

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI KALİTEDEKİ İRAN SAFRANININ RENK VE AROMA
BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ

NEGIN AZARABADI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2011

**FARKLI KALİTEDEKİ İRAN SAFRANININ RENK VE AROMA
BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ**

NEGIN AZARABADI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**Bu tez 2010.02.0121.036 proje numarasıyla Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.**

2011

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI KALİTEDEKİ İRAN SAFRANININ RENK VE AROMA
BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ**

NEGIN AZARABADI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

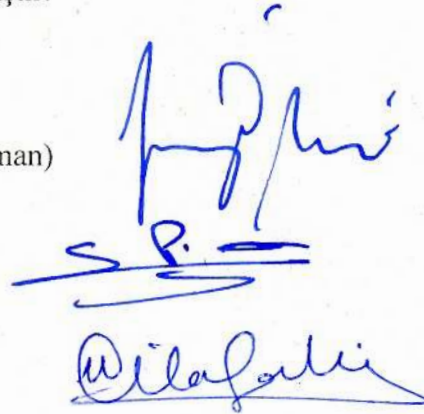
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 06/12/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (100) not takdir edilerek
Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Feramuz ÖZDEMİR (Danışman)

Prof. Dr.Ender S. POYRAZOĞLU

Yar.Doç.Dr.Hilal ŞAHİN NADEEM



ÖZET

FARKLI KALİTEDEKİ İRAN SAFRANININ RENK VE AROMA BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ

NEGIN AZARABADI

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Aralık 2011, 69 sayfa

Tarihten günümüze gelinceye kadar gıda, ilaç, kozmetik ve boya endüstrisi gibi farklı endüstri dallarında kullanılan ve ekonomik önemini hiç kaybetmemiş olan safran bugün Dünya’da ticareti yapılan en pahalı baharat durumundadır. Pahalı bir baharat olması nedeniyle safrana geçmişte olduğu gibi günümüzde de taşış ve hileler yapılmaktadır. Ancak hile ve taşış yapılmamasına rağmen safranın pazarda farklı kalite sınıfları ve buna bağlı olarak farklı fiyatları da mevcuttur. Bu nedenle ISO yayınladığı bir standartla safranı kalite olarak 4 kategoriye ayırmıştır.

Bu tez kapsamında da safran üretimi ve ihracatında ilk sırada yer alan İran’da 5 farklı sınıf altında satılan safran örneklerinin (All Red, PS, PI, PII ve Bunch) ISO standartlarına göre kategorilerinin durumu ortaya konulmuş ve örneklerle yapılan fiziksel (L, a, b renk), kimyasal (nem, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı, antioksidan aktivite) ve kromatografik (renk, tat ve aroma kompozisyonu belirlemek amacıyla) analizlerle safranların kalite özellikleri belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre safran örneklerinin toplam fenolik, flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 14.07–34.04 mg GAE/g KM; 3.16-33.64 mg/g KM; 20.52-52.83 µmol/g KM arasında değişmiş, bu değerler

sınıflandırmaya ve ekstraksiyonda kullanılan çözügene bağlı olarak önemli düzeyde ($p<0.01$) farklılık göstermiştir.

Öğütülmüş safran örneklerinde ve bu örneklerden elde edilen ekstraktlarda L, a, b değerleri ölçülmüş ve öğütülmüş örneklerin L değerleri 51.99-54.02; a değerleri 18.69-22.76 ve b değerleri ise 14.00-19.67 arasında bulunmuştur. Ayrıca ekstraktların L değerlerinin 37.00-37.67; a değerlerinin 1.80-15.30 ve b değerlerinin ise 7.50-8.74 arasında değiştiği görülmüştür.

Yapılan HPLC analizleri sonucunda da toplam krosin miktarı en yüksek All Red örneğinde (37.37 mg/g) ve en düşük Bunch örneğinde (33.05 mg/g) tespit edilmiştir. Acılık veren bileşen olan pikokrosin miktarı ise All Red örneğinden (5.21 mg/g) Bunch örneğine (4.11 mg/g) doğru gidildikçe sınıflandırmaya bağlı olarak önemli düzeyde ($p<0.01$) azalış göstermiştir.

GC-MS, SPME metoduyla aroma analizi sonucunda safranın yüzde (%) alan açısından önemli aroma bileşenleri olarak bütün safran örneklerinde safranal, 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione, acetic acid, limonen-10-ol, 2-(5H)-Furanone, eucarvone, α -isophoron ve 3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione) tespit edilmiştir. Safranın en önemli aroma bileşeni olan safranal, en yüksek Bunch örneğinde bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: Safran, *Crocus sativus* L., fenolikler, flavonoidler, antioksidan aktivite, krosin, pikrokrosin, safranal.

JÜRİ: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR (Danışman)

Prof.Dr. Ender S. POYRAZOĞLU

Yrd. Doç. Dr. Hilal ŞAHİN NADEEM

ABSTRACT

DETERMINATION OF COLOUR AND AROMA COMPONENTS IN DIFFERENT QUALITIES OF IRANIAN SAFFRON

NEGIN AZARABADI

M. Sc. Thesis in Food Engineering Department

Supervisor: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

December 2011, 69 pages

Saffron which is the most expensive spice nowadays, has been used in different industries such as food, drug, cosmetic and paint industries from past to present and never lost the economic importance of trade in the world today. Due to saffron is an expensive spice, adulterations and tricks are applied as it used to be in the past and still today. However, despite the fact that there are no adulterations and tricks, there are different qualities of saffron and different prices depending on the qualities. For this reason, a standard published by the I.S.O. (International Standard Organization) classifies Saffron into 4 groups depending on the quality.

In this thesis, Iranian saffron samples, sold under 5 different classes (All Red, PS, PI, PII and Bunch) in Iran, which ranks first in production and export of saffron, were categorized according to ISO standards. The quality characteristics of saffron were determined by physical (L, a, b colour, moisture), chemical (total phenolics and flavonoids content, antioxidant activity) and chromatographic (colour, flavor and aroma compositions) analyses., saffron samples

According to these results, total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of the saffron samples values varies between 14.07–34.04 mg GAE/g DM;

3.16-33.64 mg/g DM; 20.52-52.83 $\mu\text{mol/g}$ DM respectively and changed significantly ($p<0.01$) depending on the classification and extraction solvent.

L, a, b analysis were performed on ground saffron samples, and the extracts obtained from these samples. L, a, b values of the ground saffron samples changed between 51.99-54.02; 18.69-22.76 14.00-19.67, respectively. In addition, of the extracts L, a, and b values varied between 37.00-37.67; 1.80-15.30 and 7.50-8.74 respectively.

HPLC results showed that, the highest total crocin content was determined in All Red sample (37.37 mg/g) and the lowest total crocin content was in Bunch sample (33.05 mg/g). The results also showed that, picrocrocin content which is as a precursor of the bitterness, decreased significantly ($p<0.01$) from All Red sample (5.21mg/g) to Bunch sample (4.11mg/g) according to the classification.

Saffron volatile components were determined by SPME method in GC-MS. According to the relative quantification values (%) important aroma components were determined as safranal, 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione, acetic acid, limonen-10-ol, 2-(5H)-Furanone, eucarvone, α -isophoron and 3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione) in all saffron samples. Safranal which is the most important aroma component of saffron was determined the highest level in Bunch sample.

KEY WORDS: Saffron, *Crocus sativus* L., phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crocin, picrocrocin, safranal.

COMMITTEE: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR (Supervisor)
Prof. Dr. Ender S. POYRAZOĞLU
Assist. Prof. Dr. Hilal ŞAHİN NADEEM

ÖNSÖZ

Dünya üzerinde belirli bölgelerde yetiştirilebilmesi, toplanması ve üretiminin yoğun bir emek gerektirmesi, geniş alanlardan miktarca çok az ürün alınabilmesi safranın dünyanın en pahalı baharat olmasının nedenlerindendir. Tarihte gıda katkısı ve kumaş boyası olarak kullanılmasının yanında günümüzde en fazla gıda renklendiricisi, aroma ve lezzet verici olarak kullanılan safran kendine has sarı kırmızı rengi, özgün aroma ve lezzeti ile başta İran olmak üzere bir çok ülkede yaygın olarak kullanılan bir baharat haline gelmiştir. Nitekim safran İran’da özgün yemek kültürünü oluşturan etkenlerden biri olup, İran mutfak kültürünün ayrılmaz bir parçası olarak dikkat çekmektedir. Bu çalışmada İran için ekonomik ve kültürel olarak önemi yüksek olan farklı kalitedeki safranların bazı karakteristik fiziksel ve kimyasal özellikleri ortaya konulmuştur.

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde beni yönlendiren, her türlü imkanı sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR’e, çalışma süresince tavsiye ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ayhan TOPUZ ve Yrd. Doç. Dr. Hilal ŞAHİN NADEEM’e, ve Akdeniz Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü’nde eğitime başladığım günden itibaren desteğini ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Muharrem CERTEL’e teşekkürlerimi sunarım.

Ailem yanımda olmasa da bana aile özlemini hissettirmeyen, lisanüstü eğitimime başlangıçtan bu güne kadar bana evini açan ve tez çalışmalarımda motivasyonumu her zaman üst seviyede de tutmamı sağlayan Sayın Sevim ÖZDEMİR’e teşekkürlerimi sunarım.

Tezin her aşamasında tecrübelerinden yararlandığım ve hiçbir konuda yardımını esirgemeyen Araş. Gör. Mehmet TORUN’a, gerek analiz gerekse analizlerin değerlendirilmesi aşamalarında destek aldığım Araş. Gör. Cüneyt DİNÇER’e, Yük. Gıda Müh. İhsan Burak ÇAM’a, Gıda Müh. İsmail TONTUL’a, Gıda Müh. Atike Nur DURAK’a ve Gıda Müh. Nisa DURAK’a teşekkürlerimi sunarım.

Gıda Mühendisliği Bölümünde yüksek lisansa başladığımdan beri her daim yanımda olan, en zor ve en mutlu dönemimde dostluğunu ve kardeşliğini esirgemeyen, Gıda Müh. Ferhan BALCI ve değerli ailesine, çalışma süresince desteklerini daima hissettiğim ve her türlü yardımına koşan Araş. Gör. Aslı ARSLAN’a, Yük. Gıda Müh. Aydan BÜYÜKBENLİ’ye, Yük. Gıda Müh. Kübra Sultan ÖZDEMİR’e ve Yük. Gıda Müh. Sultan ARSLAN’a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yapmış olduğu Yüksek Lisans tezini bana gönderen ve değerleri bilgilerinden yararlandığım Zeki Şaltu’ya teşekkür ederim.

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne teşekkür ederim.

Uzaktan moral desteğini esirgemeyen, sevgi ve şevkatleri ile her an yanımda hissettiğim sevgili ablam Dr. Niloofar AZARABADI, eniştem Metaloji Müh. Adel LOTFIPUR ve evimizin neşe kayağı Yasmin LOTFIPUR’a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bu tezi hayatımın en değerli varlıkları annem Tahere BEHRAVESH ve babam Prof. Dr. Sirous AZARABADI’ye armağan ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	3
2.1. Safran Bitkisi ve Özellikleri.....	5
2.2. Safranın Genel Bileşimi ve Kalitesini Belirleyen Önemli Metabolitleri	10
2.3. Safranın Kullanım Alanları	13
2.4. Safrana Ait Kalite Sorunları ve Safrana Yapılan Hileler	16
3. MATERYAL ve METOT	22
3.1. Materyal	22
3.2. Metot	24
3.2.1. Safran örneklerinin ISO 3632–1 standardına göre sınıflarının belirlenmesi	24
3.2.2. Nem miktarı tayini	25
3.2.3. Safran örneklerinin ekstraksiyonu	25
3.2.4. Toplam fenolik madde miktarı tayini.....	26
3.2.5. Toplam flavonoid madde miktarı tayini.....	27
3.2.6. Antioksidan aktivite tayini	27
3.2.7. Hunter L,a,b renk analizi.....	29
3.2.8. Safran örneklerinin renk bileşenlerinin belirlenmesi	29
3.2.9. Safranın aroma profilinin belirlenmesi	30
3.2.10. İstatistiksel analizler	31
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	32
4.1. Safran örneklerinin ISO 3632–1 standardına göre sınıflarının belirlenmesi	32
4.2. Safran Örneklerinin Nem İçerikleri	32
4.3. Safran Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarları	33

4.4. Safran Örneklerinin Toplam Flavonoid Madde Miktarları	36
4.5. Safran Örneklerinin Antioksidan Aktiviteleri	39
4.6. Öğütülmüş Safranların ve Bunlardan Elde Edilen Ekstraktların L, a, b Renk Değerleri	41
4.7. Safran Örneklerinin HPLC ile Belirlenen Ana Bileşenlerinin Kompozisyonları	45
4.8. Safran Örneklerinin Aroma Kompozisyonu	48
5. SONUÇ	54
6. KAYNAKLAR	56
7. EKLER	62
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

G	Gram
Kg	Kilogram
Mg	Miligram
Mg	Mikrogram
L	Litre
mL	Mililitre
ml	Mikrolitre
N	Normal
mM	Milimolar
μ M	Mikromolar
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
Nm	Nanometre
Ppm	Milyonda bir kısım
S	Saniye
Dk	Dakika
H	Saat
V	Hız
A	Absorbans
M	Metre
Mm	Mikrometre
$\pm$	artı-eksi
A	Alfa
B	Beta

Kısaltmalar

PBS	Fosfat Buffer Salın
TFM	Toplam fenolik madde
SD	Serbestlik derecesi
KO	Kareler ortalaması
F	F değeri
X	Ortalama değer
SE	Standard hata
SS	Stabdard sapma
M	%80'lik metanol ekstraktı

S	Su ekstraktı
T	Öğütölmüş safran
GCMS	Gas Chromatography Mass Spectroscopy (Gaz Kromatografisi Kütöe Spektrometresi)
SPME	Katı faz mikro ekstraksiyon
HPLC	Yüksek basınç sıvı kromatografi
PDMS	Polidimetilsiloksan
RI	Retention Index (Alıkonma indeksi)
Q	Benzerlik yüzdesi
HTCC	4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-carboxaldehyde-1-cyclohexene

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. İran'a ait yıllık safran üretim miktarları (Karbasi 2008).	4
Şekil 2.2. Ekime hazır safran kormları (Şaltu 2002).....	6
Şekil 2.3. Çiçeklerin oluşmaya başlaması (Şaltu 2002).....	8
Şekil 2.4. <i>Crocus sativus</i> L. genel görünümü (Kök, korm, yaprak, çiçek) ve kök yapısı (Şaltu 2002).	8
Şekil 2.5. <i>Crocus sativus</i> L. çiçeği (Şaltu 2002).	8
Şekil 2.6. Boyuna kesilmiş bir safran çiçeğinde erkek ve dişi organlar (Şaltu 2002).	9
Şekil 2.7. Üç parçalı safran stigmaları (Şaltu 2002).	9
Şekil 2.8. Safranın ana renk bileşeni kirosin.....	11
Şekil 2.9. Safranda bulunan krosetin çeşitleri.	12
Şekil 2.10. Pikrokrosinin kimyasal yapısı (Jalali-Heravi 2009).	13
Şekil 2.11. Pikrokrosinin HTCC ve safranala kimyasal dönüşümü (Carmona vd 2007).....	13
Şekil 3.1. <i>Crocus sativus</i> L. türünden elde edilen ve İran Gıda Kodeksi'nce sınıflandırılmışolan 5 farklı safran (All Red, PS, PI, PII ve Bunch).	23
Şekil 3.2. <i>Crocus sativus</i> L'nin boyuncuk ve stigmalandan ibaret dişi çiçek organı (A) ve çalışmada kullanılan safran örneklerinin elde dildiği kısımları (B).	24
Şekil 3.3. Safran ekstraktlarının maksimum absorbans verdikleri dalga boyları (257 ve 440 nm).....	25
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit standardının absorbans değerleri.	26
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kateşin standardının absorbans değerleri.	27

Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Trolox standardının % inhibisyon değeri.	28
Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki Safranal standardının pik alanları.....	30
Şekil 4.1. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarları.....	34
Şekil 4.2. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarları.....	37
Şekil 4.3. Safran örneklerinin antioksidan aktiviteleri.	39
Şekil 4.4. Safran örneklerinin L, a, b değerleri	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. 1994–2002 yılları arasında İran’ın gerçekleştirdiği safran ihracatı (Fameli 2002)	5
Çizelge 2.2. Aylara göre fenolojik periyotlar (Şaltu 2002).....	7
Çizelge 3.1. GC-MS analiz koşulları	31
Çizelge 4.1. Safran örneklerinin nem içerikleri (%) ($X \pm SE$; $N=2$).....	33
Çizelge 4.2. Safran örneklerinin nem değerlerine ait varyans analiz sonuçları	33
Çizelge 4.3. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri (mg GAE/g) ($X \pm SE$)	34
Çizelge 4.4. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerlerine ait varyans analiz sonuçları	35
Çizelge 4.5. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	35
Çizelge 4.6. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı değerleri (mg/g) ($X \pm SE$).....	37
Çizelge 4.7. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı değerlerine ait varyans analiz sonuçları.	38
Çizelge 4.8. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.	38
Çizelge 4.9. Safran örneklerinin antioksidan aktivite değerleri ($\mu\text{mol/g}$) ($X \pm SE$)	39
Çizelge 4.10. Safran örneklerinin antioksidan değerlerine ait varyans analiz sonuçları	40
Çizelge 4.11. Safran örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	40
Çizelge 4.12. Safran örneklerinin L, a, b değerleri ($X \pm SE$).....	41
Çizelge 4.13.a Öğütülmüş safran örneklerinin L, a, b değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.14.a. Öğütülmüş safran örneklerinin L, a, b değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	44

Çizelge 4.15. Safran örneklerinin HPLC ile belirlenen ana bileşenlerinin miktarları (mg/g; $X \pm SE$).....	46
Çizelge 4.16. Safran örneklerinin HPLC ile belirlenen ana bileşenlerinin miktarlarına ait varyans analiz tablosu	47
Çizelge 4.17. Safran örneklerinin HPLC ile belirlenen ana bileşenlerinin ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.	48
Çizelge 4.18. Safran örneklerinin aroma bileşenlerinin kompozisyonu ($X \pm SE$).....	49
Çizelge 4.19. Safranın aroma kompozisyonu oluşturan % 1'den büyük alana sahip bileşenlerin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	52
Çizelge 4.20. Safranın aroma kompozisyonu oluşturan % 1'den büyük alana sahip bileşenlerin varyans analizi.....	53

1. GİRİŞ

Baharatların kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Binlerce yıldır bilinen ve ticari önemi oldukça yüksek olan baharatlar geçmişte bazı toplumlar arasında savaflara sebebiyet vermiş hatta bazı medeniyetler için sömürgeciliğin nedenlerinden biri olmuştur. Baharat; tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, gıdalara renk, tat, koku ve lezzet vermek amacıyla katılan, çeşitli bitkilerin tohum, çekirdek, meyve, çiçek, kabuk, kök, yaprak gibi kısımlarının bütün halde ve/veya parçalanıp kurutulması ile elde edilen doğal bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2000). İçerdikleri eterik yağlar ve aroma bileşenleri sayesinde iştah açarak sindirimi kolaylaştıran baharatların antimikrobiyal ve antioksidatif özelliklerinin de olduğu yapılan bir çok bilimsel araştırma ile ortaya konulmuştur (Arora ve Kaur 1999, Shobana ve Naidu 2000, Filiz 2001, Leushner ve Zamparini 2002, Toroğlu vd 2006, Çoşkun 2010).

Baharat kullanımı, sağlıklı, doğal ve sentetik katkı içermeyen gıdalara yönelik, egzotik gıdaların (Asya ve Latin Amerika yemekleri gibi) giderek popüler olmaya başlaması gibi nedenlerden dolayı hızla yaygınlaşmaktadır. Karabiber, kırmızıbiber, karanfil, tarçın, zencefil, yenibahar, vanilya, safran, kimyon, kekik, adaçayı, dereotu, kişniş ve defne dünyada en çok bilinen ve ticareti yapılan önemli baharatlardandır. Dünya üzerinde 5 milyon civarında baharat bulunmaktadır ve ticaret hacmi 2.5–3 milyar dolar arasında değişmektedir. Birim değer açısından en pahalı baharat safrandır ve safranı sırasıyla karanfil, kakule, tarhun, kebere, besbase, adaçayı ve yenibaharın takip ettiği bildirilmektedir (Akgül 1993, Baydar 2005).

Baharat olarak kullanılan safran, *Crocus sativus* L. çiçeğinin parlak kırmızı renkli stigmalarının kurutulmasıyla elde edilmektedir. Safran ile ilgili kaynakların tarihi M.Ö. 2300 yıllarına dayanmaktadır ve bu kaynaklara göre Akad imparatorluğunun kurucusu “Sargon” Babil yakınlarındaki Fırat nehrinin kenarındaki Safran (Azupirano) şehrinde doğmuştur. Safranın en önemli ve baharat olarak kullanılan kısmı olan stigmaları 1.5-2 cm uzunlukta, iplikçikler halinde, turuncu ve kırmızı renge sahiptir. Bu nedenle en kaliteli ve aromalı son ürün, rengi kırmızımsı olan stigmalarından elde edilmektedir (Akgül 1993).

Dünyanın en pahalı baharatı olan safran boya, kozmetik, ilaç ve gıda sanayi gibi çeşitli endüstri dallarında çok geniş kullanım alanı bulmasından dolayı büyük bir ekonomik öneme sahiptir. Dünya üzerinde belirli bölgelerde yetiştirilebilen safranın üretimi yoğun bir emek gerektirmekte ve geniş alanlardan miktarca çok az ürün alınabilmektedir. Nitekim bir dekardan ortalama 500-800 gram ürün alınabilinen (Peter 2001) safranın uluslararası pazarda kilogramı yaklaşık 6 bin dolardır (Sujata 1992).

Tarihte gıda katkısı ve kumaş boyası olarak kullanılmasının yanında günümüzde en fazla gıda renklendiricisi, aroma ve lezzet verici olarak kullanılan safran kendine has sarı kırmızı rengi, özgün aroma ve lezzeti ile başta İran olmak üzere bir çok ülkede yaygın olarak kullanılan bir baharat haline gelmiştir. Nitekim safran İran'da özgün yemek kültürünü oluşturan etkenlerden biri olup, İran mutfak kültürünün ayrılmaz bir parçası olarak dikkat çekmektedir. Bununla birlikte safran İran'ın önemli ihracat ürünlerinden birisidir.

Çok pahalı bir baharat olması nedeniyle safrana geçmişte olduğu gibi günümüzde de tağşiş ve hileler yapılmaktadır. Ancak hile ve tağşiş yapılmamasına rağmen safranın pazarda farklı kalite sınıfları ve buna bağlı olarak farklı fiyatları da mevcuttur. Miktar ve kalite açısından dünyanın en önemli safran üreticisi ülkesi olan İran'da safran 5 farklı şekilde sınıflandırılıp satılmaktadır. Bu çalışmada üretim koşulları belirli olan 5 farklı sınıf İran safranının bazı kalite özellikleri ile aroma bileşenleri belirlenmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

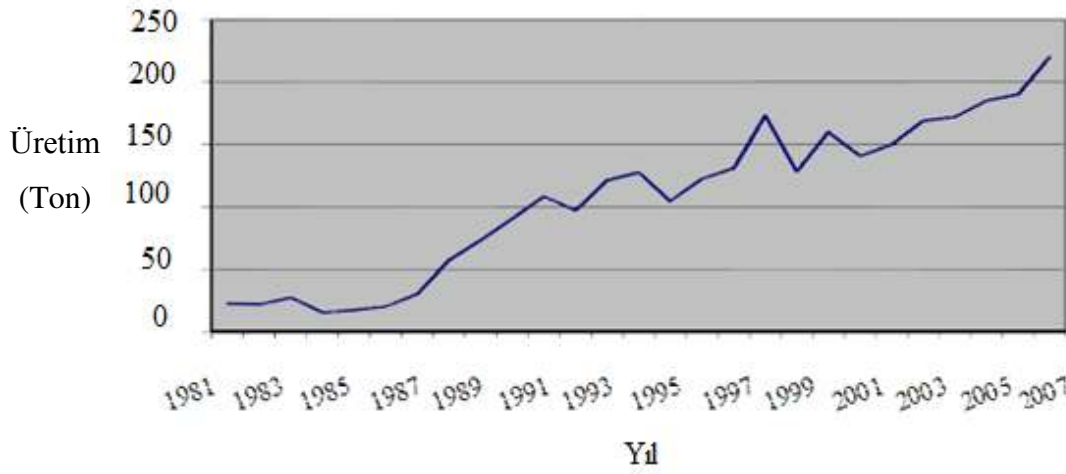
Arapça “Za.feraan” sözcüğünden gelen safran Kuzey yarımküredeki pek çok ülkede yetiştirilmekte, gıda, boya, ilaç, kozmetik gibi çeşitli endüstri dallarında kullanılmaktadır. Safran, bitki çiçeğinin kurutulmuş stigmalarından elde edilir ve kurutulmuş bütün stigma olarak ya da bu stigmaların öğütülmesiyle toz halinde kullanılır. Safran dünyada bilinen en pahalı baharat olmasıyla birlikte son yüzyıl içinde tüm dünyada üretim alanları ve bu üretim alanlarından elde edilen ürün miktarı gün geçtikçe azalmaktadır. Bu azalışın aksine safrana olan talep son yıllarda hızla artmaktadır. Tarihte safrandan ilk olarak M.Ö. 2300 yıllarında bahsedilmiştir. Akad imparatorluğunun kurucusu Sargon’un Babil yakınlarındaki Fırat nehrinin kenarındaki Safran (Azupirano) şehrinde doğduğu, M.Ö. 1700–1600 yıllarında Girit Uygarlığı’na ait bazı saraylardaki fresklerde ve çömleklerde safran toplayıcılarına ait resimler bulunduğu bildirilmektedir. Safrandan ayrıca eski Mısırlılar da söz etmekte olup, Eber papirüslerinde safran adı geçmektedir. İncil’de safran “karkon” olarak geçmekte ve M.Ö. X. veya XI. yüzyılda Kral Solomon’a atıf yapılmaktadır. Ayrıca safranın M.Ö. V. yüzyılda Kaşmir’de tıbbi amaçla kullanıldığına dair belgelerin bulunduğu da bildirilmektedir (Peter 2001).

Günümüzde en büyük ticari safran üreticisi ülkeler; İran, İspanya, Yunanistan, Hindistan, Çin ve Fas, ikinci derecede önemli ülkeler ise İtalya, İsviçre, Fransa, Arjantin ve Azerbaycan’dır (Peter 2001). Safran ayrıca Güney yarımkürede Yeni Zellanda’da yetiştirilmektedir. Geçmiş yüzyıllarda önemli safran üreticilerinden biri olan Türkiye’de (yoğun olarak yetiştirilen bölgelerden birine de Safranbolu adını veren) 2000 yılında safran üretimi maalesef sadece 500 g dolaylarında kalmıştır. Halbuki Osmanlı döneminde 1858 yılında İngiltere’ye 9705 kg safran satıldığına dair kayıtlarının bulunduğu bildirilmektedir (Şaltu 2002). Günümüzde safran üretiminin bu seviyelere düşmesinin temel nedeni, köyden şehre olan göçle birlikte bu işi yapan insanların şehirlere yerleşmesi ve lale soğanında olduğu gibi safran kormlarının diğer ülkelere çok ucuz fiyatlarla satılması olarak gösterilmektedir (Şaltu 2002).

Yukarıda adı geçen ülkeler içerisinde uluslararası ticarete yönelik en büyük üretim yapan ülkeler İran ve İspanya’dır. Dünyanın yıllık safran üretimi 300 ton civarında olup bunun

%80'i İran tarafından gerçekleştirilmektedir. Toplam safran üretim alanı 50.000 ha olan İran'ın Horasan bölgesi 46.000 ha safran üretim alanına sahiptir (Jalali Heravi 2010).

Yukarıda safranın üretim alanları ve miktarına ait verilen bilgilere ek olarak İran orjinli ve daha kapsamlı bir kaynağa (Karbasi 2008) göre İran'daki toplam safranın %95'inin Horasan'ın güney bölgesinde 42000 hektarlık alanda yetiştirilip, üretildiği bildirilmektedir. Geri kalan %5'lik üretim alanı ise İsfahan, Ostane Markazi, Kerman, Yazd ve Fars illerine aittir (Karbasi 2008). Şekil 2.1'de İran'ın son 25 yıldaki safran üretim miktarları verilmiştir.



Şekil 2.1. İran'a ait yıllık safran üretim miktarları (Karbasi 2008).

İran gerçekleştirdiği safran üretiminin yaklaşık % 80'nini ihraç etmekte, geriye kalan kısmını ise ülke içerisinde tüketmektedir. Bu, ülke içinde, yaklaşık 50 ton safranın kullanılması anlamına gelmektedir. Çizelge 2.1'de 1994–2002 yılları arasında İran tarafından Almanya, İspanya, İngiltere, Birleşik Arap Ülkeleri, İtalya, Bahreyn, Japonya, İsveç, İsviçre, Rusya, Katar, Fransa, Kuveyt ve Hindistan'a ihraç edilen safran miktarları verilmiştir. Çizelge 2.1'de görüldüğü üzere İran en büyük ihracatını Birleşik Arap Devletleri, İspanya ve Almanya'ya gerçekleştirmiştir. Ancak Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği tarafından İran'a uygulanan ambargo sebebiyle 2002 yılında safran ihracatında ciddi miktarda azalma meydana gelmiştir (Fameli 2002).

Safran üretimi İran dışında İspanya'da 4184 ha, Yunanistan'da 860 ha, Hindistan'da 2500 ha, İran'da 6000 ha, Azerbaycan'da 55 ha ve İtalya'da 46 ha alanda yapılmakta olup

Türkiye’de yalnızca Safranbolu ilçesine bağlı Davutobaşı köyünde yaklaşık 650 m²’lik bir alanda yetiştirilmekte ve bu alandan az miktarda çiçek elde edilmektedir (Şaltu 2002).

Çizelge 2.1. 1994–2002 yılları arasında İran’ın gerçekleştirdiği safran ihracatı (Fameli 2002)

Ülkeler	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002
Almanya	4632	4293	5237	9200	12909	6932	5051	781	425
İspanya	6726	10591	11953	13569	9865	7023	3559	2183	479
İngiltere	178	65	11	184	125	124	30	-	11
Birleşik Arap Devletleri	3187	5647	6790	25806	25319	18423	10848	4168	527
İtalya	2324	537	536	3383	2156	1779	1548	260	380
Bahreyn	138	106	816	1155	523	226	65	-	-
Japonya	46	90	67	125	123	87	30	20	129
İsveç	35	29	178	118	82	151	92	9	34
İsviçre	1132	915	2018	5775	2895	3240	2384	699	707
Rusya	2662	21338	1319	119	50	-	-	2139	-
Katar	104	68	87	115	190	118	97	-	915
Fransa	863	1149	1028	1637	2651	2250	669	347	371
Kuveyt	205	398	568	703	853	934	295	164	68
Hindistan	-	-	67	1091	4562	3533	445	-	-

Safran yetiştiriciliğinin çok zahmetli olması, bir kadın işçinin saatte 50–60 g tepeciği çiçekten ayırabilmesi, ortalama 80–120 bin çiçekten 5 kg yaş tepelik, bundan da 1 kg kuru ürün alınması ve çiçek veriminin 80–90 kg/da olup, günde 2.5-3.5 kg çiçek/da toplanması bitkinin en pahalı baharat olmasının başlıca sebepleri arasındadır (Çavuşoğlu ve Erkel 2005, Ünalı 2007).

2.1. Safran Bitkisi ve Özellikleri

Crocus sativus L.’nin de içinde yer aldığı “*Iridaceae*” (Süsengiller) familyası, rizomlu, yumrulu, kormlu ve soğanlı, yıllık veya çok yıllık otsu bitkilerden oluşmaktadır (Davis, 1984). *Iridaceae* familyası yeryüzünde yaklaşık 60 cins ve 1500 tür içeren oldukça büyük bir familyadır (Weier, 1972). *Crocus* cinsinin genellikle Akdeniz bölgesine dağılmış 70 kadar türü bulunmaktadır (Vurdu ve Çiçek, 1992; Warburg, 1957). Bu familya ülkemizde ise 6 cins ve 86 tür ile temsil edilmekte olup *Crocus* cinsinin yaklaşık 32 türü doğal olarak bulunmaktadır (Malyer, 1985). *Crocus sativus* L.’nin doğada *Crocus sativus* L. var. *orsinii*, *Crocus sativus* L. var. *cartwrightianus*, *Crocus sativus* L. var. *pallasii*, *Crocus sativus* L. var.

elwesii, *Crocus sativus* L. var. *hausknechtii* olmak üzere 5 yabancı varyetesi mevcuttur (Şaltu 2002).

Şaltu (2002)'nin Türkiye'de yaptığı bir çalışma sonucunda elde edilen safranın bir yıl süreyle fenolojik periyodiklerinin uzunlukları Çizelge 2.1'de verilmiştir. Çizelge 2.1'de görüldüğü üzere Kuzey yarımkürede İran, Türkiye ve İspanya'da safranın çiçeklenmesi ve hasadı Ekim ve Kasım aylarında gerçekleştirilmektedir. Safran hasadı oldukça zahmetlidir. Çünkü çiçekler topraktan sadece 1 kaç cm yüksektedir ve hasat sırasında gelecek yılki ürüne zarar vermemek için çiçek etrafındaki ince uzun yapraklara zarar verilmemektedir. Sonbaharda ortaya çıkan çiçeklenme sadece 2-3 hafta sürer ve bu durum her gün toplama yapılmasını gerektirir. Toplama özellikle sabah saatlerinde yapılmalıdır çünkü çiçekler hızlıca kurur ve solar ve bu durum stigmanın diğer kısımlarından ayrılmasını zorlaştırır. Çiçekler toplanıp güneşte kurutulduktan sonra stigmaların ayrılması yapılırsa ciddi kalite düşüklükleri ortaya çıkacaktır. Stigmaların ayrılması genellikle el tırnakları kullanılarak yapılır ve bu yine yoğun işçilik gerektiren bir işlemdir.

Yine Şaltu (2002)'nin yaptığı çalışmada safranın dikiminden itibaren safranın gelişimiyle ilgili evreler Şekil 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7' de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Ekime hazır safran kormları (Şaltu 2002)

Çizelge 2.2. Aylara göre fenolojik periyotlar (Şaltu 2002).

GÜNLER	31	59	90	120	151	181	212	243	273	304	334	365
AYLAR	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
FENOLOJİK PERİYOTLAR												



Yaprak oluşumu – dökümü periyodu



Çiçeklenme Periyodu



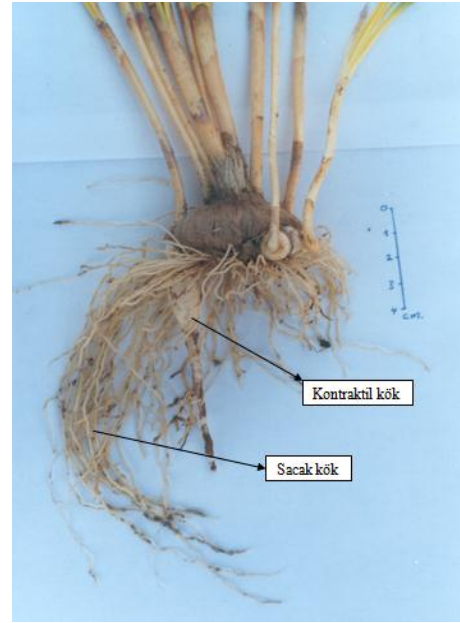
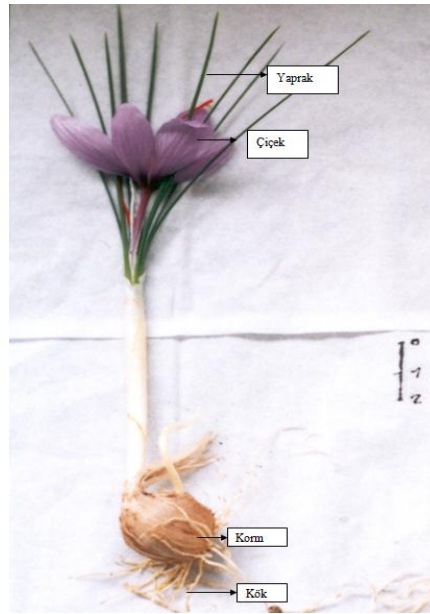
Dormant korm periyodu



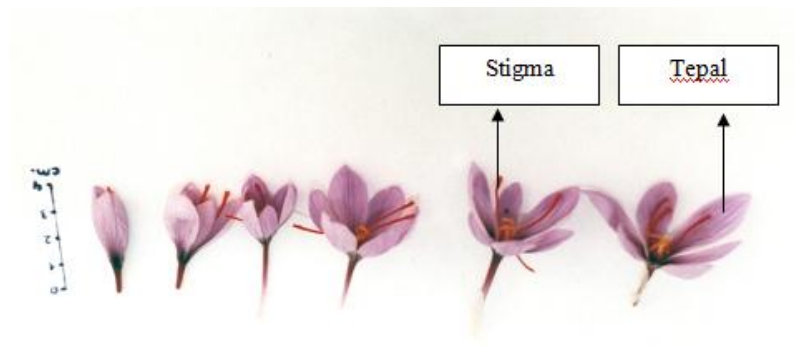
Yavru korm gelişimi periyodu



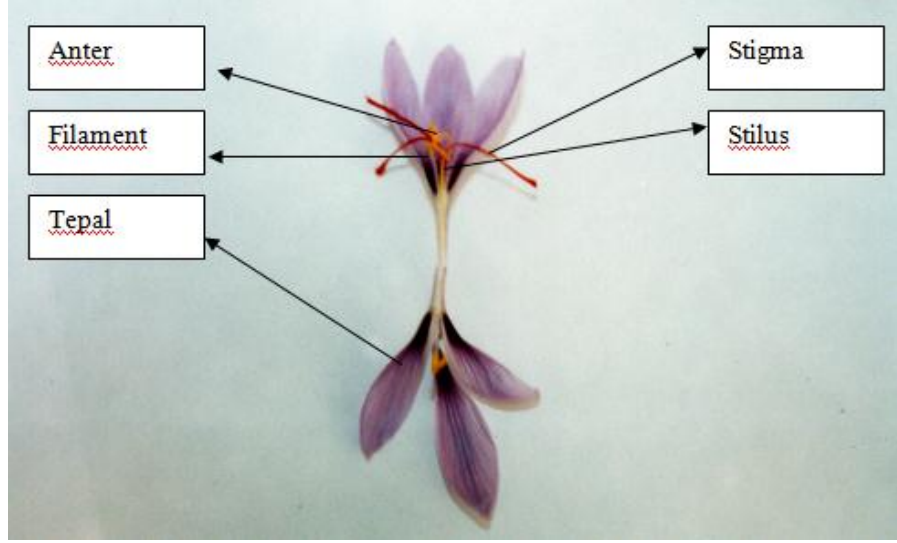
Şekil 2.3. Çiçeklerin oluşmaya başlaması (Şaltu 2002)



Şekil 2.4. *Crocus sativus* L. genel görünümü (Kök, korm, yaprak, çiçek) ve kök yapısı (Şaltu 2002).



Şekil 2.5. *Crocus sativus* L. çiçeği (Şaltu 2002).



Şekil 2.6. Boyuna kesilmiş bir safran çiçeğinde erkek ve dişi organlar (Şaltu 2002).



Şekil 2.7. Üç parçalı safran stigmaları (Şaltu 2002).

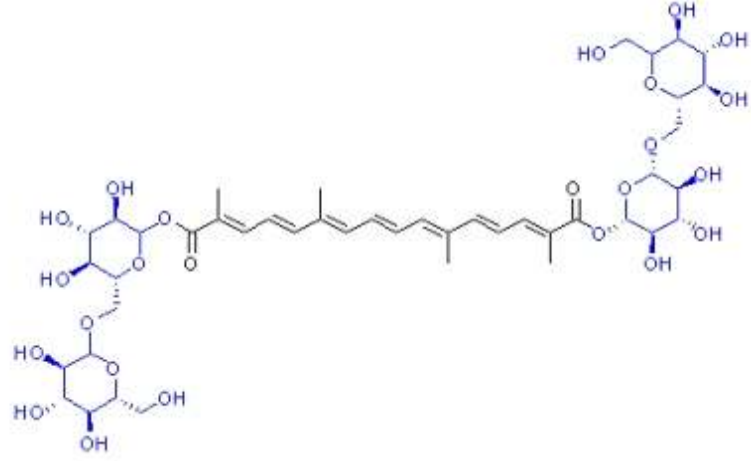
Toplanan stigmaların kurutulması kaliteyi etkileyen en kritik aşamadır. Eğer zamanında ve tam bir kurutma yapılmazsa üründe küflenme ve bozulmalar meydana gelmektedir. Kurutulmuş ve kontamine olmamış stigmalar depolanabilir ve pazarlanabilir hale gelmektedir. Günümüzde konvensiyonel kurutma yöntemlerinin yerini gelişmiş kurutma yöntemleri almaktadır. Örneğin Yunanistan’da ipek elekler üzerine hasad edilen stigmalar bekletilmeksizin ince bir tabaka halinde serilir ve 30-35°C oda sıcaklığında 10-12 saat süreyle karanlıkta kurutulur. Ancak bazı çalışmalar 48°C’de 3 saat süreyle yapılan kurutmanın renk kalitesi açısından en iyi sonucu verdiğini göstermiştir. Yine Yunanistan’da safranın cam kavonoz veya teneke kutularda % 10–12 nem ortamında en iyi şekilde depolanabildiğini gösteren araştırma sonuçlarına ulaşılmıştır (Negbi 2006). Kurutma güneşte veya gölgede doğal olarak yapılabildiği gibi

sunu kurutma yöntemleri kullanılara da safran kurutulmaktadır. Ancak her yöntemin aroma, renk ve toplam kalite üzerine olumlu ve olumsuz sonuçları vardır. Kurutma prosesleri genelleşmiş bölgesel uygulamalar ve teknolojik araştırmada elde edilen verilerle optimize edilmeye çalışılmaktadır. Bazı durumlarda safran stigmaları pazara sunulmadan önce öğütülmektedir, ancak öğütülmüş safrana bazı talepler olmasına rağmen genel bakış; hilelerin bu safranda daha fazla yapılma ihtimalinin söz konusu olmasıdır. Nitekim öğütülmüş safrandaki yabancı maddeler veya hile amaçlı katkıları çıplak gözle anlaşılamaz hale gelir. Ancak halen bazı ülkelerde öğütülmüş safrana izin verilir ve bu konuda bölgesel kurallar ve etiketlenme koşulları geçerlidir (Negbi 2006).

2.2. Safranın Genel Bileşimi ve Kalitesini Belirleyen Önemli Metabolitleri

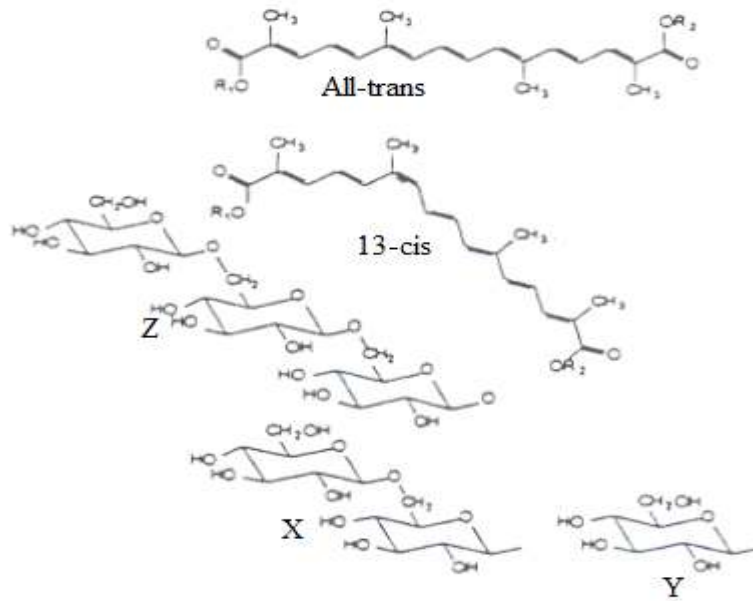
Safran genel olarak % 15-16 su, % 10-14 protein, % 13-14 şeker, % 6-7 nişasta, % 9-10 gıamlar ve dekstrin, % 6-7 pentozlar, % 5-8 kül, % 4-5 lif, % 0.8-1 uçucu yağ, % 8-13 bitkisel yağdan (palmitik, stearik, laurik ve oleik asitler) oluşmaktadır. Safran ayrıca B₂ vitamini ve B₁ vitaminleri ile Ca, Fe, P, Na ve K gibi mineraller de içermektedir (Peter 2001). Ayrıca kamferol, mirisitin, kuersetin, apigenin, luteolin ve tirisin safranda bulunan fenolik yapıdaki bileşiklerdendir (Williams 1998, Ibrahimzade 2007).

Dünyanın farklı bölgelerinde gıdaya renk, lezzet ve aroma kazandırmak için baharat olarak kullanılan safran renk özelliğini esas olarak cis ve trans şeklinde bulunan krosinlerden almaktadır. Krosin sülfirik asit yoğunluğuna bağlı olarak kırmızıdan mavi renge doğru değişim göstermektedir. C₄₄H₆₄O₂₄, krosinin moleküler formülüdür (Peter 2001). Krosin, trans-krosetin (di-(β-D-gentiobiyosil)) esteridir (sistemik adı: 8,8-diapo-8,8-karotenoik asit). Krosetin bir konjüge polien dikarboksilik asittir, ayrıca hidrofobiktir ve dolayısıyla da yağda çözünür özelliğe sahiptir. Krosetin-2 suda çözünür gentiobioz ile (yani şekerlerle) birleşince ortaya çıkan ürün de suda çözünür özellik kazanmaktadır. α-krosin, kuru safran kütlesinin %10'undan fazlasını oluşturan bir pigmenttir. Bu iki esterleşmiş gentiobioz (Şekil 2.8.), suda çözünür hale gelmiş olan α-krosini, pirinç pilavı gibi su bazlı yemekleri renklendirmek için ideal bir ürün haline getirir (McGee 2004, Carmona 2006, Melnyk 2010).



Şekil 2.8. Safranın ana renk bileşeni kirozin

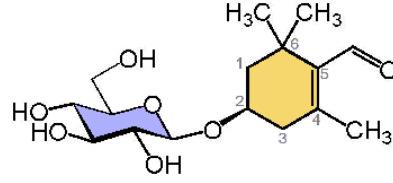
Tarantilis vd (1994) tarafından yapılan bir çalışmada safranda cis ve trans krosetinler dışında ester-di-jantyo-biyozil-krosetin (α -krosetin) tespit edilmiştir. Yine aynı ekip tarafından 1995 yılında yapılan başka bir çalışmada ise safranda bulunan krosetin çeşitleri krosin 1, krosin 2, krosin 3, krosin 4, krosin 5, krosin 6, krosin 7 olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.9).



Krosetinler	Kimyasal Förmül	Molekül	Kütle
Krosin-7	$R_1 = R_2 = 3 \beta\text{-D-glucosyl (Z)}$	$C_{56}H_{84}O_{34}$	MA: 1300
Krosin-6	$R_1 = 3 \beta\text{-D-glucosyl (Z)}, R_2 = \beta\text{-D-gentiobiosyl (X)}$	$C_{56}H_{84}O_{29}$	MA: 1138
Krosin-5	$R_1 = R_2 = \beta\text{-D-gentiobiosyl (X)}$	$C_{44}H_{64}O_{24}$	MA: 976
Keosin-4	$R_1 = \beta\text{-D-gentiobiosyl (X)}, R_2 = \beta\text{-D-glucosyl (Y)}$	$C_{18}H_{54}O_{19}$	MA: 814
Krosin-3	$R_1 = \beta\text{-D-gentiobiosyl (X)}, R_2 = H$	$C_{32}H_{44}O_{14}$	MA: 652
Krosin-2	$R_1 = R_2 = \beta\text{-D-glucosyl (Y)}$	$C_{32}H_{44}O_{14}$	MA: 652
Krosin-1	$R_1 = \beta\text{-D-glucosyl (Y)}, R_2 = H$	$C_{26}H_{34}O_9$	MA: 490
Krosetin	$R_1 = R_2 = H$	$C_{20}H_{24}O_4$	MA: 328

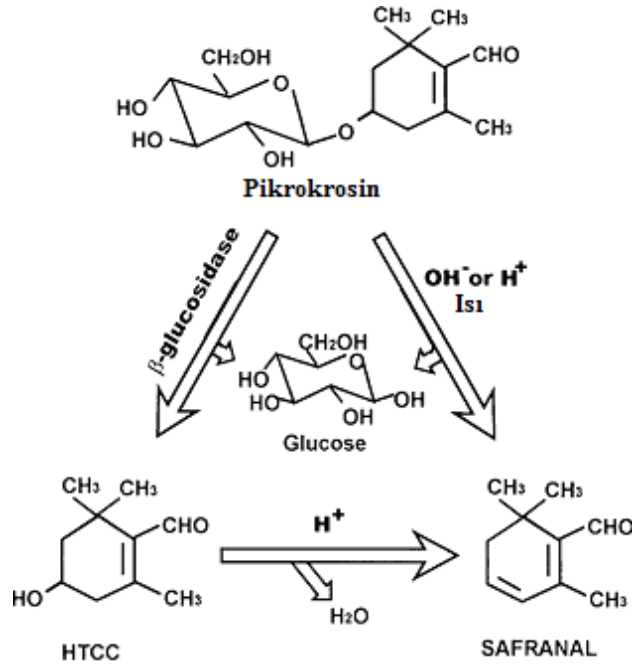
Şekil 2.9. Safranda bulunan krosetin çeşitleri.

Safranın rengi ile birlikte kalitesini etkileyen diğer özellikleri ise tadı ve aromasıdır. Bu bağlamda pikrokrosin ($C_{16}H_{26}O_7$) safrana acılık veren, safranal da aromadan sorumlu olan bileşiktir. HTTC (4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-carboxaldehyde-1-cyclohexene) aglikonunun renksiz glikoziti olan pikokrosin, safranın tattan sorumlu olan ana bileşenidir (Şekil 2.10)



Şekil 2.10. Pikrokrosinin kimyasal yapısı (Jalali-Heravi 2009).

Safranın acılık bileşeni olan pikokrosin asit, alkali, ısı ve enzim etkisi ile HTTC'ye, HTTC de asit safranin uçucu yağının ana bileşeni ve aromadan sorumlu olan safranala dönüşmektedir (Şekil 2.11). Safranın rengi, aroması ve tadından sorumlu olan bu bileşikler yoğun olarak stigmasında bulunmaktadır (Baydar 2005, Peter 2001).



Şekil 2.11. Pikrokrosinin HTCC ve safranala kimyasal dönüşümü (Carmona vd 2007).

2.3. Safranın Kullanım Alanları

Safranın önemi 3 temel ikincil metabolitten kaynaklanmaktadır. Bunlardan krosin ve türevleri renkten sorumlu iken pikrokrosin tattan sorumludur. Üçüncü olarak uçucu yağın temel bileşeni olan safranin ise safranın karakteristik safran aromasını oluşturmaktadır. Bu maddelerin kurutulmuş stigma dokusundaki miktarı safran

kalitesinin en önemli göstergesidir. Safranın içerdği bu özgün metabolitlerden dolayı safran geçmişten günümüze kadar insanoğlu tarafından değişik amaçlarla kullanılmıştır. Günümüzde safranın kullanıldığı en önemli alan gıda sektörüdür. Safranın baharat olarak kullanıldığı gıda ve yemekler çok çeşitli ve sayıdadır. Bunlar arasında krema ve peynirler, balıklar, tavuk ve kırmızı et, pirinç, mayonez, likör ve diğer bazı tatlı içecekler sayılabilir. Özellikle İran, İspanya, İtalya ve Fransız mutfaklarında safranın özel bir yeri vardır. Nitekim bu ülkelerin mutfağındaki safranlı bazı yemekler dünya çapında isim yapmış ve ün kazanmıştır. Bunlara ek olarak safran diğer pek çok Avrupa ve Asya mutfaklarında önemli bir yer bulmuş ve özellikle kutlama-festival yemeklerinde kullanılır hale gelmiştir. İsveç’de özel safranlı noel ekmeği, İngilterenin bazı bölgelerinde özel safranlı kek ve Hindistan’da süt-krema temelli safranlı tatlılar bunlara örnek olarak verilebilir. Arap ülkelerinde kahve ve safrandan hazırlanan bir içecek olan kâküle misafirlere hoşgeldin içeceği olarak sunulmaktadır. Japonya’da balığın lezzetini arttırmak amaçlı kullanılan safran ayrıca bu ürünlerin altın sarısı rengini de güçlendirmektedir. Gıda endüstrisinde kullanılan bazı kuru karışımlarda, çorbalarda, dondurmada ve diğer pek çok gıda ürününde safran temel ingredient olarak kullanılmaktadır. Hindistan’da ayrıca çiğneme amaçlı kullanılan tütünün lezzetini geliştirme ve zenginleştirme amacıyla da safran kullanılmaktadır (Peter 2001).

Tarihte safranla boyanan kumaşlar az bulunan en pahalı kumaşlar olarak krallığın fertlerinin bir statü sembolü olarak kullanılmıştır. Tarihte yün ve ipek kumaşlar safran ekstraktlarına batırılarak boyanmış ancak günümüzde safranın çok pahalı olması nedeniyle sentetik boyalar onun yerini almıştır (Peter 2001).

Safran ayrıca parfüm ve kozmetik alanında da kullanılmaktadır. Taze stigmalarda bulunan acı tattaki pikokrosinin kurutma prosesi sırasında hidrolizi sonucunda ortaya çıkan hoş aromalı safranal bileşeni safranın bu alanlarda kullanılmasının temel nedenidir. Eski Yunanlılar safranı afrodizyak bir parfüm olarak değerlendirmişler ve salonlarda, tiyatrolarda ve Roma hamamlarında kullanmışlardır. Nitekim kaynaklar Neron’un Roma şehrine girişinde caddelere safran saçıldığını bildirmektedir. Orta Doğu ülkelerinde yağ bazlı bir parfümün hazırlanmasında safran ve sandal ağacının kullanıldığı ve bu parfümün Zaafran Attar olarak adlandırıldığı bildirilmektedir.

Günümüzde de safran pek çok ünlü parfüm markalarına ait ürünlerin temel bileşenlerindendir. Bazı tütsü çeşitlerinde de kullanılan safranın günümüzde kozmetik endüstrisinde kullanımı içerdiği aktif bileşikler ve kozmetik formülasyonlarında doğal ürünlerin kullanım eğiliminin artmasına bağlı olarak hızla artmaktadır (Peter 2001).

Safran bütün bunlara ek olarak tarihte tıp alanında da kullanılmıştır. Nitekim M.Ö. 1500 yıllarına ait Eber papirüslerinde safranın böbrek rahatsızlıklarını gidermede kullanılan ilaçların bileşiminde kullanıldığından bahsedilmektedir. Hipokrat ve diğer bazı bilim insanları safranın iştah arttırıcı, hazmı kolaylaştırıcı ve bebeklerde sakinleştirici özelliğe sahip olduğunu düşünmüşlerdir. Safran bazı kanser tiplerinin tedavisinde koca karı ilacı olarak da kullanılmıştır. Daha sonraki pek çok araştırma sonuçlarında safran ekstraktlarının insan tümör hücrelerinin büyümesini engellediği rapor edilmiştir. Safranın suda çözünen karotenoidlerinden olan krosin kanser tedavilerinde araştırma çalışmaları yapılan en önemli bileşenidir. Safranda bulunan krosetinin ise indirek olarak kandaki kolesterol seviyesini azalttığı bildirilmektedir. İspanya'nın bazı bölgelerinde görülen daha düşük oranlı kalp hastalıkları bu bölge insanın safranı hemen her gün kullanmasına bağlanmaktadır (Peter 2001, Duke 2003, Raghavan 2007).

Hint tıbbında (ayurvedic) safran eklem iltihaplarından iktidarsızlığa ve kısırlığa kadar değişen pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Safran ayrıca astım ve öksürük, soğuk algınlığında, alkol bağımlılığını tedavisinde ve deri hastalıklarında kullanılmaktadır. Safran Asya ve Orta Doğu'da afrodizyak olarak bilinmekte ve kullanılmaktadır. Çin ve Tibet'de safran yine pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bütün bunlara ek olarak safran ve diğer bazı maddelerin karışımları değişik ülkeler ve kültürlerde çok farklı amaçlarla kullanılmakta burada söz edilmeyen yine pek çok hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Nitekim Menlyk vd (2010) safranın sağlıkla ilişkisi konusunda yaptıkları geniş çaplı bir derleme çalışmasında bu alanda yapılan bilimsel çalışmaların sonuçlarını listelemiş ve özetlemişlerdir. Bu derleme çalışmasının sonuçları safranda bulunan pek çok fitokimyasal bileşik nedeniyle potansiyel biyolojik ve farmokojik fonksiyonlara sahip olmasından dolayı bilim adamlarının ilgisini çekmiştir. Bu fitokimyasallar arasında bulunan krosin, krosetin,

pikrokrosin ve safranalın tıbbi biyoaktivitesini belirlemek için çok sayıda *in vitro* ve *in vivo* çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları açıkça safran kullanımlarının pek çok kanser riskini azaltmasının yanında kalp damar hastalıkları, mide rahatsızlıkları, depresyon, uykusuzluk ve ruhsal sıkıntı problemlerini de azalttığını göstermektedir. Tüm bunların aksine aşırı safran alımı (>5 gram) uyuşturucu etkisi yapmakta ve safran kormları genç hayvanlarda toksik etki yaratmaktadır (Peter 2001).

2.4. Safrana Ait Kalite Sorunları ve Safrana Yapılan Hileler

Safranın çok aranan bir baharat olması ve fiyatının da çok yüksek olması nedeniyle hilelere de açık olacağı ortadadır. Nitekim ülke ve bölgelere göre değişmekle birlikte safrana yapılan yaygın hileler 8 farklı alanda sınıflandırılabilir. Bunlar;

1. Bölgesel ve uluslararası pazarlarda ürünün orjinal yetiştirilme bölgesi konusunda alıcılar yanıltılabilmektedir. Bu yanıltma bir ülke içerisinde en kaliteli safran yetiştirilen bölgeye ait olduğu veya meşhur ülke adının kullanılması şeklinde yapılabilir.
2. Ürün eski ürünle, çiçeğin dişicik borusu ile karıştırılabilir.
3. Çiçeğin diğer parçalarıyla karıştırılabilir.
4. Ağırlığı arttırmak amacıyla nem, şurup, bal, gliserin, bazı yağlar, baryum sülfat, kalsiyum karbonat, nişasta, potasyum hidroksit, laktoz ve bazı tuzlar genellikle safrana katılan maddelerdendir.
5. Diğer safran türleri, narçiçeği, kırmızıbiber tozu, gelincik çiçeği, pırasa kökü ve safran stigmalarına benzeyen değişik bitki parçalarının boyanmış kısımları gibi başka bitkiler katılabilir.
6. Bazı durumlarda tuzlu lifler ve kuru et katılabilir.
7. Renklendirilmiş jelâtin gibi yapay ürünler katılabilir.
8. Organik renklendirici maddeler (pikrik asit, fuksin ve katran türevleri) katılabilir (Peter 2001).

Safrana yapılan hilelerin önüne geçebilmek ve safranı kalite olarak kategorilendirmek amacıyla ISO (3632-1; 1993) bir standart yayınlamış ve buna göre safran fiziksel ve

kimyasal özelliklerine göre 4 farklı şekilde sınıflandırılmıştır. Ancak bazı araştırmacılar (Peter 2001) bu sınıflandırmada rengin temel karakteristik olduğunu ve o sınıfın standartlarına uygun renk yakalandığında istenilen diğer kimyasal bileşenlerinin miktarının da kendiliğinden uygun olacağını belirtmişlerdir. Bu standartlara göre safranın stigmasının toplam kül miktarının en yüksek %8; nem ve uçucu bileşik miktarının kuru maddede en yüksek %12; asitte çözünmeyen kül miktarının 1. ve 2. sınıf safranlar için kuru maddede en yüksek % 1; 2. ve 3. sınıf safranlar için kuru maddede en yüksek % 1.5; suya geçen ekstrakt miktarının kuru maddede en yüksek % 65; ham lif miktarının kuru maddede en yüksek % 6; toplam azot miktarının ise kuru maddede en yüksek % 3 olması gerektiği bildirilmektedir. Ayrıca safranın renk (krosin) ve acılık (pikokrosin) açısından kalitesini belirleyen ve yukarıda da bahsedildiği üzere sınıflandırmada kullanılan bileşenlerinin limitleri ise ISO (3632-1; 1993) tarafından spektrofotometrik bir ölçüm yöntemiyle belirlenmiş ve bu yöntemle göre safranın % 1'lik sulu çözeltisinin 257 nm'deki absorbens değeri pikrosin için 70 (1. sınıf); 55; (2. sınıf) 40 (3. sınıf); 30 (4. sınıf) olması gerektiği bildirilmiştir. 440 nm'de krosinin vermiş olduğu absorbens değeri üzerinden hesaplanan renk verme gücünün ($E_{\%1}^{440\text{ nm}}$) ise 1. sınıf için 190; 2. sınıf için 150; 3. sınıf için 110; 4. sınıf için ise 80 olması gerektiği bildirilmektedir. Bununla birlikte yine aynı çözeltinin 257 nm'de vermiş olduğu absorbens değerlerinin ise sınıflandırmada kullanılmayan ama safranın kalitesinin bir ölçütü ana aroma bileşeni olan safranalın absorbensinin 20-50 arasında olması gerektiği bildirilmiştir.

Dünya'da en büyük safran üreticisi ülke olan İran ise kendi tükettiği safranı 5 farklı kalite sınıfına ayırmış ve buna İran Gıda Kodeksi'nde yer vermiştir. Nitekim buradan yola çıkarak bu tez kapsamında da İran marketlerinde 5 farklı sınıf altında satılan safran örneklerinin ISO standartlarına göre kategorilerinin durumu ortaya konulmuş ve örneklerle yapılan fiziksel (L, a, b renk), kimyasal (nem, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı, antioksidan aktivite) ve kromatografik (renk, tat ve aroma kompozisyonu belirlemek amacıyla) analizlerle safranların kalite özellikleri belirlenmiştir. Safranın sahip olduğu tarihi, ekonomik önemi ve biyoaktif bileşenlerce zengin olması sebebiyle safran araştırmacıların ilgisini çekmiş ve aşağıda da bazıları özetlenmiş olan birçok araştırmaya konu olmuştur. Ancak literatür incelendiğinde farklı

sınıf safranların kalite özelliklerinin karşılaştırılması üzerine bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Sujata vd (1992) tarafından safranda bulunan krosin, krosetinler, pikrokrosin ve safranal bileşenlerinin ince tabaka, HPLC ve gaz kromatografisi metodları ile belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada, krosin; ince tabaka kromatografisi ile % 5.54 mg; HPLC ile %5.86 mg, krosetin; ince tabaka kromatografisi ile % 2.20 mg; HPLC ile %2.15 mg, pikrokrosin; ince tabaka kromatografisi ile % 10.18 mg; HPLC ile %11.23 mg ve safranal ise; ince tabaka kromatografisi ile % 0.80 mg; HPLC ile %0.83 mg ve gaz kromatografisi yöntemiyle %0.81 mg olarak belirlenmiştir.

Lage ve Cantrel (2009) Fas'da yaptıkları bir araştırmada 46 – 1630 metre arasında değişik rakımlarda üretilmiş safranların bileşimlerini HPLC ile belirlemişler ve kuru maddede % olarak krosini 17.90 ile 36.27; pikrokrosini % 4 .23 ile 28.70 arasındaki değerlerde tespit ederken safranalı ise % 0.04 ile 0.48 arasında belirlemişlerdir. Çalışma sonuçlarında krosin içeriğinin rakım artışına paralel olarak arttığı belirlenmiştir.

Tarantilis ve Polissiou (1997) tarafından safran (*Crocus sativus*)'ın genel aroma bileşenlerinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada buhar distilasyon(SD), mikro-buhar distilasyon(MSDE) ve vakum altında distilasyon(VHS) yöntemleriyle elde edilen uçucu yağlar GC-MS metodu ile analiz edilmiş ve 2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-carboxaldehyde(safranal), 3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-one(isophorone), 3,5,5 trimethyl-3-cyclohexen-1-one (isophorone'in izomeri) ve 2,6,6-trimethyl-1,4-cyclohexadiene-1-carboxaldehyde (safranalin izomeri) tanımlanmış, MSDE metoduyla elde edilen uçucu yağlarda bu bileşenlerin kaybının en az düzeyde olduğu bildirilmiştir.

Gregory vd (2005) tarafından farklı kurutma koşullarının(hava akımı-sıcaklık) safranın sekonder metabolitleri miktarına olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, taze kurutulmamış safran bitkisinde 318 ppm safranal ve %16.52 pikrokrosin tespit edilirken, 87°C 20 dak+43 °C 70 dak ve hava akımının uygulanmadığı koşullarda yapılan kurutma işlemi sonunda en yüksek miktarda safranal (1596 ppm) bulunmuştur. Ayrıca 80°C 20 dak+43 °C 70 dak ve hava akımının uygulanmadığı koşullarda yapılan kurutma işlemi sonunda en yüksek miktarda pikrokrosin (%10.82) tespit edilmiştir.

Raina vd (1996) tarafından safranda farklı kurutma sistemleri ve depolama süresinin krosin bileşiği üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada gölgede, güneşte, elektrikli fırın, sıcak hava akımında vb. yöntemler kullanılarak yapılan kurutma işlemlerinden vakum fırını altında yapılan işlemle krosin en yüksek miktarda (170.5 g/kg) bulunmuş ve bu bileşiğin depolama ile azaldığı belirtilmiştir. 24 aylık depolama sonunda krosin miktarı 170.5 g/kg'dan 34.2 g/kg'a düşmüştür.

Celali-Haravi vd (2010) tarafından yapılan bir çalışmada İran'ın farklı bölgelerine ait safranlarda yaptıkları bir araştırmada uçucu bileşiklerin ve bunların yüzde oranlarının bölgelere göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Ancak bütün örneklerde bazı bileşenlerin ortak olduğu belirtilmiştir.

D'auria vd (2004) yaptıkları bir çalışmada İtalya'nın 3 ayrı bölgesinden ve İranın bir bölgesinden temin ettikleri safrandaki uçucu bileşikleri karşılaştırmışlar. Yaptıkları çalışmada daha önceki çalışmalarda bulunmayan 18 adet bileşeni tespit ettiklerini öne sürmüşlerdir.

Bir diğer çalışmada, 11 farklı ülkeden temin edilen safranlar HPLC ile analiz edilmiş ve örneklerde pikrokrosin, 3-gentiobiosyl-kamferol, safranal, trans-krosin-4, trans-krosin-3, trans-krosin-2', cis-krosin-4, trans-krosin-2 ve cis krosin-2 bileşikleri tespit edilmiştir. Pikrokrosin en fazla İspanya safranında(8.14 mg/g), safranal ise en fazla Yunanistan safranında(1.29 mg/g) bulunmuştur (Heriberto-Caballero vd 2007).

Farklı coğrafi koşullarda yetiştirilen safranlardaki safranal ve safranal izomerleri miktarına yetiştirme koşullarının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Yunanistan (40 örnek), İran (84 örnek), İtalya (60 örnek) ve İspanya'dan (63 örnek) alınan safran örnekleri analiz edilmiş ve en fazla safranal (488.6 g/kg) Yunanistan safranında bulunmuş, onu sırasıyla İtalya(403.9), İran(346.9 g/kg) ve İspanya(335.9 g/kg) safranları izlemiştir. Araştırma sonuçlarında diskriminant analiziyle aroma bileşiklerinden coğrafi bölgelerin açıkça belirlenebileceğini göstermiştir (Anastasaki vd 2009). Bilindiği üzere bitkilerin etken maddelerinin miktarı üzerinde tür, yükseklik, iklim koşulları ile uygulanan kurutma şartları gibi faktörler etkili olmaktadır. İran'ın farklı bölgelerinden alınan safranların aroma bileşenlerinin analiz edildiği bir çalışmada

da safranal miktarının %19.42-51.03 arasında değiştiği bitkinin yetiştiği bۆlgenin bu miktarda ana faktۆr olduğu bildirilmektedir (Jalali-Heravi 2010).

Campo vd (2010) tarafından İtalya, Yunanistan, İşpanya ve İran'dan alınan safran ۆrneklerindeki pikrokrosin içeriklerinin farklı yۆntemler kullanılarak tayin ettikleri bir çalışmada, İtalya safranlarının spektrofotometrik yۆntemle 150.78 g/kg; HPLC ile 171.30 g/kg, İşpanya safranlarının spektrofotometrik yۆntemle 150.01 g/kg; HPLC ile 162.40 g/kg, Yunanistan safranlarının spektrofotometrik yۆntemle 140.35, g/kg HPLC ile 148.40 g/kg ve İran safranlarının ise spektrofotometrik yۆntemle 120.59 g/kg; HPLC ile 102.10 g/kg pikrokrosin içerdiklerini tespit etmişlerdir.

Carmona vd (2006) yaptıkları bir çalışmada GC-MS ve elektronik burun ile belirledikleri uçucu bileşiklere dayanarak Fas, İran, Yunan ve İşpanyol orjinli safranları incelemişler ve elde ettikleri uçucu bileşikler ile farklı bۆlgelerden gelen safranların birbirinden ayrılabilceğini ortaya koymuşlardır.

Pellegrini vd (2006) tarafından yapılan farklı baharatların(fesleğen, kekik, nane, kırmızıbiber, biberiye, adaçayı, safran) antioksidan aktivitelerinin karşılaştırıldığı çalışmada ise safranın antioksidan aktivitesi trolox eşdeğeri cinsinden 53.04 mmol trolox/kg olarak bulunmuş ve incelenen baharatlar arasında en yۆksek antioksidan aktiviteye safranın sahip olduğu bildirilmiştir. Safranda bulunan krosin bileşeni ile antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyonun incelendiği bir çalışmada ise safranın antioksidan aktivitesinin alfa tokoferol cinsinden 107 mg/g olduğu ve krosinle antioksidan aktivite arasında bir ilişkinin olmadığı gۆrۆlmüřtۆr (Chen vd 2008).

Magi vd (2010) toplam 73 İşpanyol safranından ellisini 1 yıldan daha az sۆrede 13' ۆnۆ 3-4 yıl sۆreyle geriye kalan 10 ۆrneęi de 8-9 yıl sۆreyle 4 ۆC karanlıkta depolamışlardır. Depolanan bu ۆrneklerde 17 tane aroma bileşeni tespit etmişler ve bileşiklerin kokularını safran kokusu, taze kesilmiş imen, baharatımsı, iek, sebze, karamel ve turunil kokusu olarak tanımlamışlardır. Araştırma sonuçlarına gۆre 1 yıldan daha az depolanan safran ۆrneklerindeki hakim kokunun safran, iek ve baharatımsı olarak sınıflandırılırken 3-4 ve 8-10 yıl gibi daha uzun sۆre depolanan ۆrneklerdeki hakim aromanın sebze, karamel ve turunil kokusu olduğu bildirilmiştir.

Karimi vd (2010) tarafından yapılan bir diğerk çalışmada İran'ın Horasan bölgesinden hasat edilen safran 5 gün süreyle doğal olarak kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş ve örnekler etanol, su ve metanolle zldkten sonra fenolik ve flavonoid içerikleri ile antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Bu çalışmada safran'ın IC₅₀ değerleri α-tokoferol ve BHT'ye karşı çözücüye bağlı olarak 2–3 kat daha fazla bulunmuştur. Sözü edilen çalışmada safranda fenolik bileşiklerden gallik asit ve flavanoidlerden pirogallol tespit edilmiştir.

Masuda vd (2010) *Crocus vernus* L. ve *Crocus sativus* L. korm ve çiçeklerinin uçucu yağının bileşiklerini belirledikleri bir çalışmada *C.sativus* stigmalarında 0.04 μg/g safranal tespit etmişlerdir. Sonuçlar *C.vernus*'da dominant kokuların phenylacetaldehyde, 2 (5H) furanone ve nonanal olduğunu; bunların yanında *C.sativus*'da ise 2 (5H) furanone, (E)-2-methyl-2-butenal, 1-octen-3-ol, safranal, phenylacetaldehyde'nın güçlü aroma bileşenleri olduğunu göstermiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu alışmada *Crocus sativus* L. türünden 5 farklı kalitede safran (All Red, PS, PI, PII ve Bunch) (şekil 3.1 ve 3.2) kullanılmıştır. Örnekler İran’da faaliyet gösteren ticari bir firmadan temin edilmiştir. Bunch rneği, safranın stigma ve yumurtalık hariç dişicik borusunun tamamını içermektedir. All Red rneği, koyu kırmızı rengine de stigma ve toplam kütlenin %0.05 kadar dişicilik borusu içerirken, PS rneği de stigmanın yanı sıra toplam kütlenin %5’i kadar dişicik borusu içermektedir. PI ve PII rnekleri ise stigma ile toplam kütlenin sırasıyla %10’u ve %20’si kadar dişicik borusundan oluşmaktadır. Örnekler, 2010 yılında hasat edilmiş, 80  C’de 20 dk süreyle kurutularak, İran Gıda Kodeksi’ne uygun olarak üretilmiş ürünlerden temin edilmiştir.



All Red



PS



PI



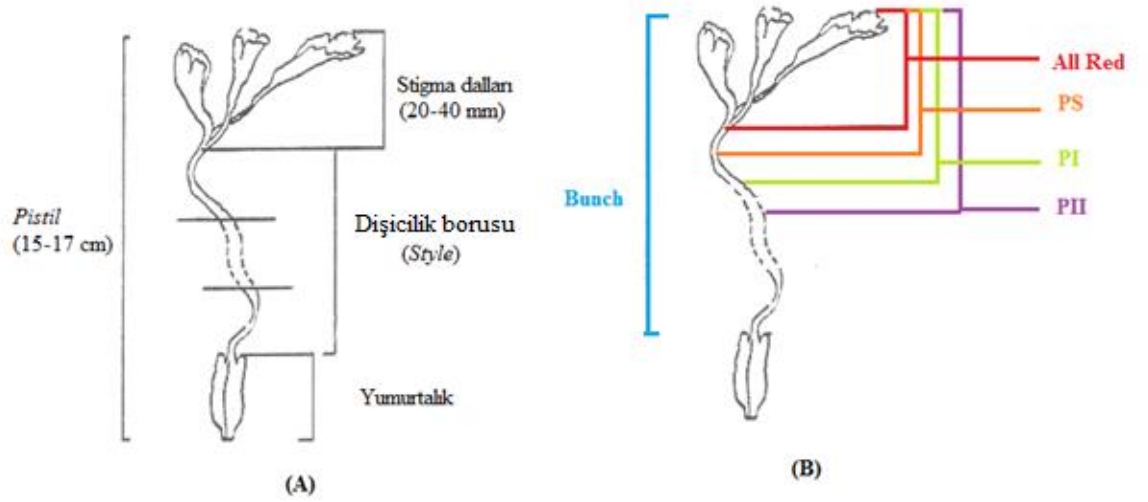
PII



Bunch



Şekil 3.1. *Crocus sativus* L. türünden elde edilen ve İran Gıda Kodeksi'ne göre sınıflandırılmış olan 5 farklı safran (All Red, PS, PI, PII ve Bunch).

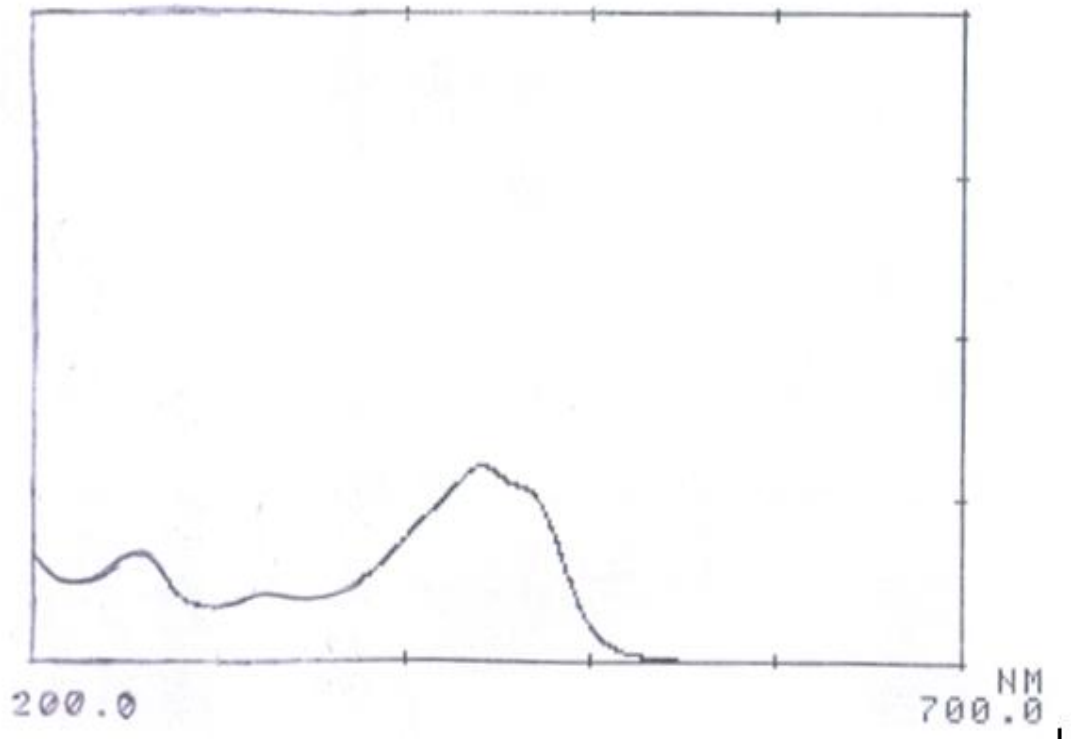


Şekil 3.2. *Crocus sativus* L.'nin boyuncuk ve stigmalardan ibaret dişi çiçek organı (A) ve çalışmada kullanılan safran örneklerinin elde edildiği kısımları (B).

3.2. Metot

3.2.1. Safran örneklerinin ISO 3632–1 standardına göre sınıflarının belirlenmesi

Çalışmada kullanılan 5 farklı sınıf safran örneklerinin ISO 3632-1 tarafından yapılan sınıflamada hangi kategoride olduğunu belirleyebilmek amacıyla $0.500 \text{ g} \pm 0.001$ örnek tartılıp 1 L'lik balon jojeye aktarılmış ve üzerine 900 mL saf su eklenmiştir. Karışım manyetik karıştırıcıda 1000 devir/dk'da oda sıcaklığında ($\sim 25^\circ\text{C}$) 1 saat süreyle karıştırılmış ve balon joje çizgisine tamamlanmıştır. Elde edilen bu çözeltiden alınan 20 mL 200 mL'lik balon jojeye aktarılıp çizgisine tamamlanmıştır. Daha sonra bu ekstrakt 0.45'lik PTFE filtreden geçirilip kuartz küvetler kullanılarak spektrofotometrede (Shimadzu UV-160 A) 257 ve 440 nm'lerde (Şekil 3.3) absorbans değerleri okunmuştur. Okunan absorbansların %1'lik karışıma karşılık gelen değerleri ISO 3632-1'e göre karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3. Safran ekstraktının maksimum absorbans verdiği dalga boyları (257 ve 440 nm).

3.2.2. Nem miktarı tayini

Safran örneklerinin nem miktarı AOAC (1990)'a göre belirlenmiştir. Bu amaçla örnekler 2.000 ± 0.001 g tartılmış ve $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de sabit tartıma ulaşana dek etüvde kurutulmuştur. Kurutulan örneklerin son ağırlıkları ölçülerek ağırlık kaybından % nem miktarı hesaplanmıştır.

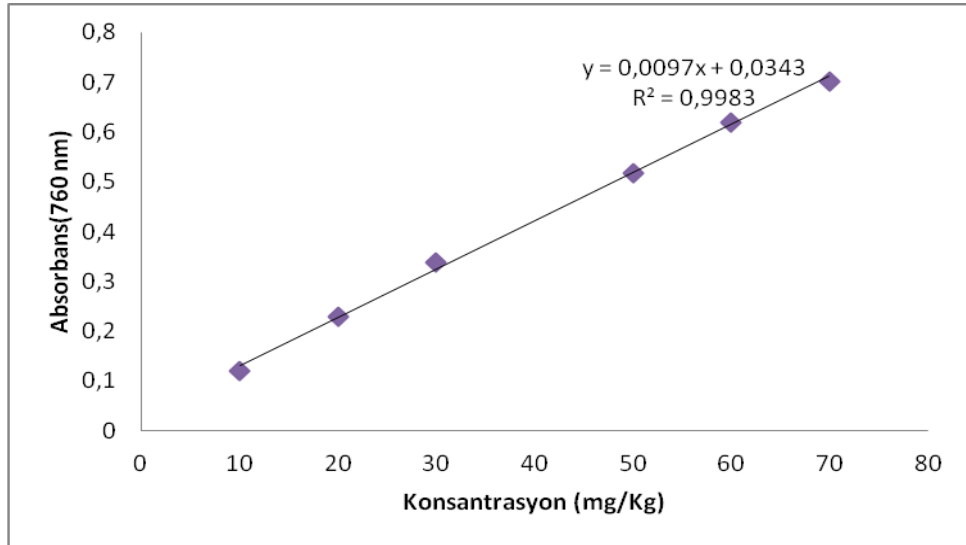
3.2.3. Safran örneklerinin ekstraksiyonu

Öğütülen safran örneklerinin toplam fenolik, toplam flavonoid madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan ekstraksiyon işlemi bazı araştırmalar (Cemeroğlu 2007, Pellegrini 2006, Bortolomeazzi 2007, Zhang 2008) dikkate alınarak metanol:su (80:20) karışımı ve sadece su kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla santrifüj tüpüne 0.5 ± 0.001 g öğütülmüş safran örneği tartılarak üzerine 9.5 mL solvent (metanol ekstraktı için %80'lik metanol, su ekstraktı için saf su) eklenmiş ve su banyosunda (orbital hareket eden, 100 d/dk'da), oda sıcaklığında (yaklaşık $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 1 saat süreyle karıştırılmıştır. Ardından tüp içeriği 5600

g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Bu işlemden sonra tüpün üstündeki sıvı kısım alınarak, tüpteki kalıntı üzerine yeniden 9.5 mL solvent eklenmiş ve santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Beş kez ardı ardına tekrarlanan (ön denemelerde yıkama işlemi 8 defa tekrarlanmış ve analiz edilen sonuçlarda bir değişimin olmadığı gözlemlenmiştir) santrifüj işleminden sonra elde edilen berrak kısım 50 mL'lik bir ölçü balonuna alınmış ve balon hacmine tamamlanmıştır. Elde edilen bu ekstraktlar toplam fenolik, toplam flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite analizleri yapılabileceği kadar -18°C'de depolanmıştır.

3.2.4. Toplam fenolik madde miktarı tayini

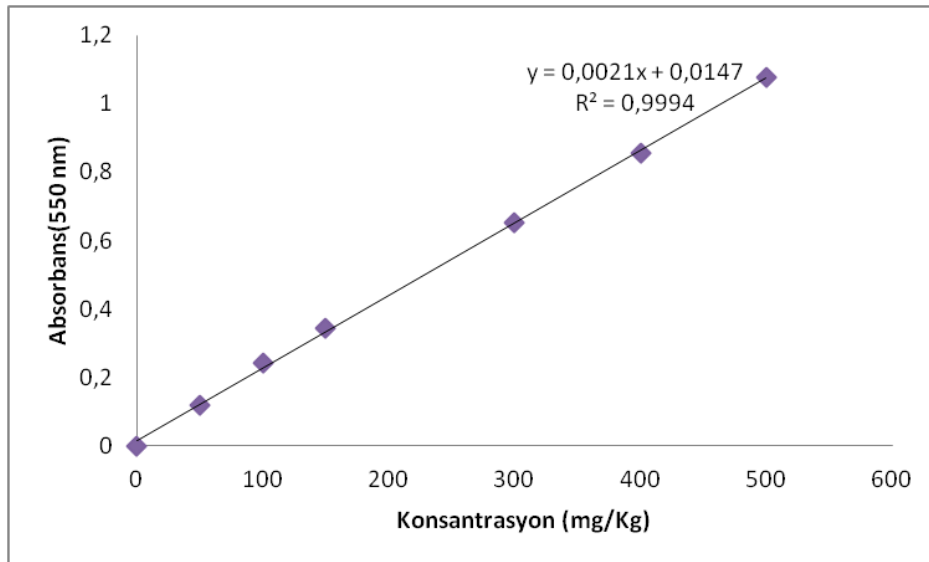
Toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla yukarıda anlatıldığı şekilde elde edilen ekstraktlardan sızdırmaz kapaklı cam tüpler içerisine 0.5 mL alınmış ve üzerine sırasıyla 2.5 mL 0.1 N'lik Folin-Ciocalteu çözeltisi ve 2 mL %7.5'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vorteksle 30 sn karıştırıldıktan sonra 50°C'deki su banyosunda 5 dk bekletilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulan karışımın spektrofotometrede (Shimadzu UV-vis 160A) 760 nm dalga boyunda, absorbansı okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan kurve yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru örnek ağırlığına dönüştürülmüştür (Şekil 3.4) (Skerget vd 2005).



Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit standardının absorbans değerleri

3.2.5. Toplam flavonoid madde miktarı tayini

Elde edilen ekstraktan alınan 0.5 mL örnek cam tüpler içerisinde konularak üzerine sırasıyla 2.5 mL saf su ve 150 µL %5'lik NaNO₂ çözeltisi eklendikten sonra vortekste 30 sn karıştırılmıştır. Bu çözelti 5 dk bekletilerek önce 300 µL %10'luk AlCl₃ çözeltisi, daha sonra 1 mL 1M NaOH çözeltisi ve son olarak 550 µL saf su ilave edilmiştir. 5 dakika daha bekletilen çözeltinin absorbansı spektrofotometrede 510 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri örneklerde olduğu gibi (+)-kateşinle hazırlanan kurve yardımıyla mg (+)-kateşin eşdeğeri/g kuru örnek ağırlığına dönüştürülmüştür (Şekil 3.5) (Chang vd 2006).



Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kateşin standardının absorbans değerleri

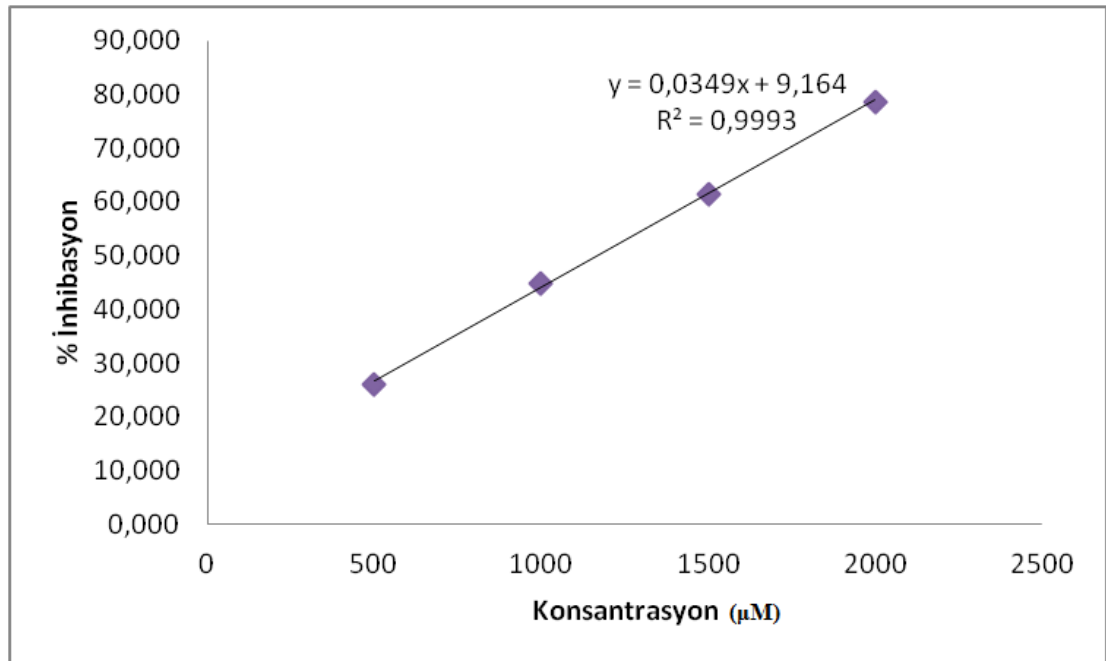
3.2.6. Antioksidan aktivite tayini

Safran ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite ölçümü spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu 2007). Bu yöntemle göre, saf su içinde 7 mM konsantrasyonda stok ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) çözeltisi hazırlanmıştır. ABTS radikal katyon (ABTS^{•+}) elde etmek amacıyla stok çözelti 2.45 mM potasyum persülfat (K₂O₈S₂) ile reaksiyona sokulmuş ve karışım kullanılmadan önce 12-16 saat ortam sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Ölçüm öncesinde ABTS^{•+} çözeltisi, 5mM fosfat buffer tuz (PBS) (pH 7.4) çözeltisi ile 734

nm’de 0.700 ± 0.02 absorbans verecek şekilde seyreltilmiştir. Stok örnek çözeltileri de yine PBS çözeltisi kullanılarak (10 µL seyreltilmiş örnek eklendiğinde kontrol (blank) çözeltisinin absorbans değerinde %40-60 inhibisyon sağlayacak şekilde) seyreltilmiştir. Daha sonra 1.0 mL seyreltilmiş ABTS^{•+} çözeltisine ($A_{734} = 0.700 \pm 0.02$) 10µl 500-2000 µM konsantrasyonlarda Trolox standardı ve uygun oranlarda seyreltilmiş örnekler ayrı ayrı eklenerek 6 dk beklenmiş ve bu süre sonunda örneklerin 734 nm’de yeniden absorbans değeri okunmuştur. Her konsantrasyonda ölçümler 3 kez tekrarlanmıştır. Trolox standardı ve her örnek için % inhibisyon değeri hesaplanmış ve konsantrasyona karşılık grafiğe aktarılmıştır. Toplam antioksidan aktivite (TAA) aşağıdaki eşitlikten hesaplanmış ve sonuçlar Trolox eşdeğeri (TE) mM/g KM olarak verilmiştir.

$$TAA = (m_1/m_T) \times f \quad (2)$$

Burada m_1 , örnek çözeltisinin % inhibisyon doğrusu eğimini, m_T , Trolox standard çözeltisi % inhibisyon doğrusu (Şekil 3.6) eğimini ve f , örnek çözeltisinin seyreltme faktörünü ifade etmektedir.



Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Trolox standardının % inhibisyon değeri

3.2.7. Renk analizi

Safran örneklerinin renk ölçümü, Konica-Minolta (CR-400) renk ölçer cihazı kullanılarak yapılmıştır (Abadio vd 2004, Quek vd 2007). Renk *L* (koyuluk-açıklık), *a* (yeşillik-kırmızılık), *b* (mavilik-sarılık) Hunter lab renk parametreleri cinsinden ifade edilmiştir. Renk ölçer cihazı her ölçüm öncesinde kendi kalibrasyon plakası ile kalibre edilmiştir. Toz halindeki safran örnekleri için yaklaşık 1.5 gr örnek renk ölçer cihazının ölçüm kabına yerleştirildikten sonra 3 ayrı noktadan renk ölçümü yapılmış ve ortalama değerler hesaplanmıştır. Metanol ekstraktları ve su ekstraktları için de aynı şekilde renk ölçümü yapılmıştır. Sıvı örnekler için renk ölçüm cihazının örnekleme kabına 20 ml örnek konmuş ve 3 ayrı noktadan renk ölçümü yapıldıktan sonra ortalama değerler hesaplanmıştır.

3.2.8. Safran örneklerinin renk bileşenlerinin belirlenmesi

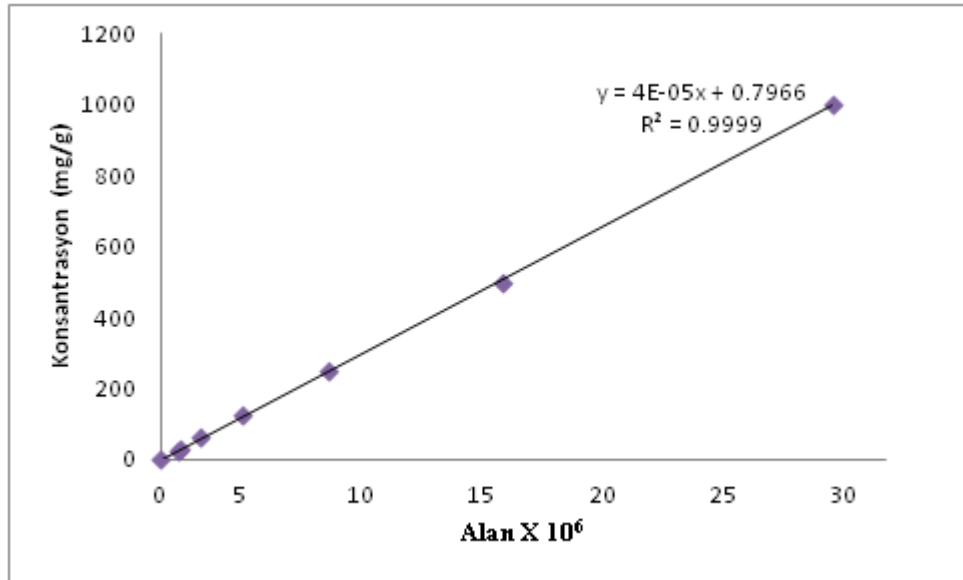
Örneklerin renk bileşenlerinin profili Heriberto-Caballero (2007) tarafından uygulanan yöntem kısmen modifiye edilerek HPLC ile belirlenmiştir. Bu yöntemde göre 0.050±0.001g öğütülmüş safran örneği tartılıp üzerine 10 ml metanol:su karışımı (50:50) eklenmiş ve 24 saat boyunca karanlıkta manyetik karıştırıcı üzerinde 4°C’de bekletilmiştir. Bu süre sonunda elde edilen ekstrakt 15 mL’lik santrifüj tüpüne aktarılıp 20000 g’de, 4°C’de, 20 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonunda elde edilen üst fazdan 2.5 mL alındıktan sonra 2.5 mL internal standart (2-nitroaniline) eklenip 25mL’lik bir balonjojeye aktarılmış ve balon joje metanol:su karışımı (50:50) ile çizgisine tamamlanmıştır. Elde edilen bu ekstrakt 0.45µm filtreden geçirilip amber renkli viallere aktarılıp HPLC’ye (SHIMADZU-UV 160A) aşağıda belirtilen koşullarda verilmiştir. Enjeksiyonlar paralelli yapılmıştır.

- Kolon: ODS-3 (4.6 x 250 mm)
- Kolon sıcaklığı: 25 °C
- Hareketli faz: (A): metanol (100)
(B): asetonitril:su (15:85)
- Akış hızı: 1mL/dk
- Enjeksiyon miktarı: 20µL

- Analiz süresi: 60 dk
- Gradient elüsyon:

Süre (dk)	A (%)	B (%)
0	10	90
60	100	0

Pikrokrosin, HTCC, internal standard ve kamferol 257 nm’de, safranal 330 nm’de ve krosinler 440 nm’de taranmıştır. Elde edilen değerler safranal standardı ile oluşturulan kurve yardımıyla mg/g safranal cinsine dönüştürülmüştür (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki safranal standardının pik alanları.

3.2.9. Safranın aroma profilinin belirlenmesi

Safran örneklerinin aroma bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla SPME tekniği kullanılmıştır. SPME’de uçucu bileşenlerin polidimetilsiloksan (PDMS) kaplı fiber üzerine tutunması sağlanmıştır. Bu amaçla öğütülen safran örnekleri 20 mL’lik PTFE/silikon septal vidalı kapaklı viallere 0.100 ±0.001 g tartılmış ve GC-MS’e aşağıda belirtilen koşullarda enjekte edilmiştir (D’auria 2006).

Kromatogramların integrasyonları manuel olarak yapılmıştır. Analiz sonrasında kromatogramlarda tespit edilen pikler FFNSC GC-MS library ver.1.2. kütüphanesinde

alınma indeksi (Retention Index; RI) değerlerine göre ve WILEY7, NIST27 ve NIST147 kütle kütüphanelerinde karşılaştırılarak tanımlanmıştır.

Çizelge 3.1. GC-MS analiz koşulları

Ön inkübasyon süresi	: 3 dk
İnkübasyon sıcaklığı	: 36°C
İnkübasyon aşamasındaki ekstraksiyon süresi	: 20 dk
Desorpsiyon süresi	:15 dk
Kolon	: TRB-5 MS (30 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı gaz	: He (90 kPa basınç ve 45.7 cm/s doğrusal hızda)
Kolon fırın sıcaklığı	: 50°C
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250°C
Enjeksiyon modu	: Split
Akış Kontrol Modu	: Linear Velocity
Split Ratio	: 20
Kolon sıcaklığı	: 50 °C’de 2 dak bekleme; 50°C’den 200 °C’de 3°C/dak sıcaklık artışıyla çıkış 10 dak bekleme.
Ion source sıcaklığı	: 200 °C
Interface sıcaklığı	: 250 °C
Tarama aralığı	: 35-450 D, m/z
Çözücü geçme zamanı (Solvent cut time)	: 0.0 dak

3.2.10. İstatistiksel analizler

Araştırmada yapılan analizler 2 tekerrürlü ve paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar SAS bilgisayar programında varyans analizine tabi tutulmuş, farklı bulunan sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Safran örneklerinin ISO 3632–1 standardına göre sınıflarının belirlenmesi

Araştırmada kullanılan All Red, PS, PI, PII ve Bunch safran örnekleri İran Gıda Kodeksi'ne göre sırasıyla Momtaz (mükemmel kalitede), I., II., III. ve IV. kalite olarak sınıflandırılmaktadır. ISO 3236-1 standarda göre pikrokrosin üzerinden safranların renk verme gücünün (%1'lik çözeltisinin 440 nm'deki absorbanası) minimum değerlerinin I. kategori için 190; II. kategori için 150; III. kategori için 110 ve IV. kategori için ise 80 olması gerektiği belirtilmiştir. Yapılan analiz sonucunda All Red örneğinin renk verme gücü 151.25; PS'nin 137, PI'nın 126.75, PII'nın 123.50 ve Bunch örneğinin 103.75 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu veriler sonucunda uluslararası standarda göre All Red örneğinin kategori 2'ye, PS, PI ve PII'nın kategori 3'e ve Bunch örneğinin ise kategori 4'e girdiği belirlenmiştir. Karotenoid yapıda olan krosinler ısıya ve biyokimyasal reaksiyonlara karşı oldukça duyarlıdır. Bu bakımdan araştırmada kullanılan safranların kurutulması, paketlenmesi, taşınması ve depolanması sırasında uygun olmayan koşullardan dolayı bir kısım krosin kaybına uğradığı ve renk verme gücünün azaldığı ve bu nedenle belirtilen uluslararası kategorilerin altında kaldığı düşünülmektedir.

4.2. Safran Örneklerinin Nem İçerikleri

Safran örneklerinin nem içerikleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde Bunch örneği hariç diğer safranların birbirine yakın ve % 7; Bunch örneğinin ise % 4 nem içeriğine sahip olduğu görülmektedir. ISO 3236-1 (1993) safran standardına göre safranının nem içeriğinin maksimum %12 olması gerektiği bildirilmektedir. Bu bakımdan çalışmada kullanılan safranlar standarda göre uygunluk göstermektedir.

Çizelge 4.1. Safran örneklerinin nem içerikleri (%) ($X \pm SE$; N=2)

Sınıf	Nem içeriği (%)
All Red	7.18 ^a $\pm$ 0.13
PS	7.22 ^a $\pm$ 0.18
PI	7.41 ^a $\pm$ 0.29
PII	7.35 ^a $\pm$ 0.16
Bunch	4.64 ^b $\pm$ 0.12

Farklı harfler ortalamaların $p < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Safran örneklerinin nem değerleri sonuçlarına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Sonuçlara göre Bunch örneğinin nem içeriği diğer örneklerden farklılık göstermektedir ($p < 0.05$). Bu farklılık, örneklerin temin edildiği firmanın tüm safran örneklerine eş kurutma koşullarını uyguladıklarını bildirmesine rağmen Bunch örneğinin daha yüksek sıcaklık ve/veya daha uzun süre kurutma işlemine maruz bırakıldığını düşündürmektedir.

Çizelge 4.2. Safran örneklerinin nem değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sınıf (S)	4	2.834	41.52*
Hata	5		

(*) $p < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder.

4.3. Safran Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarları

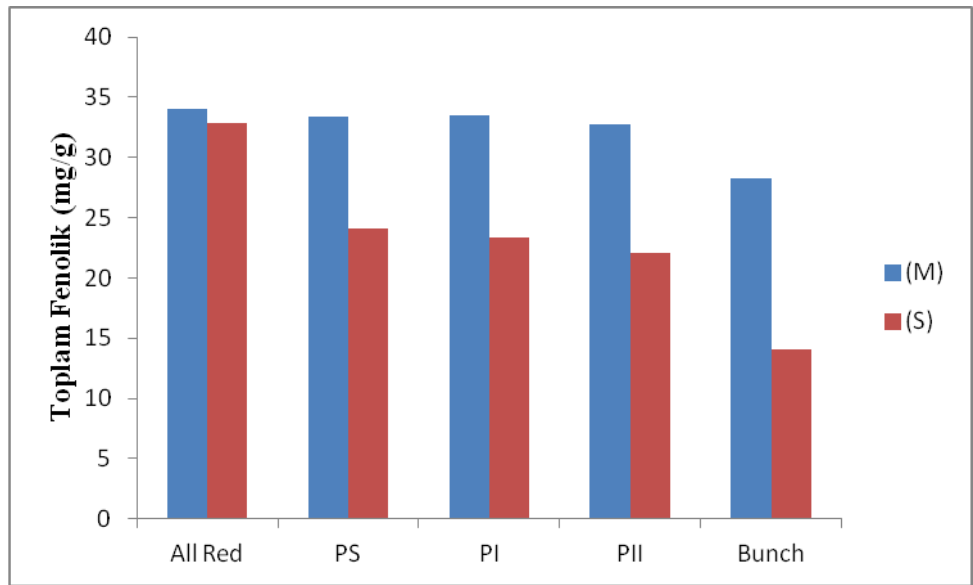
Safran örneklerinin %80'lik metanol ve su ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.3'de verilmiş ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerlerinin çözgen ve sınıfa bağlı olarak 14.07–34.04 mg GAE/g arasında değiştiği Çizelge 4.3'de görülmektedir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği (%80'lik metanolde; 34.04 ve suda; 32.87 mg GAE/g) All Red örneğinde belirlenirken, en düşük miktar ise (%80'lik metanolde; 28.08 ve suda; 14.07 mg GAE/g) Bunch örneğinde belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri (mg GAE/g KM) ($\bar{X} \pm SE$)

Sınıf	(M)	(S)
All Red	34.04 $\pm$ 0.06	32.87 $\pm$ 1.45
PS	33.38 $\pm$ 0.08	24.12 $\pm$ 1.58
PI	33.46 $\pm$ 0.03	23.40 $\pm$ 0.94
PII	32.73 $\pm$ 0.02	22.04 $\pm$ 1.50
Bunch	28.28 $\pm$ 0.73	14.07 $\pm$ 1.90

(M); %80'lik metanolde ekstrakte edilen örnekler

(S); Suda ekstrakte edilen örnekler



Şekil 4.1. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarları

Safran örneklerinin fenolik madde miktarlarına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.4'de, Ducan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre safran örneklerinin toplam fenolik miktarı sınıflandırmaya ve kullanılan çözügene bağlı olarak önemli düzeyde ($p < 0.01$) farklılık göstermiştir.

Çizelge 4.4. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Ekstraksiyon (E)	1	411.888	173.81**
Sınıf (S)	4	77.322	32.63 **
E x S	4	23.121	9.76*
Hata	10	2.370	

(**) $p < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder. (*) $p < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Toplam fenolik madde miktarı, safranlarda alt sınıflara doğru azalırken, %80'lik metanol ekstraktlarında su ekstraktlarına göre daha fazla oranda tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Araştırmada kullanılan safranların sınıf farklılığı üretimde bitkinin farklı oranlarda değişik kısımlarını içermesinden kaynaklanmaktadır. 21.17 mg GAE/g fenolik madde içeren Bunch örneğinin üretiminde bitkinin tüm bölümleri kullanılırken, en yüksek miktarda (33.45 mg GAE/g) fenolik madde içeriğine sahip olan All Red örneği ise stigmalardan ve sadece toplam kütlenin %0.05'i kadar dışıcık borusundan oluşmaktadır. Sonuçlar toplam ağırlıkta stigmalar dışındaki kısımların artmasıyla fenolik madde miktarının düştüğünü, ancak PS, PI ve PII örneklerinin kendi aralarındaki farklılığın önemli olmadığını göstermektedir (Çizelge 4.5). Sonuçlar safranda bulunan fenolik maddelerin bitkinin stigmasında daha yoğun olarak bulunduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Safran örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ekstraksiyon koşulları	(M)	(S)			
(N=10)	32.38 ^a ± 0.71	23.30 ^b ± 2.06			
Çeşit	All Red	PS	PI	PII	Bunch
(N=4)	33.45 ^a ± 0.68	28.75 ^b ± 2.75	28.43 ^b ± 2.93	27.17 ^b ± 3.18	21.17 ^c ± 4.18

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların $p < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde %80'lik metanol ekstraktı kullanılarak elde edilen toplam fenolik madde miktarı değerlerinin suyla elde edilenlerden yaklaşık %38 oranında fazla olduğu görülmektedir. Literatür incelendiğinde fenolik maddelerin alkol bazlı organik

çözücülerde suya göre daha fazla çözündüğü, bu olayda çözünün polaritesinin ve fenolik maddelerin bitkide bulunuş şeklinin (aglikon, glikozit vb) etken faktörler olduğu bildirilmektedir (Naczki ve Shahidi 2006). Ayrıca çözgen olarak su ve alkolün birlikte kullanıldıkları durumda fenolik maddelerin ekstraksiyon veriminin oldukça yüksek olduğu bildirilmektedir (Gironi ve Piomonte 2011).

Karimi vd (2010) tarafından yapılan bir çalışmada ise öğütülmüş safran örnekleri etanol, metanol ve kaynar suda ekstrakte edilmiş ve fenolik içerikleri sırasıyla 6.3, 6.5 ve 5.7 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Literatür incelendiğinde safranın toplam fenolik madde miktarının araştırıldığı çok fazla çalışmaya rastlanılamamıştır. Amin vd (2011) tarafından safranın sağlık üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada safran örneklerinin su ve %80'lik etanolla elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş ve sırasıyla 64.25 mg GAE/g ve 67.62 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Sariri vd (2011) İran'ın Ghaenat bölgesinden topladıkları taze *Crocus sativus* L. çiçeklerinin işlem görmemiş stigmalarını metanolla ekstrakte etmişler ve elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde miktarını 86.65 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Mevcut çalışmamızın sonuçları ile literatürdeki çalışmaların sonuçları, birbiriyle uyuşmamaktadır. Bu farklılığın örneklerle uygulanan işlemler (kurutma, depolama vb.) ile ekstraksiyon şartlarından (sıcaklık, safran/çözgen miktarı, çözgen çeşidi, karıştırma hızı) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.4. Safran Örneklerinin Toplam Flavonoid Madde Miktarları

Safran örneklerinin %80'lik metanol ve su ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları Çizelge 4.6'da verilmiş ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı değerlerinin çözgen ve sınıfa bağlı olarak kateşin eşdeğeri cinsinden 3.16–33.64 mg/g arasında değiştiği çizelge 4.6 da görülmektedir. Toplam fenolik madde miktarı sonuçlarında olduğu gibi en yüksek toplam flavonoid madde içeriği (%80'lik metanolde; 33.64 ve suda; 9.12 mg/g) All Red örneğinde belirlenirken, en düşük miktar ise (%80'lik metanolde; 22.84 ve suda; 3.16 mg/g) Bunch örneğinde belirlenmiştir. Ayrıca Çizelge 4.6 incelendiğinde toplam flavonoid

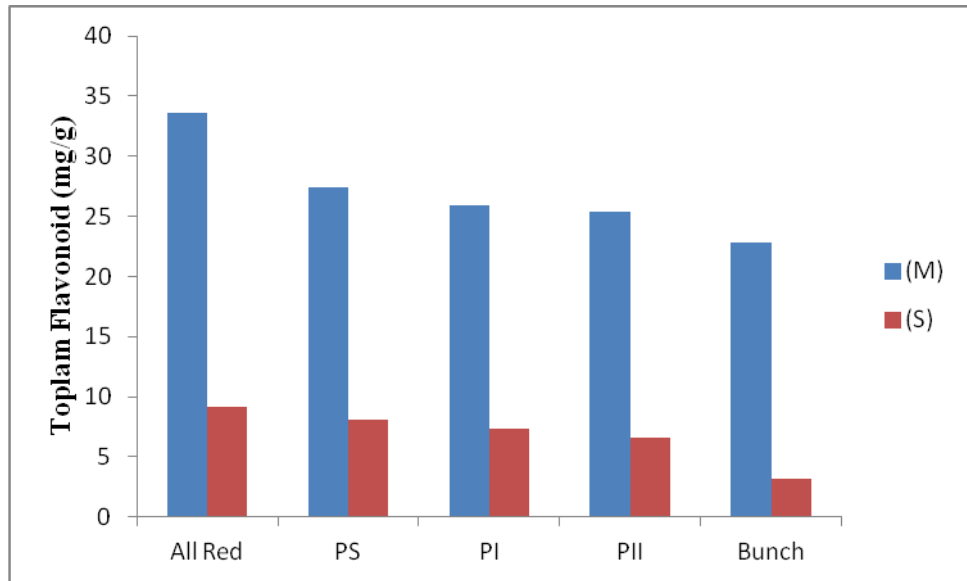
madde miktarının su ekstraktında %80'lik metanol ekstraktına göre ciddi oranda daha az tespit edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.6. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı değerleri (mg/g KM) ($\bar{X} \pm SE$)

Sınıf	(M)	(S)
All Red	33.64 $\pm$ 0.97	9.12 $\pm$ 0.19
PS	27.372 $\pm$ 0.10	8.09 $\pm$ 0.05
PI	25.91 $\pm$ 1.07	7.33 $\pm$ 0.01
PII	25.37 $\pm$ 0.17	6.65 $\pm$ 0.41
Bunch	22.84 $\pm$ 2.04	3.16 $\pm$ 0.231

(M); %80'lik metanolde ekstrakte edilen örnekler

(S); Suda ekstrakte edilen örnekler



Şekil 4.2. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarları

Safran örneklerinin flavonoid madde miktarlarına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.7'de, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı sınıflandırmaya ve kullanılan çözügene bağlı olarak önemli düzeyde ($p < 0.01$) farklılık göstermiştir.

Çizelge 4.7. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı değerlerine ait varyans analiz sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Ekstraksiyon(E)	1	2031.690	173.81**
Sınıf (S)	4	36.791	32.63**
ExÇ	4	6.143	9.76*
Hata	10	1.505	

(**) $p < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder. (*) $p < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Çizelge 4.8. Safran örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.

Ekstraksiyon koşulları	(M)	(S)			
(N=10)	27.03 ^a ±1.27	6.87 ^b ±0.68			
Çeşit	All Red	PS	PI	PII	Bunch
(N=4)	21.38 ^a ±7.09	17.73 ^b ±5.58	16.62 ^b ±5.38	16.09 ^b ±5.41	13.00 ^c ±5.74

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların $p < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.8 incelendiğinde flavonoid maddelerin suya göre %80'lik metanolde daha iyi ekstrakte olduğu görülmektedir. Fenolik madde miktarı sonuçlarında görülen benzer sonuçlar burada da elde edilmiş ve stigmalar dışındaki kısımların artmasıyla flavonoid madde miktarının düştüğü, PS, PI ve PII örneklerinin kendi aralarındaki farklılığın önemli olmadığını görülmüştür.

Hertog vd (1992) yaptıkları bir çalışma sonucunda flavonoid aglikonlarının metanolde daha iyi çözüldüğünü, ekstraksiyon etkinliğinin su/metanol oranına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Karimi vd (2010) tarafından yapılan bir çalışmada öğütülmüş safran örnekleri etanol, metanol ve kaynar suda ekstrakte edilmiş ve flavonoid içerikleri sırasıyla rutin eşdeğeri cinsinden 2.9, 5.8 ve 3.8 mg/g olarak bulunmuştur. Çalışmamızda elde edilen sonuçlardaki farklılığın örneklerle uygulanan işlemler ile ekstraksiyon şartlarından (sıcaklık, safran/çözgen miktarı, çözgen çeşidi, karıştırma hızı) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.5. Safran Örneklerinin Antioksidan Aktiviteleri

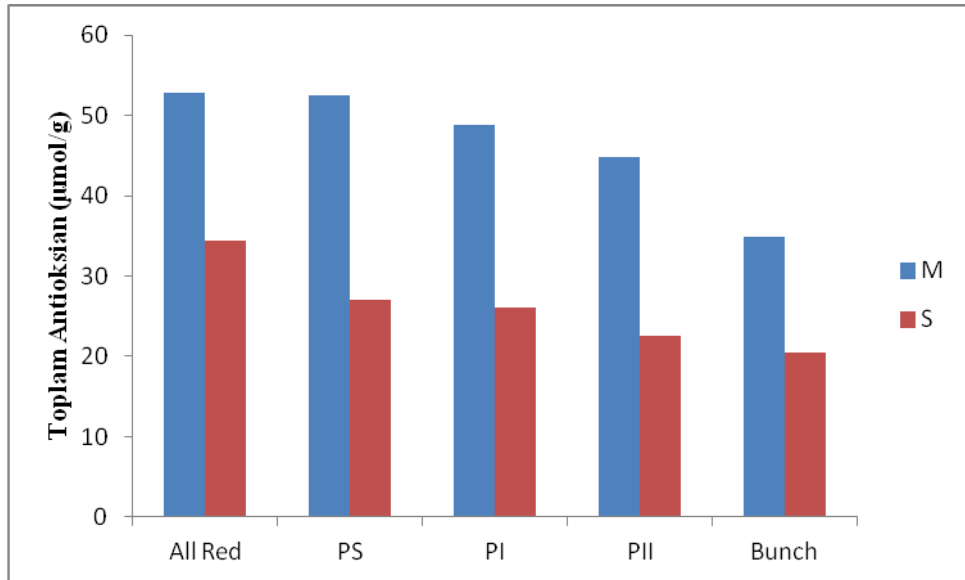
Safran örneklerinin %80'lik metanol ve su ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.9'da verilmiş ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Safran örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin çözgen ve sınıfa bağlı olarak 20.52–52.83 Trolox eşdeğeri cinsinden $\mu\text{mol/g}$ arasında değiştiği çizelgeden görülmektedir. En yüksek antioksidan aktivite (%80'lik metanolde 52.83 ve suda 34.41 mg $\mu\text{mol/g}$) All Red örneğinde belirlenirken, en düşük aktivite ise (%80'lik metanolde 34.86 ve suda 20.52 $\mu\text{mol/g}$) Bunch örneğinde belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Safran örneklerinin antioksidan aktivite değerleri ($\mu\text{mol/g KM}$) ($X \pm SE$)

Sınıf	(M)	(S)
All Red	52.83 ± 2.91	34.41 ± 0.73
PS	52.43 ± 0.50	27.01 ± 0.36
PI	48.75 ± 1.51	26.13 ± 1.88
PII	44.75 ± 1.82	22.55 ± 0.17
Bunch	34.86 ± 4.42	20.52 ± 0.05

(M); %80'lik metanolde ekstrakte edilen örnekler

(S); Suda ekstrakte edilen örnekler



Şekil 4.3. Safran örneklerinin antioksidan aktiviteleri.

Safran örneklerinin antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.10'da, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre safran örneklerinin antioksidan aktivite değerleri sınıflandırmaya ve kullanılan çözügene bağlı olarak önemli düzeyde ($p<0.01$) farklılık göstermiştir. Elde edilen sonuçlar fenolik ve flavonoid madde miktarı sonuçlarında olduğu gibi stigmalın dışındaki kullanılan kısımların artmasıyla antioksidan aktivitenin düştüğünü göstermiştir. Bu durumun fenolik ve flavonoid maddelerin bitkilerde antioksidan aktivite gösteren en önemli bileşikler olmasından ve ayrıca ileriki bölümlerde tartışılan ve safranın ana renk bileşeni olan krosininde antioksidan aktivite özelliğine sahip olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çünkü örneklerdeki sınıf kalitesi düştükçe bir karotenoid olan toplam krosin miktarı da düşmektedir. Chen vd (2008) yaptıkları bir çalışma sonucunda safranın krosin içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında güçlü bir korelasyonun olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.10. Safran örneklerinin antioksidan değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Ekstraksiyon(E)	1	2120.446	278.50**
Sınıf (S)	4	591.093	19.41**
ExS	4	73.864	2.43
Hata	10	7.614	

(**) $p<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.

%80'lik metanol ekstraktlarının su ekstraktlarına göre %78 oranında daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği Çizelge 4.11'de verilen sonuçlardan çıkarılmaktadır.

Çizelge 4.11. Safran örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ekstraksiyon koşulları	(M)	(S)			
(N=10)	46.72 ^a ±2.370	26.13 ^b ±1.62			
Çeşit	All Red	PS	PI	PII	Bunch
(N=4)	43.62 ^a ±5.46	39.72 ^{ab} ±7.34	37.44 ^{ab} ±6.60	33.65 ^{bc} ±6.45	27.68 ^c ±4.51

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların $p<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

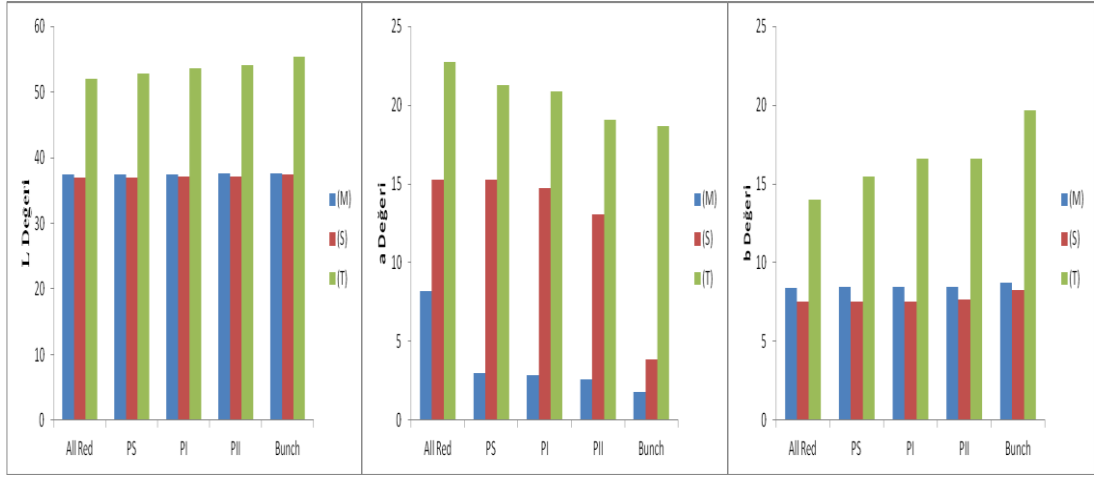
Pellegrini vd (2006) tarafından yapılan farklı baharatların (safran, fesleğen, kekik, nane, kırmızıbiber, biberiye, adaçayı) antioksidan aktivitelerinin karşılaştırıldığı çalışmada ise safranın antioksidan aktivitesi trolox eşdeğeri cinsinden 53.04 mmol trolox/kg olarak bulunmuş ve incelenen baharatlar arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

4.6. Öğütülmüş Safranların ve Bunlardan Elde Edilen Ekstraktların L, a, b Renk Değerleri

Öğütülmüş safran örneklerinin ve ekstraktlarının renk değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.12’de verilmiş ve Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Öğütülmüş örneklerin L değerleri 51.99-54.02; a değerleri 18.69-22.76 ve b değerleri ise 14.00-19.67 arasında bulunmuştur (Çizelge 4.12). Ayrıca ekstraktların L değerlerinin 37.00-37.67; a değerlerinin 1.80-15.30 ve b değerlerinin ise 7.50-8.74 arasında değiştiği Çizelge 4.12’den görülmektedir.

Çizelge 4.12. Safran örneklerinin L, a, b değerleri (X±SE)

	Sınıf	L	a	b
Toz	All Red	51.99±0.24	22.76± 0.70	14.00±0.26
	PS	52.87±0.23	21.27±0.04	15.44±0.29
	PI	53.56±0.03	20.88±0.01	16.58±0.07
	PII	54.02±0.08	19.04±0.07	16.63±0.06
	Bunch	55.43±0.03	18.69±0.11	19.67±0.13
Metanol Ekstraktı	All Red	37.46±0.01	8.18±0.77	8.41±0.02
	PS	37.47±0.06	3.02±0.15	8.43±0.02
	PI	37.49±0.08	2.87±0.15	8.46±0.01
	PII	37.53±0.00	2.58±0.28	8.49±0.02
	Bunch	37.67±0.03	1.80±0.08	8.74±0.08
Su Ekstraktı	All Red	37.00±0.03	15.30±0.48	7.50±0.02
	PS	37.03±0.03	15.28±0.08	7.51±0.09
	PI	37.05±0.01	14.70±0.95	7.55±0.10
	PII	37.06±0.01	13.08±0.63	7.66±0.04
	Bunch	37.48±0.03	3.83±1.62	8.29±0.11



Şekil 4.4. Safran örneklerinin L, a, b değerleri

Öğütülmüş safran örneklerinin ve ekstraktlarının renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.13a ve 4.13b’de, değerlerin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise Çizelge 4.14a ve 4.14b’de verilmiştir. Çizelgeler incelendiğinde öğütülmüş safran örneklerinden ve ekstraktlarından en yüksek L (parlaklık) değerine Bunch örneğinin sahip olduğu ve sınıflar arasındaki farklılığın önemli olduğu ($p<0.01$) görülmektedir. Bununla birlikte gerek öğütülmüş örneklerin gerekse ekstraktlarının a ve b değerleri birbirlerinden $p<0.01$ önem düzeyinde farklı bulunmuştur.

Çizelge 4.13.a Öğütülmüş safran örneklerinin L, a, b değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	L		a		b	
	KO	F	KO	F	KO	F
Sınıf (S)	3.326	70.52**	5.604	27.89**	8.699	122.13**
Hata	0.047		0.200		0.071	

(**) $p<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Çizelge 4.13b. Safran ekstraktlarının L, a, b değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	L		a		b	
	KO	F	KO	F	KO	F
Ekstraksiyon(E)	0.788	291.33**	385.090	395.44**	3.216	425.40**
Sınıf (S)	0.083	30.82**	43.280	44.44**	0.221	29.29**
ExS	0.013	5.02*	18.072	18.56**	0.39	5.16*
Hata	0.002		0.973		0.075	

(**) $p<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder. (*) $p<0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Sonuçlar incelendiğinde öğütölmüş All Red örneğinin a değerinin en yüksek, Bunch örneğinin a değerinin en düşük olduğı ve daha düşük kalitedeki örneklere gidildikçe bu değerin düştüğü görölmektedir. Renk ölçüm sisteminde a'nın pozitif (+) değeri kırmızılığı ifade ederken negatif (-) değeri yeşilliğı ifade etmektedir. Nitekim sınıflandırmada bir kriter olarak kullanılan safranın tipik rengi kırmızıdır ve bu da içerdığı stigmalarından ileri gelmektedir. Çalışmamızda kullanılan ve İran'da en kaliteli sınıfta yer alan All Red örneklerinin a değeri yüksek olması safranların kırmızılığının fazla olmasından ileri gelmektedir. Yine bu bağlamda safranların sınıfları hakkında bir fikir verebilecek olan b'nin pozitif (+) değeri sarılığı ifade ederken negatif (-) değeri de maviliğı ifade etmektedir. Diğer kısımlarda da tartışıldığı üzere sınıflandırmada All Red örneğinden Bunch örneğine gidildikçe kullanılan dışicik borusunun oranı artmaktadır ve bu kısım sarı renge sahiptir. Bunch örneğine gidildikçe b değerin atması bu duruma bağlanmaktadır. Çizelge 4.14a'da da göröldüğü üzere Bunch örneğinin b değeri en yüksek yani diğer örneklere göre Bunch örneğı daha sarımsı bir renge sahiptir.

L	Smif	All Red	PS	PI	PII	Bunch
	(N=4)	51.99 ^d ±0.24	52.87 ^c ±0.23	53.56 ^{bc} ±0.03	54.02 ^b ±0.08	55.43 ^a ±0.03
a	Smif	All Red	PS	PI	PII	Bunch
	(N=4)	22.75 ^a ±0.69	21.27 ^{ab} ±0.04	20.87 ^b ±0.00	19.04 ^c ±0.07	18.69 ^c ±0.11
b	Smif	All Red	PS	PI	PII	Bunch
	(N=4)	14.00 ^d ±0.26	15.44 ^c ±0.29	16.58 ^b ±0.06	16.63 ^b ±0.06	19.66 ^a ±0.12

Çizelge 4.14b. Safran ekstraktlarının L, a, b değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

L	Ekstraksiyon koşulları	(M)	(S)			
	(N=10)	37.52 ^a ±0.03	37.12 ^b ±0.06			
	Sınıf	All Red	PS	PI	PII	Bunch
	(N=4)	37.22 ^b ±0.13	37.25 ^b ±0.13	37.26 ^b ±0.13	37.29 ^b ±0.13	37.57 ^a ±0.06
a	Ekstraksiyon Koşulları	(M)	(S)			
	(N=10)	3.69 ^a ±0.77	12.46 ^b ±1.50			
	Sınıf	All Red	PS	PI	PII	Bunch
	(N=4)	11.80±2.13	9.150±3.54	8.783±3.44	7.825±3.04	2.815±0.88
b	Ekstraksiyon koşulları	(M)	(S)			
	(N=10)	8.51 ^a ±0.04	7.70 ^b ±0.10			
	Çeşit	All Red	PS	PI	PII	Bunch
	(N=4)	7.96 ^b ±0.26	7.97 ^b ±0.27	8.00 ^b ±0.26	8.08 ^b ±0.24	8.52 ^a ±0.14

Karotenoidlerin lipofilik karakterde olmalarından dolayı organik çözücülerde daha iyi çözündükleri bildirilmektedir (Akdoğan 2007). Safranın renk verme gücü de içerdiği bir

karotenoid olan krosinlerden ileri gelmektedir. Nitekim %80'lik metanolde ekstrakte edilerek elde edilen safran ekstraktlarının a değeri suda elde edilenlerden daha düşük (kırmızılığı yüksek); b değeri ise daha yüksek olarak (sarılığı yüksek) belirlenmiştir.

4.7. Safran Örneklerinin HPLC ile Belirlenen Ana Bileşenlerinin Kompozisyonları

Safran örneklerinin HPLC ile tespit edilen bileşenlerinin miktarları Çizelge 4.15'de verilmiş, bileşenlere ait kromotogramlar ise Ek-1, 2, 3, 4 ve 5'de gösterilmiştir. Her bir bileşen literatürde belirtilen alıkonma zamanları karşılaştırılarak tespit edilmiştir (Heriberto-Caballero vd 2007). Tespit edilen bileşenlerin ortalamalarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.16, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise 4.17'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde trans-krosin 4 dışındaki toplam krosini oluşturan yani safrana rengini veren bileşenlerin (pikrokrosin, trans-krosin 3, trans-krosin 2, trans-krosin 2', cis-krosin 2 ve cis-krosin 4) sınıflandırma derecesine bağlı olarak önemli düzeyde ($p<0.01$) azaldığı görülmektedir. Toplam krosin miktarı en yüksek All Red örneğinde (37.37 mg/g) ve en düşük Bunch örneğinde (33.05 mg/g) tespit edilmiştir. Toplam krosinin en önemli krosin izomerlerinin trans-krosin 4 ve trans-krosin 3 olduğu Çizelge 4.15'den görülmektedir.

Çizelge 4.15. Safran örneklerinin HPLC ile belirlenen ana bileşenlerinin miktarları (mg/g; $\bar{X} \pm SE$)

	Pikro krosin	HTCC	3- Gentiobiosy- kaempferol	2- nitroanil in + crocin	Safranal	trans- krosin 4	trans- krosin 3	trans- krosin 2'	cis- krosin 4	trans- krosin 2	cis- krosin 2	Toplam krosin
All Red	5.21±0.00	0.13± 0.00	0.20± 0.040	6.69±0.02	0.13± 0.00	22.46± 0.02	10.29± 0.01	2.32± 0.00	1.10± 0.00	0.20± 0.00	0.14± 0.00	37.37±0.03
PS	4.99±0.00	0.14± 0.00	0.24± 0.015	6.33±0.00	0.14± 0.00	21.60± 0.00	10.03± 0.41	2.04± 0.00	1.07± 0.00	0.19± 0.00	0.16± 0.00	36.93±0.41
PI	4.59±0.00	0.14± 0.00	0.22± 0.005	6.57±0.00	0.15± 0.01	20.34± 0.12	9.35± 0.08	1.65± 0.00	0.88± 0.00	0.19± 0.00	0.15± 0.00	35.40±0.20
PII	4.49±0.00	0.15± 0.00	0.21± 0.000	6.47±0.00	0.16± 0.00	19.25± 0.01	8.27± 0.00	1.35± 0.00	0.72± 0.00	0.17± 0.00	0.18± 0.01	33.77±0.01
Bunch	4.11±0.00	0.15± 0.10	0.20± 0.000	6.63±0.00	0.16± 0.00	18.44± 0.21	8.24± 0.40	0.76± 0.00	0.46± 0.00	0.15± 0.00	0.17± 0.00	33.05±2.61

Çizelge 4.16. Safran örneklerinin HPLC ile belirlenen ana bileşenlerinin miktarlarına ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynakları	Bileşen Adı	SD	KO	F
Sınıf (S)	Pikrokrosin	4	0.371675	2064.86**
	Hata	5	0.00018	
	HTCC	4	0.00014	2.180
	Hata	5	0.00025	
	safranal	4	0.000310	6.20
	Hata	5	0.000500	
	3-Gentiobiosy- kaempferol	4	0.000735	0.99
	Hata	5	0.00074	
	nitroanilin + crocin	4	0.041135	152.35**
	Hata	5	0.00027	
	tans-krosn 4	4	5.435135	2.77
	Hata	5	1.959750	
	trans-krosin 3	4	1.82996	13.51**
	Hata	5	0.13546	
	cis-krosin 4	4	0.13974	0.13974**
	Hata	5	0.00001	
	trans-krosin 2'	4	0.74000	74000**
	Hata	5	0.00001	
	cis-krosin 2	4	0.00041	8.20*
	Hata	5	0.00005	
	trans-krosin 2	4	0.0008	16.40**
	Hata	5	0.0000	
	toplam krosin	4	7.185	2.55
	Hata	5	0.07775	

(**) $p < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder. (*) $p < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Çizelge 4.17 incelendiğinde safrana acılık veren bileşen olan pikokrosin miktarı All Red örneğinden (5.21 mg/g) Bunch örneğine (4.11 mg/g) doğru gidildikçe sınıflandırmaya bağlı olarak önemli düzeyde ($p < 0.01$) azalmaktadır. Nitekim ISO 3236-1 standardına göre renk bileşenleri (krosin) yanında, pikokrosin miktarı da sınıflandırmada kullanılan kriterlerden birisidir (Peter 2001). Bir fenolik bileşik olan 3-gentiobiosy-kaempferol ve safranın aromasından sorumlu bileşikler olan HTCC (4-Hydroxyl-2,6,6 trimethyl-1-cyclohexene-1 carboxaldehyde) ile safranal ise sınıflandırma ile herhangi bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Safran örneklerinin HPLC ile belirlenen ana bileşenlerinin ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.

	Bileşen adı	Sınıf				
		All Red	PS	PI	PII	Bunch
N=2	Pikrokrosin	5.21 ^a ±0.00	4.99 ^b ±0.00	4.59 ^c ±0.00	4.49 ^d ±0.00	4.11 ^e ±0.00
	HTCC	0.13±0.00	0.14±0.00	0.14±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00
	safranal	0.13±0.00	0.14±0.01	0.15±0.01	0.16±0.00	0.16±0.00
	3-Gentiobiosy-kaempferol	0.20±0.04	0.24±0.01	0.22±0.01	0.20±0.00	0.20±0.00
	nitroanilin + crocin	6.69 ^a ±0.02	6.33 ^d ±0.00	6.57 ^b ±0.00	6.47 ^c ±0.00	6.63 ^{ab} ±0.00
	tans-krosin 4	22.46±0.02	21.60±0.01	20.34±0.12	19.25±0.02	18.44±2.21
	trans-krosin 3	10.29 ^a ±0.01	10.03 ^a ±0.41	9.35 ^{ab} ±0.08	8.27 ^b ±0.00	8.2 ^b ±0.40
	cis-krosin 4	1.10 ^a ±0.00	1.07 ^b ±0.00	0.88 ^c ±0.00	0.72 ^d ±0.00	0.46 ^d ±0.00
	trans-krosin 2'	2.32 ^a ±0.00	2.04 ^b ±0.00	1.65 ^c ±0.00	1.35 ^d ±0.00	0.76 ^e ±0.00
	cis-krosin 2	0.14 ^b ±0.01	0.16 ^{ab} ±0.00	0.15 ^b ±0.00	0.18 ^a ±0.01	0.17 ^{ab} ±0.00
	trans-krosin 2	0.20 ^a ±0.00	0.19 ^b ±0.00	0.19 ^b ±0.00	0.170 ^c ±0.00	0.15 ^d ±0.00
	toplam krosin	5.93 ^a ±0.01	5.85 ^{ab} ±0.06	5.57 ^{ab} ±0.03	4.99 ^{ab} ±0.00	4.70 ^b ±0.43

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların $p < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Heriberto-Caballero vd (2007) tarafından 11 farklı safran örneğinin ana bileşenlerinin HPLC ile tanımlandığı araştırma sonucunda buldukları bileşenler ve miktarları çalışmamızla benzerlik göstermiştir. Bahsedilen çalışmada İran örneklerinde pikrokrosin, 3.69; tras-krosin 4, 38.41; trans-krosin 3, 23.58; trans-krosin 2, 1.33; trans-krosin 2', 1.15; HTCC, 0.20 ve safranal 0.65 mg/g olarak belirlenmiştir.

4.8. Safran Örneklerinin Aroma Kompozisyonu

5 Farklı sınıf safran örneklerinde GC-MS'de SPME yöntemiyle analiz edilen aroma bileşenlerinin % oranları Çizelge 4.18'de verilmiştir. Ayrıca aroma kompozisyonunu oluşturan bileşenlerden % 1'den büyük alana sahip bileşenlerin (safranal, 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione, acetic acid, Limonen-10-ol, 2-(5H)-Furanone, Eucarvone, α -isophoron, 3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione) varyans analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.19 ve 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Safran örneklerinin aroma bileşenlerinin kompozisyonu (X±SE)

NO	RI	Q(%)	Bileşen adı	Alan (%)				
				All Red	PS	PI	PII	Bunch
1	621	96	Carbon dioxide	0.23±0.02	0.27±0.02	0.22±0.01	0.22±0.01	0.17±0.01
2	625	71	Tanımlanamadı	0.08±0.01	0.07±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01
3	629	98	Ethanol	0.27±0.07	0.45±0.05	0.42±0.02	0.39±0.09	0.12±0.01
4	634	83	2-Propanone, 1-methoxy	0.63±0.05	0.48±0.04	0.62±0.01	0.68±0.03	0.58±0.05
5	638	88	Acetic acid, methyl ester	0.23±0.02	0.15±0.02	0.21±0.03	0.25±0.02	0.12±0.01
6	643	95	Isobutanal	0.50±0.13	0.34±0.04	0.37±0.03	0.52±0.11	0.46±0.03
7	653	98	Acetic acid	7.14±0.50	8.56±0.57	7.91±0.54	6.53±0.13	4.88±0.41
8	659	87	2-Methylfuran	0.03±0.01	0.06±0.01	0.13±0.07	0.09±0.10	0.03±0.00
9	674	96	3-Methylbutanal	0.36±0.10	0.30±0.03	0.28±0.02	0.33±0.11	0.40±0.03
10	678	90	Acetol	0.26±0.15	0.15±0.02	0.20±0.02	0.28±0.04	0.21±0.10
11	680	92	2-Methylbutanal	0.78±0.06	0.45±0.04	0.57±0.02	0.63±0.10	0.65±0.08
12	690	88	Propionoin	0.34±0.03	0.29±0.02	0.32±0.01	0.33±0.01	0.22±0.03
13	699	88	n-Pentanal	0.12±0.03	0.08±0.01	0.09±0.01	0.11±0.01	0.09±0.02
14	704	97	Acetoin	0.65±0.05	0.47±0.03	0.69±0.03	0.85±0.07	1.11±0.04
15	732	88	alpha.-D-Mannopyranoside, methyl 3,6-anhydro-	0.02±0.01	0.02±0.00	0.01±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00
16	743	95	Isobutyric acid	0.28±0.03	0.25±0.03	0.25±0.01	0.17±0.03	0.11±0.01
17	762	92	Toluene	0.74±0.39	0.37±0.06	0.94±0.30	0.69±0.32	0.25±0.02
18	764	63	Tanımlanamadı	-	0.15±0.01	-	0.21±0.02	0.22±0.01
19	771	90	2,3-Butanediol	-	0.05±0.02	-	-	0.09±0.01
20	782	91	2,3-Butanediol	-	-	-	-	0.11±0.01
21	800	92	Capronaldehyde ; Hexanal	0.17±0.01	0.10±0.01	0.13±0.03	0.19±0.01	0.13±0.01
22	833	94	ISO-valeric acid	0.17±0.02	0.14±0.04	0.09±0.03	0.08±0.03	0.06±0.01
23	838	94	5,5-dimethyl-1-ethyl- 1,3-Cyclopentadiene	0.08±0.01	0.09±0.01	0.07±0.01	0.06±0.01	0.07±0.01
24	842	93	2-methyl-Butanoic acid	0.10±0.01	0.09±0.01	0.07±0.01	0.08±0.02	0.04±0.01
25	903	83	Butyraldehydic acid, methyl ester	-	-	-	-	0.01±0.00
26	908	96	2(5H)-Furanone	3.64±0.03	3.36±0.13	4.41±0.18	4.14±0.14	8.50±0.14
27	923	85	n-Caproic acid vinyl ester	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.01	0.02±0.01	0.01±0.00
28	935	87	6-methyl-3,5-heptadien-2-one	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.03±0.01	0.03±0.01

29	952	67	<i>Tanımlanamadı</i>	0.02±0.00	0.04±0.00	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.00
30	955	85	<i>Tanımlanamadı</i>	0.06±0.00	-	0.06±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01
31	972	87	<i>Tanımlanamadı</i>	0.01±0.00	-	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
32	978	90	<i>n-Hexanoic acid</i>	0.05±0.01	-	0.06±0.01	0.06±0.01	-
33	985	83	<i>6-methyl-5-hepten-2-one</i>	0.04±0.01	0.02±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
34	992	85	<i>6-methyl-5-hepten-2-one b</i>	0.09±0.01	0.06±0.01	0.08±0.01	0.10±0.01	0.07±0.01
35	1007	90	<i>Cyclopentane, pentylidene</i>	0.05±0.01	0.05±0.01	0.04±0.00	0.05±0.01	0.04±0.00
36	1019	89	<i>β-Phellandrene</i>	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.09±0.01
37	1027	90	<i>dl-Limonene</i>	0.04±0.01	0.02±0.01	0.08±0.01	0.06±0.01	0.08±0.01
38	1038	98	<i>beta.-Isophorone</i>	0.07±0.01	0.06±0.01	0.08±0.01	0.10±0.01	0.04±0.00
39	1060	77	<i>Tanımlanamadı</i>	0.19±0.01	0.17±0.02	0.17±0.00	0.21±0.02	0.23±0.01
40	1075	90	<i>6-methyl-5-nonen-4-one</i>	0.02±0.00	0.03±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00	0.03±0.01
41	1077	93	<i>trans-decahydro-Naphthalene</i>	0.01±0.00	0.01±0.01	0.01±0.00	-	0.01±0.00
42	1083	90	<i>3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one</i>	0.06±0.00	0.08±0.01	0.06±0.00	0.02±0.01	0.02±0.00
43	1088	88	<i>3-Isopropylbenzaldehyde</i>	0.10±0.01	0.10±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01	0.10±0.01
44	1095	87	<i>Limonen-10-ol</i>	0.04±0.00	0.04±0.01	0.06±0.00	0.03±0.00	1.09±0.01
45	1099	98	<i>Linalool</i>	0.01±0.00	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01±0.00	-
46	1102	97	<i>1,4-Hexadiene, 5-methyl-3-(1-methylethyliden e)</i>	0.81±0.02	0.78±0.05	0.80±0.03	1.08±0.06	1.10±0.04
47	1110	90	<i>Phenethyl alcohol</i>	0.06±0.01	0.06±0.01	0.10±0.01	0.08±0.01	0.02±0.01
48	1116	98	<i>3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one</i>	13.38±0.15	12.09±0.14	11.88±0.14	10.51±0.52	8.06±0.05
49	1119	94	<i>alpha.-Isophoron</i>	0.24±0.01	0.89±0.09	0.51±0.11	0.20±0.01	3.45±0.04
50	1128	90	<i>1-Undecene, 10-methyl-</i>	0.08±0.02	0.11±0.03	0.06±0.01	0.07±0.01	0.03±0.00
51	1139	98	<i>2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione</i>	8.94±0.10	8.83±0.23	8.48±0.05	6.01±0.28	3.45±0.05
52	1144	96	<i>3,5,5-trimethyl-2-Hydroxy-cyclohex-2-enone</i>	0.97±0.05	0.90±0.06	0.70±0.06	0.48±0.04	0.61±0.05
53	1155	90	<i>Ketoisophorone</i>	0.01±0.00	0.01±0.00	0.02±0.02	-	0.19±0.02
54	1160	91	<i>3,5,5-Trimethyl-1-cyclohexen</i>	0.31±0.01	0.24±0.02	0.19±0.01	0.20±0.03	0.10±0.01

55	1163	96	<i>3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione</i>	4.78±0.06	4.92±0.14	4.50±0.07	3.94±0.18	2.80±0.02
56	1169	92	<i>Isobornyl acetate</i>	0.05±0.01	0.07±0.01	0.04±0.00	0.09±0.02	0.06±0.01
57	1198	97	<i>Safranal</i>	49.64±0.59	50.29±0.76	50.42±0.51	57.02±1.33	61.31±0.51
58	1215	98	<i>Eucarvone</i>	0.71±0.02	0.96±0.05	1.03±0.02	0.57±0.07	0.58±0.02
59	1218	84	<i>.beta.-Cyclocitral</i>	0.05±0.00	0.06±0.01	0.05±0.01	0.07±0.02	0.04±0.00
60	1230	96	<i>3,5,5-trimethyl-2-hydroxy-1,4-cyclohexadione-2-ene</i>	0.13±0.02	0.22±0.03	0.17±0.01	0.12±0.02	0.03±0.01
61	1299	98	<i>3,5,5-trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexanone-2-ene</i>	0.20±0.05	0.25±0.07	0.20±0.02	0.15±0.02	0.11±0.01
62	1302	95	<i>Mint Furanone 2</i>	0.44±0.01	0.44±0.18	0.47±0.03	0.45±0.04	0.50±0.02
63	1318	66	<i>Tanımlanamadı</i>	0.16±0.01	0.21±0.02	0.15±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01
64	1338	84	<i>5-Isopropyl-6-methyl-hepta-3,5-dien-2-ol</i>	0.24±0.03	0.32±0.14	0.27±0.01	0.14±0.01	0.07±0.01
65	1385	97	<i>2,4,4-trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one</i>	0.78±0.11	0.63±0.32	0.69±0.06	0.64±0.08	0.23±0.01
66	1416	95	<i>2,6,6-trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde</i>	0.31±0.07	0.32±0.11	0.32±0.04	0.31±0.03	0.53±0.03

RI: Retention Index (Alıkonma indeksi)

Q: Benzerlik yüzdesi

Çizelge 4.19 incelendiğinde safran örneklerinin aroma profilinin büyük bir kısmının safranaldan oluştuğu ve örneğe bağlı olarak % 49.64–61.30 arasında değiştiği görülmektedir. Safranın tipik aromasını veren en önemli bileşen olan safranalin (Jelali-Heravi vd 2010)% alanı, All Red, PS ve PI örneklerinde farklılık göstermezken PII (%57.02) ve Bunch (% 61.30) örneklerinde diğer örneklerden ve kendi aralarında önemli derecede ($p<0.01$) farklılık göstermiştir. Bunch örneğinin safranalin miktarı en yüksek ve diğer sınıf safranlardan önemli derecede farklı bulunmuştur. Bu farklılığın ve yüksek miktarın safranlara uygulanan kurutma sıcaklıklarının farklılığından ileri gelebileceği düşünülmektedir. Nitekim bölüm 4.1’de Bunch örneğinin yüksek sıcaklıklarda kurutulmasına bağlı olarak nem içeriğinin düşük olabileceğinden bahsedilmiştir. Carmona vd (2006.b) tarafından yapılan bir çalışmada 90 °C’nin

üzerindeki sıcaklık uygulamalarında sıcaklık artışına bağlı olarak safrandaki safranalin arttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar bu sonucu safranda bulunan ve acılık bileşeni olan pikokrosinin sıcaklıkla safranala dönüştüğüne bağlamaktadırlar. Yine aynı araştırmacılar isoprone ve 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione aroma bileşenlerinin de 90 °C'nin üzerindeki sıcaklık uygulamalarında miktarlarının arttığını bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da yüksek sıcaklık uygulaması gördüğü düşünülen Bunch örneğinde bu bileşenler de yüksek miktarlarda tespit edilmiştir.

Çizelge 4.19. Safranın aroma kompozisyonu oluşturan % 1'den büyük alana sahip bileşenlerin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Bileşenin adı	Sınıf				
	All Red	PS	PI	PII	Bunch
Safranlal	49.64 ^c ±0.29	50.26 ^c ±0.38	50.15 ^c ±0.26	57.02 ^b ±0.66	61.30 ^a ±0.25
3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione	4.78 ^a ±0.032	4.92 ^a ±0.07	4.50 ^b ±0.04	3.94 ^c ±0.09	2.80 ^d ±0.01
2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	8.94 ^a ±0.05	8.83 ^a ±0.11	8.48 ^b ±0.02	6.01 ^c ±0.14	3.45 ^d ±0.05
Acetic acid	7.14 ^{bc} ±0.25	8.55 ^a ±0.28	7.91 ^{ab} ±0.27	6.53 ^c ±0.06	4.88 ^d ±0.20
3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one	13.38 ^a ±0.07	12.09 ^b ±0.07	11.80 ^b ±0.07	10.51 ^c ±0.26	8.06 ^d ±0.03
2-(5H)-Furanone	3.64 ^c ±0.02	3.36 ^c ±0.06	4.410 ^b ±0.09	4.13 ^b ±0.07	8.50 ^a ±0.07

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamaların $p < 0.01$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Yukarıda açıklanan aroma bileşikleri dışında safran örneklerinde önemli düzeyde bulunan bileşenlerden 3,5,5-Trimethyl-2 cyclohexenone-1-one safranların sınıflarının düşmesiyle önemli düzeyde ($p < 0.01$) azalış göstermiştir (Çizelge 4.20). 3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione bileşeninin % alanında All Red ve PS örneklerinde bir farklılık görülmezken Bunch örneği en düşük alana (% 2.80) sahip olmuştur. Ayrıca sınıf kalitesi arttıkça %'lik alanı 3.64'den 8.50'ye yükselen 2-(5H)-Furanone bileşeni de safran örneklerinin önemli bir %'lik alana sahip bir diğer bileşenidir.

Çizelge 4.20. Safranin aroma kompozisyonu oluşturan % 1'den büyük alana sahip bileşenlerin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Bileşen adı	SD	KO	F
Sınıf (S)	Safranal	4	107.6980550	168.42**
	Hata	15	0.6394717	
	3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione	4	2.97552000	239.32**
	Hata	15	0.01243333	
	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	4	55.430450	1987.50**
	Hata	15	0.0278933	
	Acetic acid	4	2.97552000	239.32**
	Hata	15	0.21051500	
	3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one	4	16.32264500	241.48**
	Hata	15	0.06759333	
	2-(5H)-Furanone	4	17.72019250	1010.95**
	Hata	15	0.01752833	

(**) $p < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Carmono vd (2006.a) TD-GC-MS ile safranin aroma bileşenlerini analiz ettikleri bir çalışmada bizim çalışmamıza paralel olarak İran safranında asetik asit, linalool, 2,6,6-Trimethyl 1,4-cyclohexene-1 carboxaldehyde, isophorone, , safranal, 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione bileşenlerini, D'Auria vd (2004) ise 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexen-1,4-dione, 2,4,4-trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one, 3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione, 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, safranal, acetic acid, hexanal, 2(5H)-Furanone, 3,5,5-trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexanone-2-ene, 5,5-dimethyl-1-ethyl- 1,3-Cyclopentadiene α -isophoron bileşenlerini tespit etmişlerdir. Ayrıca α -isophoron, β -isophoron, safranal, ketoisophoron, HTCC, 2,4,4-trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one, 3,5,5-trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexanone-2-ene ve eucarvone' nın yanı sıra, HTCC, mint furanone, , n-Hexadecanoic acid bileşenleri safrana ait başlıca aroma maddeleridir (J alali-Heravi vd 2009, Carmona vd 2010, Jalali-Heravi vd 2010, Cullure vd 2011).

5. SONUÇ

Araştırma, kalitesine göre 5 farklı sınıfa ayrılmış olan İran safranlarının uluslararası safran standardına göre hangi kategori de yer aldığının ortaya koyulması ve bu safranların kalite kriterleri olan renk, tat ve aroma bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Yapılan araştırma ile elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir;

1. Araştırma kapsamında çalışılan All Red, PS, PI, PII ve Bunch örneklerinin uluslararası standarda göre sırasıyla II, III, III, III ve IV. kategorilere girdiği belirlenmiştir.
2. Bunch örneği dışındaki safranların nem değerleri %7 civarında tespit edilirken, Bunch örneğinin nem değeri % 4.64 olarak bulunmuş ve bu sonuca göre bu örneğin yüksek sıcaklık ve/veya sürelerde kurutma işlemine tabi tutulduğu düşünülmüştür.
3. Safranların toplam fenolik, flavonoid madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri %80'lik metanolde suya göre daha yüksek bulunmuş ve bu değerler en yüksek All Red örneğinde, en düşük Bunch örneğinde tespit edilmiştir. Sonuçlar safranlarda kalite sınıfı düştükçe ya da başka bir ifadeyle toplam ağırlıkta stigmalar dışındaki kısımlar arttıkça toplam fenolik, flavonoid madde ve antioksidan aktivite değerlerinin düştüğünü göstermiştir.
4. Hunter L, a, b renk değerleri sonuçlarına göre All Red örneğinin a değeri, yani kırmızılığı en yüksek bulunmuş, bu değer kalite sınıfındaki düşüşle azalmıştır. b değeri yani sarılık ifadesinde ise beklendiği gibi tam tersi yönde bir artış olmuş, kalite sınıfındaki düşüşle bu değer artmıştır. All Red örneğinden Bunch örneğine gidildikçe kullanılan dişicik borusunun oranı artmaktadır ve bu kısım sarı renge sahiptir. Bunch örneğine gidildikçe b değerinin artması bu duruma bağlanmaktadır.

5. %80'lik metanolde ekstrakte edilerek elde edilen safran ekstraktlarının a değeri suda elde edilenlerden daha düşük (kırmızılığı yüksek); b değeri ise daha yüksek olarak (sarılığı yüksek) belirlenmiştir. Bu durumun karotenoidlerin çoğunun lipofilik karakterde olmalarından dolayı organik çözücülerde daha iyi çözünmelerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.
6. Safrana karakteristik rengini veren bileşen olan toplam krosin miktarı HPLC ile en yüksek All Red örneğinde (37.37 mg/g) ve en düşük Bunch örneğinde (33.05 mg/g) tespit edilmiştir. Bu değer kalite sınıfındaki düşüşe paralel olarak azalış göstermiştir.
7. Safrana acılık veren bileşen olan ve safran standardına göre miktarı arttıkça kalite sınıfının arttığının bir göstergesi olan pikokrosin miktarı All Red örneğinden (5.21 mg/g) Bunch örneğine (4.11 mg/g) doğru gidildikçe sınıflandırmaya bağlı olarak önemli düzeyde azalmıştır.
8. Yapılan GC-MS, SPME metoduyla aroma analiz sonucunda safranın %'lik alan açısından önemli aroma bileşenleri olarak bütün safran örneklerinde safranal, 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione, acetic acid, limonen-10-ol, 2-(5H)-Furanone, eucarvone, α -isophoron ve 3,5,5-Trimethyl-1,4-cyclohexadione) tespit edilmiştir. Safranın en önemli aroma bileşeni olan safranal, Bunch örneğinde en yüksek ve diğer sınıf safranlardan önemli derecede farklı ($p<0.01$) bulunmuştur.
9. Geçmişte önemli miktarlarda Türkiye'de de üretilen safran, günümüzde hemen hiç üretilmemektedir. Ancak safranla ilgili bazı araştırmalara rastlanmaktadır. Türkiye'nin de önemli bir safran üreticisi olma potansiyeli her zaman söz konusudur. Bu konuda yapılacak çalışmalar ve üretim teşvikleri bu değerli ürün kullanılarak yapılan yemek kültürümüzü de yeniden canlandıracaktır.

6. KAYNAKLAR

- ABADIO, F.D.B., DOMINGUES, A.M., BORGES, S.V. and OLIVERIRA, V.M. 2004. Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice-effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering*. 64: 285–287.
- AKDOĞAN, A. 2007. Kırmızı pul biberdeki (*capsicum annuum* l.) karotenoid pigmentlerin sıcaklık ve nem etkisiyle değişimi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 19-44 ss.
- AKGÜL, A. 1993. Baharat bilimi ve teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*. No:15, 451 ss. Ankara.
- AMIN, A., HAMZA, A.A., BAJBOUJ,K., SALMAN ASHRAF,S., and DAOUD,S. 2011. Saffron: A Potential Candidate for a Novel Anticancer Drug Against Hepatocellular Carcinoma. *Hepatobiliary Malignancie*. No:54(3),858-867.
- ANASTASAKI, E., KANAKIS, C., PAPPAS, C., MAGGI, L., CAMPO, C.P., CARMONA, M., ALONSO, G.L., and POLISSIOU, M.G. 2009. Geographical differentiation of saffron by GC-MS/FID. *Eur Food Res Technol*. No:229,899-905.
- ANONİM. 2000. Türk Gıda Mevzuatı, Baharat Tebliği. Tebliğ No: 2000/16.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. AOAC, Washington.
- ARORA, S.D. and KAUR, J. 1999. Antimicrobial activity of spices. *International Journal of Antimicrobial Agents*. No:12, 257–262.
- BAYDAR, H. 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi*. No:51, 216 ss. Isparta.
- BORTOLOMEAZZI, R., SEBASTIANUTTO, N., TONIOLO, R. and PIZZARIELLO, A. 2007.Comparative evalution of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chemistry*, No:100,1481-1489.
- CAMPO, C., CARMONA, M., MAGGI, L., KANAKIS, C.D., ANASTASAKI, E.G., TARANTILIS, P.A., POLISSIOU, M.G. and ALONSO, G.L. 2010. Picrocrocin

- Content and Quality Categories in Different (345) Worldwide Samples of Saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Agric. Food Chem.* No:58, 1305–1312.
- CARMONA, M., MARTINEZ, J., ZALACAIN, A., RODRIGUEZ-MENDEZ, M.L., SAJA, J. A. and ALONSO, G.L. 2006.a .Analysis of saffron volatile fraction by TD-GC-MS and e-nose. *Eur Food Res Technol*, No: 223,96-101.
- CARMONA, M., ZALACAIN, A., SALINAS, R. and ALONSO, G. L. 2006.b. Generation of saffron Volatiles by Thermal Carotenoid Degradation. *J.Agric.Food Chem*, No: 54,6825-6834.
- CARMONA, M., ZALACAIN, A., SALINAS, M and ALONSO, G.L. 2007. A New Approach to Saffron Aroma. *Food Science and Nutrition*, No:47, 145-159.
- CEMEROĞLU, B. 2007. *Gıda Analizleri*. No:34, 473-484ss. Ankara.
- CHANG, Q., ZUO, Z., CHOW, M.S.S. and HO, W.K.K. 2006. Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry*. No:98, 426-430.
- CHEN, Y., ZHANG, H., TIAN, X., ZHAO, C., CAI, L., LIU, Y., JIA, L., YIN, H. and CHEN, C. 2008. Antioxidant potential of crocins and ethanol extracts of *Gardenia jasminoides* ELLIS and *Crocus sativus* L.: A relationship investigation between antioxidant activity and crocin contents. *Food Chemistry*, No: 109, 484-492.
- CULLERE, L., SAN-JUAN, F. and CACHO, J. 2011. Characterisation of aroma active compounds of Spanish saffron by gas chromatography-olfactometry: Quantitative evaluation of the most relevant aromatic compounds. *Food Chemistry*, No:127,1866-1871.
- ÇAVUŞOĞLU, A. ve ERKEL, İ.E. 2005. Kocaeli ili koşullarında safran (*Crocus sativus* L.) yetiştiriciliğinde yetiştirme yeri ve korm çapı'nın verim ve erkencilik üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. No:18(2):179-184.
- ÇOŞKUN, F. 2010. Tekirdağ Piyasasında Satılan Bazı Baharatların Mikrobiyolojik Özellikleri. *Tekirdağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. No: 7(1):85-93.
- D'AURIA, M., MAURIELLO, G. and RANA, G.L. 2004. Volatile organic compounds from saffron. *Flavour and Fragrance Journal*, No:19,17-23.

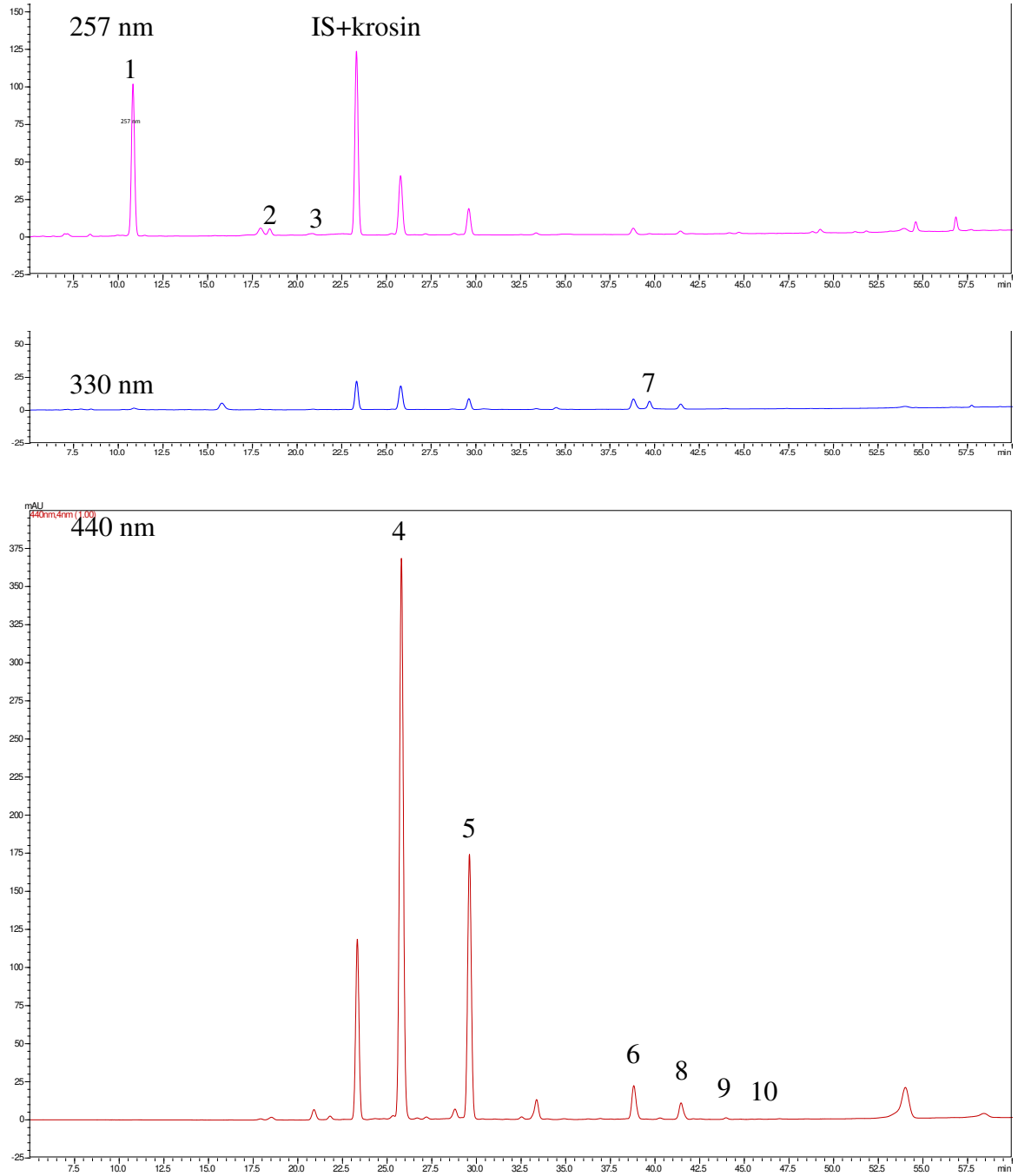
- D'AURIA, M., MAURIELLO, G., RACIOPPI, R., and RANA, G.L. 2006. Use of SPME-GC-MS in the study of Time Evolution of the Constituents of Saffron Aroma: Modifications of the Composition During Storage. *Journal of Chromatographic Science*, No:44, 18-21.
- DAVIS, P. H., 1984, *Crocus L.*, Flora of Turkey, *Edinburgh University Press*. NO:8, 413-437ss. Edinburgh.
- DUKE, J. 2003. CRC HANDBOOK OF Medicinal Spices. Boca Raton London New York Washington, D.C.
- GIRONI, F., and PIOMENTE, V. 2011. Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. *Chemical Engineering Research and Design*, No:89, 857-862.
- FAMELI. 2002. Iran saffron importer countries to estimate the demand function using panel. *Tehran University Faculty of Economics*. 109-134ss. Iran.
- FİLİZ, N. 2001. Bursa'da tüketime sunulan bazı baharatların mikrobiyolojik kaliteleri. *J.Fak.Vet.Med.* No:20, 103-107.
- GREGORY, M.J., MENARY, R.C. ve DAVIES, N.W. 2005. Effect of Drying Temperature and Air Flow on the Production and Retention of Secondary Metabolites in Saffron. *J. Agric. Food Chem.* No:53, 5969-5975.
- HERIBERTO CABALLERO, O., ROGELIO PEREDA, M. and FIKRAT, I.A. 2007. HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chemistry*, No:100, 1126-1131
- JALALI-HERAVI, M., PARASTAR, H. and EBRAHIMI-NAJAFABADI, H. 2009. Characterization of volatile components of Iranian saffron using factorial-based response surface modeling of ultrasonic extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A*, 1216, 6088-6097.
- JALALI-HERAVI, M., PARASTAR, H. and EBRAHIMI-NAJAFABADI, H. 2010. Self-modeling curve resolution techniques applied to comparative analysis of volatile components of Iranian saffron from different regions. *Analytic Chimica Acta*. NO:662, 143-154.

- INTERNATIONAL STANDARDS ORGANIZATION, 'Saffron (*Crocus sativus* L.)', ISO 3632-1 and 3632-2. 1st edition, International Standards Organization, Geneva, Switzerland, 1993.
- KARBASI, A.R. and AKBARZADE, J. 2008. Estimation of export supply and demand functions for Iran saffron by simultaneous equations system. *Egtesade Keshavarzi va Tosee*, No:62, 33-53.
- KARIMI, E., OSKOEIAN, E., HENDRA, R. and JAAFAR, H.Z.E. 2010. Evaluation of *Crocus sativus* L. Stigma Phenolic and Flavonoid Compounds and Its Antioxidant Activity. *Molecules*, No:15, 6244-6256.
- LAGE, M. and CANTRELL, C.L. 2009. Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. *Scintia Horticulturae*. No: 121, 366-373.
- LEUSCHNER, G.K.R. and ZAMPARINI, J. 2002. Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli* 0157 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise. *Food Control*. No:13, 399-404.
- MAGGI, L., CARMONA, M., ZALACAIN, A., KANAKIS, C. and ANASTASAKI, E. 2010. Changes in saffron volatile profile according to its storage time. *Food Research International*, No:43, 1329-1334.
- MALYER, H., 1985, İç Anadolu'nun Liliaceae, Amaryllidaceae ve Iridaceae Familyaları Üzerine Taksonomik Araştırmalar, *TÜBİTAK Temel Bilimler Arş. Gr. Proje*. No: TBAG-529, Eskişehir.
- MASODA, A., MORI, K., ODA, Y. and MIYAZAWA, M. 2010. Volatile Oil Compounds from Corms and Flowers of *Crocus vernus* L. Hill and Corms of *C. sativus* L. *Libyan Gricultrye Reserch Center Journal*. No:1(4), 244-249.
- MCGEE, H. 2004. On Food and Cooking: The Science and lore of the Kitchen. No:279, 684-701. Manufactured in the United States of America.
- MELNYK, J.P., WANG, S. and MARCONE, F. 2010. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International*. No:43, 1981-1989.

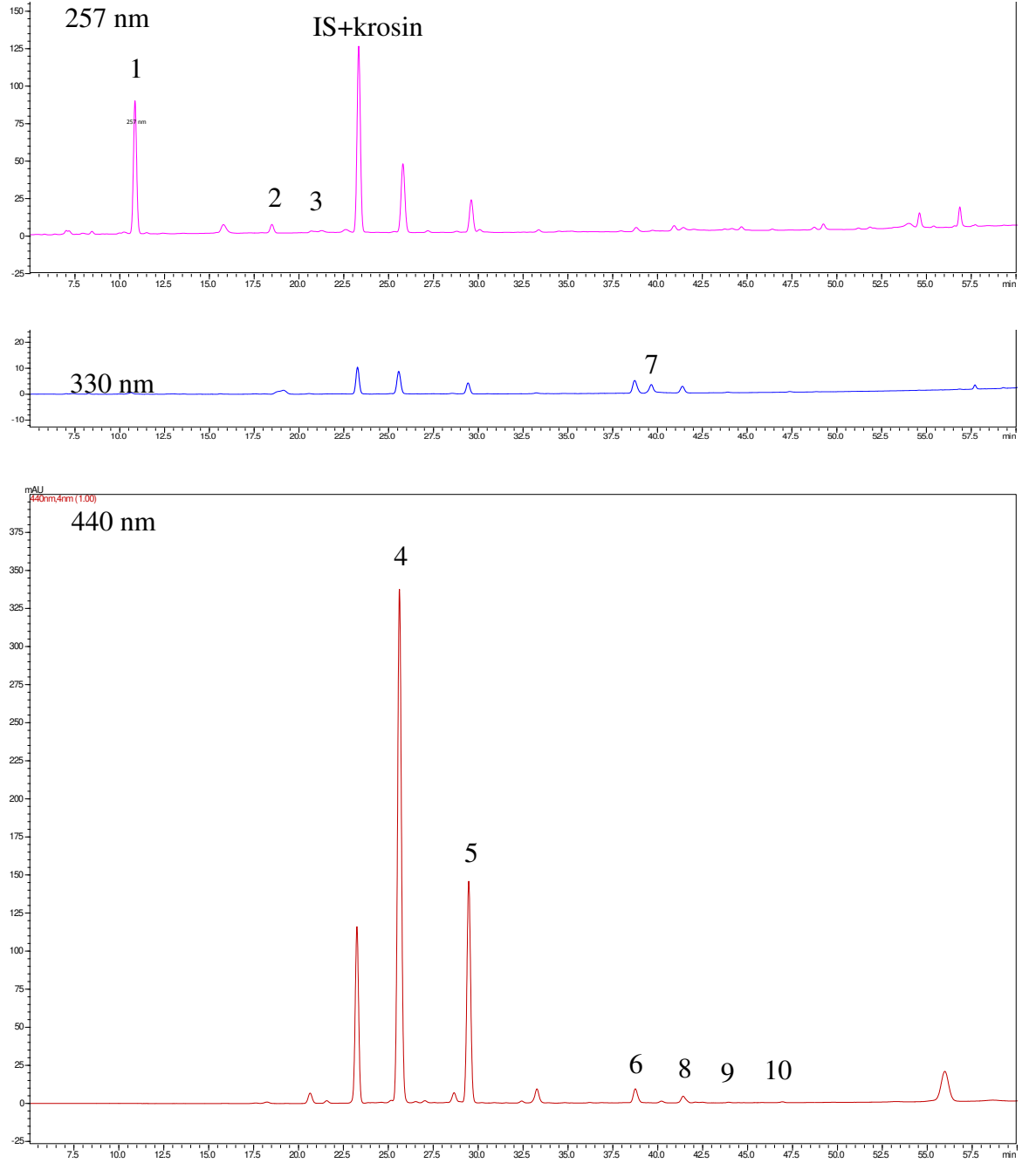
- NEGBI, M. 2006. SAFFRON *Crocus Sativus* L. Saffron cultivation: past, present and future prospects. Department of Agricultural Botany, The Hebrew University of Jerusalem, PO Box 12, Rehovot, 76100. 8-9ss. Israel.
- PELLEGRINI, N., SERAFINI, M., SALVATORA, S., DEL RIO, D., BIANCHI, M. And BRIGHENTI, F. 2006. Total antioxidant capacity of spices, dried fruits, nuts, pulses, cereals and sweets consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Mol.Nutr.Food Res*, N0:50,1030-1038.
- PETER, K.V. 2001. Handbook of Herbs and Spices. CRC Press Washington D.C. pp:292-300.
- QUEK, S.Y., CHOK, N.K. and SWEDLUND, P. 2007. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing*. No:46, 386-392.
- RAGHAVAN, S. 2007. Handbook of Spices, Seasonings, and Flavoring. 161-163ss. Boca Raton London New York
- RAINA, B., AGARWAL, S., BHATIA, A. and GAUR, G. 1996. Changes in Pigments and Volatiles of Saffron (*Crocus sativus* L) During Processing and Storage. *J Sci Food Agric*, No:71, 27-32.
- SARIRI, R., SABBAGHZADEH, R., and POUMOHAMAD, F. 2011. In-Vitro Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activity of Methanol Extracts From *Crocus Sativus* Flowers. *Pharmacologyonline*, No:2, 1205-1215.
- SHOBANA, S. and NAIDU, K.A. 2000. Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. No: 62(2): 107-110
- SKERGET, M., KOTNIK, P., HADOLIN, M., RIZNER HRAS, A., SIMONIC, M. and ZELJKO, K. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. No: 89(2):191-198.
- SUJATA, V., RAVISHANKAR, G.A. and VENKATARAMAN, L.V. 1992. Methods for the analysis of the saffron metabolites crocin, crocetins, picrocrocin and safranal for the determination of the quality of the spice using thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography and gas chromatography. *Jurnal of Chromatography*, No: 624, 497-502.

- ŞALTU, Z. 2002. SAFRAN'IN (*Crocus sativus* L.) BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ. GAZİ ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ,ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ,YÜKSEK LİSANS TEZİ. 5-48 ss. Ankara.
- TARANTIL,P.A., TSOUPRAS,H. and POLISSIOU,M. 1995. Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography- UV- visible photodiode-array detection-mass spectrometry. *J.Chromatogr.* No: 699,107-118.
- TARANTILIS, P.A. and POLISSIOU, M.G. 1997. Isolation and identification of the aroma components from saffron (*Crocus sativus*). *J.Agric.Food Chem*, No:45, 459-462.
- TORKAMANI, J. 2000. Production , marketing and business of Iranian saffron. *Ulm va funune keshavarzi va manabee tabii*. 29-44. Iran.
- TOROĞLU, S., DIĞRAK, M. ve ÇENET, M. 2006. Baharat olarak tüketilen *Laurus nobilis* Linn ve *Zingiber officinale* Roscoe bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri ve antibiyotiklere in-vitro etkilerinin belirlenmesi. *KSÜ, Fen ve Mühendislik Dergisi*. No:9(1), 20–25.
- ÜNALDI, Ü.E. 2007. Tehdit ve tehlike altında bir kültür bitkisi: safran(*Crocus sativus* L.). *Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*. No:17(2),53–67.
- VURDU, H. ve ÇİÇEK, F. F., 1992, Biyolojik Zenginliklerimiz: Çiğdem (*Crocus* spp.), *Fidan*, No:57, 2-5.
- WARBURG, E. F., 1957, *Crocuses*, *Endeavour*, No:16, 209-216
- WEIER, E., Stocking, R. C., BARBOUR, M. G. and ROST, T. L., 1972, *Botany: An Introduction of Plant Biology*, *John Wiley & Sons, Inc.*, California.
- WILLIAMS, C.A., HARBORNE, J.B. and COLASANTE, M. 1998. Flavonoid and xanthone patterns in bearded *Iris* species and the pathway of chemical evolution in the genus. *Biochem Sys. Ecol*, No:24(4), 309–325.
- ZHANG, Y. 2008. Antioxidant potential of crocins and ethanol extracts of *Gardenia jasmiboides* ELLIS and *Crocus sativus* L.: A relationship investigation between antioxidant activity and crocin contents. *Food Chemistry*, No:109,484-492.

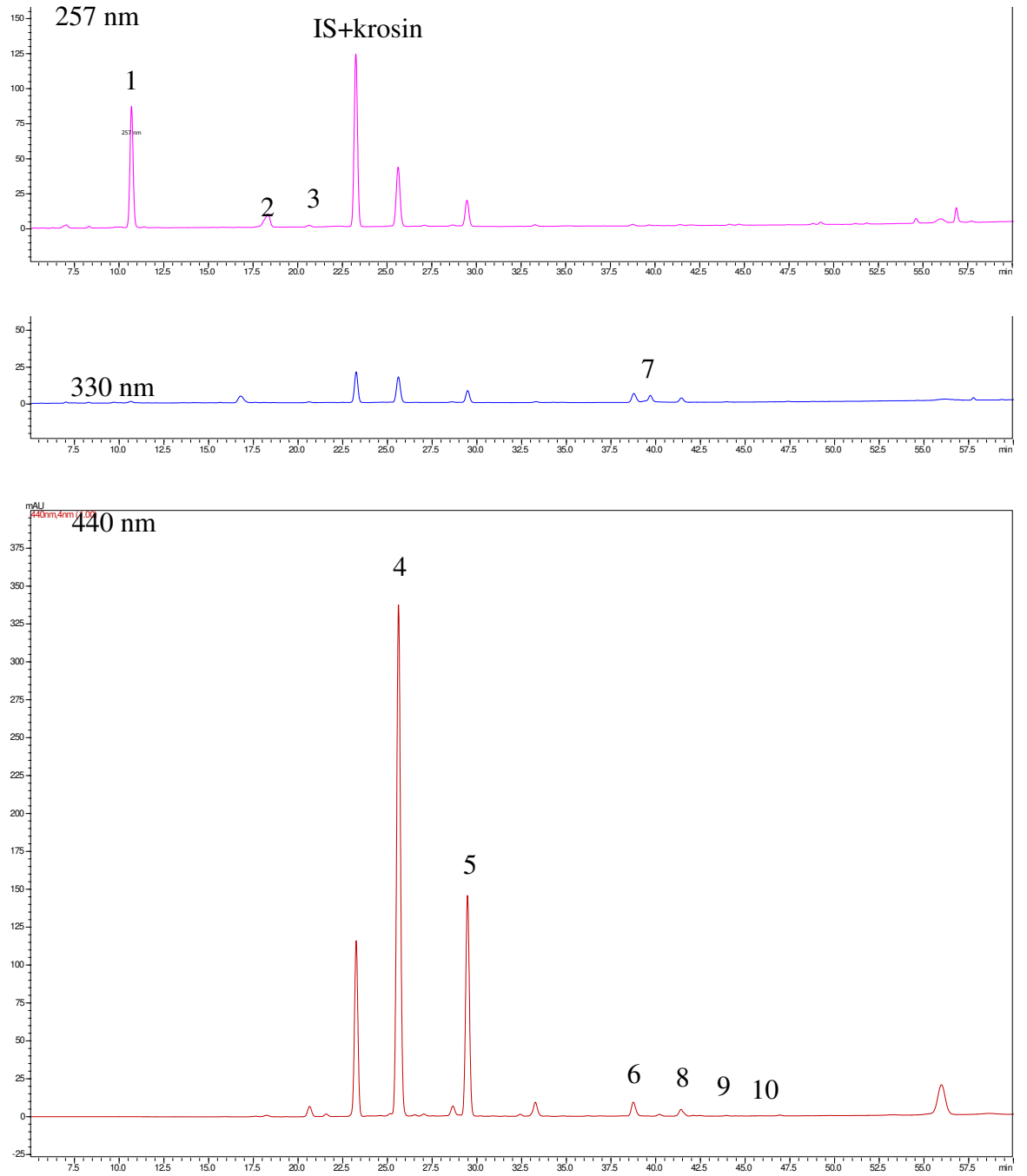
7. EKLER



Ek-1. All Red örneğinin HPLC ile tespit edilen bileşenlerine ait kromatogramlar. 1: pikrokrosin, 2: HTCC, 3: 3-gentiobiosyl-kaempferol, 4: trans-krosin 4, 5: trans-krosin 3, 6: trans-krosin 2', 7: safranlal, 8: cis-krosin 4, 9: trans-krosin 2, 10: cis-krosin 2, IS (internal standart, 2-nitroaniline+krosin).

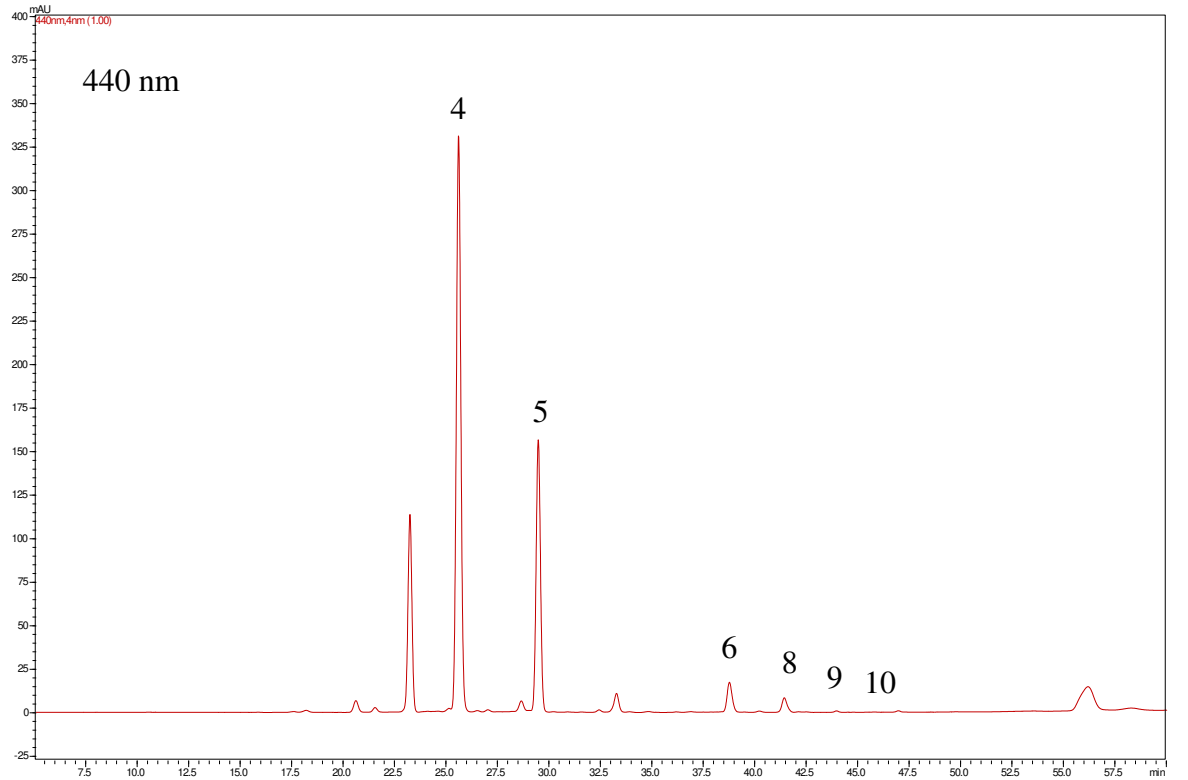
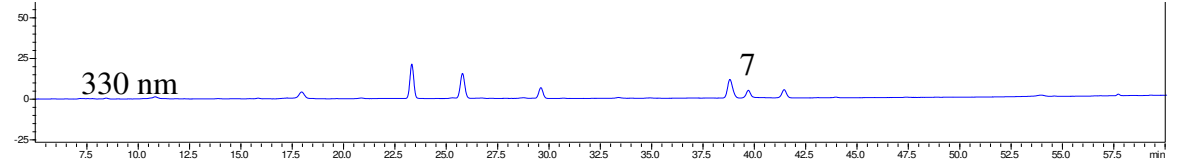
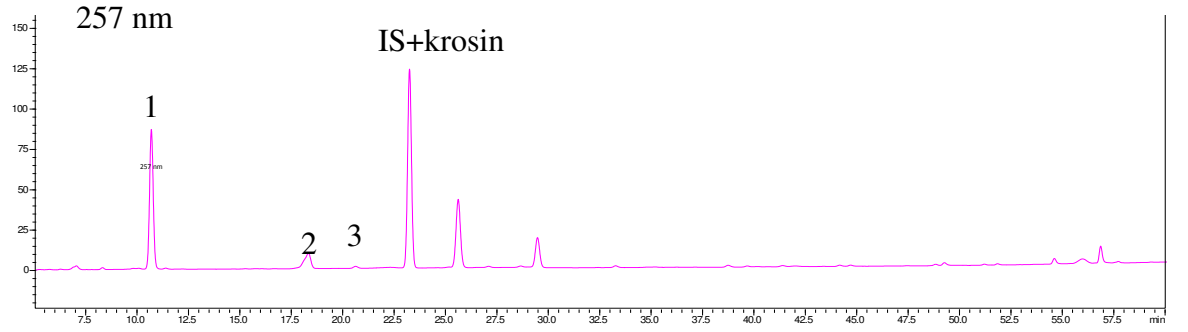


Ek-2. PS örneğinin HPLC ile tespit edilen bileşenlerine ait kromotogramlar. 1: pikrokrosin, 2: HTCC, 3: 3-gentiobiosyl-kaempferol, 4: trans-krosin 4, 5: trans-krosin 3, 6: trans-krosin 2', 7: safranalar, 8: cis-krosin 4, 9: trans-krosin 2, 10: cis-krosin 2, IS (internal standart, 2-nitroaniline+krosin).



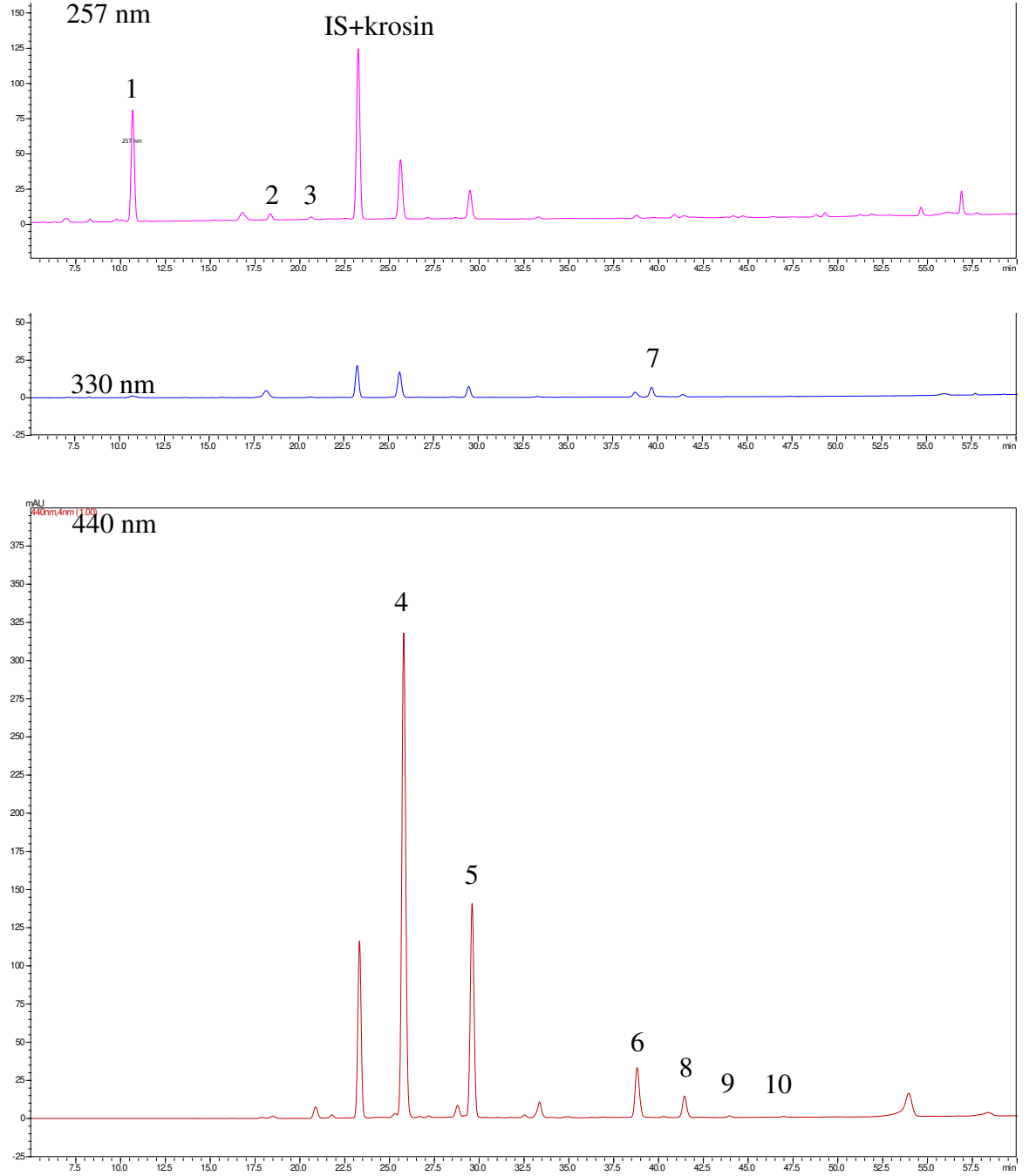
Ek-3. PI örneğinin HPLC ile tespit edilen bileşenlerine ait kromotogramlar. 1:

pikrokrosin, 2: HTCC, 3: 3-gentiobiosyl-kaempferol, 4: trans-krosin 4, 5: trans-krosin 3, 6: trans-krosin 2', 7: safranal, 8: cis-krosin 4, 9: trans-krosin 2, 10: cis-krosin 2, IS (internal standart, 2-nitroaniline+krosin).

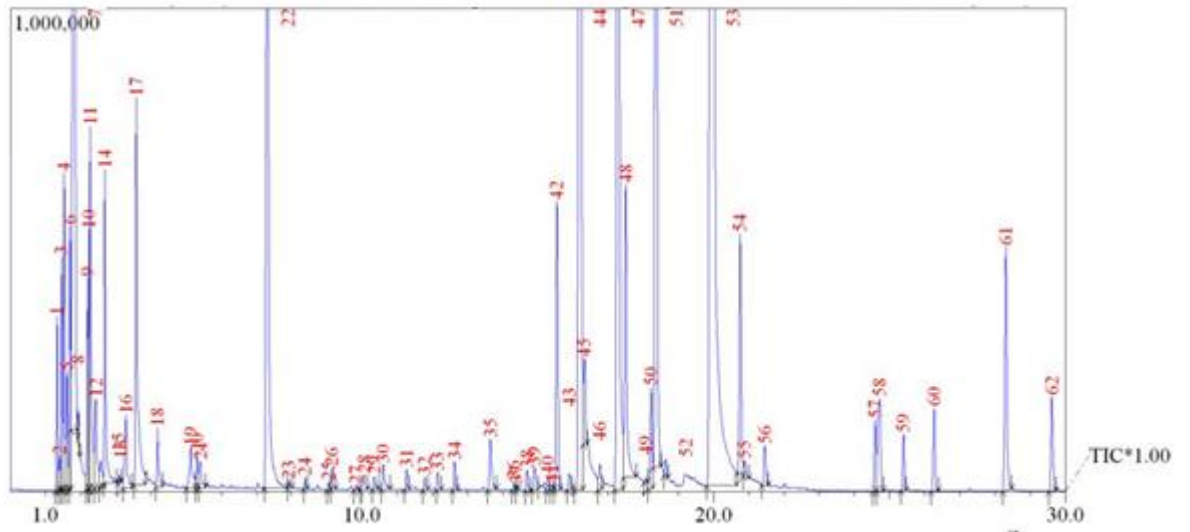


Ek-4. PII örneğinin HPLC ile tespit edilen bileşenlerine ait kromatogramlar. 1:

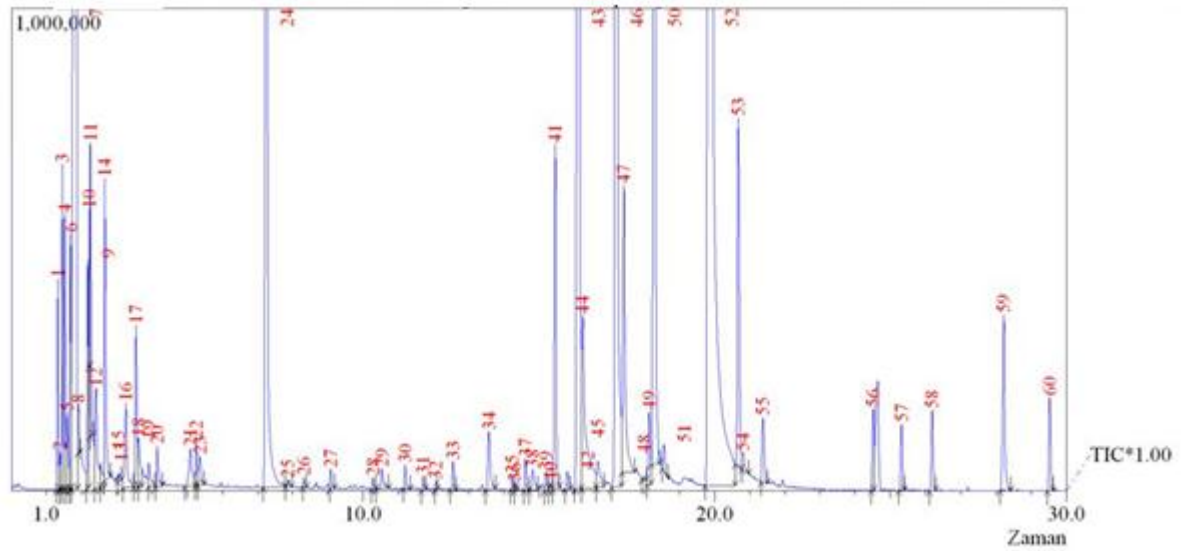
pikrokrosin, 2: HTCC, 3: 3-gentiobiosyl-kaempferol, 4: trans-krosin 4, 5: trans-krosin 3, 6: trans-krosin 2', 7: safranal, 8: cis-krosin 4, 9: trans-krosin 2, 10: cis-krosin 2, IS (internal standart, 2-nitroaniline+krosin).



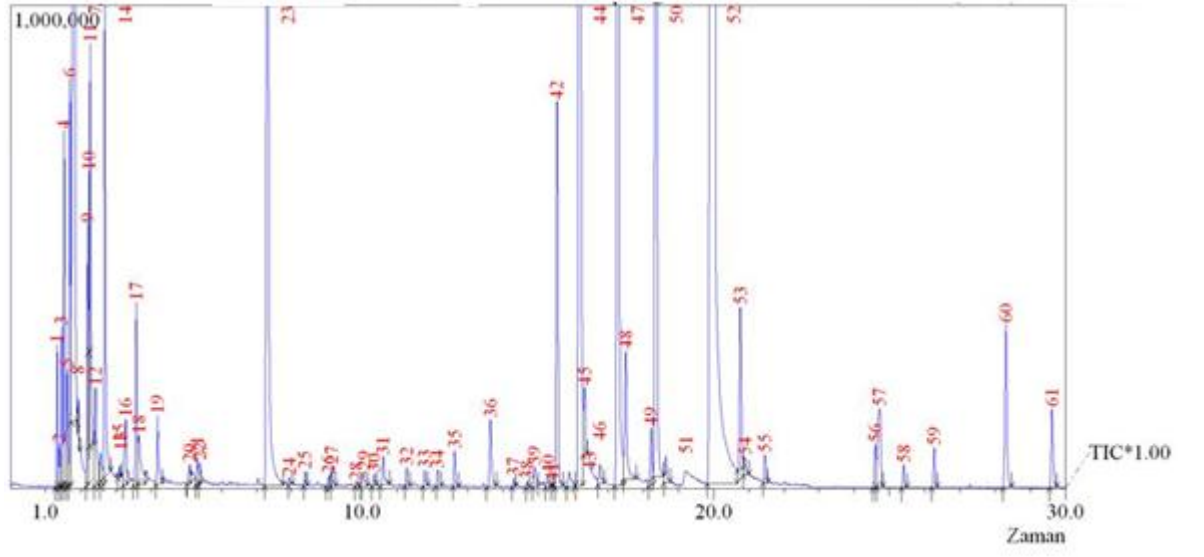
Ek-5. Bunch örneğinin HPLC ile tespit edilen bileşenlerine ait kromatogramlar. 1: pikrokrosin, 2: HTCC, 3: 3-gentiobiosyl-kaempferol, 4: trans-krosin 4, 5: trans-krosin 3, 6: trans-krosin 2', 7: safranal, 8: cis-krosin 4, 9: trans-krosin 2, 10: cis-krosin 2, IS (internal standart, 2-nitroaniline+krosin).



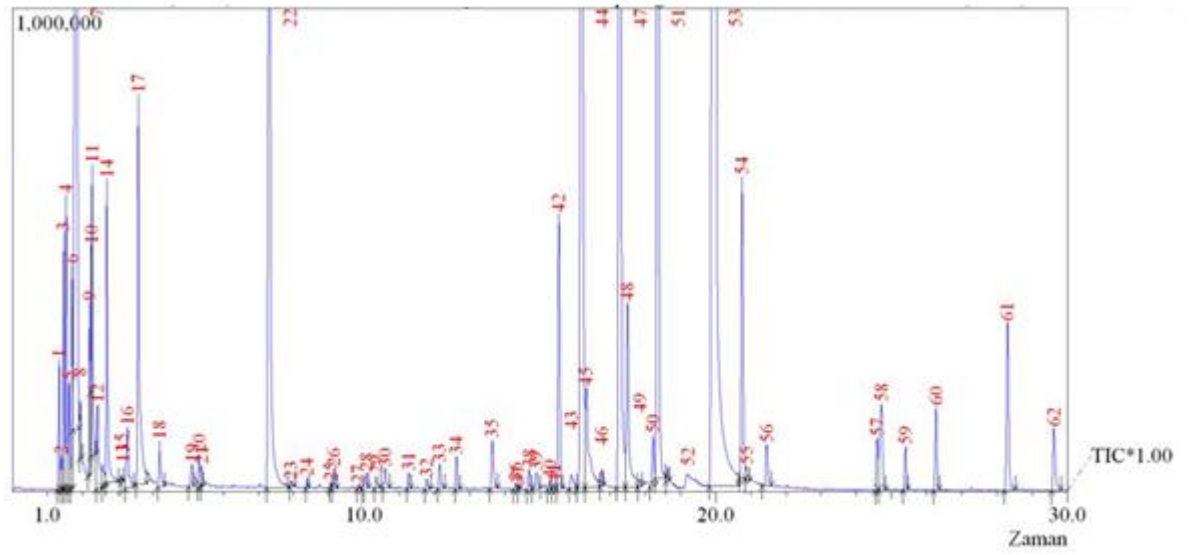
Ek-6. All Red örneğinin GC-MS ile tespit edilen aroma bileşenlerine ait kromotogram.



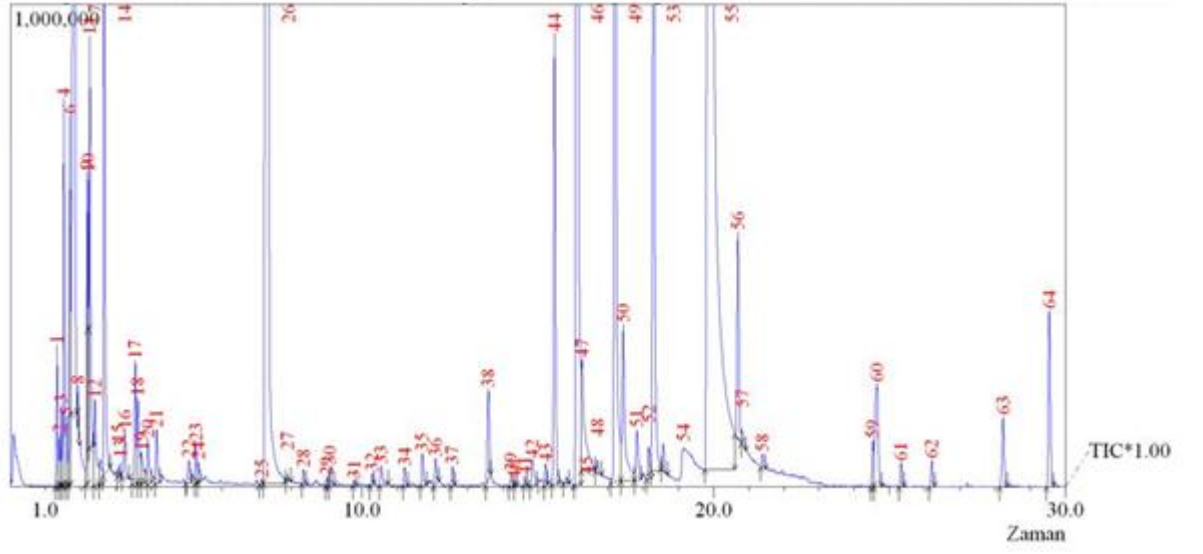
Ek-7. PS örneğinin GC-MS ile tespit edilen aroma bileşenlerine ait kromotogram.



Ek-8. PI örneğinin GC-MS ile tespit edilen aroma bileşenlerine ait kromotogram.



Ek-9. PII örneğinin GC-MS ile tespit edilen aroma bileşenlerine ait kromotogram.



Ek-9. Bunch örneğinin GC-MS ile tespit edilen aroma bileşenlerine ait kromotogram.

ÖZGEÇMİŞ

Negin AZARABADI, 1984 tarihinde IRAN, Tebriz’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Tebriz’de tamamladı. 2003 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2008 yılında mezun oldu. 2009 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı. Halen aynı Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime devam etmektedir.