19].

Taşçı, Burdur ilinde tüketilen çiğ süt örneklerinde yaptığı çalışmada; toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını ortalama $3,95 \times 10^6$ kob/ml olduğunu belirlemiştir [20]. Hazer, Denizli ve Aydın illerinden elde edilen çiğ süt örneklerinde Toplam Canlı Bakteri Sayısını $6,65 \pm 6,40$ log kob/ml olarak bulmuştur [21].

Ürkek, konvansiyonel ve organik olarak üretilen süt örneklerini incelediği bir çalışmada; konvansiyonel sütlerin toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarının 6,31-7,98 log kob/ml arasında, organik sütlerde ise 5,57-6,83 log kob/ml arasında değiştiğini ifade etmiştir [22].

Dan ve çalışma arkadaşları; Romanya'da 2007 Aralık-2008 Mayıs periyodunda farklı çiğ süt toplama merkezlerinden alınan 24 çiğ süt örneğinde aerobik mezofilik mikroorganizma yükünün 4,24-7,39 log ufc/ml olduğunu, örneklerin %38,75'inin ulusal limit olan 10^6 ufc/ml'den yüksek olduğunu ifade etmişlerdir [23].

Parkash ve çalışma arkadaşları; 2003 yılı boyunca Hindistan'da bölgesel süt toplama merkezlerinden aldıkları 75 adet çiğ süt örneğinde toplam bakteri sayısının 6.0×10^3 - $1,59 \times 10^5$ aralığında değiştiğini ve örneklerin %26,7'sinin hijyen limitini aştığını belirtmişlerdir [24].

Veličkowska ve çalışma arkadaşları; Kuzey Makedonya'da Ocak-Haziran 2018 döneminde çiğ sütte yaptıkları çalışmada; toplam bakteri sayısını ortalama en düşük Ocak ayında 326.069,44 kob/ml, en yüksek Mayıs ayında 623.395,6 kob/ml olarak rapor etmişlerdir. Örneklerin %89,55'inin Avrupa Birliği standartlarını karşılamadığını ifade etmişlerdir [25].

Ergüllü; İzmir civarında 3 farklı mandıradan temin edilen 21 adet çiğ süt örneğinde toplam mikroorganizma sayısını en az 33.000×10^3 kob/ml, en fazla 820.000×10^3 kob/ml arasında değiştiğini bildirmiştir. Tüm örneklerin ortalamasını ise 298.604×10^3 kob/ml olarak belirtmiştir [26].

Uraz ve Yücel çeşitli yörelerden sağlanan 211 çiğ süt örneğinde toplam koliform bakteri ortalamasını $3,2 \times 10^8$ adet/ml olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar izole edilen koliform grubu mikroorganizmaların mevsimlere ve örnek

sayısına göre dağılımlarını incelediğinde en düşük değerin kış mevsiminde ($2,3 \times 10^8$), en yüksek değerin ise yaz mevsiminde ($3,9 \times 10^8$) bulunduğunu ifade etmişlerdir [27].

Pyz-Lukasik ve çalışma arkadaşları tarafından rastgele seçilen çiğ inek sütü satışı yapılan noktalardan alınan örneklerde yapılan bir çalışmada; toplam bakteri sayısını 4,96-7,56 log cfu/ml olarak bulmuşlar ve örneklerin %98'inin maksimum kabul edilebilir sınırı aştığını ifade etmişlerdir [28].

Bu çalışmada toplam aerobik koloni sayımı analizleri neticesinde elde edilen bulgular; Önal ve Öder, Taşcı, Hazer, Ürkek, Dan ve çalışma arkadaşları, Parkash ve çalışma arkadaşları, Veličkowska ve çalışma arkadaşları, Pyz-Lukasik ve çalışma arkadaşları tarafından bildirilen bulgulardan yüksek bulunmuştur [13-19, 22]. Diğer taraftan Ergüllü, Uraz ve Yücel tarafından rapor edilen bulgulardan ise düşük bulunmuştur [27-28].

Şekil 3.1 incelendiğinde alınan numunelerin sadece %21'inin ülkemizin yasal düzenlemelerine uygun olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda çiğ süt üreten hayvancılık işletmelerinin meme sağlığı ve mastitis hakkında yeterli düzeyde bilgi sahibi olmadıkları, yeterli bilgi düzeyi olanların ise gerekli dikkat ve özeni göstermediği kanaatine ulaşılmıştır.

Şekil 3.2 incelendiğinde çiğ süt örneklerinin tamamının ülkemiz mevzuatına uygun olmadığı gözlenmektedir. Elde edilen bulgular çiğ süt üreten hayvancılık işletmelerinde, hayvan sağlığı ve bakımı, ahırların yetersiz hijyen koşulları, sağım hijyeni konusunda yetersizliklere işaret etmektedir.

Süt toplama merkezleri tarafından sütün toplanmasında yaşanan zorluklar, birçok küçük ölçekli süt çiftliğinin dağınık coğrafi dağılımı, yüksek ulaşım bedelleri, uzak mesafelere yapılan ulaşım süreleri, kimi bölgelerde elverişsiz yol koşulları ve iklim durumu, süt taşıma araçlarının soğutma yetersizlikleri gibi etkenler çiğ sütün mikrobiyal kalitesini etkilemektedir. Bu süt toplama merkezleri uygun soğutma tanklarına sahip olsa bile kapasitelerinin ve hijyen düzeylerinin artırılmasına ve laboratuvarlara ihtiyaçları bulunmaktadır.

Elde edilen bulgular ışığında en önemlisi husus; çiğ süt üreten hayvancılık işletmelerinde ve süt toplama merkezlerindeki kişilerin eğitim seviyelerinin artırılması; üretilen çiğ sütün mikrobiyal kalite yönünden teşvik edilmesi, hem eğitim hem de sağlıklı süt üretimi konusunda ciddi teşviklerin sağlanmasıdır.

5. Teşekkür ve Katkı Beyanı

Bu çalışma Nevşehir Hacıbektaş Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ABAP-20F42 ve GAP20F1 nolu projeleri tarafından destek almıştır. NEÜ BAP birimine desteklerinden dolayı teşekkür ederiz. S.T: Örnek Toplama ve Laboratuvar çalışmaları, makale yazımı. Z.L. verilerin değerlendirilmesi, makale yazımı.

6. Kaynaklar

- [1] Yetişemiyen, A., 2013. "Süt Üreimi, Süt Hayvancılığı, Sütün Oluşumu ve Sağımı. Süt Teknolojisi", Editör/ Yetişemiyen, A., Ankara, 2013.
- [2] Yalçın, H., Özdemir, S., Gökal, H.Y., Kurt, A., "Ziraat Fakültesi Süt Fabrikasına Farklı Kaynaklardan Gelen İnek Sütlerinde Total, Psikrofilik, Laktik Asit, Koliform Grubu ve S. aureus Bakteri Sayılarının Belirlenmesi", *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1), 38-45, 1991.
- [3] Demirci, M., "Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri", Tekirdağ, 2000.
- [4] Kesenkaş, H., Akbulut, N., "İzmir İlinde Satılan Sokak Sütleri ile Orta ve Büyük Ölçekli Çiftliklerde Üretilen Sütlerin Özelliklerinin Belirlenmesi", *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 47(2), 161-169, 2010.
- [5] Shashani, E., "Guidelines for Production of High Quality Milk", Ministry of Agriculture and Rural Development Extension Service Mechanization and Technology Department, Israel, 1999.
- [6] Ligda, Ch. A., Mavrogenis, A., Georgoudis, A., "Estimates of Genetic Parameters for Test Day Somatic Cell Counts in Chios Dairy Sheep", 7th World Congress on Genetic Applied to Livestock Production, August 19-23, Montpellier, France, 2002.

- [7] TS EN ISO 13366-1, “Süt-Somatik Hücrelerin Sayılması-Bölüm 1: Mikroskopik Yöntem (Referans Yöntem)”, 2009.
- [8] ISO 7218, “Microbiology of Food and Animals Feeding Stuffs-General Requirements and Guidance for Microbiological Examinations”, 2007.
- [9] ISO 4833-1, “Microbiology of the Food Chain-Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms-Part 1: Colony-Count at 30°C by the Pour Plate Technique”, 2013.
- [10] İnternet: T.C. Cumhurbaşkanlığı Mevzuat Bilgi Sistemi “Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği” <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=15664&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>
- [11] İnternet: U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy_monitoring/btscc_2019infosheet.pdf
- [12] Patır, B., Can, O.P., Gürses, M., “Farklı İllerden Toplanan Çiğ İnek Sütlerinde Somatik Hücre Sayıları”, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 24(2), 87-91, 2010.
- [13] Çoban, O., Sabuncuoğlu, N., Tüzemen, N., “Siyah Alaca ve Esmer İneklerde Somatik Hücre Sayısına Çeşitli Faktörlerin Etkisi”, *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 47(1), 15-20, 2007.
- [14] Temelli, S., Şerbetcioğlu, T., “Bir Süt İşletmesinde İşlenen İnek Sütlerinde Somatik Hücre Sayısının Dört Yıllık Periyottaki Değişiminin İncelenmesi”, *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 30(1), 1-7, 2011.
- [15] Kaygısız, A. Karnak, İ., “Kahramanmaraş İli Süt Sığırı İşletmelerinden Toplanan Çiğ Süt Örneklerinde Somatik Hücre Sayısının AB Normları ve Subklinik Mastitis Bakımından Değerlendirilmesi”, *KSÜ Doğa Bil. Dergisi*, 15(3), 2012.
- [16] Green, M.J., Bradley, A.J., Newton, H., Browne, W.J., “Seasonal Variation of Bulk Milk Somatic Cell Counts in Uk Dairy Herds: Investigations of the Summer Rise”, *Preventive Veterinary Medicine*, 73, 293-308, 2006.
- [17] Hagnestam-Nielsen, C., Emanuelson, U., Berglund, B., Strandberg, E., “Relationship Between Somatic Cell Count and Milk Yield in Different Stages of Lactation”, *Journal of Dairy Science*, 92, 3124-3133, 2009.
- [18] Olde Riekerink, R. G. M., Barkema, H.W., Stryhn, H., “The Effect of Season on Somatic Cell Count and the Incidence of Clinical Mastitis”, *Journal of Dairy Science*, 90, 1704-1715, 2007.
- [19] Önal, A.R., Öder, M., “Trakya’da Özel Bir Süt İşleme Tesisi Tarafından Değerlendirilen Çiğ Sütlerin Somatik Hücre Sayısı ve Bazı Bileşenlerinin Tespiti”, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(2), 195-199, 2007.
- [20] Taşçı, F., “Microbiological and Chmchemical Properties of Raw Milk Consumed in Burdur”, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(5), 635-641, 2011.
- [21] Hazer, A., “Denizli ve Aydın İllerinden Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M1 Prevalansı ve Miktarının Aranması”, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Aydın, 2011.
- [22] Ürkek, B., “Konvansiyonel ve Organik Olarak Üretilen Sütlerin Çeşitli Kalite Parametreleri Açısından İncelenmesi”, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Entitüsü, Doktora Tezi*, Erzurum, 2015.
- [23] Dan, S.D., Mihaiu, M., Rotaru, O., Dalea, I., “Evaluation of Microbiological Load and Configuration of Raw Milk from Collecting Center in Cluj County”, *Buletin USAMV Veterinary Medicine*, 65(2), 2008.
- [24] Parkash, M., Rajasekar, K., Karmegam, N., “Bacterial Population of Raw Milk and Their Proteolytic and Lipolytic Activities”, *Research Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(6), 848-851, 2007.
- [25] Veličkowska, S.K., Arsevski, Z., Dimovska, D., Ilieva, F., Kuzelov, A., “Total Bacterial Count, Somatic Cell Count and Presence of Aflatoxin M1 in Raw Milk from The “Ovče Pole” Region, Republic of North Macedonia”, *Journal of Agriculture and Plant Sciences*, 19(2), 19-25, 2021.

- [26] Ergüllü, E., “ Çiğ Sütte Koliform Grubu Bakteri Florası Üzerinde Araştırmalar”, *Gıda Dergisi*, 7(6), 263-266, 1982.
- [27] Uraz, G., Yücel, N., “ Çiğ Sütlerde Koliform Grubu Mikroorganizmaların Dağılımı Üzerine Bir Araştırma”, *Gıda Dergisi*, 23(4), 241-245, 1998.
- [28] Pyz-Lukasik, R., Paszkiewicz, W., Tatar, M.R., Brodzki, P., Belkot, Z., “Microbiological Quality of Milk Sold Directly from Producers to Consumers”, *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4294-4301, 2015.