

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YOĞURT KÜLTÜRLERİNİN POLİSİKLIK AROMATİK
HİDROKARBONLARA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Selin YÜKSEL ÇÜRÜK

GIDA GÜVENLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2023

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YOĞURT KÜLTÜRLERİNİN POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Selin YÜKSEL ÇÜRÜK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ

Yoğurt yapımında kullanılan kültürlerin polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH'lar) degrade edebileceği bilinmektedir. Yoğurt yapımı esnasında bu kültürlerin nasıl davranacağı konusunda sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Yoğurt yapımında kullanılan farklı yoğurt kültürlerinin sütte bulunabilecek PAH'ları degrade edip edemeyeceğini belirlemek amaçlanmıştır. İlk olarak çiğ inek sütünde PAH olup olmadığı, pH, kuru madde ve asitlik belirlenmiştir. PAH içermediği tespit edilen sütler 4 gruba ayrılmıştır; (1) köy mayasıyla elde edilen, (2) marketlerde satılan yoğurtlardan alınan maya, (3) *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Bifidobacterium infantis* M-63, *Bifidobacterium bifidum* BGN4 ve GOS ile hazırlanan, (4) *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* ve *Streptococcus thermophilus* ile hazırlanan. Her grup kendi içinde 4 alt gruba ayrılmış birinci grup kontrol olarak tutulurken diğer gruplara 4 PAH bileşiği [Benzo(a)piren, krisen, benzo(b)floranthen, benzo(a)anthrasen] karışımından sırasıyla 50,100, 200 µg/kg katılmıştır. Yoğurtlar geleneksel metotla elde edilmiştir. Sütlere PAH karışımı katıldıktan ve yoğurt oluşum süreci tamamlandıktan sonra önceden validasyonu yapılan yöntemle PAH analizleri gaz kromatografi-kütle spektrometresi aracılığıyla belirlenmiştir. Analiz sonuçlarında 4 PAH konsantrasyonuna göre % azalma verileri incelendiğinde; en çok azalma %21,7 ile 200 µg/kg'da 3.grupta, en az ise %8,05 ile 200 µg/kg'da 1.grupta görülmüştür. Böylece yoğurt kültürlerinin sütte bulunan PAH'ları oldukça düşük düzeyde inhibe edebileceği ve tamamen degrade edemeyeceği sonucuna varılmıştır.

Haziran 2023, 49 sayfa

Anahtar Kelimeler: İnhibisyon, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, süt, yoğurt

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF YOGURT CULTURES ON POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

Selin YÜKSEL ÇÜRÜK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Safety

Supervisor: Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ

It is known that cultures using yogurt making can degrade polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). There is limited research on how these cultures behave during yogurt making. It was aimed to determine whether different yogurt making can degrade PAHs that may be present in milk. Firstly, the presence of PAHs pH, dry matter and acidity were determined in raw cow milk. The milk found to be PAH-free was divided into 4 groups; (1) obtained from village yeast, (2) yeast from yogurts sold in markets, (3) prepared with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Bifidobacterium infantis* M-63, *Bifidobacterium bifidum* BGN4 and GOS, (4) prepared with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* ve *Streptococcus thermophilus*. Each group was divided into 4 subgroup and first group was kept as control while the other groups were treated with 50, 100, 200 µg/kg of a mixture 4 PAH [Benzo(a)pyrene, chrycene, benzo(b)floranthene, benzo(a)anthracene] respectively. Yogurts were obtained with traditional method. After the PAH mixture was added and yogurt process of formation was completed, PAH analyzes were determined by gas chromatography- mass spectrometer using previously validated method. When reduction data are analyzed according to 4 PAH concentrations in the analysis results; the highest reduction was seen in 3rd group at 200 µg/kg with 21,7%, the lowest was seen in the 1st group at 200 µg/kg with 8.05%. It was concluded that yogurt cultures can inhibit. PAHs in milk at a very low level and cannot completely degrade them.

June 2023, 49 pages

KeyWords: Inhibition, polycyclic aromatic hydrocarbons, milk, yogurt

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, görüşlerini ve desteklerini hiç esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ 'ye (Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Gıda Güvenliği Enstitüsü Enstitü Müdür Yardımcısı) ve yüksek lisans çalışmalarına başlarken desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ufuk Tansel ŞİRELİ'ye (Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknoloji Bölümü) sonsuz teşekkürlerimi sunarım. PAH analizlerinin yapılmasında katkılarını esirgemeyen Çankırı Karatekin Üniversitesi Öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Özgür KUZUKIRAN, Ankara Üniversitesi doktora öğrencileri Ümmü Gülsüm BOZTEPE ve Meryem TOPRAK'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen canım annem Gülfıdan YÜKSEL, canım babam Ali YÜKSEL, biricik ablam Pelin YÜKSEL ve sevgili eşim Serhat ÇÜRÜK 'e en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Selin YÜKSEL ÇÜRÜK

Ankara, Haziran 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar.....	5
2.1.1 PAH'ların fiziksel ve kimyasal özellikleri	8
2.1.2 PAH ve gıda.....	10
2.1.3 Süt ve PAH	14
2.1.4 Yoğurt ve PAH	17
3.MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1 Materyal	20
3.2 Yöntem	20
3.2.1 Yoğurt yapımı	21
3.2.2 pH tayini	22
3.2.3 Kuru madde tayini	22
3.2.4 Asitlik tayini	23
3.2.5 Polisiklik aromatik hidrokarbonların analizi	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
4.1 pH Tayini Sonuçları.....	27
4.2 Kuru Madde Tayini Sonuçları	28
4.3 Asitlik Tayini Sonuçları	30
4.4 PAH Tayini Sonuçları.....	31
5. SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ	49

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat
µl	Mikrolitre
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BaA	Benzo(a)anthrasen
BaP	Benzo(a)piren
BbF	Benzo(b)floranthen
Brix	% çözünür kuru madde
Ca	Kalsiyum
Chr	Krisen
eV	Elektronvolt
g	Gram
GC-MS	GazKromatografisi- Kütle Spektrometresi
GOS	Galakto_oligosakkarit
kg	Kilogram
LAB	Laktik asit bakterisi
LOD	Tespit limiti
LOQ	Ölçüm limiti
m/z	Kütle/yük
Mg	Magnezyum
mg/L	Miligram/litre
ml	Mililitre
ml/dk	Mililitre/dakika
N	Normalite
ng/g	Nanogram/gram
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
ppb	Milyarda bir
r ²	Korelasyon katsayısı
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RSD	Relative Standart Sapma
µg	Mikrogram
µg/kg	Mikrogram/kilogram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 PAH'lara maruz kalmanın kısa ve uzun vadeli sağlık etkileri.....	11
Şekil 2.2 Gıda kaynağı olan süt.....	14
Şekil 2.3 Süt ve süt ürünlerinde PAH'ların analizinde kullanılan ekstraksiyon teknikleri.....	16
Şekil 3.1 Yoğurt örneklerinin mayalanması.....	21
Şekil 3.2 pH metre.....	22
Şekil 3.3 Refraktometre.....	23
Şekil 3.4 Refraktometre Skalası.....	23
Şekil 3.5 Vorteks.....	25
Şekil 3.6 Sonik banyo.....	25
Şekil 4.1 Köy mayası ile yapılan (1.grup) yoğurtların PAH çeşitlerine göre yoğurt elde edilmeden önce 12,5, 25, 50 µg/kg PAH katılmasıyla bulunan verilerin, yoğurt yapımından sonra elde edilen veriler arasındaki konsantrasyon farkının % azalma olarak grafiği.....	34
Şekil 4.2 Dört grup farklı yoğurt kültürüyle mayalanan yoğurtların yoğurt elde edilmeden önce 50, 100 ve 200 µg/kg PAH katılmasıyla bulunan verilerin yoğurt yapımından sonraki verilere göre konsantrasyon farkının 4 PAH bileşiğinin toplamı için % toplam azalma grafiği.....	35
Şekil 4.3 Yoğurt elde edilmeden önce örneklere 12,5 µg/kg PAH katılarak 4 PAH bileşiği için elde edilen başlangıç verileri ve yoğurt yapımından sonra elde edilen verilerin µg/kg olarak PAH miktarlarının grafiği.....	36
Şekil 4.4 Yoğurt elde edilmeden önce 50,100 ve 200 µg/kg olarak katılan PAH bileşiklerinin 4 grup yoğurt kültürü için başlangıç verileri ve yoğurt yapıldıktan sonraki verilerinher grup için µg/kg olarak toplam PAH miktarının grafiği.....	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Başlıca kirlетici olan 16 PAH'ın molekül ağırlığı, molekül formülü ve yapısı.....	6
Çizelge 2.2 PAH bileşiklerinden bazılarının özellikleri.....	9
Çizelge 2.3 Düşük ve yüksek PAH içeren gıdalar.....	12
Çizelge 3.1 Deneme planı ve yoğurt grupları.....	20
Çizelge 4.1 Hedef polisiklik aromatik hidrokarbonların yoğurtlardaki validasyon verileri.....	32
Çizelge 4.2 Yoğurt yapmadan ve yogurt elde edildikten sonra ölçülen PAH konsantrasyonları.....	33

1. GİRİŞ

Sanayileşmenin gelişmesiyle birlikte insan yaşamı kolaylaşırken çoğu çevre problemini de ortaya çıkarmıştır. En tehlikeli hastalıklardan biri olan kanserin oluşumunda çevre faktörünün etkili olduğu bilinmektedir. İnsanlar kirlenmiş havayı soluyarak veya kirli su ve gıdayı tüketerek sağlığa zararlı maddelere maruz kalabilmektedirler (Alver vd. 2012).

Sanayi döküntüleri, zirai mücadele ürünleri, her türlü atık, tütün dumanı ve endüstriyel gazlar gibi ortama saçılan tehlikeli atıklar toplum sağlığı için zararlı ciddi çevresel kirleticiler olarak gösterilmektedir. Atıklar arasında mevcut kükürt dioksit, azot oksit, polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), pestisit ve metal gibi çoğu kirleticinin sağlığa zararlı olduğu belirtilmektedir (Alver vd. 2012).

PAH'lar iki veya daha çok benzen halkasından oluşan hidrofobik organik bileşikler olup doğal veya andropojenik orijinli olarak organik bileşiklerin kusurlu yanmasıyla meydana gelirler. Doğal olarak, orman yangınları ya da volkanik olaylarla oluşmaktadır. Kaynağında insan olanlar ise sanayi atıkları, motorlu araçlar ve sigaradan ileri gelirler. Sigarayla oluşan PAH düzeyi diğer kirleticilere göre daha az olduğu halde halk sağlığı için en tehlikeli kaynaklardan biri olarak öne çıkmaktadır (Alver vd. 2012). PAH'lar insan sağlığına oldukça zararlı olmalarının yanı sıra birçoğunun mutajenik, karsinojenik ve genotoksik özellikte olduğu bildirilmiştir (Kaçmaz 2018).

PAH'lardan Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği 'ne (2011) göre 4 PAH'ın maksimum limiti belirlenmiştir. Bunlar benzo(a)piren(BaP), benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen ve krisen toplamı olarak belirtilmektedir. Ayrıca sadece benzo(a)piren için de maksimum kalıntı limiti belirlenmiştir. Çevrede yaklaşık 10.000 den fazla PAH bileşiği veya metabolitinin olduğu tahmin edilmektedir (Kurnia vd. 2018). Bunlardan BaP'ın en güçlü kanserojen bileşiklerden biri olduğu araştırmalarla ortaya konulmuştur. BaP'ın kontaminasyonu çerez, un, tahıl, sebzeler, ekmek, meyveler, et, balık, salamurlar, bebek mamaları ve inek sütü gibi çeşitli gıda maddelerinde bulunmuştur (Shoukat 2020).

PAH maruziyeti alınma düzeyine bağı olarak kısa ve uzun vadede hastalık etkilerine neden olabilmektedir. Astımlı hastalarda PAH'lar akciğer yetmezliğine, kan pıhtılaşmasına ve uzun vadede farklı kanser türlerine sebep olabilmektedir (Colón vd. 2022).

Toksik ve karsinogenik olan PAH bileşiklerinin gıda ve biyolojik örneklerdeki değerleri, gaz kromatografi (GC), yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) ve elektro kinetik kromatografi gibi yüksek duyarlılığa sahip cihazlarla tayin edilebilmektedir. PAH bileşiklerinin GC ile tayinlerinde dedektör olarak alevde iyonlaşma dedektörü (GC–FID) veya kütle spektrometresi (GC–MS) kullanılabilir. HPLC ile analizlerde ise dedektör olarak çoğunlukla UV dedektör (HPLC–UV), Floresan dedektör (HPLC–FLD), fotodiyotarray (PDA) veya kütle spektrometresi (HPLC–MS) kullanılmaktadır (Alver vd. 2012).

Probiyotik, ilaç ve gıda endüstrileriyle ilgili en önemli bakteri olarak bilinmektedir. Probiyotikler yaşayan mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterileri(LAB'lar) ve bifidobakteriler probiyotik mikroorganizmalardır. Bakteriler arasında LAB'lar en çok bilinenleri olup çoğu fermente gıdalarda kullanılmaktadır. Probiyotikler ve LAB'ların mutajenik ve karsinogenik maddelerin risklerini azaltarak kolon kanserini önlediği belirtilmiştir. Mikotoksinler, metaller ve diğer toksinlerin detoksifikasyonunda probiyotiklerin ve LAB'ların rolü gözden geçirilmiştir (Shoukat 2020).

Süt; kalsiyum, selenyum, riboflavin, çinko, B₁₂ vitamini ve pantotenik asitin günlük alımında önemli bir katkı sağlamaktadır. Birçok çalışma sütteki PAH konsantrasyonundan bahsetmiştir. İtalya'da bir çalışmada çiğ süt, pastörize süt ve UHT sütlerin PAH limiti 5.43- 7.75 µg/ kg olarak ölçülmüştür (Sun vd. 2020). Bununla beraber gerek Avrupa Birliği (AB) mezuatında ve gerekse Türkiye'de süt ve süt ürünlerindeki PAH'lar için maksimum kalıntı limiti belirlenmemiştir. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde sadece bebek sütü ve devam sütü için maksimum kalıntı limiti BaP ve 4 PAH'ın toplamı için ayrı ayrı 1 µg/kg olarak verilmiştir (Anonim 2011, Anonymous 2011).

Sütün PAH'larla kontaminasyonu; maruziyet kaynağı, inek laktasyon dönemi, hayvan sağlığı ve üreme sistemi gibi çevresel faktörlere bağlı olmaktadır. Sağılan ineklerin PAH'ları içeren yemleri tüketmeleri durumunda sütlerinde PAH'ların tespit edilebileceği gösterilmiştir (Rincón vd. 2019).

Bir çalışmada yoğurt mayası (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*) suşları tarafından yoğurt yapımı sırasında PAH'ların miktarında hafif bir düşme olduğu ve bu yöntemle PAH'ların uzaklaştırılabileceği ifade edilmiştir. Yoğurt inkübasyonun başlangıcında PAH'lar tarafından LAB'ların etkilenebileceği belirtilmişse de mikroorganizmalar bu tür PAH'ların varlığına hızlıca adapte olmakta ve gelişmelerini sürdürebilmektedirler (Abou-Arab vd. 2010).

Başka bir çalışmada ise LAB suşlarının gıdalarda yaygın bir şekilde oluşan PAH gibi kanserojenik bileşiklere bağlanarak gıdalardaki konsantrasyonlarını azaltabileceği belirtilmiştir. Böylece probiyotiklerin antimutajenik aktivitesinin PAH bileşiklerinde de etkili olabileceği ifade edilmiştir (Sevim ve Kızıl 2019).

Dolayısıyla bu çalışmanın hipotezi kullanılacak yoğurt kültürlerinin sütte bulunabilecek PAH'ları inhibe edebileceği yönünde kurulmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Gıdaların tüketilebilirliğini, çevre koşulları ve işleme esnasında meydana gelen biyolojik, kimyasal ve fiziksel tehlikeler belirlemektedir. PAH'lar , kimyasal tehlikeler sınıfındadır (Ceylan ve Ünal Şengör 2015). Gıdalarda ve çevrede çeşitli tehlikeli ve karsinogenik bileşikler vardır. Su, hava ve gıdalarda bulunan bu bileşik gruplarından birinin de PAH'lar olduğu belirlenmiştir (Kiani vd. 2021). PAH'lar günlük yaşamda maruz kalınan yaygın organik kirleticilerdendir (Donauer 2010).

Zehir; ağız,deri, solunum veya parenteral yollarla vücuda girdiği zaman belirli bir dozajda ve/veya belirli bir zaman diliminde biyolojik sistemlere zarar veren madde olarak tanımlanmaktadır (Ayaz ve Yurttagül 2008). Birçok PAH bileşiği ve metabolitleri insanlar dahil daha yüksek sistemler ve mikroorganizmalar için oldukça toksik, teratojenik, mutajenik veya karsinogenik olmaktadır (Samanta vd. 2002).

PAH'ların organik maddenin eksik yanması sonucunda çevrede genişçe yayılabildiği ve taşınabildiği belirtilmiştir (Samanta vd. 2002). PAH'lar çevrede geniş ölçüde yayılabildiği için gıdayı kontamine edebilmekte ve bundan dolayı farklı ülkelerde çevre kirliliği ciddi bir sorun olmaktadır. Gıdalarda PAH'ların ortaya çıkışı gıda hazırlamadan, kontamine olmuş bir ortamdan veya onların emiliminden kaynaklanabilmektedir (Abou-Arab vd. 2010).

Gıda kontaminasyonu, sağlık ve gıda güvenliği için en ilgili ve en önemli konulardan biri olmaktadır. Güvenli ve sağlıklı gıdaya ulaşmanın insanların temel hakkı olduğu belirtilmiştir (Shoukat 2020).

2.1 Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

PAH'lar karbon ve hidrojen atomlarının en az iki birleştirilmiş aromatik halkasından oluşan organik bileşikler olarak ifade edilmektedir. PAH'lar fosil yakıtların eksik yanması veya organik madde ve jeokimyasal işlemlerin pirolizi sonucu oluşan kimyasal yönden inert maddelerdir (Yousefi vd. 2019 , Donauer 2010).

PAH'lar sigara dumanında olduğu gibi endüstriyel ve otomobil egzozlarında da bulunmaktadır. Çoğunlukla havada ince tozlara tutunurlar. Toprakta ve suda bulunmakta ve hidrofobik özelliği dolayısıyla özellikle tortuda birikmektedirler (Donauer 2010). PAH'lar atmosferde ozon, nitrojen oksit ve sülfür oksit gibi kirleticilerle tepkimeye girebilmekte ve topraktaki bazı mikroorganizmalar tarafından degrade olabilmektedir (Nowakowski vd. 2022).

PAH'lar yaygın çevresel kirleticilerden olduğundan havayı, toprağı ve yer altı suyunu kontamine edebilmekte ve en sonunda gıda zincirine girebilmektedir. Dahası tüksüleme, kavurma, kızartma, barbekü yapma, fırında pişirme ve kurutma gibi çeşitli gıda hazırlama yöntemleri sırasında PAH'ların çoğalması gıdayı kontamine edebilmektedir. Bu yüzden et ürünleri, sıvı ve katı yağlar , tahıl, tüksülenmiş gıda ürünleri, deniz ürünleri, çay ve kahve gibi çeşitli gıda maddeleri; gıda işleme, pişirme ve çevresel kirlilik sırasında PAH'lar tarafından kontamine olabilmektedir (Yousefi vd. 2019).

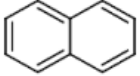
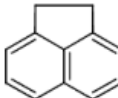
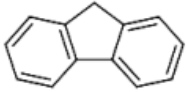
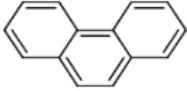
Günümüze kadar 10.000'den fazla PAH veya metaboliti tanımlanmış olup bunlardan 16'sı Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Çevre Koruma Örgütü (EPA) tarafından gıda kaynaklı başlıca kirleticiler olarak listelenmiştir (Kurnia vd. 2018, Yousefi vd. 2019).

PAH'lar molekül ağırlıklarına göre düşük molekül ağırlıklı ve yüksek molekül ağırlıklı diye ikiye ayrılabilir. Düşük molekül ağırlıklı PAH'lar 2 veya 3 halkalı yapıda iken yüksek molekül ağırlıklılar 4 ve daha fazla halka içermektedir (Nowakowski vd. 2022). 16 PAH bileşiğinden asenaftalen, asenaften, floren, naftalin, fenantren ve anthrasen düşük molekül ağırlıklı PAH bileşikler olarak belirtilirken piren, krisen,

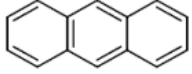
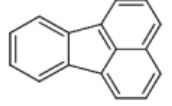
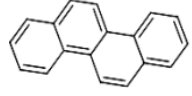
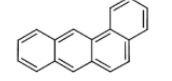
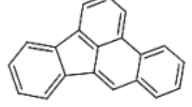
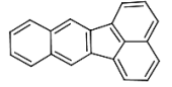
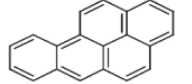
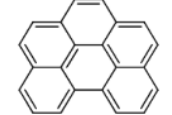
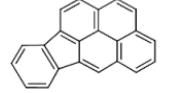
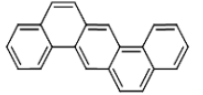
floranthen, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen, benzo(k)floranten, benzo(a)piren, dibenzo(a,h)anthrasen, indeno(1,2,3-cd)piren ve benzo(g,h,i)perilen ise yüksek moleköl ağırlıklı PAH bileşikler olarak sınıflandırılmaktadır (Kılıç vd. 2017). PAH'ların karsinojenik özelliği moleköl ağırlığının artmasıyla doğru orantılıdır (Nowakowski vd.2022). Benzo(a)piren ve dibenzo(a,h)anthrasen gibi yüksek moleköl ağırlıklı PAH bileşiklerinin kararlılığı, karsinojenik ve mutajenik etkisinin düşük moleköl ağırlıklı olanlara göre daha fazla olduğu ifade edilmiştir (Kılıç vd. 2017). Öncelikli 16 PAH'ın moleköl ağırlığı, moleköl formülü ve yapısı Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

İnsanlar yutma, soluma ve deri temasıyla PAH'lara maruz kalabilmektedir. Fakat PAH'ların beslenmeyle alınması, sigara içmeyen ve çalışmayan bireyler için insan maruziyetinin başlıca yolu olmaktadır. PAH'lar lipofilik özelliklerinden dolayı gıda zincirinde birikme eğilimine sahiptir. Karsinojenik aktivitelerinin kanıtlanmış olması sebebiyle gıdalardaki PAH'ların varlığı hakkında bir endişenin olduğu belirtilmiştir. Gıdaların sadece PAH'larla değil metaller, mikotoksinler, heterosiklik aromatik aminler (HCA), akrilamid, nitrozamin gibi diğer kontaminantlarla da kontamine olmasının olası olduğu belirtilmektedir (Yousefi vd. 2019).

Çizelge 2.1 Başlıca kirlenici olan 16 PAH'ın moleköl ağırlığı, moleköl formülü ve yapısı (Singh vd. 2018, Alver vd. 2012)

Sayı	Bileşim	Moleköl Ağırlığı	Moleköl Formülü	Yapısı
1	Naftalin (Np)	128.17	C ₁₀ H ₈	
2	Asenaftelen (Anp)	152.19	C ₁₂ H ₁₈	
3	Asenaften (Ane)	154.19	C ₁₂ H ₁₈	
4	Floren (Flr)	166.26	C ₁₃ H ₁₀	
5	Fenantren (Phe)	178.23	C ₁₄ H ₁₀	

Çizelge 2.1 Başlıca kirlетici olan 16 PAH'ın molekül ağırlığı, molekül formülü ve yapısı (devam) (Singh vd. 2018, Alver vd. 2012)

6	Anthrasen (An)	178.23	C ₁₄ H ₁₀	
7	Piren (Py)	202.25	C ₁₆ H ₁₀	
8	Floranthen (Flu)	202.26	C ₁₆ H ₁₀	
9	Krisen (Chr)	228.28	C ₁₈ H ₁₂	
10	Benzo(a)anthrasen (BaA)	228.29	C ₁₈ H ₁₂	
11	Benzo(b)floranthen (BbF)	252.30	C ₂₀ H ₁₂	
12	Benzo(k)floranten (BkF)	252.30	C ₂₀ H ₁₂	
13	Benzo(a)piren (BaP)	252.31	C ₂₀ H ₁₂	
14	Benzo(g,h,i)perilen (BgHiPy)	276.338	C ₂₂ H ₁₂	
15	İndeno(1,2,3-cd)piren (IcdP)	276.330	C ₂₂ H ₁₂	
16	Dibenzo(a,h)antrasen (DahA)	278.34	C ₂₂ H ₁₄	

Çizelge 2.1'de gösterilen 16 bileşiğin başlıca kirletici olarak sınıflandırılmasının nedenleri;

1. Bu bileşiklerle ilgili bilgiler diğerlerinden daha fazladır.
2. Daha zararlı olduklarına dair olumsuz etkilerinin gösterilmesi,
3. Daha yaygın olarak oluşmaları ve böylece daha fazla maruz kalınması,
4. ABD'deki ulusal öncelikler listesinde atık alanlarında yapılmış olan analizler sonucunda en çok bu 16 bileşiğin belirlenmiş olması sayılmaktadır (Alver vd. 2012).

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine (2011) göre sadece 4 PAH'ın maksimum kalıntı limiti belirtilmiştir. Bu PAH'lar benzo(a)piren, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen ve krisen toplamı ve sadece benzo(a)piren maksimum kalıntı limiti de belirtilmiştir. Avrupa Birliği (AB) yönergesi ve Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde sadece bebek sütü ve devam sütü için maksimum kalıntı limiti BaP ve bu 4 PAH'ın toplamı ayrı ayrı 1 µg/kg olarak verilmiştir (Anonim 2011, Anonymous 2011).

2.1.1 PAH'ların fiziksel ve kimyasal özellikleri

Eksik yanmayla meydana gelen PAH bileşikleri genel olarak karışım halinde oluşurlar. Yani tek bir ürün halinde görünmezler. Fakat araştırma amacıyla saf olarak da üretilmektedir. Saf bileşik olarak PAH'lar beyaz, açık sarı, renksiz ve yeşil renkli olabilmektedir. Bu saf bileşikler katı halde ve hoş bir kokuya sahip olmaktadır. Araştırma için oluşturulan PAH bileşikleri dışındaki bileşiklerin çoğunun herhangi bir kullanım yerinin olmadığı belirtilmektedir. PAH bileşiklerinden birkaçının pestisit, boya veya plastik yapımında kullanıldığı belirtilmiştir (Alver vd. 2012). Çizelge 2.2'te PAH bileşiklerinin bazılarının özellikleri gösterilmektedir.

Çizelge 2.2 PAH bileşiklerinden bazılarının özellikleri (Kılıç vd. 2017)

İsmi	Simge	Erime Noktası (°C)	Kaynama Noktası (°C)	Renk	Suda Çözünürlük (mg/L)
Naftalin	Np	80	218	-	31
Asenaftelen	Anp	92-93	265-275	-	3.93
Asenaften	Ane	95	96	Beyaz	1.93
Floren	Flr	116-117	295	Beyaz	1.98
Fenantren	Phe	100	340	Renksiz	1.20
Floranten	Flu	109	375	Mat sarı	2-2.6
Antrasen	An	218	340	Renksiz	0.076
Piren	Py	156	360	Renksiz	0.077
Krisen	Chr	254	448	Renksiz	2.8×10^{-3}
Benzo(a)antrasen	BaA	158	400	Renksiz	1×10^{-1}
Benzo(b)floranten	BbF	168	481	Renksiz	1.2×10^{-3}
Benzo(k)floranten	BkF	216	480	Mat sarı	7.6×10^{-4}
Benzo(j)floranten	BjF	166	-	Sarı	6.76×10^{-3}
Benzo(a)piren	BaP	179	496	Mat sarı	2.3×10^{-3}
İndeno(1,2,3-cd)piren	IcdP	164	536	Sarı	0.062
Dibenzo(a,h)antrasen	DahA	262	524	Renksiz	5×10^{-4}
Benzo(g,h,i)perilen	BghiPy	273	545	Mat sarı	2.6×10^{-4}

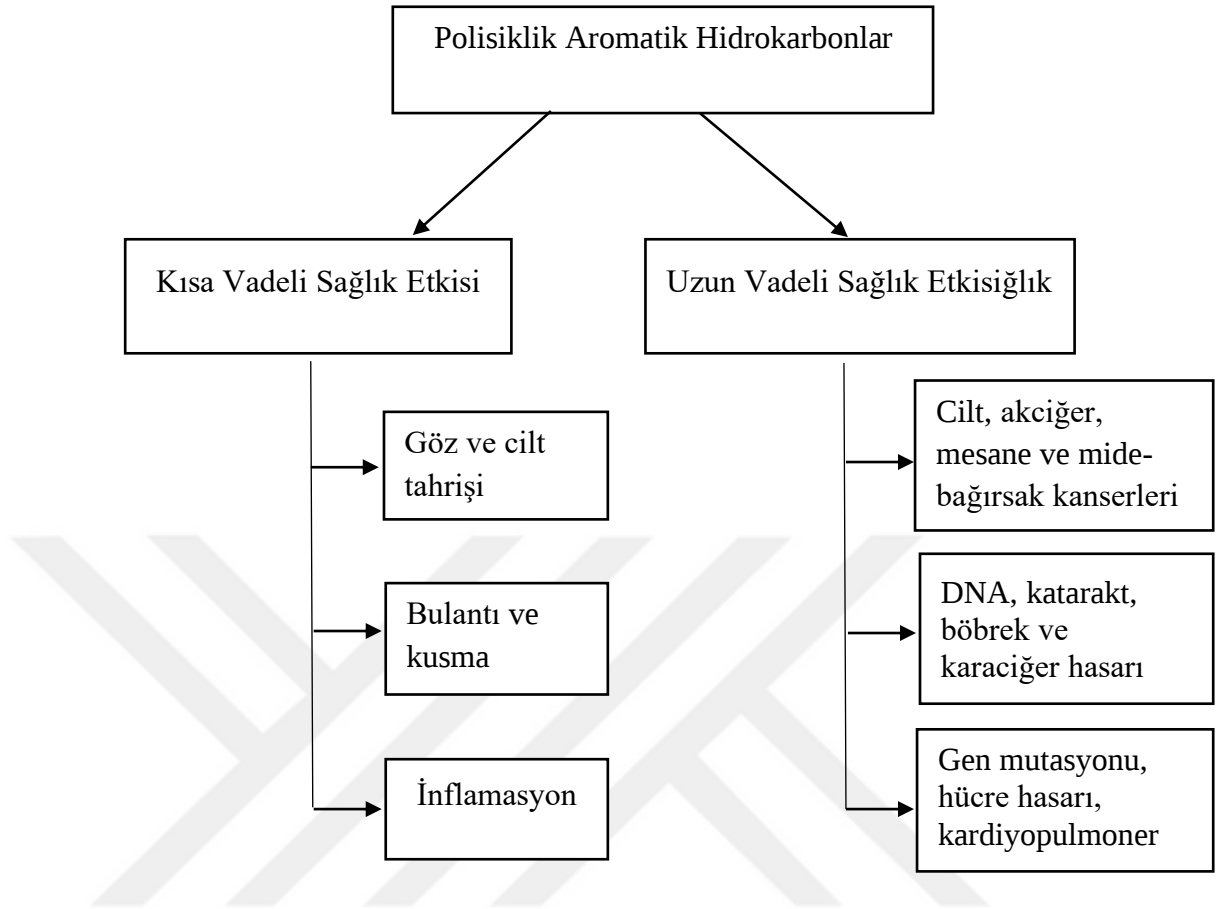
PAH'lara insanların maruz kalmasının önemli bir kaynağı mineral yağlar ve rafine petrol ürünlerinin kozmetiklerde ve medikal ürünlerde kullanılması potansiyelidir. PAH'lardan potansiyel izleri olan rafine edilmiş petrol ürünleri bebek losyonu, güneş yağı gibi çoğu kozmetik ürünlerinin içeriğinde bulunmaktadır. Bazı kozmetik ürünleri bitkisel yağdan hazırlanmaktadır ama BaP ve diğer PAH'ları da iz miktarda içerebilmektedir (Harvey 1991).

2.1.2 PAH ve gıda

İnsanların PAH'lar gibi çevresel kirleticilere maruz kalması en çok gıda tüketimiyle olmaktadır (Duan vd. 2016). Şekil 2.1'de PAH'lara maruz kalmanın kısa ve uzun vadeli sağlık etkileri gösterilmiştir.

Gıdalarda PAH'ların ortaya çıkması; gıda hazırlama, işleme tekniklerinden, ürünler veya bitkiler kontamine olmuş toprakta büyüdüğünde ve deniz yaşamında veya balık kontamine olmuş suda yaşadığında gıda zincirine girmekten kaynaklanmaktadır (Lawal 2017).

PAH bileşikleri gıdaları hava, su, toprak veya işleme ve pişirme esnasında kontamine edebilmektedir. Gıdalarda PAH'ların bulunması insanlar için potansiyel bir risk olmaktadır. PAH'ların çevrede bulunması pek çok pişmemiş gıda ürünlerinde tespit edilebilir seviyelerde bulunmasına neden olmaktadır. Pişirme işlemleriyle gıdalarda PAH üretimi olabilmektedir (Lawal 2017).



Şekil 2.1 PAH'lara maruz kalmanın kısa ve uzun vadeli sağlık etkileri (Lawal 2017)

PAH'lar pişirme öncesinde çiğ gıdanın kürlenmesi ve işlenmesi sırasında oluşabilmektedir. PAH'lara çevresel maruziyetin genel yükünün oranını belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. PAH'ların ana beslenme kaynakları açık ateşte pişen etin yüksek tüketimi dışında et yerine tahıllar ve sebzelerin de olduğu belirtilmiştir. Tahıllar ve tahıl ürünleri yüksek tüketimi sebebiyle PAH'ların alımında önemli katkı sağlamaktadır (Lawal 2017).

PAH'lar ayçiçeği, zeytin, soya fasulyesi, hurma ve kolza yağı gibi katı ve sıvı yağlarda oluşabilmektedir. Bitkisel katı ve sıvı yağlar besin gruplarında daha yüksek PAH konsantrasyonuna sahip olabilmektedir. PAH'ların konsantrasyonları bitki yüzeyinde (dış yapraklar, kabuk) iç dokuya göre genellikle daha fazla olmaktadır (Lawal 2017).

PAH'lar ıspanak, çay, marul ve tütün gibi yapraklı bitkilerde ve tütsülenmiş et ve balıklarda bulunmaktadır. Lifli sebzelerde yüksek konsantrasyonda bulunmalarının atmosfer kaynaklı kontaminasyondan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Harvey 1991). Deniz rnleri ve balıklar ise yine atmosferdeki kirlilikten ve petrol sızıntısı nedeniyle suda ve tortularda bulunan PAH'lardan etkilenebilmektedir (Lawal 2017).

PAH'lar bazı evsel gıda hazırlama yöntemlerinin sonucunda da oluşabilmektedir. Gıdalardan özellikle et ve balık açık ateşte pişirildiğinde PAH'lar oluşmaktadır. Eğer ızgara edilmiş gıda ateşle doğrudan temas halindeyse, et ve balıktan damlayan yağların pirolizi sonucunda yüzeylerinde biriken PAH'ları ürettiği ifade edilmiştir. Doğrudan temas etmese bile aleve veya sıcak kömürlere damlayan yağ, gıdanın yüzeyine geri taşınan bu bileşikleri oluşturmaktadır. Kömürle ızgara yapma sırasında PAH oluşumunun etin yağ içeriğine, pişme süresi ve sıcaklığa bağlı olduğu belirtilmiştir (Lawal 2017). Çizelge 2.3'te Düşük ve yüksek PAH içeren gıdalar gösterilmektedir.

Çizelge 2.3 Düşük ve yüksek PAH içeren gıdalar (Gn Ergönül ve Kaya 2015)

Düşük	Yüksek
Domates	Bitkisel yağlar
Portakal suyu	Katı yağlar
Meyveler	Kızartmalar
Sebzeler; fasulye,mısır,bezelye	Kabuklu deniz rnleri
Pirinç	Tütsülenmiş etler
Yulaf ezmesi	Mangalda ızgara etler
Ekmek	Kavrulmuş kahve
Mercimek	ay
orbalar	Patates cipsleri
	Mayonez

Füme ve ızgara edilmiş gıdalar olağan diyetin büyük bir bölümünü oluşturuyorsa PAH'ların alımında önemli ölçüde katkıda bulunduğu ifade edilmektedir. Tercihen yağsız et ve balık seçmek ve mangal yapmak için gıdaların ateşe temas etmesinden kaçınmak, ızgara için daha az yağ kullanmak ve daha uzun süre daha düşük sıcaklıkta pişirmek gibi basit uygulamalar, PAH'lardan kaynaklanan gıda kontaminasyonunu önemli bir ölçüde azalttığı belirtilmiştir. Kahve ve kakao çekirdekleri ile çay yapraklarının kurutulması ve kavrulması esas olarak uygun olmayan bir kurutma işlemine tabi tutulanların PAH içeriğini artırabildiği belirtilmiştir (Lawal 2017).

PAH'ların normal veya ortalama bir insan diyeti ile ilişkili alım seviyesini ve ana maruz kalma/kontaminasyon kaynaklarının neler olduğunu belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Örneğin Birleşik Krallık'ta yaşayan insanların diyetlerinin analizinde PAH'ların başlıca tahıllardan (yaklaşık üçte biri) ve ayrıca sıvı ve katı yağlardan (bunların da üçte biri) geldiği bildirilmiştir (Dennis vd. 1983). Aynı çalışmada meyveler, sebzeler ve şekerlerin geri kalan PAH maruziyetinin çoğuna katkıda bulunduğu, bununla birlikte, et, balık, süt ve içeceklerin katkılarının nispeten düşük olduğu, bunun Birleşik Krallık'taki öngörülemeyen yaz havası nedeniyle, mangalda yemek yemenin nüfusun çoğu için nadir bir aktivite olmasından kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Buna göre günlük toplam 1.46 kg yiyecek ve içecek tüketimi temel alındığında, diyetteki günlük toplam PAH yükünün 3.70 µg olarak hesaplandığı bildirilmiştir (Phillips 1999).

Hollanda diyetiyle ilgili benzer bir çalışmada, tespit edilen bileşiklerin spektrumunun Birleşik Krallık'taki çalışmada belirlenen PAH'larla aynı olmamasına rağmen günlük ortalama PAH alımının 5 ile 17 µg /gün olduğu rapor edilmiştir (De Vos vd. 1990). Hollanda diyetlerinde tespit edilen bileşiklerin toplamın en az yarısının kanserojen etkinliği bulunduğu ve ana kaynaklarının tahıl ürünleri olduğu, bitkisel yağ ve yağ ürünlerinin de önemli ölçüde katkıda bulunduğu belirtilmektedir (Phillips 1999).

Kuzey ve Güney Avrupa'nın beslenmesi arasında birçok fark olmasına rağmen İtalyan beslenmesinin analizinin de benzer PAH kaynakları ve seviyelerini gösterdiği belirtilmiştir (Lodovici vd. 1995). Toplam günlük alımda en yüksek katkının tahıllar ,

sebzeler ve meyvelerden ayrıca et ve sütlerden geldiği tahmin edilmektedir. Bileşiklerin kısmen yüksek seviyelerinin fırında pişmiş pizza ve mangalda pişirilmiş kırmızı ette bulunduğu belirtilmektedir. PAH'ların günlük toplam alımı 3 µg/gün olarak belirtilmiştir (Phillips 1999). Yeni Zelanda da beslenme ile alınan günlük PAH miktarı 1.2 µg/gün olarak tahmin edilmektedir (Thomson vd. 1996).

Türkiye piyasasından alınan bitkisel yağ ve tereyağ örneklerinde PAH miktarının belirlenmesiyle ilgili bir çalışmada bitkisel yağ olarak zeytinyağı, palm yağı, badem yağı, ay ı ek yağı, kahve yağı ve fındık yağından toplam 15 örnek alındığı belirtilmiştir. Çalışmanın 4 PAH yani benza(a)anthrasen, krisen, benzo(b)floranthen ve benzo(a)piren miktarlarının toplamını belirlemek için yapıldığı belirtilmiştir. Analizler sonucunda bu 4 PAH toplam miktarının en yüksek ay ı ek yağında 20.76 µg/kg olup sırasıyla zeytinyağı 9.51 µg/kg, palm yağı 6.05 µg/kg, kahve yağı 5.25 µg/kg ve badem yağı 1.95 µg/kg olduğu belirtilmiştir. Analizi yapılan tereyağlarında ise PAH'lara rastlanmadığı ifade edilmiştir. Bu  alışmayla Ay ı ek yağı hariç diğer örneklerin Türk Gıda Kodeksine uygun olduğu belirtilmiştir (Kıralan ve Toptancı 2019).

2.1.3 Süt ve PAH

Süt dişi memelilerin meme bezlerinin salgısı olup genellikle her genç memeli için önemli bir gıda kaynağıdır (şekil 2.2). Sütün fonksiyonu beslemek ve bağışıklığın korunmasını sağlamaktır. İnek, manda, koyun, keçi ve deveden elde edilen sütler dünyanın çeşitli bölgelerinde insan tüketimi için kullanılmaktadır. Dünyadaki insan nüfusunun çoğunluğunun tüketimi için işlenen sütün büyük bir bölümünü inek sütü oluşturmaktadır (Robinson 2002).



şekil 2.2 Gıda kaynağı olan süt ( nal ve Bayhan 1993)

Süt çeşitli durumlarda yaklaşık 100.000 farklı moleküler tür içeren karmaşık biyolojik bir sıvı olarak belirtilmiş ama bu türlerin çoğu tanımlanamamıştır. Sütün başlıca bileşenlerinin çoğu proteinler, laktoz, yağ ve mineraller olarak ayrılmakta ve diğerlerine nazaran süttten kolay izole edilebildiği ifade edilmektedir (Robinson 2002).

Süt doğal haliyle kolay bozulabilen bir maddedir çünkü doğal olarak oluşan enzimlerin ve kontamine mikroorganizmaların etkisiyle hızlı bozulmaya karşı hassas olmaktadır. Yıllardır süttü uzun süre korumak için ve süttten yararlanımı ve güveni artırmak için pekçok işlem geliştirilmiştir. Süt bir dizi işleme teknolojisiyle çeşitli süt ürünlerine dönüştürülebilmektedir. Bunlar geleneksel peynirler, yoğurtlar, tereyağı ve sürülebilir ürünler, dondurma, sütlü tatlılar ve aynı zamanda yağ içeriği azaltılmış ve sağlığı destekleyen bileşenler içeren yeni süt ürünlerini içermektedir (Robinson 2002).

Sütün başlıca bileşeni su olup diğerleri yağ, laktoz ve proteindir (kazein ve peynir altı suyu proteini). Süt daha az miktarda mineraller, spesifik kan proteinleri, enzimler ve meme sentezinin küçük ara ürünlerini içermektedir (Robinson 2002).

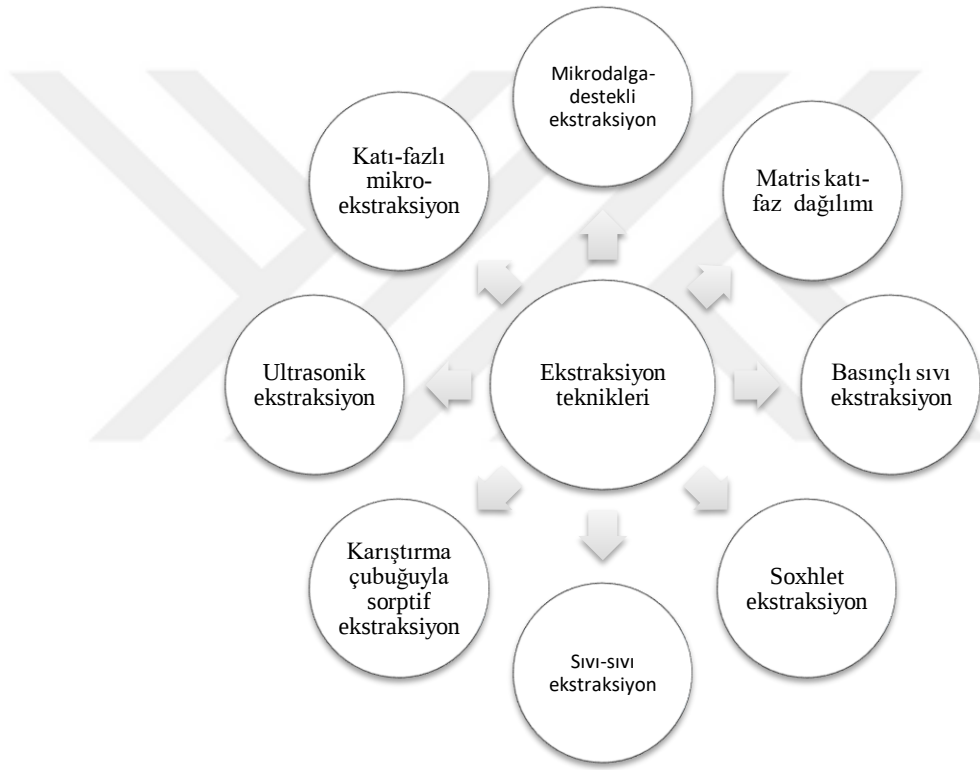
PAH'lar lipofilik bir yapıya sahip olduklarından gıda zincirinde özellikle daha yüksek yağ içeriğine sahip gıdalarda birikebilmektedir. Süt ve süt ürünleri gibi hayvansal kaynaklı gıdalar, başlıca PAH kaynakları olarak bilinmektedir (Amırdıvanı vd. 2018).

PAH bileşiklerinin süt ürünlerinde bulunmasının sebebi teknolojinin gelişmesiyle ilişkilendirilmiştir. Süt tozlarında ölçülen PAH miktarının dolaylı kurutmayla veya elektrikli kurutmayla azaldığı belirtilmektedir (Ünal ve Bayhan 1993).

Sütün PAH'larla kontaminasyonu çevresel faktörler olan yetiştirme sistemiyle ilgili (yem ve potansiyel kontamine toprak, laktasyon aşaması ve sürünün tıbbi durumu) ve geviş getiren hayvanların laktasyon sürecinde maruziyet kaynağı; otlatma sırasında yutma, dermal temas yoluyla emilimi veya kontamine olmuş havanın solunmasına bağlı olduğu belirtilmiştir. Sütlerin PAH seviyeleriyle ilgili literatürde bazı veriler mevcuttur.

İnek sütüyle ilgili çalışmalarda PAH'ların yemden süte geçişinin tespit edildiği belirtilmiştir (Naccari vd. 2011).

PAH bileşiklerinin belirlenmesi örnekleme sonrasında oluşan matrislerden özütleme, özütlenen numunenin arındırılması ve enstrümantal tespit gibi birçok basamaktan oluşan bir işlem gerektirmektedir (Günç Ergönül ve Kaya 2015). Süt ve süt ürünlerinde PAH'ların analizinde kullanılan ekstraksiyon teknikleri Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3 Süt ve süt ürünlerinde PAH'ların analizinde kullanılan ekstraksiyon teknikleri (Amırdıvanı vd. 2018)

İtalya'da yapılan bir çalışmada süt örneklerinde PAH seviyelerinin miktarı belirlenmiştir. Çiğ pastörize, yarım yağlı ve tam yağlı UHT sütlerde araştırma yapılmış ve 16 PAH'tan 8 tanesinin tespit edildiği belirtilmiştir. Sütlerin toplam PAH konsantrasyonları küçükten büyüğe çiğ süt (5.428 ng/g), yarım yağlı UHT süt (5.941

ng/g), pastörize süt (6.519 ng/g) ve tam yağlı UHT süt (7.753 ng/g) olarak belirlenmiştir (Naccari vd. 2011).

PAH'ların konsantrasyonları ve profilleri Nijerya pazarındaki 20 popüler ticari süt markasında etanolik potasyum hidroksit ve sikloheksan ekstraksiyonu ve alev iyonizasyon algılamalı gaz kromatografisi kullanılarak temizleme sonrasında belirlendiği ifade edilmiştir. Bu süt markalarındaki 16 PAH'ın toplam konsantrasyonları 15.6 ile 1711.8 µg/kg arasında ölçüldüğü belirtilmiştir. Bu süt markalarında baskın PAH bileşiklerinin 3 ve 4 halkalı PAH'lar olduğu ifade edilmiştir (Iwegbue ve Bassey 2013).

Süt'ün kaynatılmasıyla PAH seviyesinin değişimini araştıran bir çalışmada çiğ süt örnekleri için kaynatma ile PAH seviyesinin düştüğünü göstermiş ve kaynatma süresinin artmasıyla PAH seviyesinin daha etkili bir şekilde düştüğünü göstermiştir (Abou-Arab vd. 2014).

2.1.4 Yoğurt ve PAH

“Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri” tebliği'ne(2022) göre yoğurdun fermentasyonuna özgü starter kültürler olan *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*'tan beraber yararlanıldığı, inkübasyondan sonra pıhtısıyla karıştırılıp kırılmamış veya kırılmış şekilde elde edilen ve son tüketim tarihinde yeterli miktarda canlı ve aktif starter bakteri bulunduran fermente süt ürününü ifade ettiği belirtilmektedir. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* geleneksel olarak süttten yoğurt üretmek için glikozu önce pirüvik asite sonra laktik asite çevirerek kullanılan iki laktik asit bakterisidir (Battisti vd. 2014).

Süttten yoğurt eldesi sırasında fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Bu farklılıklar süttün ısıtılması ve homojenizasyonu vb. fiziki işlemlerin yanı sıra yoğurt bakterileri *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*'un protein, laktoz, yağ vb. gıda maddelerini fermentasyon sayesinde oluşturmaktadır (Özdemir ve Bodur 1994). Yoğurt protein, kalsiyum, potasyum, fosfor, magnezyum,

Çinko ve B vitaminlerinden riboflavin, niasin, B₆ vitamini(piridoksin) ve B₁₂ vitamini içeriği yönünden zengin bir üründür (Adolfsson vd. 2004).

Süt ve süt ürünleri mükemmel kalsiyum kaynağı olduğundan fonksiyonel gıdalar olarak adlandırılırlar. Fermente süt ve yoğurt iyi vitamin ve mineral kaynağı olarak nitelendirilmekte ve aynı zamanda ek sağlık yararlarını uygulayabilecek laktik asit bakterilerini içerdikleri belirtilmektedir (Plessas vd. 2012).

Probiyotik gıdaların çoğu *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Bacillus* ve *Saccharomyces* maya cinsine ait mikroorganizmaları içermektedir. Probiyotikler aflatoksinler gibi mutajenlere ve karsinojenlere bağlanarak onları degrade eder. Probiyotik bakteriler *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon ürünleri için antimutajenik ve antikarsinojenik aktivite sağlamaktadır (Pop vd. 2022).

Yoğurt, probiyotik içeren gıdaların en çok bilinenlerinden birisidir. Yoğurt retiminde birkaç Laktik asit bakterisinin (LAB) kullanıldığı belirtilmektedir (Adolfsson vd. 2004). LAB en önemli probiyotik mikroorganizmalardır ve insanlar tarafından sindirildiğinde faydalı sağlık etkilerine sahiptir. Gıda endüstrisinde oldukça yaygın kullanılmaktadır. LAB'ın bağlanma yeteneği belgelere dayanmaktadır (Hongfei vd. 2013).Yoğurt probiyotiklerinin (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda bağırsak mikroflorasındaki etkilenmiş *Bifidobacterium*'u yeniden onararak koruyucu etkisini gösterdiği belirtilmiştir (Pop vd. 2022).

Fermente süt ürünlerinde kültür koşulları, suş seçimi, inokulasyon seviyesi, fermentasyon ortamının bileşimi, türler arasındaki etkileşimler, nihai asitlik derecesi, besinlerin varlığı, gelişmeyi hızlandıranlar ve engelleyenler, şeker konsantrasyonu, çözünmüş oksijen, inkubasyon ve muhafaza sıcaklığı ve fermentasyon zamanı gibi çeşitli faktörler probiyotiklerin yaşamını etkileyebilmektedir (Plessas vd. 2012).

Probiyotik yoğurtlar için özellikle içerdiği canlı bakteri sayısı ve pH değeri için birçok düzenleyici gereklilik vardır. Birçok çalışma, yoğurttaki probiyotiklerin hayatta kalabilmesinin tavsiye edilen günlük alım için ihtiyaç duyulandan daha düşük olduğunu göstermektedir. Probiyotik yoğurtlarda depolama esnasında probiyotik büyüme ve yaşayabilirliğini desteklemek ve son ürünün duyusal özelliğini geliştirmek için süt takviyesi gibi çeşitli uygulamalar önerilmektedir (Plessas vd. 2012).

Çeşitli raporlar sütün PAH kontaminasyonunu doğrulasa bile yoğurtla ilgili verilerin eksik olduğu belirtilmiştir. Yoğurttaki varlığı ve düzeyi sınırlı sayıda çalışma olduğundan dolayı çok iyi bilinmemektedir (Kaçmaz 2019).

Türkiye'deki perakende yoğurt örnekleriyle yapılan bir çalışmada dört PAH türüne bakılmıştır. Bunlar; benz(a)anthrasen, krisen, benzo(b)floranthen ve benzo(a)piren olmaktadır. Bu örneklerde krisen en yaygın PAH olarak görülmesine rağmen tüm verilerde PAH'ların yoğurtlarda oldukça düşük seviyelerde (1 µg/kg 'dan daha düşük) olduğu belirtilmektedir (Kaçmaz 2019).

Bir çalışmada örneklerdeki PAH konsantrasyonu, örneklerin yağ içeriğiyle doğrudan ilişkilendirilmiş ve yüksek yağlı yoğurtta daha yüksek düzeyde PAH'lar tespit edildiği belirtilmiştir. Dahası, *Bifidobacterium bifidum*'un varlığının örneklerdeki PAH'ların düzeyini azalttığı tespit edilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından LAB'ın ve probiyotiklerin PAH bileşiklerine hücre duvarı bileşenleri vasıtasıyla bağlanabildiğini göstermiştir (Amırdıvanı vd. 2018).

Başka bir çalışmada ise probiyotik ve LAB hücrelerinin BaP'a bağlanma yüzdesinin, LAB olmayan hücrelere kıyasla iki kat olduğu belirtilmiştir. Probiyotik ve LAB hücrelerinin oral uygulamada BaP'ın *in-vivo* uzaklaştırmasında ve ayrıca BaP'ın gıda sistemlerinden uzaklaştırılmasında etkili olduğu ifade edilmiştir. Probiyotik suşların BaP'ın uzaklaştırılmasında çok etkili olduğu ayrıca toksik etkilerinin ve potansiyel olumsuz sağlık etkilerinin olmadığı belirtilmiştir (Shoukat 2020).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Yoğurt yapmak için kullanılan inek sütleri bir süt işletmesinden temin edildi. Yoğurt mayalamak için kullanılan starter kültürler ise Ankara'nın köylerinde yoğurt mayalamak için kullanılan yoğurt mayası, marketlerde satılan yoğurtlardan temin edilen maya ve ticari olarak yoğurt mayalamak için satılan 2 ticari marka (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*, *Bifidobacterium infantis M-63*, *Bifidobacterium bifidum BGN4* ve Galakto-oligosakkarit(GOS) ve *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactics* ve *Streptococcus thermophilus*) kullanıldı.

3.2 Yöntem

Analiz için 4 grup yoğurt kullanıldı. Birinci grup yoğurt köy mayası, ikinci grup market yoğurdu mayası ve diğer 2 gruba da ticari yoğurt kültürleri katıldı. Her grup yoğurt, bir grubu kontrol olmak üzere 4 alt gruba ayrıldı ve her birine 4 PAH bileşiğinden eşdeğer miktarda toplam 50, 100 ve 200 ppb PAH katıldı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Deneme planı ve yoğurt grupları

Grup/ Altgrup	Katılan PAH konsantrasyonu (µg/kg)				Toplam PAH
	Benzo(a)piren	Benzo(a)anthrasen	Benzo(b)floranthen	Krisen	
1a	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
1b	12.5	12.5	12.5	12.5	50
1c	25	25	25	25	100
1d	50	50	50	50	200
2a	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
2b	12.5	12.5	12.5	12.5	50
2c	25	25	25	25	100
2d	50	50	50	50	200
3a	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
3b	12.5	12.5	12.5	12.5	50
3c	25	25	25	25	100
3d	50	50	50	50	200
4a	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
4b	12.5	12.5	12.5	12.5	50
4c	25	25	25	25	100
4d	50	50	50	50	200

3.2.1 Yoğurt yapımı

Yoğurtlar geleneksel yoğurt yapımı metoduyla yapıldı. Yoğurt yapımı için 4'er tencereye 1200 ml çiğ inek sütü eklendi. Süt örneklerine 4 PAH bileşiğinden eşdeğer miktarda hazırlanan çözeltiden sırasıyla 25, 50, 100 μ L olacak şekilde 3 tencereye PAH eklenip karıştırılarak 30 dakika bekletildi. Diğer tencereye PAH eklenmemiştir. Süt kaynatılırken sürekli termometreyle sıcaklığı ölçüldü ve kaynadıktan sonra 40-45 °C'a düşürüldü. Bu farklı PAH bileşimindeki 4 örnek 300 ml olacak şekilde 4 kavanoza bölünüp her bir örneğe 4 farklı starter kültürü (köy yoğurdu mayası, piyasa yoğurt mayası, 2 tane farklı marka ticari yoğurt kültürü) eklenip karıştırıldı. Toplamda 16 kavanoz örnek oluşturuldu (Şekil 3.1). Bu yoğurt örnekleri 24 saat oda sıcaklığında (+24°C) mayalanmaya bırakıldı. Sonra 24 saat +4°C buzdolabında dinlendirildi.



Şekil 3.1 Yoğurt örneklerinin mayalanması

3.2.2 pH tayini

Çiğ inek sütünün pH değeri, pH metre (HI981034, Hanna, Amerika Birleşik Devletleri(ABD)) kullanılarak ölçülmüştür. pH metrede çıkan sonuç okunmuştur (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 pH metre

3.2.3 Kuru madde tayini

Sütün kuru madde tayini el refraktometresiyle yapılmıştır. Sıfır ayarı için, refraktometre (Lokya, Türkiye) prizmasının üst bölümü açılıp pastör pipetiyle birkaç damla su damlatıldıktan sonra prizma kapatılmıştır. Refraktometre ışık kaynağına ya da güneşe tutularak kuru madde skalasından % çözünür kuru madde (brix) değeri okunmuştur. Prizma yüzeyi temizlendikten sonra refraktometre prizmasının üst bölümü açılıp pastör pipetiyle birkaç damla iyi bir şekilde karıştırılmış süt numunesinden damlatıldıktan sonra prizma kapatılmıştır. 1 dakika bekledikten sonra refraktometre güneşe veya ışık kaynağına tutularak kuru madde skalasından % çözünür kuru madde (brix) değeri okunmuştur (Yüksel 2016). (Şekil 3.3 ve Şekil 3.4)



Şekil 3.3 Refraktometre



Şekil 3.4 Refraktometre Skalası

3.2.4 Asitlik tayini

Çiğ inek sütünde asitlik tayini % asitlik tayini yöntemiyle laktik asit cinsinden hesaplanmıştır. İlk olarak analizde kullanılan fenolftalein çözeltisi (% 1'lik), 1 g fenolftalein % 96'lık alkol içinde eritilip 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. İyi bir şekilde karıştırılan çiğ inek sütü örneğinden 20 ml alınıp 250 ml'lik erlene boşaltılmıştır. 20 ml saf su pipetle çekilip erlendeki sütün üzerine aktarılmıştır. Sonra üzerine 1 ml fenolftalein çözeltisi eklenmiştir. 0,1 N NaOH bürete doldurulup, 0,1 N NaOH çözeltisiyle pembe renk oluşana kadar titrasyon yapılmıştır. Sonuç aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Anonim 2012).

$$\text{Süt asitliği}(\%) = \frac{V \times 0,009}{m} \times 100$$

V = Harcanan 0,1 N NaOH çözeltisinin miktarı (ml)

m = süt numunesinin miktarı (ml)

3.2.5 Polisiklik aromatik hidrokarbonların analizi

Çalışmada kullanılan tüm çözücüler HPLC saflığında temin edildi. PAH analitik standartları [benzo(a)piren, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen ve krisen] ≥ 95 saflığında olup Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Almanya)'dan satın alındı. Susuz magnezyum sülfat ($MgSO_4$), asetonytril ve n-hekzan Sigma Aldrich (Steinheim, Almanya)'ten primer-sekonderamin (PSA) ve C18 SPE adsorbanları Agilent (Santa Clara, ABD)'den temin edildi. Stok standart çözeltileri ve internal standart asetonytrilde hazırlanıp $-20^{\circ}C$ saklanmıştır. SPE için hazırlanan cam pastör pipeti 0,5 g C18, 0,5 g PSA ve 0,1 $MgSO_4$ ile hazırlandı.

Yoğurtların özütlenmesi için daha önce Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji laboratuvarında yarasalardaki kirleticilerin analizinde kullanılan yöntem modifiye edilerek kullanıldı (Kuzukiran vd. 2021). Buna göre, yoğurt örnekleri 1'er g olarak tartılıp homojenize edildi. Cam tüplerin içinde internal standart eklendikten sonra cam boncuk eklenip vortekslenerek homojenize olmaları sağlandı (Şekil 3.5) Devamında tüplere 4 ml n-hekzan eklenerek 15 dakika vorteks ile karıştırıldı. Hemen ardından 5 dakikalık sonik banyo uygulandı (Şekil 3.6). Daha sonra örnekler $-20^{\circ}C$ 'de 10 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüj edildi. Üstte kalan kısım alınıp temiz tüplere aktarıldıktan sonra her örnek için süpernatant ayrılma işlemine kadar olan işlemler ikinci ekstraksiyon için tekrar edildi. Ayrı tüpte toplanan yaklaşık 8 ml süpernatant içine 1 g $MgSO_4$ katılarak elle çalkalandıktan sonra santrifüj edilerek su moleküllerinden arındırıldı. Süpernatantlar ayrı tüplere aktararak azot akımı altında $35^{\circ}C$ 'de 2 ml kalana kadar uçuruldu. Kalan kısmın üzerine 2 ml asetonytril karıştırılarak 10 saniye boyunca hafifçe vortekslendi ve 1 ml solvent kalana kadar uçurma işlemine devam edildi. Önceden hazırlanan SPE kolonları 3×1 ml asetonytril ile şartlandırıldıktan sonra örneklerin süzülmesi tamamlandı. Örnekler kolondan geçirildikten sonra 3×1 ml asetonytril ile kolonun yıkaması yapılarak temiz bir tüpte toplanan son ürün azot akımı altında $35^{\circ}C$ 'de tamamen kurutuldu. Kalıntı 100 μ l asetonytril ile toplanarak GC-MS cihazına uygulandı.



Şekil 3.5 Vorteks



Şekil 3.6 Sonik banyo

Analitlerin ayrımı için DB- 5MS kapillar kolon ($30\text{m} \times 0,25\text{mm i.d.}$, $0,25\text{ }\mu\text{m}$ film kaplı) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, Amerika Birleşik Devletleri) ve Thermo Finnigan Trace GC Polaris Q gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC-MS) (San Jose, California, ABD) kullanıldı ve cihaz splitless modda çalıştırıldı. Dedektör sıcaklığı 250°C , transfer hattı 270°C ve enjeksiyon portu sıcaklığı 280°C 'ye ayarlandı. Mobil faz için analitik saflıkta helyum gazı ($\%99,995$), akış hızı $1,0\text{ ml/dk}$ olacak şekilde tutuldu. Program ayarları Kuzukiran vd. (2021), tarafından kullanılan yöntemle göre seçildi.

Başlangıç aşamasında GC-MS'in fırın sıcaklığı 70°C 'de 2 dakika kalacak şekilde ayarlandı. Önce dakika'da 25°C artacak şekilde 150°C 'ye, sonra dakika'da 5°C artacak şekilde 200°C 'ye gelecek şekilde belirlendi. Bu sıcaklıkta 5 dakika bekletildikten sonra dakika'da 5°C artarak 270°C 'ye geldi ve beklemeksizin dakika'da 25°C artacak şekilde 290°C 'ye geldi. Bu sıcaklıkta 7 dakika bekletildi. Programın toplam süresi 44 dakika olarak kayıt edildi. Solvente ait pikin atlanması için solvent gecikme zamanı 11 dakika olarak tutuldu. Kütle taraması için 70 eV enerji uygulanarak $100\text{-}800\text{ m/z}$ değerleri arasındaki iyonların taranması sağlandı. PAH'ların tespiti bir niceleyici ve iki tanımlayıcı iyon kullanılarak Seçici İyon Görüntüleme (SIM) moduna göre hesap edildi ve doğrulandı.

Yarasalardaki kimyasal kirliliklerin araştırılmasında kullanılan yöntem yoğurtların PAH kirlilik yükünü belirlemek için modifiye edildiğinden kullanılan yöntem önce valide edildi. Validasyon için Eurachem Rehberi kullanıldı (Magnusson ve Ornemark, 2014). Böylece seçicilik (selektivite), doğrusallık (linearite), doğruluk, kesinlik, tespit limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) parametreleri belirlendi. Yöntemin validasyonu için homojenize yoğurtlardan yararlanıldı. Yöntemin doğrusallığı 8 konsantrasyonla (1, 2, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/kg) yapıldı. Her bileşiğin matriks etkisini hesaplamak için matriks/solvent eğrisi oranı ölçüldü. Analiz edilecek bileşiklerin LOD ve LOQ değerleri belirlendi (sırasıyla standart eğrinin 3 ve 10 katı). Kesinlik, tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik olarak tespit edildi. Bunlar dört günde altı değişik yoğunlukta ve altı tekrarla konfirme edildi. Sonuçlar %RSD (relative standart deviation) cinsinden belirtildi. Doğruluk 3 farklı konsantrasyonda (10, 50 ve 200 µg/ kg) recovery olarak hesaplandı. Her konsantrasyon on kez tekrar edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 pH Tayini Sonuçları

İnek sütünün pH değeri, pH metreyle '6.68' olarak belirlenmiştir. Sütün pH değeri ürün randımanı ve kalitesiyle ilgili birçok bilgi verir. Taze sütün pH değeri yaklaşık olarak belirlenmiştir. Yeni sağılmış inek sütünün pH değeri 6.6 ve 6.8 arasında olmalıdır fakat bu değerden sapmalar olabilmektedir. pH 6,5'ten düşük ise ağız sütü (kolostrum) olduğundan şüphelenilir çünkü kolostrum sütünün normal süte göre pH'ının daha düşük olduğu ve bu değer 6 olduğu belirtilmiştir. Laktasyon süreci sonunda sütün pH değeri genel olarak az da olsa artmaktadır. pH 6.8'den yüksek ise mastitis hastalığı veya süte nötralize edici madde eklendiğinden şüphe edilir. Mastitisli sütlerde pH artarak 7,5'e kadar ulaşabilmektedir. (Çetiner 2018, Coşkun ve Çağlar 1997) .

Çelikel Güngör vd. (2020) Mardin'de çiğ inek sütüyle yaptıkları çalışmada en düşük pH 6.28, en yüksek pH 6.80 ve ortalama pH 6.56 olarak bildirilmiştir. Burdur ilinde 100 farklı çiğ inek sütü örneğiyle yapılan çalışmada, pH değerleri en düşük 5 , en yüksek 7 ve ortalama olarak 6.74 olduğu bildirilmiştir (Taşçı 2011).

Adıyaman'da çiftlik ve sokak sütleriyle yapılan bir araştırmanın pH sonuçları bildirilmiştir. Çiftlik sütlerinde değerler 6.59 ve 6.63 aralığında değişirken sokak sütlerindeki değerler 6.41 ve 6.56 aralığında olduğu belirtilmiştir (Akın vd. 2016).

Çanakkale ili Yenice ilçesinde çiğ inek sütü örnekleri kullanılarak yapılan bir çalışmada pH değerleri bildirilmiştir. Bu değerler en düşük 5.73, en yüksek 7.03 ve ortalama değerin 6.75 olduğu belirtilmiştir (Özdikmenli Tepeli ve Zorba 2017).

İnek sütü pH metreyle ölçüldüğünde çıkan değer '6.68' olmuştur. Çelikel ve Güngör vd.(2020) ve Akın vd. (2016)'nın yaptığı çalışmalarda ortalama pH değeri pH metreyle bulunan değerden küçüktür. Taşçı (2011) ve Özdikmenli Tepeli ve Zorba

(2017)'nin çalışmalarındaki ortalama pH değeri pH metreyle ölçülen değerden büyüktür.

Sütlerdeki pH değerlerinin farklı olması ağız sütü, laktasyon dönemi, mastitis hastalığı veya süte nötralize edici madde katılmasından kaynaklanabilmektedir (etiner 2018, Coşkun ve ağlar 1997).

4.2 Kuru Madde Tayini Sonuçları

Sıfır ayarı için , refraktometreyle suyun % çözünür kuru madde (brix) değeri '0' olarak okunmuştur. Refraktometreyle sütün % çözünür kuru madde (brix) değeri '10' olarak okunmuştur.

Refraktometreyle süte su katma hileleri, yağsız sütün kuru maddesi, süt serumunun laktoz miktarı, iyot sayısı ve süt yağının kırılma indisi belirlenebilmektedir (Demirci vd. 2010, etiner 2018).

Sütün kuru madde değeri mevsimlere göre değişebilmektedir. Genel olarak yaz aylarında diğer aylara göre daha düşüktür. Laktasyon süresince ilk 3 ayda sütün yağsız kuru madde değeri düşüş, sonraki aylarda artış göstermiştir. Çevrenin aşırı sıcak ve soğuk olması ve hayvan ırkı da sütün kuru madde değeri üzerinde etkilidir. Kurak geçen yıllarda inek sütlerindeki yağsız kuru madde miktarı azalır (Terzi Gülel 2019a).

Refraktometre ile okunan değer (%) yağsız kuru madde değeridir (etiner 2018). Türk Gıda Kodeksi içme sütleri (2019) tebliğine göre inek sütü için % yağsız kuru madde en az '8' olarak bildirilmiştir. % yağsız kuru madde değerinin % 8 den düşük olması süte su katıldığının bir göstergesidir (Mert vd. 2020). Refraktometreyle sütün brix değeri '10' olarak okunmuş ve bu değer 8'den büyük olduğu için Türk Gıda Kodeksine uygundur.

Anonim (2012)'de yapılan analizler sonucunda inek sütünde farklı ırkların % kuru madde değerleri verilmiştir. Yerli kara için en az 9.30, en çok 18.99 ve ortalama değerin 14.31 olduğu belirtilmiştir. Doğu kırmızısı için en az 10.99, en çok 17.46 ve ortalama değerin 14.06 olduğu belirtilmiştir. Boz ırk için ise en az 11.08, en çok 17,62 ve ortalama değerin 13.94 olduğu belirtilmiştir.

Mardin'de satışa sunulan 40 çiğ inek sütüyle yapılan bir çalışmada sütlerin % yağsız kuru madde değerleri verilmiştir. En düşük değer % 8.34, en yüksek değer % 9.89 ve ortalama değer ise % 8.89 olduğu belirtilmiştir (Çelikel Güngör vd. 2020).

Akın vd. (2016) Adıyaman'da çiftlik ve sokak sütlerinde mevsimsel farklılıkları ortaya koyan bir çalışmada sütlerin yağsız kuru madde (%) değerleri verilmiştir. Çiftlik sütlerinde mevsimsel ortalama olarak en düşük %8.58 yaz sütlerinde olurken en yüksek değer %9.25 ile kış sütlerinde olduğu belirtilmiştir. Sokak sütlerinde en düşük değer %7.62 yaz sütlerinde belirlenirken en yüksek değer %8.42 kış sütlerinde bildirilmiştir.

Burdur'da 2011 yılında yapılan bir çalışmaya göre 100 çiğ inek sütü örneği alınmış ve yağsız kuru madde (%) değerleri en düşük 5, en yüksek 11 ve ortalama 8.42 olarak belirtilmiştir (Taşçı 2011). Sucak vd. (2020) çiğ ve UHT inek sütlerinde kimyasal parametre değişimlerinin tespiti üzerine yapılan bir çalışmada % yağsız kuru madde değerleri ortalama %9.29 olduğunu bildirmişlerdir.

Refraktometre ile ölçülen % yağsız kuru madde '10' olarak bulunmuştur. Bu değer Anonim(2012)'de yapılan analizler sonucu ölçülen ortalama değerden düşük; Çelikel Güngör vd.(2020) ve Akın vd.(2016)'nın çalışmalarında bulunan tüm değerlerden yüksek; Taşçı (2011) ve Sucak vd. (2020) çalışmalarının ise ortalama değerlerinden yüksektir.

Sütlerdeki % yağsız kuru madde değerlerinin farklı olması süte su katılması, mevsim, çevre sıcaklığı, laktasyon süreci, kuraklık ve mastitis hastalığından kaynaklanabilmektedir (Terzi Gülel 2019a,b).

4.3 Asitlik Tayini Sonuçları

Asitlik tayini laktik asit cinsinden hesaplanmıştır. 0,1 N NaOH çözeltisiyle pembe renk oluşana kadar titrasyon yapıp değer ml cinsinden ‘3,4’ olarak okunmuştur. Sonuç aşağıdaki formülle hesaplanmış ve ‘% 0,153’ bulunmuştur.

$$\text{Süt asitliği(\%)} = \frac{3,4 \times 0,009}{20} \times 100 = 0,153$$

Sütün asitlik derecesi taze veya normal olup olmadığı hakkında bilgi verir (Çetiner 2018). Laktik asit cinsinden asitliğin %0.2 den fazla olması mikrobiyal gelişimin çok olduğunu ve böylece çiğ sütün kalitesinin yetersiz olduğunu göstermektedir (Akın vd. 2016).

Sütte asitliğe birçok faktör etki eder. Bunlardan biri laktasyon sürecidir. Laktasyon sürecinin başlarında asitlik biraz yüksek seyrederken, laktasyon sürecinin 2. ayında normale döner ve sonlarında ise azalır bazen alkali reaksiyon bile gösterebilmektedir (Terzi Gülel 2019a). Şap, mastitis, çiçek ve meme tüberkülozu gibi hastalıklar sütün asitliği düşürmektedir. Bazı mastitisli sütler alkali özellik gösterebilmektedir. Süte katılan nötrale edici maddeler (karbonat vb.) asitliği düşürmektedir (Terzi Gülel 2019b).

“Türk Gıda Kodeksi içme sütleri (2019)” tebliğine göre inek sütünde asitlik % süt asidi 0.135-0.2(m/v) olarak bildirilmiştir. Asitlik tayininde, süt asitliği % 0.153 olarak bulunmuş ve bu değer % 0.135-0.2 aralığında olduğu için Türk Gıda Kodeksine uygundur.

Çelikel Güngör vd. (2020) Mardin’de çiğ inek sütüyle yapmış oldukları çalışmada % laktik asit cinsinden asitlik değerleri en düşük 0.133, en yüksek 0.276 ve ortalama değer 0.191 olduğu bildirilmiştir.

Akın vd. (2016) Adıyaman’da çiftliklerden ve sokaktan alınan çiğ sütlerden yapılan çalışmada titrasyon asitliği (%laktik asit) değerleri çiftlik sütlerinde ortalama olarak en düşük % 0.161, en yüksek ise % 0.170 olarak belirtilmiştir. Sokak sütlerinin ortalama değerleri en düşük %0.182, en yüksek %0.220 olduğu bildirilmiştir.

Taşçı (2011) Burdur’da çiğ inek sütü kullanarak 100 farklı örnekle bir çalışma yapmıştır. Titrasyon asitliği (% laktik asit) verileri en düşük 0.15, en yüksek 0.27 ve ortalama değer ise 0.18 olarak ölçülmüştür.

Hossain ve Dev (2013) tarafından Bangladeş’in 61 farklı çiğ süt örnekleriyle yapılan çalışmada titrasyon asitliği değerleri bildirilmiştir. En düşük değer % 0.14 , en yüksek değer %0.15 ve ortalama değer %0.14 olduğu belirtilmiştir.

İnek sütü asitliği % laktik asit cinsinden ‘0.153’ bulunmuştur. Bu değer Çelikel Güngör vd. (2020) ve Taşçı (2011)’nin yaptığı çalışmalarda buldukları ortalama değerden düşük; Akın vd. (2016)’nin çalışmasındaki tüm değerlerden düşük; Hossain ve Dev (2013)’in çalışmasında bulunan tüm değerlerden yüksektir.

Sütlerdeki % laktik asit cinsinden değerlerin değişkenlik göstermesi laktasyon süreci, şap, mastitis, çiçek ve meme tüberkülozu vb. hastalıklar ve süte nötralize edici madde katılmasından kaynaklanabilmektedir (Akın vd. 2016 ve Terzi Gülel 2019a, b).

4.4 PAH Tayini Sonuçları

Doğrusallık (linearity) hesaplaması için yapılan spike örneklerinde korelasyon katsayıları (r^2) 0,993-0,997 arasında, tüm analitler için LOD değerleri 0,11-0.15µg/kg, LOQ değerleri ise 0,33-0.45 µg/kg olarak hesaplandı. Ara kesinlik ve tekrarlanabilirlik için hesaplanan %RSD değerlerinin hepsi <%10 olarak ve ortalama geri alım %90 - %97 aralığında bulundu (Çizelge 4.1). Böylece kullanılan analitik metodun yoğurtlardaki PAH bileşiklerini oldukça düşük düzeyde ölçebileceği görüldüğünden çalışmanın amaç ve hedeflerine ulaşılması için yeterli olarak değerlendirildi.

Çizelge 4.1 Hedef polisiklik aromatik hidrokarbonların yoğurtlardaki validasyon verileri

PAH bileşiği	Doğrusallık (µg/kg)	Korelasyon katsayısı(r^2)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Ortalama geri alım(%)	Tekrarlanabilirlik (%RSD)	Ara kesinlik (%RSD)
Benzo(a)antrasen	1-100	0.994	0.11	0.33	97.0±6.3	8.3	7.6
Krisen	1-100	0.993	0.12	0.36	93.0±6.7	2.1	3.2
Benzo(b)fluoranten	1-100	0.996	0.15	0.45	90.5±7.2	6.7	4.8
Benzo(a)piren	1-100	0.997	0.12	0.36	91.2±7.2	9.9	3.6

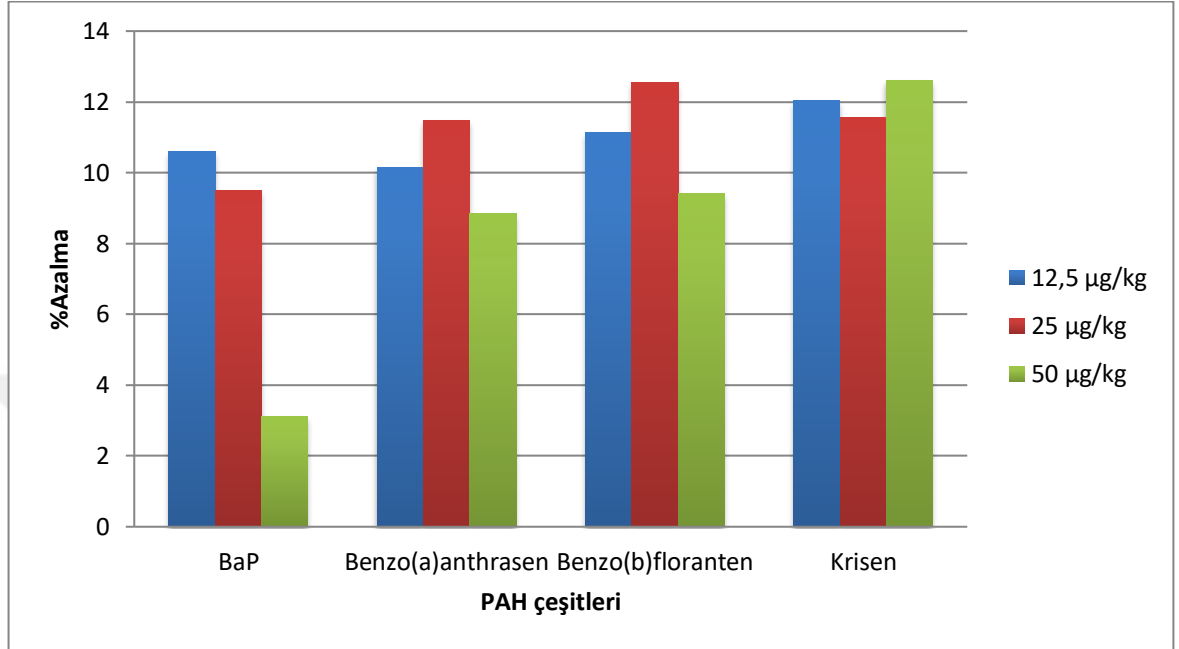
LOD: Tespit limiti, LOQ: Ölçüm limiti, RSD: Relatif standart sapma

Çizelge 4.2 Yoğurt yapmadan ve yoğurt elde edildikten sonra ölçülen PAH konsantrasyonları

	Başlangıç Konsantrasyon (µg/kg)	1.Grup		2.Grup		3.Grup		4. Grup	
		Konsantrasyon (µg/kg)	Azalma (%)	Konsantrasyon (µg/kg)	Azalma (%)	Konsantrasyon (µg/kg)	Azalma (%)	Konsantrasyon (µg/kg)	Azalma (%)
Benzo(a)piren	11.98	10.71	10.6	10.68	10.85	9.55	20.28	10.15	15.27
Benzo(a)antrasen	12.40	11.14	10.16	11.01	11.21	10.58	14.68	10.86	12.42
Benzo(b)floranten	12.21	10.85	11.14	10.96	10.24	9.87	19.16	10.01	18.02
Krisen	12.45	10.95	12.05	10.89	12.53	9.85	20.88	9.90	20.48
Toplam	49.04	43.65	10.99	43.54	11.21	39.85	18.74	40.92	16.56
Benzo(a)piren	24.82	22.46	9.51	22.10	10.96	20.85	15.99	21.56	13.13
Benzo(a)antrasen	23.87	21.13	11.48	21.57	9.63	19.89	16.67	20.42	14.45
Benzo(b)floranten	23.61	20.65	12.54	20.31	13.98	19.89	15.76	20.01	15.25
Krisen	22.59	19.98	11.55	19.87	12.04	18.93	16.20	19.05	15.67
Toplam	94.89	84,22	11.24	83.85	11.63	79.56	16.15	81.04	14.60
Benzo(a)piren	46.82	45.36	3.12	44.98	3.93	36.75	21.51	37.85	19.16
Benzo(a)antrasen	49.25	44.89	8.85	43.96	10.74	39.45	19.92	41.28	16.18
Benzo(b)floranten	45.98	41.65	9.42	42.89	6.72	36.94	19.66	38.35	16.59
Krisen	47.85	41.82	12.60	40.78	14.77	35.56	25.68	36.49	23.74
Toplam	189.9	173.72	8.05	172.61	9.10	148.70	21.70	153.97	18.92

1.Grup: Köy mayası ile yapılan yoğurt, 2.grup: Market yoğurdu mayası ile yapılan yoğurt, 3. Grup: *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*, *Bifidobacterium infantis M-63*, *Bifidobacterium bifidum BGN4* ve Galakto-oligosakkarit(GOS) ile hazırlanan yoğurt, 4. Grup:*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* ve *Streptococcus thermophilus* ile hazırlanan

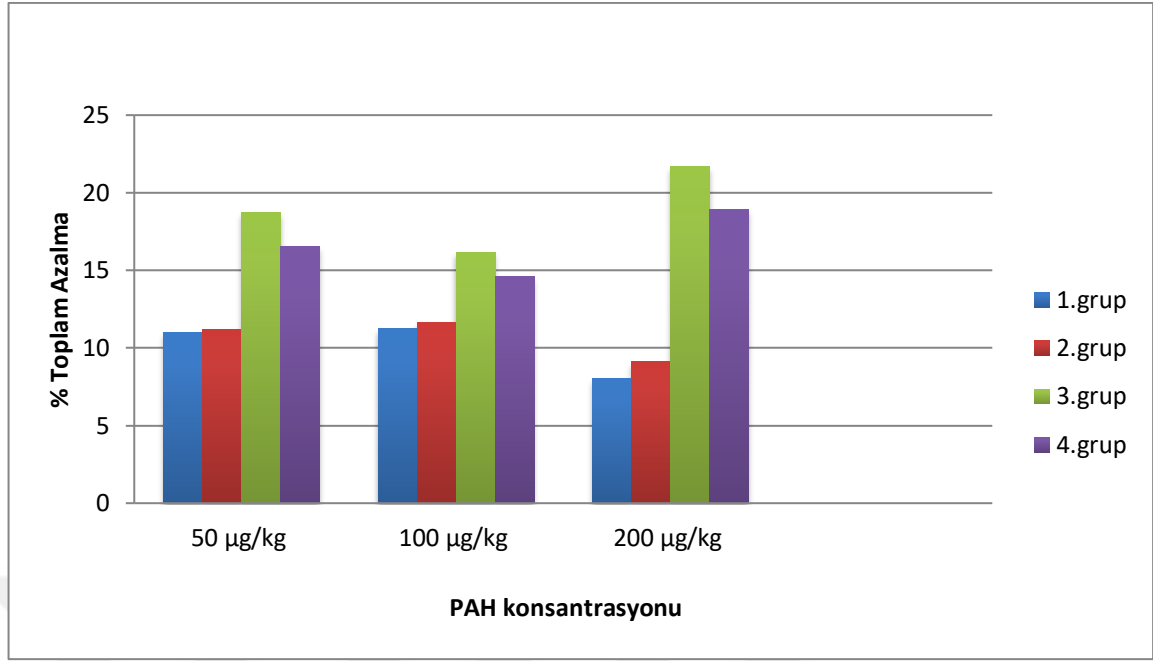
Çiğ inek sütüne analiz yapılmadan önce GC-MS cihazıyla ölçüm yapılmış ve PAH kalıntısına rastlanmamıştır.



Şekil 4.1 Köy mayası ile yapılan (1.grup) yoğurtların PAH çeşitlerine göre yoğurt elde edilmeden önce 12,5, 25, 50 µg/kg PAH katılmasıyla bulunan verilerin, yoğurt yapımından sonra elde edilen veriler arasındaki konsantrasyon farkının % azalma olarak grafiği

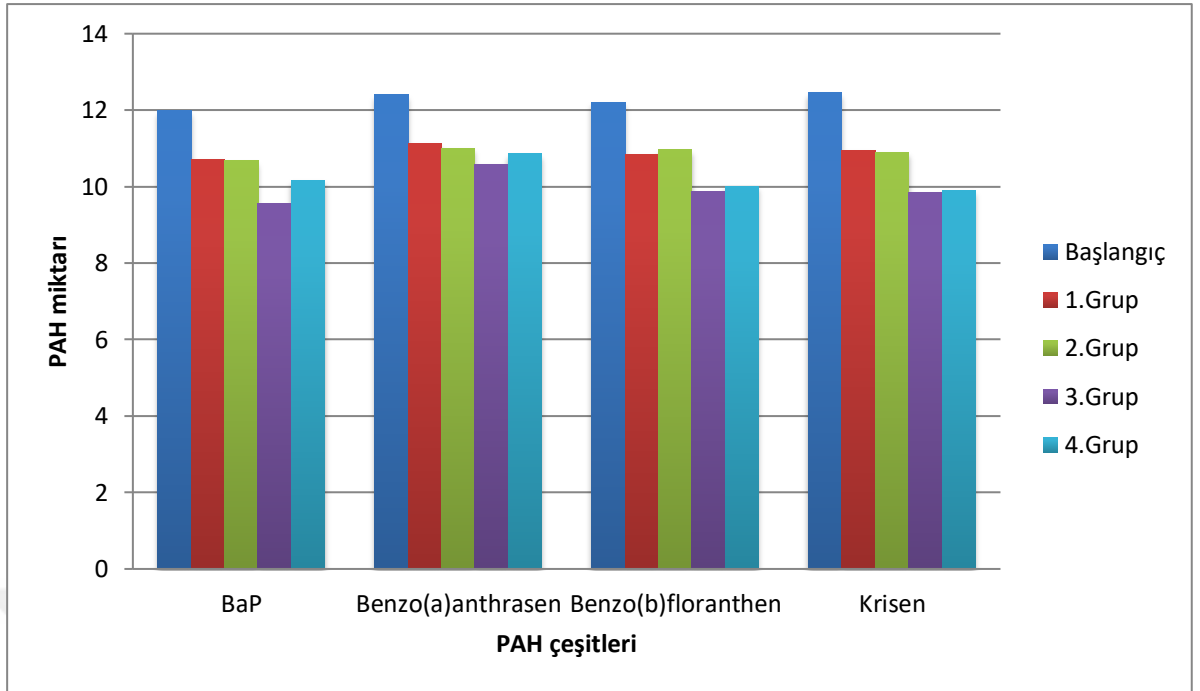
Yoğurt yapmadan ve yoğurt elde edildikten sonra ölçülen PAH konsantrasyonlarının değişimi '3.2.5 Polisiklik Aromatik Hidrokarbon Analizi' kısmında anlatılmıştır. PAH bileşiklerinin başlangıç konsantrasyonları bulunarak % değişim grafiği oluşturulmuştur.

Köy mayası ile yapılan (1.grup) yoğurtların BaP, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranten ve krisen'in 12,5, 25 ve 50 µg/kg konsantrasyonlarındaki % azalma oranları grafiği Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Dört PAH bileşiğinde de yoğurt elde edildikten sonraki konsantrasyonlarında yoğurt yapılmadan önceki konsantrasyonlarına göre azalma görülmüştür. 1.grup yoğurtların % azalma oranı en çok 50 µg/kg konsantrasyonda %12,60 ile krisen olmuştur. 1. grup yoğurtların % azalma oranı en az olan ise 50 µg/kg konsantrasyonda %3,12 ile BaP olmuştur. Şekil 4.2, 4.3 ve 4.4'te belirtilen dört grubun içeriği Çizelge 4.2'de belirtilmiştir.



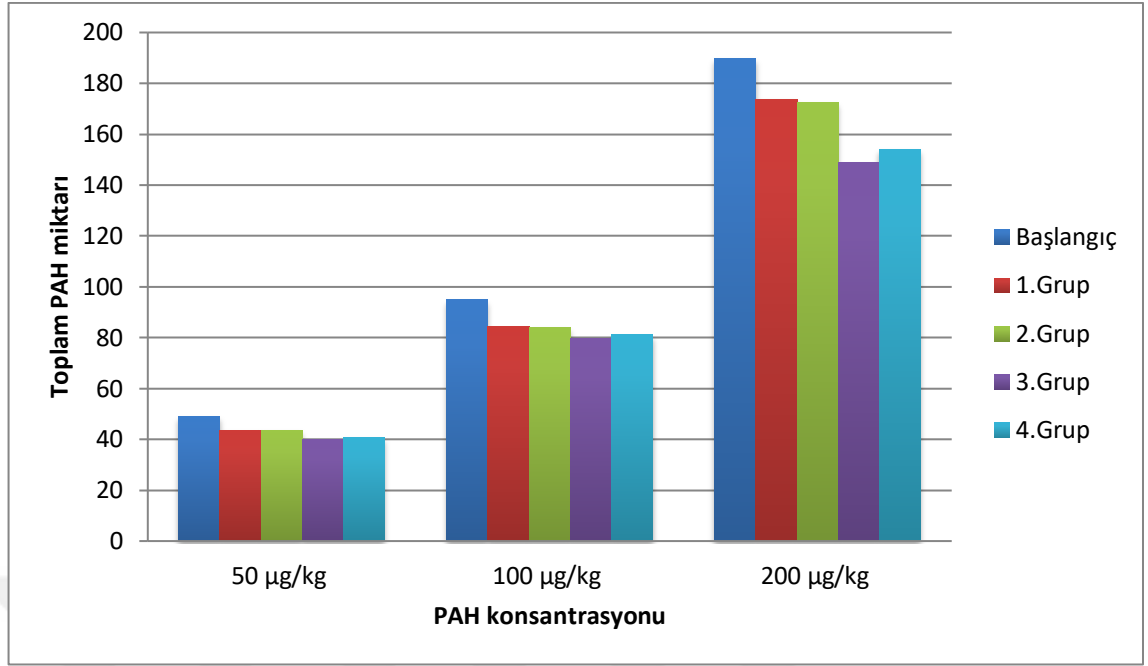
Şekil 4.2 Dört grup farklı yoğurt kültürüyle mayalanan yoğurtlar elde edilmeden önce 50, 100 ve 200 µg/kg PAH katılmasıyla bulunan verilerin, yoğurt yapımından sonraki verilere göre konsantrasyon farkının 4 PAH bileşiğinin toplamı için % toplam azalma grafiği

Süte katılan üç PAH konsantrasyonunda da yoğurt elde edildikten sonra önceki konsantrasyonlara göre azalma görülmüştür. Toplam azalma diye belirtilen kısım 4 PAH (BaP, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen ve krisen)’in toplamını belirtmektedir. Toplam azalma en çok %21,7 ile 200 µg/kg konsantrasyonda 3.grupta(probiyotik ve prebiyotik içeren) görülmüştür. Toplam azalma oranı en az olan ise %8,05 ile 200 µg/kg konsantrasyonda 1.grupta (köy mayası ile yapılan) olmuştur. 3 ve 4.grupta (probiyotik içeren) 50 µg/kg konsantrasyondan 100 µg/kg ‘a geçerken % toplam azalma oranında düşüş , 100µg/kg ‘dan 200 µg/kg a geçerken yükseliş olmuştur. 1 ve 2. grupta(market yoğurdu mayasıyla yapılan) 50 µg/kg konsantrasyondan 100 µg/kg ‘a geçerken toplam azalma oranında yükseliş , 100µg/kg ‘dan 200 µg/kg a geçerken düşüş olmuştur. Üç konsantrasyonda da en yüksek % toplam azalma 3.grup’ta gözlemlenirken en düşük % toplam azalma ise 1.grup’ta gözlemlenmiştir. 1 ve 2 grupta en düşük azalma 200 µg/kg da olurken 3. ve 4.grup’ta en yüksek % azalma 200 µg/kg da olmuştur.



Şekil 4.3 Yoğurt elde edilmeden önce örneklere 12,5 µg/kg PAH katılarak 4 PAH bileşiği için elde edilen başlangıç verileri ve yoğurt yapımından sonra elde edilen verilerin µg/kg olarak PAH miktarlarının grafiği

Şekil 4.3'e göre 12,5 µg/kg PAH çözeltisi eklenen bu dört grup yoğurtta yoğurt yapmadan önceki PAH düzeylerine göre yoğurt yapıldıktan sonra tüm gruplarda azalma gözlemlenmiştir. BaP bileşiğinde en çok azalma miktarı 3.grupta(probiyotik ve prebiyotik içeren) olurken, en az azalma 1.grupta(köy mayası ile yapılan) olmuştur. Benzo(a)anthrasen ve krisen'de de BaP gibi en çok azalma ve en az azalma aynı gruplarda gözlemlenmiştir. Benzo(b)floranthen'de en çok azalma miktarı 3.grupta gözlemlenirken, en az azalma 2.grupta(market yoğurdu mayasıyla yapılan) gözlemlenmiştir. En düşük PAH miktarı BaP'ta 9,55 µg/kg ile 3.grupta gözlemlenmiştir. En yüksek PAH miktarı benzo(a)anthrasen'de 11,14 µg/kg ile 1.grupta gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4 Yoğurt elde edilmeden önce 50,100 ve 200 µg/kg olarak katılan PAH bileşiklerinin 4 grup yoğurt kültürü için başlangıç verileri ve yoğurt yapıldıktan sonraki verilerin her grup için µg/kg olarak toplam PAH miktarının grafiği

Şekil 4.4'te 50, 100 ve 200 µg/kg konsantrasyonlarda tüm gruplarda başlangıç toplam PAH miktarına göre yoğurt yapıldıktan sonraki toplam PAH miktarında düşüş gözlenmiştir. Bu üç konsantrasyonda da miktar olarak en çok düşüş 3.grupta(probiyotik ve prebiyotik içeren) en az düşüş ise 1.grupta(köy mayası ile yapılan) görülmüştür. 1.grup ve 2.grubun(market yoğurdu mayasıyla yapılan) değerleri birbirine yakındır. 3.grup ve 4.grubun(probiyotik içeren) değerleri birbirine yakındır.

Çizelge 4.2'ye göre çizilen bu dört şeklin tamamında miktar olarak ve % olarak azalma en çok 3.grupta görülmüştür. 3.grup(probiyotik ve prebiyotik içeren) ve 4.grubun(probiyotik içeren) değerlerinin birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu iki grubun diğer gruplara göre miktar ve % azalma oranının daha çok olmasının yoğurt kültürlerindeki probiyotik bakterilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. 3.grup 4.gruptan farklı olarak yoğurt kültüründe *Bifidobacterium infantis* M-63, *Bifidobacterium bifidum* BGN4 ve prebiyotik olarak GOS içermektedir. 3.grubun

4.gruptan miktar ve % olarak daha çok azalmasının sebebi yoğurt kültürlerindeki yukarıda belirtilen farklı probiyotik ve prebiyotikten kaynaklandığı düşünülmektedir.

Probiyotik bakterilerin antimutajenik etkisinin PAH bileşikler için etkili olabileceği belirtilmiştir. PAH gibi gıda kanserojenlerinin detoksifikasyonuna yönelik yapılan *in vitro* çalışmalarda olumlu sonuçlara ulaşıldığı ifade edilmiştir. Detoksifikasyonun yüksek oranda fiziksel bağlanma ile olduğu ve bu bağlanmanın da hücre duvarı bileşenlerinin etkisiyle ortaya çıktığı öngörülmüştür. Bu sebepten dolayı bağlanma düzeyinin bakteriye göre değiştiği ona özgü olduğu ek olarak ortam, bakteri miktarı, toksin türü vb. durumlara göre değiştiği öngörülmüştür (Sevim ve Kızıl 2019).

Probiyotik bakterilerin PAH'lar gibi gıdadaki farklı toksik bileşiklere karşı koruyucu etkileri vardır. Üç LAB (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*) tarafından 16 farklı PAH bileşiğinin (her birinden 0,25 µg /ml) farklı inkübasyon dönemlerinde (2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 ve 72 saat) 37°C' de bozunması üzerine çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada yoğurt kültürü (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*) ile manda ve inek sütü karışımından yoğurt hazırlanmıştır. PAH konsantrasyonundaki düşüşün bakteri türleri ve inkübasyon süresiyle alakalı olduğu iddia edilmiştir. İnkübasyon süreleri (2 -72 saat) sonunda , PAH'ların ilk konsantrasyonuna göre *Bifidobacterium bifidum* , *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* tarafından sırasıyla % azalma oranlarının 46,6-92,9; 51,8-94 ve 77,7-92,4 olarak belirtilmiştir. *Bifidobacterium bifidum* ve *Streptococcus thermophilus* tarafından en yüksek azalma 10 ve 12 saatlik inkübasyon sonucunda gözlenmiş ve sırasıyla %92,6 ve %96 olarak bulunmuştur. En yüksek % azalma *Lactobacillus bulgaricus* tarafından 48 saat inkübasyon sonucunda %92,4 olarak bulunmuştur (Khorshidian vd. 2016).

Yousefi vd.(2019)'nin yaptığı çalışmada 4 PAH (BaP, BaA, Chr ve BbF) bileşiğinin uzaklaştırılmasında LAB'ların yeteneği araştırılmıştır. Farklı konsantrasyon, pH ve bakteriyel popülasyonda LAB'ların bağlanma yeteneği değerlendirilmiştir. Sonuç olarak azalma gözlemlendiği belirtilmiştir. LAB (*Bifidobacterium lactis* BB-12,

Lactobacillus acidophilus LA-5, *Lactobacillus bulgaricus* PTCC 1737 ve *Streptococcus thermophilus* PTCC 1738) 'nin sırasıyla BaA, Chr, BbF ve BaP'a bağlanma yüzdeleri aralık olarak %38.49-56.05, %42.25-60.53, %36.34-54.23 ve %44.49-66 ifade edilmiştir. *Bifidobacterium lactis* BB-12 dört PAH için de en düşük bağlanma oranına sahip iken, en yüksek bağlanma yeteneğine *Lactobacillus acidophilus* LA-5 sahip olduğu belirtilmiştir.

Abou-Arab vd.(2010)'nin yaptığı araştırmada 16 PAH bileşiğinin karışımından standart hazırlanmış ve 3 tip LAB'ın (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*) farklı inkübasyon zamanlarında (2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 ve 72 saat) 37°C' de bu PAH standardının biyolojik parçalanması üzerinde etkisi araştırılmıştır. Bileşiklerde LAB'ların etkisiyle PAH konsantrasyonunda azalma ispatlanmıştır. PAH'ların başlangıç konsantrasyonuna göre *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* 'ta sırasıyla % azalma verileri 46,6-92,6; 51,8-94,9 ve 77,7- 92,4 olarak belirtilmiştir. En yüksek azalma *Bifidobacterium bifidum* için 10 saat inkübasyonda % 92,6 olurken, *Streptococcus thermophilus*'ta 12 saat inkübasyonda % 96 ve *Lactobacillus bulgaricus*'ta 48 saat inkübasyonda %92,4 olarak ifade edilmiştir. Aynı çalışmada sütte PAH'ların bozunmasında yoğurt kültürlerinin (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*) rolü araştırılmıştır. Yoğurt üretimi sırasında PAH'ların bozunmasında yoğurt kültürlerinin rolü 1 saat inkübasyon sonrasında 40°C ortalama azalma %1,11 olurken, 2 ve 3 saat inkübasyon sonrasında %2,15 ve %3,46 olduğu bildirilmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgular bu çalışmayla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmadaki PAH'ların konsantrasyonundaki azalma, üzerinde çalışılan mikroorganizmaların PAH'ları farklı seviyelerde degrade ettiğini kanıtlamıştır. Sonuçlar bakteriyal hücrenin yüksek bir protein materyali olması ve hücrel metabolizmayı engelleyebilecek PAH'lara tutunabilmesiyle açıklanabilmektedir. Bu çalışmada besiyerinde PAH'ların iyi degrade olup yoğurt yapımında yeterince degrade olamamasının sebebi, in vitro çalışmalardaki gıda ürünlerinin sonuçlarının gerçek durumla daima ilişkili olmayabildiğiyle alakalıdır.

Hongfei vd.(2013)'te *Lactobacillus* suşlarının(15 suş) BaP'a bağlanma kabiliyetini araştırmışlardır. BaP 'ın sulu ortamdan uzaklaştırılmasında *Lactobacillus plantarum* CICC 22135 ve *Lactobacillus pentosus* CICC 23163 yüksek etki göstermiş ve bağlanma oranları sırasıyla %66,7 ve %64,31 olarak bildirilmiştir.

Shoukat (2020)'de bifidobakteri ve LAB'ın fiziksel bağlanma yoluyla gıdadaki karsinogenik bulaşanları bertaraf ettiği üzerine çalışılmıştır. PAH bileşiklerinden BaP üzerinde durulmuştur. *Lactobacillus*, *bifidobacterium*, *pediococcus* ve *streptococcus* 'un etkili bir şekilde BaP'a bağlandığı ve bağlanma oranlarının %55'den daha fazla olduğu belirtilmiştir. Probiyotik ve LAB türlerinin BaP'a bağlanma yeri hücre duvarında ve ağırlıklı olarak peptidoglikan olduğu ifade edilmiştir.

Fu vd.(2021)'nin yaptığı çalışmada LAB türlerinin BaP'a çapı 2,5 mikron veya daha az olan ince parçacıklı maddelerin varlığında bağlanma yeteneği araştırılmıştır. Bu çalışmada 5 tür test edilmiş ve *Lactobacillus acidophilus* NCFM BaP'a en iyi bağlanma kapasitesini göstermiştir. BaP'a bağlanması %60 olarak bildirilmiştir. BaP'ın uzaklaştırılmasında inkübasyon süresi, pH, hücre konsantrasyonu ve yetiştirme sıcaklığının etkili olduğu belirtilmiştir.

Qivd (2011)'nin yaptığı çalışmada *Lactobacillus plantarum* 121 ve *Lactobacillus pentosus* ML32'un BaP'a bağlanma yeteneği araştırılmıştır. BaP'a bağlanma yüzdesi *Lactobacillus plantarum* 121 için %65,9 ve *Lactobacillus pentosus* ML32 için %64,9 olduğu bildirilmiştir. Bağlanma yeteneğini etkileyen fiziksel faktörlerin inkübasyon süresi, sıcaklık, bakteriyel hücre canlılığı, pH ve Ca^{+2} ve Mg^{+2} 'un konsantrasyonu olduğu belirtilmiştir.

Yoğurt kültürlerinin PAH'ları düşük düzeylerde azaltması, bu bileşiklerin yağ globülü üzerindeki protein afinitesine ve/veya adsorpsiyon kabiliyetine bağlı olabilir. Ayrıca, bakteri hücresi yüksek proteinli bir malzemedir ve bu nedenle hücrel metabolizmaya müdahale edebilecek PAH'ları adsorbe edebilir (Abou-Arab vd. 2010).

5. SONUÇ

Çalışmada dört farklı yoğurt kültürünün sütte bulunabilecek PAH bileşiklerini inhibe edebileceği araştırılmıştır. Bu 4 PAH; benzo(a)piren, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen ve krisen'dir. Dört farklı yoğurt kültüründen 4 grup oluşturulmuştur. Bunlar; 1.grup: Köy mayası ile yapılan yoğurt, 2.grup: Market yoğurdu mayası ile yapılan yoğurt, 3.Grup: *Lactobacillus delburueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*, *Bifidobacterium infantis M-63*, *Bifidobacterium bifidum BGN4* ve GOS ile hazırlanan yoğurt, 4.Grup: *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactics* ve *Streptococcus thermophilus* ile hazırlanan yoğurtur. Her grup yoğurt bir grubu kontrol olmak üzere 4 alt gruba ayrılmıştır. Her bir grup süte yoğurt yapılmadan önce 4 PAH bileşiğinin karışımından eş değer miktarda 50,100, 200 ppb PAH katılmıştır. Bu işlem sonunda 4 ü kontrol olmak üzere 16 örnek oluşturulmuştur. Bu örneklerin yoğurt yapıldıktan sonra PAH miktarının analizi GC-MS cihazında yapılmıştır.

Çiğ inek sütünün pH değeri '6,68', % çözünür kuru madde değeri '10' ve asitliği %0,153 olarak bulunmuştur. "Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği"ne (2011) göre 4 PAH ve BaP'ın bebek sütü ve devam sütü için maksimum limiti belirtilmiştir. BaP ve 4 PAH toplamının maksimum limiti 1µg/kg olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda sütlere 50, 100 ve 200 µg/kg PAH eklenmiştir.

Hedef PAH'ların yoğurtlardaki validasyon değerleri şu şekildedir; korelasyon katsayıları 0,993-0,997 aralığında, LOD değerleri 0,11-0,15 µg/kg, LOQ değerleri ise 0,33-0,45 µg/kg olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik için hesaplanan %RSD değerlerinin tamamı %10'dan küçük olarak bulunmuştur. PAH'lar için ortalama geri alım ise %90-%97 aralığında hesaplanmıştır.

Dört grubun 3 konsantrasyonda da yoğurt elde edildikten sonra yoğurt yapılmadan önceki PAH konsantrasyonuna göre tamamında azalma görülmüştür. 1.grupta % azalma oranı en çok 50 µg/kg konsantrasyonda %12,60 ile Chr, en az ise 50 µg/kg'da %3,12 ile

BaP olmuştur. 2. grupta % azalma en çok 25 µg/kg'da %13,98 ile BbF, en az ise 50 µg/kg'da %3,93 ile BaP olmuştur. 3.grupta en çok % azalma 50 µg/kg'da %25,68 ile Chr, en az ise 25 µg/kg'da %14,68 ile BaA'dır. 4.grupta en çok % azalma 50 µg/kg'da %23,74 ile Chr, en az ise 25 µg/kg'da %12,42 ile BaA'dır. 1 ve 2.grup, 3 ve 4.grup % azalma oranlarında benzerlik göstermiştir.

Analiz sonuçlarında 4 PAH konsantrasyonuna göre toplam % azalma verileri incelendiğinde; en çok azalma %21,7 ile 200 µg/kg'da 3.grupta, en az ise %8,05 ile 200 µg/kg'da 1.grupta görülmüştür. 50,100 ve 200 ppb bu üç konsantrasyonda da 4 PAH en yüksek % azalma 3.grupta, en düşük ise 1.grupta olmuştur. 4 PAH konsantrasyonunda miktar olarak da başlangıç konsantrasyonuna göre en çok düşüş 3.grupta, en az ise 1.grupta görülmüştür.

Yoğurt yapıldıktan sonra yapılmadan önceki değerlere göre PAH konsantrasyonunda azalma miktar ve % olarak en çok 3.grupta olmuştur. 3.gruba en yakın veriler 4.grupta gözlemlenmiştir. Bu iki grubun da azalma verilerinin diğer gruplardan yüksek olmasının sebebi yoğurt kültürlerindeki probiyotik bakteriler olduğu düşünülmektedir. 3.grubun % ve miktar olarak azalma verilerinin 4.gruptan yüksek olması ise 4.gruptan farklı olarak yoğurt kültüründe *Bifidobacterium infantis* M-63, *Bifidobacterium bifidum* BGN4 ve GOS içermesidir. 3.grubun diğer gruplardan daha yüksek azalma göstermesinin nedeni probiyotik ve prebiyotik içermesine bağlanmıştır.

Bu tezde kullanılan yoğurt kültürlerinin sütte bulunan PAH'ları oldukça düşük düzeyde inhibe edebileceği ve tamamen degrade edemeyeceği sonucuna varılmıştır. Böylece yoğurt yapmak için kullanılan sütlerde PAH'ların maksimum kalıntı limitlerinin altında olması gerektiği ve sütlerde mutlaka PAH kalıntı analizlerinin yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abou-Arab, A.A.K., Abou-Bakr S., Maher,R. A., El-Hendawy, H.H. ve Awad, A.A. 2010. Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Affected by some Lactic Acid Bacteria. *Journal of American Science*, 6(10).
- Abou-Arab, A.A.K., Abou-Donia, M.A.M., El-Dars, F.M.S.E., Ali, O.I.M. ve Hossam, A.G. 2014. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons levels in Egyptian meat and milk after heat treatment by Gas chromatography-mass spectrometry. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(7), 294-305.
- Adolfsson, O., Meydani, S.N. ve Russell, R.M. 2004. Yogurt and gut function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 245-256.
- Akın, M.S., Yapık, Ö. Ve Akın, M.B. 2016. Adıyaman İlinde Süt Üretim Çiftliklerinden ve Toplayıcılardan Sağlanan Sütlerin Bazı Özellikleri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20(4), 253-265.
- Amırdıvanı, S., Khorshidian, N., Dana, M.G., Mohammadi, R., Mortazavian, A.M., De Souza, S. L. Q., Rocha, H.B. ve Raices, R. 2018. Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, Vol 0.
- Anonim. 2011. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. 29.12.2011 tarih ve 28157 sayılı 3. mükerrer Resmî Gazete.
- Anonim. 2012. Gıda Teknolojisi Süt ve Süt Analizleri 2, 541GI0096 T.C. Milli Eğitim Bakanlığı. Ankara.
- Anonim. 2019. Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliği. Tebliğ No: 2019/12
- Anonim. 2022. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2022/44.
- Anonymous. 2011. COMMISSION REGULATION (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1831/2003 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 2011, L228, 4-8.
- Alver, E., Demirci,A. ve Özcimer, M. 2012. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve Sağlığa Etkileri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* , 3 (1), 45-52.
- Ayaz, A. ve Yurttagül, M. 2008. BESİNLERDEKİ TOKSİK ÖĞELER-I. Hacettepe Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara.

- Battisti, C., Girelli, A.M. ve Tarola, A.M. 2014. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in yogurt samples. Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance.
- Ceylan, Z. ve Ünal Şengör, G.F. 2015. DUMANLANMIŞ SU ÜRÜNLERİ VE POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLAR (PAH's). Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi, 15, 27-33.
- Colón, L. P., Rascón, A. J. ve Ballesteros, E. 2022. Trace-Level Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Dairy Products Available in Spanish Supermarkets by Semi-Automated Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry Detection. Foods, 11, 713.
- Coşkun, H. ve Çağlar, A. 1997. Süt Teknolojisinde pH'nın Önemi, Süt ve Süt Ürünlerinde Ölçülmesi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 28 (1), 161-169.
- Çelikel Güngör, A., Gürbüz, S., Akın, M.S., Akın, M.B. ve Palabıçak, B. 2020. Mardin’de Satılan Çiğ Sütlerin Bazı Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Harran Üniv. Vet. Fak. Dergisi, 9(1), 001-005.
- Çetiner, Ş. 2018. Süt ve Süt Ürünleri Analizleri Ders Notu. 78s.
- Demirci, M., Öksüz, Ö., Şimşek, O., Kurultay, Ş., Kıvanç, M., Gündüz, H.H. ve Uçan, N. 2010. Süt ve Süt Ürünlerinin Kalite Kontrolü T.C. Anadolu Üniversitesi Yayın No: 2064 Açıköğretim Fakültesi Yayın No:1098. Eskişehir.
- Dennis, M. J., Massey, R. C., McWeeny, D. J., Knowles, M. E., ve Watson, D. 1983. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. Food and chemical toxicology, 21(5), 569-574.
- Donauer, J. 2010. Regulation von Zellzyklus und Apoptose durch Metabolite polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe. Zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors Der Naturwissenschaften. Fakultät für Chemie und BiowissenschaftenKarlsruher Institut für Technologie (KIT), Völklingen.
- Duan, X., Shen, D., Yang, H., Tian, J., Wei, F., Gong, J. ve Zhang, J. 2016. Dietary intake polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and associated cancer risk in a cohort of Chinese urban adults: *Inter-* and *intra*-individual variability. Chemosphere, 144, 2469-2475.
- De Vos, R. H., Van Dokkum, W., Schouten, A., ve de Jong-Berkhout, P. 1990. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984–1986). Food and Chemical Toxicology, 28(4), 263-268.
- Fu, L., Ning, Y., Zhao, H., Fan, J. ve Zhang, B. 2021. The *In Vitro* Adsorption Ability of *Lactobacillus acidophilus* NCFM to Benzo(a)pyrene in PM_{2.5}.

- Günç Ergönül, P. ve Kaya, D. 2015. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve Gıdalarda Önemi. Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 11(2), 143-153.
- Harvey, R.G. 1991. Polycyclic aromatic hydrocarbons Chemistry and carcinogenicity. Great Britain at the University Press, 1-87, Cambridge.
- Hongfei, Z., Fang, Z., Ye Qiong, Q., Dziugan, P., Fengling, B., Walczak, P. ve Bolin, Z. 2013. Screening of Lactobacillus strains for their ability to bind Benzo(a)pyrene and the mechanism of the process. Food and Chemical Toxicology, 59, 67-71.
- Hossain, M.B. ve Dev, S.R. 2013. Physiochemical Characteristics of Various Raw Milk Samples in a Selected Dairy Plant of Bangladesh. International Journal of Engineering and Applied Sciences, 1(3).
- Iwegbue, C.M.A. ve Bassey, F.I. 2013. Concentrations and health hazards of polycyclic aromatic hydrocarbons in selected commercial brands of milk. Journal of Food Measurement and Characterization, 7, 177-184.
- Kaçmaz, S. 2018. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Level in Commercial Turkish Milks. Cumhuriyet Science Journal, 39-3, 771-778.
- Kaçmaz, S. 2019. Polycyclic aromatic hydrocarbons in retail Turkish yogurts. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, 11(4), 361-367.
- Khorshidian, N., Yousefi Asli, M., Hosseini, H., Shadnough, M. ve Mortazavian, A.M. 2016. Potential Anticarcinogenic Effects of Lactic Acid Bacteria and Probiotics in Detoxification of Process-Induced Food Toxicants. Iranian Journal of Cancer Prevention, 9(5), 1-13.
- Kılıç, Ö., Aykın Dinçer, E. ve Erbaş, M. 2017. Gıdalarda Polisiklik Aromatik Hidrokarbon Bileşiklerinin Bulunuşu ve Sağlık Üzerine Etkileri: Derleme. Gıda, 42(2), 127-135.
- Kıralan, S.S. ve Toptancı, İ. 2019. Türkiye piyasasında satışa sunulmuş olan bitkisel yağlar ve tereyağlarında polisiklik aromatik hidrokarbon miktarının tespit edilmesi. Derim, 36(2), 177-182.
- Kiani, A., Ahmadloo, M., Moazzen, M., Shariatifar, N., Shahsavari, S., Arabameri, M., Hasani, M.M., Azari, A. ve Abdel-Wahhab, M.A. 2021. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons and probabilistic health risk assessment in yogurt and butter in Iran. 9, 2114-2128.
- Kurnia, A., Lim, L.W. ve Takeuchi, T. 2018. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Using Environmentally Friendly Liquid Chromatography. Makara Journal of Science, 22(1), 42-51.

- Kuzukiran, O., Simsek, I., Yorulmaz, T., Yurdakok-Dikmen, B., Ozkan, O., & Filazi, A. (2021). Multiresidues of environmental contaminants in bats from Turkey. *Chemosphere*, 282, 131022.
- Lawal, A.T. 2017. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environmental Science*, 3(1), 1339841.
- Lodovici, M., Dolara, P., Casalini, C., Ciappellano, S., & Testolin, G. (1995). Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian diet. *Food Additives & Contaminants*, 12(5), 703-713.
- Magnusson, B.ve Örnemark, U. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. *Eurachem Guide. Fit. Purp. Anal. Methods-A Lab. Guid. to Method Valid. Relat. Top*, (62).
- Mert, İ., Artık, N., Dellal, G. ve Şireli, U.T. 2020. Süt Kalitesi ve Süt-Sağlık İlişkisi *Ulusal Süt Konseyi*. 55s.
- Naccari, C., Cristani, M., Giofre, F., Ferrante, M., Siracusa, L. ve Trombetta, D. 2011. PAHs concentration in heat-treated milk samples. *Food Research International*, 44, 716-724.
- Nowakowski, M., Rykowska, I., Wolski, R. ve Andrzejewski, P. 2022. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and their Derivatives (O-PAHs, N-PAHs, OH-PAHs): Determination in Suspended Particulate Matter (SPM)-a Review.*Environmental Processes*, 9(2).
- Özdemir, S. ve Bodur, A.E. 1994. Yoğurt Üretimi Sırasında Oluşan Fiziksel, Kimyasal ve Biyokimyasal Olaylar. *Atatürk Ü. Zir. Fak. Der.*,25(3), 479-487.
- Özdikmenli Tepeli, S. ve Zorba, N.N. 2017. Çanakkale (Yenice) İlinde Üretilen Çiğ Sütlerin Bazı Özellikleri ve Sublinik (Gizli) Mastitis Görülme Oranı. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 18(1), 41-47.
- Phillips, D.H. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research*, 443, 139-147.
- Plessas, S., Bosnea, L., Alexopoulos, A. ve Bezirtzoglou, E. 2012. Potential effects of probiotics in cheese and yogurt production: A review. *Eng. Life Sci.* 12(4), 433-440.
- Pop, L.O., Suharoschi, R. ve Gabbianelli, R. 2022. Biodetoxification and Protective Properties of Probiotics. *Microorganisms*, 10, 1278.
- Rincón, J.C., González, J.J.P., Tolentino, R.G., Pacheco, D. S., Medina, A. E. ve León, S. V. 2019. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in four milk brands sold

- in Mexico City: evaluating three fat extraction methods. *Rev Mex Cienc Pecu*, 10(4), 1064-1076.
- Robinson, R.K. 2002. *Dairy Microbiology Handbook Third Edition*. John Wiley and Sons, 471, New York.
- Samanta, S.K., Singh, O.V. ve Jain, R.K. 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. 20(6), 243-248.
- Sevim, S. ve Kızıl, M. 2019. Besin karsinojenlerinin detoksifikasyonunda alternatif yöntem: probiyotikler. *Food and Health*, 5(3), 139-148.
- Shoukat, S. 2020. Potential anti-carcinogenic effect of probiotic and lactic acid bacteria in detoxification of benzo[a]pyrene: A review. *Trends in Food Science& Technology*, 99, 450-459.
- Singh, A., Kamal, R., Ahamed, I., Wang, M., Bihari, V., Sathian, B. ve Kesavachandran, C.N. 2018. PAH exposure-associated lung cancer: an updated meta-analysis. *Occupational Medicine*, 68, 255-261.
- Sucak, M.G., Ağyar, O., Özkaya, A. ve Yılmaz, E. 2020. Çiğ ve UHT Sütlerinde Kimyasal Parametre Değişimlerinin Tespiti. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1), 1-6.
- Sun, Y., Yan, K., Wu, S. ve Gong, G. 2020. Occurrence, spatial distribution and impact factors of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in milks from nine countries. *Food Control*, 113, 107197.
- Taşçı, F. 2011. Microbiological and Chemical Properties of Raw Milk Consumed in Burdur. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(5), 635-641.
- Terzi Gülel, G. 2019a. Sütün Bileşimine Etki Eden Faktörler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ders Notu.
- Terzi Gülel, G. 2019b. Sütün Fiziko-Kimyasal Özellikleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ders Notu.
- Thomson, B., Lake, R. ve Lill, R. 1996. The contribution of margarine to cancer risk from polycyclic aromatic hydrocarbons in the New Zealand diet. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 11, 177-184.
- Ünal, P. ve Bayhan, A. 1993. GIDALARDA BULUNAN POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLAR. *Gıda*, 18(4), 273-277.
- Yousefi, M., Shariatifar, M., Ebrahimi, M.T., Mortazavian, A.M., Modammadi, A., Khorshidian, N., Arab, M. ve Hosseini, H. 2019. In vitro removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 126(3), 954-964.

Yüksel, F. 2016. Çiğ Sütlerin Teknolojik İşleme Uygunluğunun Belirlenmesi Amacıyla Yapılan Analizler.18s.

Qi, Y., Zhang, J., Pan, X., Pei, J. ve Zhang, B. 2011. Binding of benzo(a)pyrene by Lactobacilli strains. *Wei Sheng wu Xue Bao=Acta Microbiologica Sinica*, 51(7), 956-964.

