

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



PİYASADA HAZIR HALDE SATILAN PUL
BİBERDEKİ AFLATOKSİN B1 MİKTARININ
AMONYAK İLE AZALTILMASI

Ahmet DÜZEL

Yüksek Lisans Tezi
Biyomühendislik Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Aykut TOPDEMİR

ELAZIĞ -2016

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PİYASADA HAZIR HALDE SATILAN PUL BİBERDEKİ AFLATOKSİN Bİ
MİKTARININ AMONYAK İLE AZALTILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

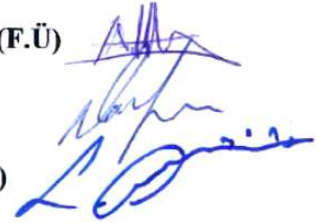
Ahmet DÜZEL

131132105

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 20 Temmuz 2016

Tezin Savunulduğu Tarih: 10 Ağustos 2016

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Aykut TOPDEMİR (F.Ü)
Diğer Jüri Üyeleri : Yrd. Doç. Dr. Nazmi GÜR (F.Ü)
Yrd. Doç. Dr. Cihan ÇİTİL (KA.Ü)



AĞUSTOS-2016

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımın her aşamasında benden desteğini esirgemeyen, gerekli deney düzeneğinin kurulmasında ve malzeme temininde her türlü yardımını gördüğüm danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Aykut TOPDEMİR'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında engin tecrübelerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. H. Soner ALTUNDOĞAN'a, Sayın Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU'na ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Nazmi GÜR'e desteklerinden ötürü teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince bana maddi ve manevi desteklerini sunan değerli mesai arkadaşlarım Arş. Gör. Muhammet Ali UYGUT'a ve Arş. Gör. Ahmet YAZICIOĞLU'na ayrıca teşekkür etmek isterim.

Tez çalışmalarımı yürütürken laboratuvar ve cihazlarını kullandığım Fırat Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'ne ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı Doç. Dr. M. Şaban TANYILDIZI'na teşekkürü bir borç bilirim.

Ahmet DÜZEL
ELAZIĞ – 2016

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
EKLER LİSTESİ.....	X
KISALTMALAR LİSTESİ	XIV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Mikotoksinler ve Mikotoksin Üreten Mikroorganizmalar.....	2
2.2. Mikotoksinlerin Tarihçesi	4
2.3. Mikotoksinlerin Toksisitesi	5
2.4. Mikotoksinlerin İnsanlara Geçiş Yolları.....	8
2.5. Mikotoksin Kontaminasyonunu Etkileyen Faktörler.....	9
2.5.1. Rutubetin Etkisi	9
2.5.2. Sıcaklığın Etkisi	10
2.5.3. pH'ın Etkisi	10
2.5.4. Oksijen ve Karbondioksitin Etkisi	10
2.5.5. Gıda Maddesinin Yapısının Etkisi	11
2.5.6. Sürenin Etkisi.....	11
2.5.7. Diğer Faktörlerin Etkileri.....	11
2.6. Mikotoksinlerin Ekonomiye Olan Olumsuz Etkileri	12
2.7. Mikotoksinlere Yönelik Yasal Düzenlemeler.....	13
2.8. Mikotoksin Oluşumuna Karşı Alınması Gereken Önlemler.....	14
2.8.1. Hasat Öncesi Stratejiler.....	14
2.8.2. Hasat Esnasındaki Stratejiler	14
2.8.3. Hasat Sonrası Stratejileri.....	15
2.8.3.1. Fiziksel Yöntemler.....	15
2.8.3.2. Kimyasal Yöntemler	15
2.8.3.2.1. Amonyak Uygulanması	15

2.8.3.2.2. Ozon Uygulanması (Ozonizasyon).....	16
2.8.3.2.3. Adsorbanların Kullanılması.....	16
2.8.3.3. Biyolojik Yöntemler	17
2.9. Yaygın Görülen Mikotoksin Çeşitleri ve Aflatoksinler.....	17
2.9.1. Okratoksinler.....	17
2.9.2. <i>Alternaria</i> Mikotoksinleri	18
2.9.3. Zearalenonlar	18
2.9.4. Patulin	19
2.9.5. Triketesinler	19
2.9.6. Ergot Toksinleri	19
2.9.7. Fumonisinler	20
2.9.8. Aflatoksinler	21
2.9.8.1. Aflatoksin Analizinde Kullanılan Yöntemler	25
2.9.8.1.1. Aflatoksin Analizinde Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması	26
2.10. Pul Biberin Türkiye ve Dünya Piyasasındaki Yeri	27
2.11. Pul Biberin Üretim Aşamalarında Alınması Gereken Önlemler	29
3. MATERYAL VE METOT.....	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. Pul Biber Numunelerinin Temini.....	32
3.2. Metot	32
3.2.1. Pul Biber Numunelerindeki Aflatoksin B1 Konsantrasyonlarının Tespiti ...	32
3.2.2. Aflatoksin B1'in Amonyak Çözeltisi Buharıyla Giderimi	32
3.2.3. FTIR (Fourier Transform Infrared) Analizlerinin Yapılışı.....	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1. Farklı Pul Biber Numunelerindeki Aflatoksin B1 Konsantrasyonlarının Tespiti	34
4.2. Deneysel Parametrelerin Pul Biberdeki Aflatoksin B1 Konsantrasyonuna Etkisi	35
4.3. FTIR Analizleri	40
4.4. Yapılan Çalışmanın Performans Değerlendirmesi.....	42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
6. KAYNAKLAR	47
7. EKLER.....	53

7.1.	Pul Biber Numunelerinin Kromatogramları ve Aflatoksin İçerikleri	53
7.2.	Pul Biber Numunelerinin FTIR Spektrumları.....	62
7.3.	Deney Düzeneği İçin Özel Olarak Tasarlananan Bazı Ekipmanlar	69
	ÖZGEÇMİŞ.....	70



ÖZET

Küflerin çevresel faktörlerle kolaylıkla taşınabilir olması, çeşitli gıda ürünlerinde çoğalıp, bu ürünlerin bozulmalarını hızlandırmaktadır. Bazı küf türleri, bu tarz bozulmalara yol açmakla kalmayıp, insan sağlığını tehdit eden mikotoksinlerin (toksik metabolit) oluşmasına da sebep olmaktadır. Şu ana kadar çok sayıda mikotoksin çeşidi tespit edilmiş ve sınıflandırılmıştır. Yapılan bilimsel çalışmalar en tehlikeli ve yaygın görülen mikotoksin grubunun aflatoksinler olduğunu ortaya koymuştur. Aflatoksinlerin en tehlikelisi de aflatoksin B1'dir. Çeşitli gıda ürünlerindeki aflatoksin B1 miktarının azaltılması için bugüne kadar çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, önemli bir ticari ürün olan ve aynı zamanda çoğunlukla aflatoksin B1 içeren pul biber, açık bir sistemde; belirli sıcaklık (100-121 °C), süre (5-75 dk) ve konsantrasyonlardaki (%0-2) amonyak çözeltisi buharına maruz bırakılmıştır. Böylece, pul biberdeki aflatoksin B1'in önemli ölçüde giderilmesi sağlanmıştır. Daha sonra, olası yapısal farkların tespiti için FTIR analizleri yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Küf, Mikotoksin, Aflatoksin B1, Pul biber, Amonyak

SUMMARY

Reduction Aflatoxin B1 Amounts of Red Pepper Flakes Which Sold on the Market by Ammonia

The easily transition of molds by environmental factors, causes growth of this molds in the various food products and accelerates the degradation of this products. Some of the mold species, not only cause such disruptions but also lead to formation of mycotoxins (toxic metabolites) which threatening human health. Until now, many kinds of mycotoxins have been identified and classified. Scientific studies revealed that the most dangerous and common mycotoxin group are aflatoxins. The most dangerous of aflatoxins is aflatoxin B1. Until now, there have been a number of scientific studies to reduce the amount of aflatoxin B1 in various food. In this study, red pepper flakes which is an important commercial product and also often contains aflatoxin B1, was exposed to ammonia solutions vapor at specific temperature(100-121 °C), time (5-75 min) and concentrations (0-2%) in an open system. Thus, provided to significantly eliminate of aflatoxin B1 in the red pepper flakes. Then, FTIR analysis was performed to detect possible structural difference.

Key Words: Mold, Mycotoxin, Aflatoxin B1, Red pepper flakes, Ammonia

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo.2.1: Aflatoksin analiz yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları	27
Tablo.4.1: A kodlu numunenin aflatoksin konsantrasyonu değerleri.....	34
Tablo.4.2: B kodlu numunenin aflatoksin konsantrasyonu değerleri	34
Tablo.4.3: C kodlu numunenin aflatoksin konsantrasyonu değerleri	35
Tablo.4.4: Merkez Karma Tasarım deney tablosunda bulunan parametreler ve incelenen aralıklar.....	35
Tablo.4.5: Merkez Karma Tasarım matrisi ve deneylerin sonunda pul biber numunelerindeki aflatoksin B1'in giderim yüzdeleri	36
Tablo.4.6: Aflatoksin B1 gideriminin kuadratik modeli için ANOVA sonuçları	36
Tablo.4.7: Modellemenin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler	37
Tablo.4.8: Aflatoksin B1 giderimi için yapılan farklı çalışmaların deneysel verileri	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil.2.1: Mikotoksinlerin insanlara geçiş yolu.....	8
Şekil.3.1: Oluşturulan deney düzeneği.....	33
Şekil.4.1: A kodlu numunenin kromatogram görüntüsü.....	34
Şekil.4.2: B kodlu numunenin kromatogram görüntüsü.....	34
Şekil.4.3: C kodlu numunenin kromatogram görüntüsü.....	35
Şekil.4.4: Sıcaklık ve amonyak konsantrasyonu etkileşiminin aflatoksin B1 giderimine etkisi.....	38
Şekil.4.5: Sıcaklık ve süre etkileşiminin aflatoksin B1 giderimine etkisi.....	38
Şekil.4.6: Amonyak ve süre etkileşiminin aflatoksin B1 giderimine etkisi.....	39
Şekil.4.7: %99,7 saflıktaki aflatoksin B1 numenesinin FTIR spektrumu.....	41
Şekil.4.8: Herhangi bir muamele yapılmamış pul biber numunesinin FTIR spektrumu	41
Şekil.4.9: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu.....	41
Şekil.4.10: 40 dakika süreyle 100 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu.....	41

EKLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil.E7.1.1: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	53
Tablo.E7.1.1: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	53
Şekil.E7.1.2: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	53
Tablo.E7.1.2: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	53
Şekil.E7.1.3: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü(1)	54
Tablo.E7.1.3: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları(1).....	54
Şekil.E7.1.4: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü(2)	54
Tablo.E7.1.4: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları(2).....	54
Şekil.E7.1.5: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü (3)	55
Tablo.E7.1.5: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları(3).....	55
Şekil.E7.1.6: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	55
Tablo.E7.1.6: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	55
Şekil.E7.1.8: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %2 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	56
Tablo.E7.1.8: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %2 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	56
Şekil.E7.1.9: 40 dakika süreyle 100 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	56

Tablo.E7.1.9: 40 dakika süreyle 100 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	56
Şekil.E7.1.10: 5 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	57
Tablo.E7.1.10: 5 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	57
Şekil.E7.1.11: 75 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	57
Tablo.E7.1.11: 75 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	57
Şekil.E7.1.12: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	58
Tablo.E7.1.12: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	58
Şekil.E7.1.13: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	58
Tablo.E7.1.13: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	58
Şekil.E7.1.14: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	59
Tablo.E7.1.14: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	59
Şekil.E7.1.15: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	59
Tablo.E7.1.15: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	59
Şekil.E7.1.16: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	60
Tablo.E7.1.16: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	60
Şekil.E7.1.17: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	60

Tablo.E7.1.17: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	60
Şekil.E7.1.18: 40 dakika süreyle 121 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü	61
Tablo.E7.1.18: 40 dakika süreyle 121 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları	61
Şekil.E.7.2.1: 15 dakika süreyle 100 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	62
Şekil.E7.2.2: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	62
Şekil.E7.2.3: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	63
Şekil.E7.2.4: 60,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	63
Şekil.E7.2.5: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	64
Şekil.E7.2.6: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	64
Şekil.E7.2.7: 5 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	65
Şekil.E7.2.8: 75 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	65
Şekil.E7.2.9: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %2 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	66
Şekil.E7.2.10: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	66
Şekil.E7.2.11: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	67
Şekil.E7.2.12: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	67
Şekil.E7.2.13: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu	68

Şekil.E7.2.14: 40 dakika süreyle 121 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR Spektrumu	68
Şekil.E7.3.1: Deney düzeneği için özel olarak tasarlanan buhar kazanı	69
Şekil.E7.3.2: Deney düzeneği için özel olarak tasarlanan cam kolon	69



KISALTMALAR LİSTESİ

AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADI	: Accetable Daily Intake
AFB1	: Aflatoksin B1
AFB2	: Aflatoksin B2
AFG1	: Aflatoksin G1
AFG2	: Aflatoksin G2
AFM1	: Aflatoksin M1
AFM2	: Aflatoksin M2
ALT	: Altenuen
AME	: Alternariol Metil Eter
AOH	: Alternariol
ATA	: Alimentary Toxic Aleukia
ATX	: Altertoksin
aw	: Activity of Water
BEN	: Balkan Endemik Nefropatisi
CCD	: Central Composit Design
DMSO	: Dimetilsülfoksid
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DON	: Deoksinivalenol
ELISA	: Enzym Linked Immunosorbent Assay
EtOTB	: Okratoksin B Etil Ester
FAO	: Food and Agriculture Organisation
FA1	: Fumonisin A1
FA2	: Fumonisin A2
FB1	: Fumonisin B1
FB2	: Fumonisin B2
FB3	: Fumonisin B3
FB4	: Fumonisin B4
FTIR	: Fourier Transform Infrared
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography

IARC	: International Agency for Research on Cancer
kGy	: Kilo Gray
LC/MS	: Liquid Chromatography/Mass Spectrometry
LEM	: Lökoensefalomalasi
MeOTA	: Okratoksin A Metil Ester
MeOTB	: Okratoksin B Metil Ester
MTL	: Maximum Tolerable Level
NIV	: Nivalenol
NOEL	: No Observable Effect Level
OTA	: Okratoksin A
OTB	: Okratoksin B
OTC	: Okratoksin C
pH	: Power of Hyrdrogen
ppb	: Parts Per Billion
ppm	: Parts Per Million
RASSF	: Rapid Alert System for Food and Feed
RNA	: Ribo Nükleik Asit
rpm	: Revolution Per Minute
TEA	: Tenuazonik Asit
TFA	: Trifloroasetik Asit
TLC	: Thin Layer Chromatography
UV	: Ultraviyole
ZON	: Zearalenon

1. GİRİŞ

İnsanların günlük yaşantısında sıklıkla rastladığı ve hemen her çeşit gıdada çoğalabilen küfler, bilim adamlarının üzerinde önemle durduğu bir araştırma konusu olmuştur. Ham ve işlenmiş materyalde çoğalabilen küfler; hem bu ürünlerde bozulmalara neden olmakta hem de insan sağlığını tehdit eden toksik maddeler (mikotoksinler) oluşturmaktadır [1].

Mikotoksinleri üreten küfler; doğal etmenlerle (su ve hava akımları vb.) taşınarak her yerde (atmosferin çeşitli katmanları da dahil) bulunabilirler. Mikotoksin kontaminasyon düzeyi; çevresel koşullara, ürün çeşidine ve bölgesel konuma göre değişiklik gösterebilir. Bununla birlikte, dünya genelinde tarımsal mahsüllerin %25'inin mikotoksin ile kontaminasyon riski taşıdığı tahmin edilmektedir [2].

Mikotoksinler; kimyasal yapı ve etkinlik açısından farklılık göstermekte, üretildikleri küfün çoğalabildiği ortamlara göre gruplandırılabilir [2]. Bilinen en tehlikeli mikotoksin grubu aflatoksinlerdir, aflatoksinlerin de en tehlikeli çeşidi aflatoksin B1'dir. Aflatoksinler, sağlık açısından ciddi sorunlar teşkil etmekte, çeşitli hastalıklara, mutasyonlara ve ani ölümlere sebep olmaktadır. Dahası hayvanlara ve ihraç gıdalarına bulaşan aflatoksinlerden dolayı ülkeler ciddi ekonomik kayıplar yaşamaktadır. Bütün bu faktörlerden dolayı ülkeler hem halk sağlığını hem de kendi ekonomik çıkarlarını koruyacak şekilde maksimum tolerans sınırları belirlemekte ve gıda üretiminin her aşamasında aflatoksin kontaminasyonunu engellemeye yönelik stratejiler geliştirmektedir. Bilim adamları da potansiyel aflatoksin kaynağı olabilecek gıdaları sağlıklı bir biçimde detoksifiye etme yollarını araştırmakta ve bunun için uygun prosedürler geliştirmeye çalışmaktadır.

Bu çalışmanın öncelikli hedefi, önemli bir ticari ürün olan pul biberdeki aflatoksin B1'in belirli sıcaklık, süre ve konsantrasyonlardaki amonyak çözeltisi buharıyla azaltılmasıdır. Yapılan denemelerle pul biberdeki aflatoksin B1'in önemli ölçüde azaltıldığı görülmüştür. Denemeler açık bir sistemde yapıldığı için; koku, kimyasal atık kalıntısı vb. problemlerin, sistemden geçirilen buharın mekanik etkisiyle süpürülerek çözülebileceği öngörülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikotoksinler ve Mikotoksin Üreten Mikroorganizmalar

Mikotoksin terimi, Yunanca'da "mantar" anlamı taşıyan "mykes" ve Latince'de "zehir" veya "toksik" anlamı taşıyan "toxicum" kelimelerinden türetilmiştir. Mikotoksinler, çeşitli mantar (küf) türleri tarafından sentezlenen, küf hifleri ve sporları içerisinde oluşan ve üzerinde bulunduğu ürün veya gıda maddesine salgılanabilen, herhangi bir şekilde insan ve hayvan vücuduna alındığı zaman latent (gizli), akut (şiddetli) veya kronik tipte zehirlenmelere sebep olan sekonder (ikincil) metabolitlerdir. Her küf cinsi mikotoksin üretemez, mikotoksinler sadece belirli küf cinsleri tarafından üretilir. Mikotoksinler, küf gelişiminin olduğu gıda ve yemlerde eser miktarda (mg/kg ve µg/kg düzeylerinde) meydana gelir ve bu ürünlerin tüketilmesiyle doğrudan veya dolaylı olarak insan vücuduna girerek önemli sağlık riskleri oluşturur. Toksin üreten küflerle kontamine olmuş gıda ve yemlerde, toksin üretimi gerçekleştikten sonra, bu küfler tamamen uzaklaştırılıp yok edilseler bile metabolik artıkları (mikotoksinler) uzaklaştırılamadığı için, bu ürünlerin tüketilmeleri sonucu toksik etkiler görülebilir [3, 4].

Küfler doğada yaygın olarak bulunur, arka arkaya dizilen küf hücreleri "hif"leri oluşturur. Hiflerin oluşturduğu topluluklara da miselyum adı verilmektedir. Küfler; hava, su ve toprağın hemen her yerinde bulunmaktadır. Küflerin çoğalmaları sporları yoluyla olmaktadır. Milyarlarca spor oluşturdıklarından üreme olanakları fazla olmaktadır. Küf sporları, havada uçarak yayılabilmektedir. Solunan havada, içilen ve kullanılan sularda küf sporları bulunabilmektedir [3, 4]. Bu sporlar; sıcaklık, nem ve oksijen konsantrasyonunun uygun olduğu koşullar altında yetişip mikotoksin üretebilirler. Dahası mikotoksinler genellikle termostabildir ve gıdalardaki bütün fungus izleri silinse bile sebze de mevcut kalabilirler. Bu yüzden fungiler (küfler) ve mikotoksinler; çiftçiler ve gıda üreticileri için üretimi olumsuz etkileyen potansiyel bir problemidir. Bu nedenlerden dolayı, gıdalar üretim, depolama, işleme, saklama ve tüketim basamaklarında küflerle kontamine olmaktadır [5].

Küflenme ile şekil ve renk değişiklikleri yanında, enzimatik veya kimyasal reaksiyonlar sonucu besinlerde bozulma başlamaktadır. Küfler, gıdaların protein, yağ ve karbonhidratlarını parçalayarak besin değerini azaltmakta; gıdalarda renk, koku ve tat bozukluğuyla birlikte ağırlık kaybına da neden olmaktadır [3, 4].

Küf kontaminasyonu, insan sağlığı, gıda güvenliği ve ekonomik açıdan önem teşkil eder. Dünyada tarım ürünlerinin %5-10'u insan ve hayvanlar tarafından tüketilmeden, küfler tarafından bozulmaya uğramaktadır. Küf gelişimi tarımsal ürünlerin gıda kalitesini düşürmekle birlikte, mikotoksin üretimi insan sağlığı açısından ciddi sorunları da beraberinde getirmektedir [6].

Ürünün üzerinde küf üremesi mutlaka toksin üreteceği anlamına gelmemekle beraber, ürün üzerinde küfe rastlanılmaması da o üründe daha önceden mikotoksin oluşmadığı anlamına gelmemektedir. Çünkü, ilk durumda küflerin tümü mikotoksin üretmemekte ve mikotoksinler, gıda ve yem maddesine daha önceden bulaşmış küfler tarafından ancak uygun fiziksel ve çevresel koşullar bulunduğunda üretilebilmektedir. İkinci durumda ise, oluşan mikotoksin ürün üzerinde küf öldükten veya uzaklaştırıldıktan sonra bile uzun süre kalabilmektedir [3].

Mikotoksinler; antep fıstığı, siyah zeytin, fındık, kuru incir ve kırmızı pul biber gibi önemli ihraç ürünlerinin yanında mısır ve buğday gibi sık kullanılan tahıl ürünlerine de bulaşabilmektedir. Belirli bir küf türü farklı mikotoksinler oluşturabilmekte ve bir çeşit mikotoksin farklı küfler tarafından üretilebilmektedir. Önemli mikotoksinlerin çoğunu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* cinsleri oluşturmaktadır [7].

Mikotoksinler, 1960'lı yıllarda aflatoksinlerin bulunmasıyla gündeme gelmiştir. Gıda ve yemlere çok çeşitli küfler bulaşabilmekle birlikte, incelenen küf türlerinden büyük çoğunluğunun mikotoksin oluşturmadığı anlaşılmıştır [7]. Günümüzde 350 küf türü tarafından oluşturulduğu bilinen yaklaşık 300 veya daha fazla kimyasal bileşiğin mikotoksin olduğu düşünülmektedir ve bunlardan 20 kadarının insan ve hayvanlarda zehirlenmeye neden olduğu bilinmektedir [5].

Özellikle toksisiteleri ve yaygın oluşumlarından dolayı dikkatli bir biçimde kontrol edilmesi gereken 10'dan fazla mikotoksin çeşidi vardır [5]. İnsanlar için en çok risk oluşturan mikotoksinlerin başında aflatoksinler gelmektedir. Bunu sırayla okratoksinler, zearalenonlar, patulin, trikotesenler ve ergot toksinleri takip etmektedir [3].

Küflerin gıda ürünlerine bulaşıp mikotoksin üretmesi, çevre şartlarına (sıcaklık, nem vb.) bağlı olarak; yetiştirme, hasat, üretim, depolama ve nakliye aşamalarında gerçekleşebilmektedir. Küfler, dokuları zarar görmüş tohumlarda çoğalabilmektedir.

Bununla birlikte bazı çevresel stres faktörleri (kuraklık vb.), bitkilerde küf kontaminasyonunu teşvik edebilmektedir [7].

2.2. Mikotoksinlerin Tarihçesi

Mikotoksinlerin her zaman gıdalarda mevcut olduğu tahmin edilmektedir. Mikotoksin tüketiminin zararlı etkileri hakkında ilk veriler 5000 yıl önce Çin'de kaydedilmiştir [6]. Bitkilerin fungal aksiyonla kontaminasyonu iki bin yılı aşkın süredir görülmektedir [8]. Şapkalı mantarların yenilmesiyle toksinlerin neden olduğu zehirlenmeler yıllardır bilinmektedir [3]. Bugün, geçmiş bin yılda Avrupa ve diğer kıtalarda mikotoksinlerin çok sayıda zehirlenme, yüz binlerce hayvan ve insan ölümüne neden olduğu bilinmektedir [6].

M.Ö. 600 yılından kalma Asur tabletlerinde, çavdar mahmuzu adıyla geçen *Claviceps purpurea* hifleri bulaşmış tahılların zararlarından bahsedilmiştir. M.Ö. 400 yılından kalma kayıtlardan da Sparta'da ilk toplu zehirlenmeye ilişkin bulgulardan söz edilmektedir [7].

Tahıllarda üreyen *Claviceps purpurea*'nın salgıladığı ergot alkaloidinden kaynaklanan ve "Ergotizm" adı verilen mikotoksikozis (mikotoksin alımıyla zehirlenme), bilinen ilk mikotoksikozistir [9]. Ergotizm, orta çağda Avrupa'da uzun yıllar boyunca görülmüştür. Avrupa'da, *Claviceps purpurea*'nın ürettiği çavdarların unundan yapılan ekmeği yiyen insanlar bu hastalığa yakalanmış ve binlercesi hayatını kaybetmiştir. Hastalığın etkileri (yüksek ateş, el, kol, ayak, bacaklar ile el ve ayak parmaklarında nekroz ve gangrenler) görülmekte fakat nedeni bilinmemektedir. Bu hastalık, 9. ve 18. yüzyıllar arasında sık görülmekle birlikte, 1925 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde, 1926-1927 yıllarında İngiltere'de, 1928 yılında Rusya'da ve en son olarak da 1978 yılında Etiyopya'da görülmüştür [4].

Avrupa'da 1928 yılında Almanya ve İskandinav ülkelerinde, daha sonra bazı balkan ülkelerinde; Afrika'da, Tunus ve tropikal bölgelerde ağır böbrek rahatsızlığı ile seyreden bir hastalık görülmüştür. Bu hastalık; Balkan Endemik Nefropatisi (BEN) olarak adlandırılmıştır. Bu hastalığın etken maddesi olan ve bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilen okratoksin ise çok sonra tanımlanmıştır [4].

Bunun yanı sıra, Alimentary Toxic Aleukia (Alimenter Toksik Alöki) "ATA" nedeniyle, 1930'larda on binlerce atın, ikinci dünya savaşı sırasında (1942-1948 yılları

arasında) Rusya'nın Orenburg bölgesinde yaklaşık yüz bin insanın (o bölgede yaşayan nüfusun yaklaşık %10'u) öldüğü bildirilmiştir. Günümüzde bu hastalığa *Fusarium graminearum* tarafından sentezlenen T-2 toksininin sebep olduğu bilinmektedir [7]. Bütün bu vakalar o yıllarda "önemsiz hastalıklar" olarak değerlendirilmiştir. 1960'larda ise İngiltere'de yüz binden fazla hindinin kontamine yer fıstığından oluşan yemleri yemesiyle öldüğü bildirilmiş, bu son olay dikkatleri çekmiş ve hastalık üzerinde araştırmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu hastalığa hindi-X hastalığı (Turkey-X-disease) adı verilmiş daha sonra hastalık üzerinde yapılan araştırmalar sonucu bu toksinin tahıl üzerinde üreyebilen *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* mikroorganizmaları tarafından oluşturulan bir metabolit olduğu ortaya konulmuştur. Daha sonraları bu toksine kendisini oluşturan fungusun adından dolayı "Aflatoksin" adı verilmiştir, bu aynı zamanda bulunan ilk mikotoksin olmuştur [4].

Kenya'da 2004 yılı Nisan ve Haziran ayları arasında, insanların aflatoksinle kontamine olmuş mısır ve mısır ürünlerini yemeleri sonucu, 125'i ölümlle sonuçlanan toplam 317 zehirlenme vakası olmuştur [7]. Bunu da 2005 yılında başka bir salgın izlemiştir. Akut aflatoksikozisin 2004 ve 2005 yıllarında Kenya'da üst üste meydana gelen salgınları 150'den fazla ölüme neden olmuştur [10].

Aflatoksinin bulunduğu tarihten bu yana mikotoksinler, üzerinde çok sayıda araştırma yapılan bir alan haline gelmiştir. Bugün, mikotoksinlerin zararlı etkilerini minimize etme adına, gıda ve yemlerde tolere edilebilir en yüksek mikotoksin miktarları yasal düzenlemelerle belirlenmektedir. Belirlenen bu değerler ülkeden ülkeye farklılık gösterse de ticari alanda belli normlar yakalanmaya çalışılmaktadır [11].

2.3. Mikotoksinlerin Toksisitesi

Gelişmiş ülkelerde gıda güvenliği konusundaki iyileştirmeler akut insan mikotoksikozunu ortadan kaldırmıştır, ama bu tür salgınlar; aflatoksin, fumonisin, deoksinivalenol, okratoksin ve zearalenon'un bulunduğu gıdaların ölüm ve akut hastalıklarda payı olduğu bildirilen, gelişmekte olan ülkelerin kırsal topluluklarında halen meydana gelmektedir [8].

Uygun şartlarda küfler tarafından sentezlenen mikotoksinler akut/subakut, subkronik ve kronik bozukluklara neden olur. Mikotoksinler, insanlarda ve hayvanlarda; kanserojenik, akut toksik, mutajenik, teratojenik, nörotoksik, genotoksik, immunotoksik etkiler gösterir

[7]. Mikotoksinler aslında tüm organları ve tüm türleri etkileyebilir ancak her mikotoksin grubu kendi sendromlarını yüksek oranda gösterebildikleri sayılı toksikolojik hedeflere sahiptir [9].

Mikotoksinler, insanlarda karaciğer kanserine ve gen yapısında değişikliklere yol açmakta, vücudun hormonal dengesini bozmakta, kısırılığa ve sakat doğumlara neden olmakta, kemikleri zayıflatmakta, gıda emilimini azaltmakta ve bağışıklık sistemini zayıflatarak vücudu çeşitli hastalıklara karşı savunmasız hale getirmektedir [3].

Mikotoksinler hayvanlarda ise; mide ve bağırsak sistemlerini tahrip etmekte, büyümede geriliğe yol açmakta, sığırlarda süt veriminde düşüşe neden olmakta, erkeklerde spermatozoidlerin ölümü nedeniyle üreme gücünün düşmesine ve gebe hayvanlarda yavru kayıplarına neden olmaktadır. Kanatlılarda ise, yumurta üretim kalitesini ve sayısını azaltmakla beraber toplu ölümlere neden olmaktadır [3].

Düşük dozların uzun süre alınmaları sonucunda kronik hastalıklar görülür. Bu hastalıklar; özellikle karaciğer ve böbrekte dejenerasyonlar, bağışıklık sisteminde aksaklıklar, kusurlu ve eksik organ oluşumları, deri nekrozları, üremede azalma ve kilo kaybı gibi olumsuz etkilere yol açar. Akut toksik etki; bireyin duyarlılığına, genetik ve fizyolojik özelliklerine ve çevresel faktörlere göre değişebilir [7].

Mikotoksinlerin neden olduğu hastalıkların teşhisi semptomların yetersiz olmasından dolayı zor olmaktadır. Bu semptomlar patojen mikroorganizmaların neden olduğu diğer hastalıklarla karıştırılabilmektedir. Bu nedenle mikotoksinlerin neden olduğu hastalıklar, çoğu zaman nedeni bilinmeyen hastalıklar olarak değerlendirilmektedir. Öte yandan, mikotoksinlerin çoğunun insanlarda tedavisi olanaksız hastalıklar yapabileceği görüşü epidemiyolojik bulgulara göre kesinlik kazanmıştır ve bu konuda yapılan çalışmalar hızlanmıştır [3].

Mikotoksinin toksisitesi; molekül özelliği, maruz kalma sıklığı ve absorblanma miktarı gibi faktörlere bağlıdır. Mikotoksin yüksek dozda alındığında, akut toksik etki meydana gelmekte ve kısa sürede ölüm görülebilmektedir [7]. Mikotoksin kaynaklı hastalıklar bulaşıcı değildir; antibiyotik veya diğer ilaçlar ile tedavi edilemez. Mikotoksinlerin çalışma mekanizması, çeşitli doku, organ ve organ sistemlerinde fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olan karmaşık bir mekanizmadır. İnsan ve

hayvan sağlığı üzerine zararlı etkileri sıklıkla kümülatiftir; hedef dokuya giriş ve birikim uzun bir süreçtir. Kimyasal yapılarındaki bir dizi farklılıklar göz önüne alındığında mikotoksinler; hepatotoksik, nefrotoksik, nörotoksik, immunsupresif, teratojenik, karsinojenik (kanserojenik) ve dermatotoksik etkiler göstermektedir [6].

a) **Hepatotoksik etki:** Vücuttaki önemli görevinden dolayı karaciğer, vücuda giren toksinlere çok fazla maruz kalmaktadır. Karaciğeri olumsuz etkileyen mikotoksinler arasında, en başta aflatoksin ve sporidesmin bulunmaktadır. Bu olumsuz etkilerden en fazla görülenleri de; sarılık, iştahsızlık, depresyon, ishal, karaciğerde solgunluk, yağ dejenerasyonu ve kanamadır [12].

b) **Nefrotoksik etki:** Mikotoksinlerin bir kısmı vücuttan idrarla atıldığından, böbreklerden geçmektedir. Mikotoksinler, böbrekten geçiş esnasında veya böbreğe yerleşerek bazı olumsuz etkilere yol açmaktadır. Böbreklerde şişme, glomerular bozukluk ve proksimal tüplerde dejenerasyon bu olumsuz etkilerden bazılarıdır. Özellikle, sitrinin ve okratoksin A böbreğe zarar veren mikotoksinlerin başında gelmektedir [12].

c) **Nörotoksik etki:** Siniri etkileyen az sayıda mikotoksin çeşidi tanımlanmıştır. Penitrem, sitreovidin ve ergot alkaloidleri bu mikotoksin çeşitlerine örnek olarak verilebilir. Penitremin koyunlarda aşırı duyarlılık, titreme ve havaleye yol açtığı, sitreoviridinin deneme hayvanlarında merkezi sinir sistemi arızalarına neden olduğu, ergot alkaloidlerinin de sinir sistemi ve düz kaslar üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir [12].

d) **İmmunosupresif etki:** Mikotoksinlerin sebep olduğu immunsupresyon, B ve T lenfosit aktivitesinin baskılanması, düzenleyici protein aktivitesinin azalması veya makrofaj efektör hücre fonksiyonunun bozulması şeklinde ortaya çıkabilir. Aflatoksin B1, özellikle azar azar alındığı durumlarda B ve T lenfosit hücre aktivitesinde baskılanma meydana getirmektedir. Mikotoksikozden kaynaklanan immunsupresif etkiler kabaca bilinmesine karşın hücresel ve moleküler mekanizmalar kesin olarak anlaşılamamıştır [12].

e) **Teratojenik etki:** *Helminthosporium dematiodeum*, *Phoma exigua* ve *Aspergillus clavatus* tarafından sentezlenen sitokalsin B tavuk embriyolarında nöral tüpte kapanma meydana getirmektedir. Ayrıca, aflatoksin B1 ve okratoksin A'nın da böyle teratojenik etkisi olduğu bildirilmiştir [12].

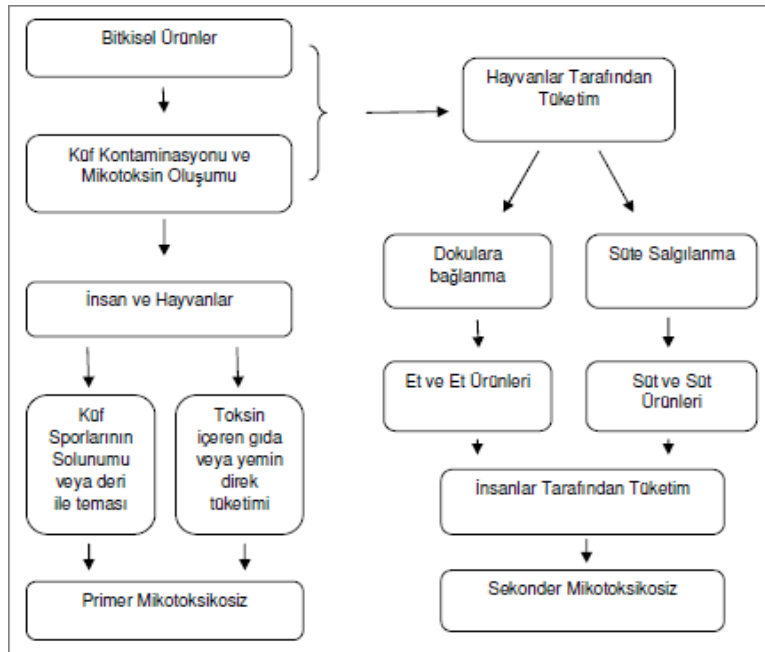
f) Karsinojenik etki: Mikotoksinlerin en tehlikeli ve önemli etkilerinden birisi de kanserojen (karsinojen) etkiye sahip olmalarıdır. Bunlar, genellikle, karaciğer kanserinin oluşmasına neden olurlar [12].

g) Dermatotoksik etki: Dermatoksik mikotoksinler; sindirim sisteminden emildikten sonra dolaylı olarak, deriye temas edince de direkt olarak etkili olmaktadır. Verrukarrin ve furankumarin toksinleri bu etkileri oluşturan mikotoksinlere örnek olarak gösterilebilir [12].

2.4. Mikotoksinlerin İnsanlara Geçiş Yolları

Mikotoksin içeren ürünlerin, insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilmesi “mikotoksikozis” olarak adlandırılan toksik sendromla sonuçlanmaktadır [7]. Mikotoksinlerin insanlara geçişi iki şekilde gerçekleşir: Birincisi, insanların doğrudan mikotoksinli gıda maddelerini tüketerek mikotoksinleri direkt bünyelerine almasıdır ki buna primer (doğrudan) mikotoksikozis denir. İkincisi ise, mikotoksin bulaşmış yemlerle beslenen hayvanların et, süt ve yumurta gibi ürünlerine bu toksinlerin geçip, insanların bu ürünleri tüketmeleriyle mikotoksinleri bünyelerine dolaylı olarak almasıdır ki buna sekonder (dolaylı) mikotoksikozis adı verilir [4].

Ayrıca küf sporlarının ve parçacıklarının, özellikle ürünün işlenmesi sırasında toz şeklinde havaya karışması sonucu, mikotoksinlerin doğrudan solunumla akciğerlere ve deriye temasla vücuda alınması söz konusu olmaktadır [4].



Şekil.2.1: Mikotoksinlerin insanlara geçiş yolu [4]

Mikotoksinli yemlerin hayvan sağlığı ve üretkenliği üzerindeki olumsuz etkilerinin bildirildiği çok sayıda çalışma mevcuttur [7]. Mikotoksinler hayvanlarda, alınan toksinin dozuna bağlı olarak, verim düşüklüğünden başlayıp ölüme kadar giden mikotoksikozis olaylarına yol açmakta ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır [4].

Çiftlik hayvanlarına mikotoksinlerle kontamine yemler verildiğinde, hayvanlar bu toksinleri metabolize ederek, büyük bir kısmını atmaktadır. Ancak, mikotoksinlerin metabolize formlarına kanda, sütte, bazı organlarda ve hatta yağlı dokularda rastlanabilmektedir. Aflatoksin içeren yemlerin süt ineklerine yedirilmesi sonucu aflatoksin B1 ve aflatoksin B2, aflatoksin M1 ve aflatoksin M2'ye dönüşerek kalıntı halinde sütte ortaya çıkmaktadır [13].

Bütün bu faktörlerden anlaşılmaktadır ki; dolaylı ve doğrudan yollardan insan vücuduna giren mikotoksinler, yol açabilecekleri problemlerin boyutu nedeniyle halk sağlığı için büyük önem arz etmektedir [7].

2.5. Mikotoksin Kontaminasyonunu Etkileyen Faktörler

Küflenme olayı, küf sporları aracılığıyla meydana gelir. Sporlar çevresel faktörlerle (hava ve su akımlarıyla) kolaylıkla yayılarak kontaminasyona neden olurlar. Gelişmelerine uygun olan şartlara kavuştuklarında, çoğalıp gıda ve yemleri küflendirirler. Uygun şartlara kavuşamadıklarında da yıllarca spor formunda kalabilirler. Yani küfler her zaman ve her ortamda mikotoksin sentezleyemeyebilir. Mikotoksin sentezi için her küfe özel koşulların oluşması gerekir [7].

Her ürünün yapısına ve bulunduğu ortam koşullarına göre; ürün içerisinde gelişen küf türleri, bu küflerin sentezlediği mikotoksin çeşitleri ve miktarları değişmektedir [7]. Mikotoksijenik potansiyel de; mantar türleri ve suşlarına, matriks (ortam) bileşenlerine ve çevresel faktörlere (sıcaklık ve nem) bağlıdır [14].

Küf gelişimini ve mikotoksin sentezini etkileyen başlıca faktörler; rutubet (nem), sıcaklık, pH, oksijen ve karbondioksit düzeyi, gıda maddesinin yapısı, süre ve diğer faktörler olarak sıralanabilir [4].

2.5.1. Rutubetin Etkisi

Gıda ve yemlerde küflerin gelişmesinde ortam ve içinde bulunduğu ürünün rutubetinin önemli etkisi vardır. Küflerin üremesi ve toksin üretmesi; ortamın veya gıdanın

rutubet oranı arttıkça kolaylaşır, aksi durumda zorlaşır. Dolayısıyla üretim ortamının veya gıdaların rutubet oranları ayarlanarak küflenme ve toksin oluşumunun önüne geçilebilir [7].

Küflerin gelişimi ve bu küflerin toksin sentezleyebilmesi için gereken rutubet oranları birbirinden farklıdır. Küflerin üreyebilmesi için gereken rutubet oranı, toksin salgılayabilmesi için gereken rutubet oranından daha düşüktür [4].

Gıdanın bulunduğu ortamın rutubeti ile gıdanın su aktivitesi değeri arasında doğru orantılı bir ilişki söz konusudur. Ortamın rutubeti arttıkça gıdanın da içerdiği rutubet ve su aktivitesi değeri artar. Küfler, genel olarak ortam rutubetinin %50-60'dan fazla, gıdanın rutubetinin %9'dan fazla, su aktivitesi değerinin ise 0.70'in üzerinde olduğu şartlarda kolay ürer ve mikotoksin sentezleyebilirler [4].

2.5.2. Sıcaklığın Etkisi

Küflerin üremesi, mikotoksin üretmesi ve üretilen mikotoksinin türü üzerine sıcaklığın etkisi büyüktür. Küfler geniş sıcaklık aralığında üreyebilirken her küf türünün optimum üreme sıcaklığı farklıdır. Genel olarak küfler 10-40 °C'ler arasında üreyebilirken, küflerin optimum üreme sıcaklıklarının 20-30 °C'ler arasında olduğu söylenebilir. Küflerin maksimum mikotoksin sentezleme sıcaklığı ise, o küf türünün optimum üreme sıcaklığıyla aynı veya bu sıcaklığın biraz altında olmaktadır [7].

Gıda ve yemlerde küf gelişiminin engellenmesi için depo sıcaklığının 10-15 °C'larda ve ürün neminin %13,5'in altındaki seviyelerde olması tavsiye edilmektedir. Ürün rutubetinin biraz daha yüksek olması durumunda depo sıcaklığının daha aşağıya çekilmesi gerekir [7].

2.5.3. pH'ın Etkisi

Küflerin gelişip üreyebilmeleri için gerekli pH 1,5-11 değer aralığında olmasına karşın optimum üremeleri pH 5-6 arasında olur ve asidik ortamda daha iyi üredikleri gözlemlenmiştir [4].

2.5.4. Oksijen ve Karbondioksitin Etkisi

Küfler gelişip üreyerek toksin sentezi yapmaları için oksijene ihtiyaç duyarlar bundan dolayı aerobik organizmalardır. Ortamdaki oksijen miktarının azaltılması veya karbondioksit miktarının artırılması ile küf gelişiminin %45'lerden %1'lere kadar düşürebildiği gözlemlenmiştir. Örneğin *Aspergillus flavus*'un bulunduğu ortamın karbondioksit yoğunluğu %10'lara çıkartılarak üremesi ve aflatoksin sentezlenmesi

engellenmiştir. Genel olarak bu yoğunluk %20'lere çıkarıldığında bundan bütün küflerin olumsuz etkilendiği görülmüştür [7]. Küflerin bu tepkileri bize daha sağlıklı bir depolama için depo koşullarının nasıl olması gerektiği konusunda bilgi vermektedir [4]. Küfler üzerindeki bu etkileri göz önüne alındığında; oksijen ve karbondioksitin, gıda ve yemlerin depolanmalarında büyük önem arz ettiği söylenebilmektedir [7].

2.5.5. Gıda Maddesinin Yapısının Etkisi

Her canlı türü gibi küfler de gelişip üreyebilmeleri için metabolik ihtiyaçlarını karşılayacak besin öğelerine ihtiyaç duyarlar [4]. Bu yüzden; gıda ürünlerinin yapısı ve bileşimi, küflerin üremesi ve mikotoksin üretimini etkileyen faktörlerdendir [7].

Küfler glikozu, daha düşük molekül yapısındaki monosakkaritleri ve suda çözünebilen organik maddeleri besin kaynağı olarak kullanırken, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K), demir (Fe), çinko (Zn) ve fosfor (P) gibi elementler ile azot kaynağı olarak pepton, polipeptit ve aminoasitler gibi organik maddelere, üreyip toksin sentezlemek için, ihtiyaç duyarlar [4].

Karbonhidrat ve yağ içerikli gıda ve yemler küf gelişimi için en uygun ürünlerdir. Özellikle mısır, buğday, arpa, yulaf, pirinç gibi ürünler ile yer fıstığı, fındık, ayçiçeği, soya fasulyesi, pamuk tohumu ve baharatlar küflerin sıklıkla geliştiği ürünlerdir. Bu ürünler incelendiğinde genellikle toksin varlığına rastlanmaktadır [7].

2.5.6. Sürenin Etkisi

Küfler bulundukları gıda maddesi veya yemde üreyip toksin sentezleyebilmek için zamana ihtiyaç duyarlar [4]. Depolama süresinin uzaması küf gelişiminin ve bu küflerin toksin sentezinin artmasını sağlamaktadır. Küf sporları kontamine oldukları bir depo ürününde gelişmeleri için gerekli sıcaklık ve rutubet gibi önemli iki faktörün uygun olması halinde 2-4 gün içinde sağlık için tehlikeli düzeylerde mikotoksin sentezi gerçekleştirebilirler [7].

2.5.7. Diğer Faktörlerin Etkileri

Gıda ve besin maddelerinde meydana gelen mekanik hasarlar, ortamın ışık durumu (yetersiz ışık almaları), ortamda birden fazla küf türünün bulunması (rekabet oluşturmaları), hasat zamanı (uygun olmayan hasat zamanı), iklim şartları (don olaylarının yaşanması ve yağışın fazla olmasına bağlı olarak ortam rutubetinin artması) ve havalandırma koşulları

(yetersiz havalandırma) küflerin gelişip toksin sentezleyebilmeleri için gereken şartlardan bazıları olarak sayılabilir [4, 7].

Tarlada hasat öncesi tahıllar ve bitkisel ürünler, dışarıdan kabuk veya tohum kabuğu ile çevrili olmaları, dış dokularında eter yapısındaki yağlar, antibiyotik etkili maddeler, fitositlerin (bitki zehiri) bulunması gibi nedenlerle küflenmeye karşı korumada etkili olan faktörlerdir [4].

2.6. Mikotoksinlerin Ekonomiye Olan Olumsuz Etkileri

Küflerin olumsuz etkileri mikotoksin oluşturmakla sınırlı değildir. Bulaştıkları gıda maddelerini bozarak kullanılmaz hale getirdikleri gibi piyasa değerini de düşürerek ciddi ekonomik kayıplara yol açarlar [12]. FAO'nun (Food and Agriculture Organisation, Gıda ve Tarım Örgütü) yayınlamış olduğu bir rapora göre dünya genelinde tarımsal ürünlerin yaklaşık %25'inin mikotoksinlerle kontamine olduğu tahmin edilmektedir. Kontamine ürünlerin ise %5-10'u insan ve hayvanların tüketemeyeceği şekilde küfler tarafından bozulmuştur [15].

Mikotoksinler, hayvanlarda alınan toksinin dozuna bağlı olarak, verim düşüklüğünden, ölüme kadar giden bir tablo izlemekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır [3].

Mikotoksinler 1970'lerde; insan sağlığına yönelik olumsuz etkiler, gıdanın gıda olarak kullanılabilirliğini kaybetmesi nedeniyle oluşan ekonomik kayıplar, hayvansal üretimde düşüş ve uluslararası ticari öneme sahip ürünlerde oluşan kayıplar nedeniyle dünya çapında dikkate alınmaya başlanmıştır [9].

Mikotoksin ihtiva eden bazı gıdaları ihraç etmek mümkün olmamakta ve bu durumdaki gıdalar çoğu kez imha edilmekte veya denetimi yetersiz olan ülkelerin iç pazarında tüketime sunulmaktadır. Bu durum, ciddi ekonomik kayıplara veya söz konusu ülkelerde sağlık sorunlarının artışına neden olmaktadır. Yemlerde bulunan mikotoksinler de hayvanlarda verim düşüklüğü, hastalık ve ölüm gibi olumsuz etkilere bağlı ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Ayrıca, bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin tüketilmesi de insanlarda çeşitli sağlık problemlerine yol açabilmektedir [7].

Mikotoksinler birçok ülkede tarım işletmeciliğini etkilemekte, ihracatı engellemekte, hayvancılık ve tarım üretimini azaltmakta ve bazı ülkelerde insan sağlığını da etkilemektedir [16].

Dünya genelinde ihracatı yapılan gıda maddelerinin mikotoksin nedeni ile etkilenen kısmının parasal karşılığının 2002 verilerine göre 100 milyar dolar civarında olduğu bildirilmektedir [4].

Gıda ve ingradyentlerinde mikotoksin oluşumu sadece gelişmekte olan ülkelerin sorunu olmayıp [16], ABD ve Kanada gibi gelişmiş ülkelerde yalnızca yemlerde ve çiftlik hayvanlarında mikotoksinlerin neden olduğu yıllık kaybın 5 milyar dolar düzeyinde olduğu tahmin edilmektedir [7].

Ülkemiz de mikotoksinlerin yol açtığı ekonomik sorunlardan olumsuz etkilenmiştir. 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen fındık içlerinden on tonluk bir miktarı aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri gönderilmiştir. 1972 ve 1974 yıllarında ABD'ye ihraç edilen Antep Fıstıkları yine aflatoksin içermeleri nedeniyle geri gönderilmiştir. Kuru incir ihracatımızda, 1972 yılında Danimarka ile 1973 ve 1974 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri ile sorunlar yaşanmış, 1986, 1987 ve 1988 yıllarına gelindiğinde ise tüm ihracatın alıcılar tarafından durdurulması ile karşılaşmıştır [7].

Türk geleneksel tarımsal ürün ihracı bütün bu olumsuzluklardan önemli ölçüde etkilenmiş olup, bu sorun halen devam etmektedir. Bu nedenle yurt içi tüketim ve ihraç gıda ürünlerinde bazı mikotoksinlerin kontrolü yaygın olarak yapılmaktadır [9].

2.7. Mikotoksinlere Yönelik Yasal Düzenlemeler

Son yıllarda, mikotoksinlerin insanlar ve hayvanlar üzerinde ciddi etkilere sahip olduğu bilgisi, birçok ülkede gıda ve yemlerdeki mikotoksinlerin maksimum tolere edilebilir seviyelerinin (MTL) belirlenmesine yol açmıştır. Burada amaç, hem insan sağlığını korumak, hem de üreticiler ve tüccarların ekonomik çıkarlarını kollamaktır [6].

Mikotoksinler sebep oldukları sağlık problemleri bakımından önemli olduğundan, her ülkenin belirlediği yasal sınırlamalarla kontrol altında tutulmaktadır [3].

Avrupa Birliği'ne üye ülkeler arasında belirlenen limitler de ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Belirlenen limitlere göre sınır değeri en düşük olan ülkeler arasında Almanya, Avusturya ve İsviçre gelmektedir [3].

Günümüzde AB üye ülkeleri arasında, gıda ve yem ürünlerinde insan sağlığına yönelik herhangi bir risk tespit edildiğinde, ilgili ürünlerin; alıkonulması, geri toplatılması, el konulması ve reddedilmesi gibi önlemlerin alınarak, üye ülkelerin yetkili otoriterleri

arasında bilgi alışverişini sağlayan hızlı ve etkili bir alarm sistemi RASSF (Rapid Alert System for Food and Feed) kurulmuştur [4].

2.8. Mikotoksin Oluşumuna Karşı Alınması Gereken Önlemler

Mikotoksin oluşumu bazı tarımsal ürünlerde bitkiye herhangi bir zarar vermeden tarlada başlamakta, sistemik enfeksiyon şeklinde devam etmektedir. Gıdalardaki mikotoksin oluşumunu önleyebilmek için tarladan, ürünün tüketim aşamasına kadarki her basamakta gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir [3].

Bu önlemlerden bazıları, mikotoksin oluşumuna dirençli bitki yetiştirilmesi, uygun tarımsal tekniklerin kullanılması, ürünlerde hasat sonrası küf gelişimini önlemek için uygun sıcaklık ve nem koşullarında depolama, mikotoksin içermeyen yemlerin hayvancılık sektöründe tercih edilmeleri olarak bilinmektedir [3].

2.8.1. Hasat Öncesi Stratejiler

Ürün rotasyonu, toprak işleme, ekim tarihi, sulama ve gübreleme yönetimi gibi ekime yönelik uygulamalar, enfeksiyon ve dolayısıyla mikotoksin birikimi üzerinde sınırlı etkiye sahipken, çevre koşulları; bitkileri, mantarları (küfleri) ve mikotoksinleri büyük ölçüde etkilemektedir. Mantar istilasının önlenmesi için bitki nemi ve kuraklık stresinin azaltılması gerekmektedir. İlgili stratejilerden bazıları uygun sulama, minerale besleme ve gübrelemedir. Diğer iyi tarım uygulamaları; uygun mevsim ve şartlarda ürün rotasyonu, ekimi ve hasadıdır (her bitkinin optimum büyümesi için aralıklı yapı, aşırı kuraklık dönemlerini önleme) ve arazinin derinden sürek edilmesidir. Günümüzde, yeni ve gelecek vaat eden hasat öncesi biyoteknoloji stratejileri araştırılmaktadır. Bu yeni yaklaşımlar, mantar enfeksiyonu sıklığını azaltan, toksijenik mantarların gelişimini kısıtlayan, toksin birikimini önleyen ve böceklerle dirençli yeni bitkilerin tasarımını ve üretimini içinde barındırmaktadır [8].

2.8.2. Hasat Esnasındaki Stratejiler

Tarım ekipmanları her kullanımdan önce etkili bir biçimde temizlenmiş olmalıdır. Olgun meyveler kontaminasyondan arı çuval ve kaplarda muhafaza edilmelidir. Olgunlaşmış, hasarlı veya toprak üzerine düşmüş olanlar, kapalı alanda olsalar bile yüksek düzeyde mikotoksin içeriyormuş gibi düşünülerek elimine edilmelidir [8].

2.8.3. Hasat Sonrası Stratejileri

Hasat sonrası fazda, asıl mesele mikotoksin kontaminasyonunu önlemektir. Küf kaynaklı mikotoksinleri hasat sonrası engelleme; bu mikotoksinleri fiziksel, kimyasal veya mikrobiyolojik uygulamalarla etkisiz hale getirme, yıkma, modifiye etme veya absorbe etme yoluyla işleme yollarını içermektedir. İdeal metotlar kullanımı kolay, ekonomik olmalı ve toksik yan ürünler üretmemeli veya gıdanın besleyiciliği gibi kalite parametrelerini değiştirmemelidir [8].

2.8.3.1. Fiziksel Yöntemler

-20°C’ de dondurma, UV ve gamma uygulamaları küf sporlarının üretimini azaltabilmektedir. Bununla birlikte sadece gama radyasyonu mikotoksin yıkımını sağlayabilir, ama gama ışınları 60 kGy’de (kilogray) bile karabiberdeki okratoksin ve aflatoksinleri tamamen yok etmede etkili değildir. Bununla birlikte termal uygulamalar okratoksin A’yı (OTA) tamamen elimine etmemektedir. Diğer bir önerilen metot ozonizasyondur. Elektrokimyasal tekniklerin gelişmesi; tahıl, fındık veya sebzelerdeki OTA’nın ölçülemeyecek seviyeye kadar düşürülmesine imkan tanımaktadır [8].

2.8.3.2. Kimyasal Yöntemler

Yemlerde bulunan mikotoksinlerin kimyasal yollarla etkisiz hale getirilmesinde; formaldehit, sodyum bisüfit, hidroklorik asit, klorin gazı, hidrojen peroksit, amonyak, amonyum hidroksit, monomenlenamin ve kalsiyum hidroksit gibi kimyasallar kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle etkili sonuçlar alınabilse de uygulama zorluğu ve kimyasal madde kalıntısı gibi problemlerle karşılaşılabilir. Özellikle gıdalarda ve yemlerde oluşan kimyasal madde kalıntılarının insan ve hayvan sağlığına yönelik tehlike arz etmesi, bu yöntemler uygulanırken dikkate alınması gereken bir noktadır [17].

2.8.3.2.1. Amonyak Uygulanması

Depolama ve kurutma şartlarının hassasiyetle uygulanması durumunda; aflatoksin içeren ürünlere amonyaklama işlemi yapıldığında, aflatoksin düzeyinde iz miktarlara kadar azalma sağlandığı bilinmektedir. Amonyaklama işlemi ABD, Senegal, Fransa ve İngiltere gibi ülkelerde aflatoksinle kontamine yemlerin detoksifikasyonunda kabul gören bir uygulamadır. Uygulanması pahalı olan bu yöntemde bazı istenmeyen sonuçlar da doğabilmektedir. Bunlara örnek olarak mısırın rengini kaybetmesi, depolanacak üründe atmosferik nemi çekerek rutubet oranını artırması ve üründe keskin bir kokuya neden olması

verilebilir. Doğabilecek bu yan etkiler göz önünde bulundurulduğunda, insan tüketimine sunulan gıdaların besin değerinin, koku, tat, renk ve doku özelliklerinin tüketici tarafından kabul edilebilir olması gerektiğinden amonyakla muamele işlemi daha çok hayvan yemi olarak kullanılacak ürünlere uygulanmaktadır [17].

Amonyaklama işleminin fumonisin üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Norred ve arkadaşları, doğal olarak kontamine olmuş mısırlarda 4 gün ve 50 °C’de atmosferik basınç altında fumonisin B1 düzeyinde %30-45 azalma yaratmayı başarmışlar fakat bu uygulamanın ratlarda toksisitenin azalmasında etkili olmadığını bildirmişlerdir [17].

Hayvan besleme ile ilgili yapılan çalışmalarda amonyaklama işlemi yapılmış yemlerin yavru hayvanlara verilmesiyle aflatoksikoz bulgularında azalma olduğu görülmüştür. Aynı sonuçlar, hindi, rat ve farelerde de gözlenirken, inekler üzerinde yapılan çalışmalarda aflatoksin M1 şeklinde sütte toksin tespit edilmiştir [17].

2.8.3.2.2. Ozon Uygulanması (Ozonizasyon)

Üç atomlu oksijen (O₃) olarak bilinen ozon atık suların dezenfeksiyonunda ve gıda endüstrisinde bakteri, virüs ve protozoon gibi mikroorganizmaların inaktivasyonunda antimikrobiyal ajan olarak geniş ölçüde kullanılması yanında güçlü oksidize edici özelliğinden dolayı mantar gelişimini kontrol altına almada ve mikotoksin konsantrasyonunu azaltmada da etkili bir şekilde kullanılabilir. Ozon uygulamasını cazip kılan özelliklerden biri yarılanma ömrünün kısa olması ve 20-50 dakika gibi kısa bir süre içerisinde hiçbir kalıntı bırakmadan tekrar moleküler oksijene dönüşmesidir [17].

2.8.3.2.3. Adsorbanların Kullanılması

Bağlayıcı özellikleri sayesinde mikotoksinlerle bileşikler oluşturarak bağırsaklardan emilmeden dışarıya atılmasını sağlayan adsorbanlara olan ilgi son yıllarda giderek artmıştır. Adsorbanların mikotoksinleri bağlaması sırasında oluşan reaksiyon kimyasal özellikte olup bu etkinlikte total ağırlık ve yük dağılımı, porların boyutları ve kullanılabilir yüzeyi gibi adsorbanın fiziksel özellikleri en önemli rolü oynamaktadır. Bunlar dışında adsorbe olan moleküllerin polarite, çözünürlük, büyüklük, şekil (iyonize bileşikler için) yük dağılımı ve ayrımı durumları da önemli etkenlerdir. Potansiyel adsorbant maddeler içerisinde aktif kömür, alümino silikatlar (kil, bentonit, montmorillonit, zeolit, filosilikatlar vs.), kompleks sindirilmeyen karbonhidratlar (selüloz, maya hücre duvarı polisakkaritleri, glikomannanlar,

peptidoglikanlar vs.) ve sentetik polimerler (kolestiramin, polivinilpirolidon ve deriveleri) sayılabilir [17].

2.8.3.3. Biyolojik Yöntemler

Gelişen teknoloji ile kompleks mikrobiyal popülasyonlardan mikotoksinleri detoksifiye edebilen saf bakteri ve mantar kültürleri izole edilebilmektedir. Elde edilen bu saf kültürlerle aflatoksin, fumonisin, fusarik asit, okratoksin A, patulin, trikotesen ve zearalenon gibi mikotoksinlerin zararlı etkilerinin önlenebildiği bildirilmiştir [17].

El-Sharkawy ve Hajj, *Gliocladium roseum*'un zearalenonu bir dizi dekarboksilasyonla %80-90 oranında yıkımladığını bildirmiştir. Son yıllarda trikotesen içeren yem maddelerinin detoksifikasyonu için geliştirilen ve içinde sığır rumen sıvısından izole edilen *Eubacterium* cinsine ait BBSH 797 olarak adlandırılan yeni bir tür mikroorganizmanın ince bağırsakta trikotesenleri resorbe etmede öncü rol üstlendiği gösterilmiştir. Ayrıca laktik asit bakterileri, *Propionibacteria* ve *Bifidobacteria* türlerinin de aflatoksin ve fusarium mikotoksinlerini bağlayıcı kapasitelerinin olduğu bildirilmiştir. Bakterilere ek olarak bazı maya türleri ile yapılan çalışmalardan da olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bir canlı maya hücresi olan *Saccharomyces cerevisiae*'nin kanatlılarda aflatoksikosis'e bağlı yan etkilerin önlenmesinde etkili olduğu görülmüştür. Yakın zamanda yapılan ve yeni bir maya türü olan *Trichosporon myoioxinivorans*'ın çeşitli mikotoksinlerin biyolojik detoksifikasyonundaki etkilerinin araştırıldığı çalışmada bu maya türünün okratoksin ve zearalenonun yıkımlanmasında etkili olduğu ve hayvan yemlerinde mikotoksinlerin deaktivasyonunda kullanılabileceği bildirilmiştir [17].

2.9. Yaygın Görülen Mikotoksin Çeşitleri ve Aflatoksinler

2.9.1. Okratoksinler

Okratoksinler, okratoksin A'nın 1965'lerde *Aspergillus ochraceus*'un metaboliti olarak keşfedilmiştir [3]. Kahve, şarap, tahıllar, üzüm, baharatlar ve kakao ürünlerinde OTA varlığına sıklıkla rastlanmaktadır. Hepatotoksik, nefrotoksik, immunotoksik ve karsinojenik etkilerinin olduğu belirlenen bu birleşik, insanlar ve hayvanlar için zararlıdır. Böbreklerin OTA'ya karşı en hassas organ olduğu düşünülmektedir. BEN'e (Balkan Endemik Nefropatisi) yol açtığı belirlenmiştir. Bu nefropati türü, nadir görülen üriner sistem tümörleri ile ilişkilendirilmektedir [6].

OTA üreticisi küfler, ilgili diğer bileşikleri de oluşturabilirler. Bunlara örnek olarak okratoksin B (OTB), okratoksin C (OTC), okratoksin A metil ester (MeOTA) ile OTB metil ve etil esterler (sırasıyla MeOTB ve EtOTB) verilebilir [6].

2.9.2. *Alternaria* Mikotoksinleri

Alternaria türleri meyve ve sebzelerin en yaygın hasat sonrası patojenleri arasındadır. Patogenez sırasında değişik türler, insan ve hayvanlarda olumsuz etkiler ortaya çıkaran çeşitli mikotoksinleri üretme yeteneğine sahiptir. Bu mikotoksinlere tenuazonik asit (TEA), alternariol (AOH), alternariol metil eter (AME), altenuen (ALT) ve albertoksinler (ATX) örnek olarak verilebilir [18]. Bunlar arasında TEA (tenuazonik asit), en yüksek toksisiteli (madde) olarak kabul edilir. [19].

A. alternata bu mikotoksin çeşidinin en önemli üreticisi olarak kabul edilir, başka pek çok *Alternaria* türünün de bu mikotoksinleri ürettiği bilinmektedir [20]. *Alternaria* küfleri bitkiler üzerinde genellikle parazitiktir, taşınma ve depolanmaları süresince meyve ve sebzelerin bozulmasına yol açabilirler [14]. *Alternaria* türleri düşük sıcaklıklarda iyi yetişir ve bu durum genellikle meyve ve sebzelerin depolama sırasında yoğun (bir şekilde) bozulmasıyla ilgilidir, çünkü birçok gıda soğutma hasarının bir sonucu olarak *Alternaria* çürüklüğüne özellikle duyarlı hale gelir [21].

Alternaria türleri meyve ve sebzelerde önemli mantarlar arasındayken, Van Egmond ve arkadaşlarının 2008 yılında belirttiği kadarıyla, dünyada hiçbir ülkede herhangi bir *Alternaria* toksininin resmi düzenlemesi ve limiti yoktur [22].

2.9.3. Zearalenonlar

Zearalenonlar (ZON), *Fusarium graminearum* tarafından üretilen toksik sekonder metabolitlerdir. Mısır, arpa, yulaf, buğday ve darı gibi tahıllarda bol miktarda bulunduğu saptanmıştır [3].

Zearalenon besinlerle insan vücuduna alındığında; östrus döneminin uzaması, anöstrus, infertilite, meme loblarının uzaması, meme başı duyarlılığının artması, süt ve döl veriminde düzensizlikler gibi belirtilerle kendini gösteren hiperöstrojenizme sebep olur. Özellikle domuzlarda, yemdeki zearalenon düzeyi 0.01 mg/kg aştığında bu etkiler kolaylıkla gözlenebilmektedir. İtalya ve Porta Riko'da, çocuklarda erken görülen seksüel gelişim zearalenon gibi besinlerde bulunabilen östrojenik etikli maddelerin bolca alınmasına yorumlanmaktadır [23].

2.9.4. Patulin

Patulin; başta *Aspergillus clavatus*, *Penicillium expansum*, *Penicillium patulum* olmak üzere birçok *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsleri tarafından üretilmektedir [3]. Patulin özellikle elma, elma suyu, elma suyu konsantresi, elma reçeli ve şekerlemesi gibi ürünlerde bulunmaktadır. Patulin ayrıca; armut, kayısı, şeftali, domates, portakal ve bu meyvelerden elde edilen ürünlerde de bulunabilmektedir. Araştırmacıların hayvanlar üzerinde yaptığı denemelerle, Patulin'in mutajen, teratojen ve karsinojen etkilere sahip olduğu ortaya çıkmıştır [24].

2.9.5. Trikotesenler

Trikotesenler *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* ve *Trichothecium* türleri tarafından oluşturulmaktadır. Bu mikotoksinler mısır başta olmak üzere taze fasulye, bezelye ve pirinç de bulunmaktadır [3].

Tarım ürünlerinde görülen trikotesen kontaminasyonlarının önemli bir kısmını; T-2 toksini, deoksinivalenol (DON), nivalenol (NIV) ve türevleri oluşturmaktadır. T-2 toksininin doğada bulunma sıklığı DON ve NIV'e göre daha azdır. DON *Fusarium* türü mantarlar tarafından üretilen ve immun sistemi zayıflatan bir toksin türüdür [2].

Trikotesenlerin çoğu, hem mikotoksik hem de zootoksik özelliktedir. Bazı trikotesenler; antifungal, antiviral ve antibakteriyeldir. Trikotesenler; deride yanma, kaşıntı, şişlik, kuruma, çatlama ve dökülmelere sebep olmaktadır. Trikotesenler ayrıca; enterit, kusma, oral ve gastroenterik nekroz gibi toksisite belirtileri göstermektedir [3].

2.9.6. Ergot Toksinleri

Küflenmiş besinlerin tüketilmesinin bir hastalık nedeni olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Ergotoksinler (ergotamin, ergokornin, ergokristin ve ergokriptin) *Claviceps purpurea*'nın ana alkaloidleridir ve farmakolojik olarak aktivitesi en yüksek peptidler arasında yer almaktadır. Buğday, arpa, yulaf ve pirinç bu toksinlerden en fazla etkilenen besinleri oluşturmaktadır. Bu küf bitkileri ve tohumları enfekte etmektedir [3].

Ergotizm bilinen en eski insan mikotoksikozudur. Ortaçağ'da Avrupa'da *Claviceps purpurea* bulaşmış çavdar ununun tüketilmesi sonucu "St. Antony Ateşi" veya "Kutsal Ateş" olarak adlandırılan mikotoksikoz oluşmuştur. Bu hastalık gangren, kramp ve halüsinasyonlara neden olmakta ve sinir sistemini etkilemektedir. İlk belirtileri arasında

bacaklarda ödem ve şiddetli ağrılar görülmektedir. Hastalık ismini, hastalarla St. Antony'nin tarikatındaki keşişlerin ilgilenmesi nedeniyle onlardan almıştır [3].

Ergotizm, insan hastalığı olarak hemen hemen ortadan kalkmakla beraber, hayvan hastalığı olarak hayvan yemlerinin *Claviceps paspali* ile kontaminasyonu sonucu yaygın olarak görülmektedir [3].

Günümüzde bu toksinlerden; anjina pektoris tedavisi, serebral dolaşım bozuklukları, migren ağrısı, hipertoni, hipertansiyon, uterus kontraksiyonu, serotonin düzeylerindeki değişikliğe bağlı rahatsızlıklar, doğum sonrası kanamanın azaltılması, süt salgılanmasının durması, prolaktin salınımının inhibisyonu, gebeliğin erken döneminde implantasyonun engellenmesi ve Parkinson hastalığının tedavisinde prolaktin inhibitörü olarak kullanılması gibi çeşitli alanlarda yararlanılmaktadır [3].

2.9.7. Fumonisinler

Fumonisinler genellikle mısır bitkisini kontamine eden *Fusarium* cinsi mantarların metaboliti olan bir mikotoksin grubudur. Fumonisin B1 (FB1), Fumonisin B2 (FB2), Fumonisin B3 (FB3), Fumonisin B4 (FB4), Fumonisin A1 (FA1) ve Fumonisin A2 (FA2) olmak üzere altı fumonisin türevi mikotoksin izole edilerek yapıları aydınlatılmıştır. Fumonisin türevleri (FB1 ve FB2) 1988 yılında izole edilerek tanımlanmıştır. FA1 ve FA2 fumonisinlerin N-asetil türevleridir [25].

Fumonisin B1, Güney Afrika, Çin ve Kuzey İtalya bölgelerindeki mısır örneklerinde daha sık ve yüksek miktarda bulunmuş ve mısır tüketimi ile özefagus kanseri sıklığı arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir [3].

Fumonisinler, normal yiyecek hazırlama işlemlerinin çoğuna dayalıdır. Fumonisinler, başta su olmak üzere birçok polar çözücüde çözünür, apolar çözücülerde çözünmezler. Fumonisinlerle kontamine olmuş besinler ve yemler için bilinen hiçbir detoksifikasyon yöntemi bulunmamaktadır [3].

FB1 ve FB2 doğada en yaygın karşılaşılan türevler olduğundan toksikolojik araştırmalar daha çok bu iki türev üzerine yoğunlaşmıştır. Fumonisin B1 atlarda lökoensefalomalasi (LEM), domuzlarda pulmoner ödem gelişimine neden olur. 1989-1990 yıllarında fumonisin kontaminasyonuna bağlı olarak ABD'de atlarda LEM ve domuzlarda pulmoner ödem salgınları görülmüştür. Karaciğer ve böbrek toksini olan FB1 bu organlarda kanser gelişimine yol açar. Çin ve Güney Afrika'da yapılan epidemiyolojik araştırmalar

fumonisin türevleri ile kontamine olan besinlerin tüketildiği bölgelerdeki özefageal ve hepatosellüler karsinoma insidansının yükseldiğini göstermiştir. Uluslararası kanser araştırmaları ajansı 1993 yılında *Fusarium moniliforme* tarafından üretilen toksinleri 2B grubu karsinojenik maddeler sınıfına dahil ederek insanlar için muhtemel karsinojen maddeler olarak değerlendirmiştir [25].

2.9.8. Aflatoksinler

Aflatoksinler; başta *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve çeşitli toksijenik *Aspergillus* cinsleri olmak üzere, bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* cinslerine bağlı küfler tarafından üretilen mikotoksinlerdir [7].

Aflatoksin oluşturan küflerin gelişimi bazı substrat ve su aktivitesi (activity of water, aw), pH, sıcaklık, redoks potansiyeli, koruyucu ve inhibitörlerin varlığı gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedir. *A. flavus* ve *A. parasiticus* kserofilik olduklarından düşük su aktivitesi (aw 0,75-0,80) aralığında gelişim gösterebilirler. 12-48 °C aralığında, optimum 25 °C’de gelişebilirler [9].

Aflatoksin oluşumu için optimum koşullar *A. flavus* için 35 °C, 0,95 aw ve *A. parasiticus* için 33 °C, 0,99 aw dir. İki tür de 7,5 °C’nin altında ve 40 °C’nin üzerinde aflatoksin oluşturmaz. Bu da aflatoksin oluşum aralığının küflerin faaliyet gösterme aralığından daha dar olduğunu gösterir [9].

Aflatoksinler; kuruyemiş (Antep fıstığı, ceviz, yer fıstığı vb.), tahıl (arpa, yulaf, çavdar, pirinç, buğday vb.), baharat (pul biber, kimyon, karabiber nane), bakliyat (mercimek, fasulye vb.), et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, yumurta gibi gıda maddelerinde sıklıkla görülebilmektedir [7].

Toksinin yapısı 1960 yılında incelenmiş ve fungal kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Toksin oluşturan küf *Aspergillus flavus* (1961) olarak tespit edilmiş ve toksine kaynağından dolayı “Aflatoksin” adı verilmiştir [3].

Bugüne kadar yapılan çok sayıdaki bilimsel çalışma, karsinojen özelliği en yüksek mikotoksinin aflatoksin olduğunu ortaya koymuştur. Aflatoksinlerin hayvan ve insanlarda çeşitli sağlık sorunlarına yol açması ve tarım ürünlerinin ticari değerini düşürerek ciddi ekonomik kayıplara sebep olması, aflatoksinlere yönelik araştırmaları yoğunlaştırmıştır [7]. Bilinen en tehlikeli ve üzerinde en çok araştırma yapılan, insan sağlığına direkt etkisi olduğu düşünülen, mikotoksinler aflatoksinlerdir [4].

On sekiz değişik aflatoksin tipi tanımlanmış olup, bunlardan B1, B2, G1, G2, M1 ve M2 en çok görülen tipleridir. İnce tabaka kromatografi yöntemi kullanıldığında UV altında mavi floresans verenler “blue”nın baş harfi olan B1 ve B2 olarak, yeşil floresans verenler “green”nin baş harfi olan G1 ve G2 olarak adlandırılırlar [3].

Aflatoksin B1 ve B2 içeren yemlerle beslenen ineklerin sütünde görülen, daha az toksik olup yapıca ana moleküle benzeyen bileşikler de aflatoksin M1 ve M2 olarak adlandırılmıştır. Aflatoksin M1 ilk olarak 1966’da sütte (milk) bulunarak isimlendirilmiştir. Aflatoksin M1 hayvanlarda aflatoksin B1’in ana metabolitlerindendir ve genellikle süt ve idrarla atılır. Yemle alınan aflatoksin B1’in %0,35-3’ünün aflatoksin M1 şeklinde sütle atıldığı belirtilmiştir [3].

İnsan ve hayvanlarda sebep olduğu toksik ve kanserojenik etkilere göre en tehlikeli kabul edilen, gıda ve besinlerde en sık bulunan aflatoksin çeşidi aflatoksin B1’dir. İnsan ve hayvanlardaki toksik etkileri göz önüne alınarak tehlike sıralaması genel olarak $B1 > M1 > G1 > B2 > M2 > G2$ şeklinde yapılabilir [7]. Aflatoksin B1 aflatoksinlerin en kanserojen olandır, aflatoksin B1 doğal olarak oluşan, en etkili kanserojen olarak dünya genelinde adından sıkça söz ettirmektedir [6]. Çeşitli hayvanlarda habis tümörlere ve insanlarda hepatosellüler karsinoma neden olduğundan [9], Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu, IARC (International Agency for Research on Cancer) tarafından 1993 yılında yapılan sınıflamada, aflatoksin B1 “yeterli kanıt elde edilmiş insan karsinojenleri”, aflatoksin M1 de "muhtemel insan karsinojenleri" içersinde yer almıştır [4].

Avrupa Birliği’nin “Gıda Maddelerinde Bazı Kontaminantların Maksimum Düzeylerini Belirleyen Komisyon Direktifi”nde; özellikle aflatoksin B1 olmak üzere, aflatoksinlerin genotoksik karsinojen maddeler olduğu, bu nedenle herhangi bir NOEL (No Observable Effect Level: Gözlenebilir Etki Oluşturmayan Düzey) ve ADI (Acceptable Daily Intake: Kabul Edilebilir Günlük Alım Miktarı) değerinin belirlenemediğine değinilmektedir [4].

Aflatoksinlerle zehirlenme, canlının türü, yaşı, cinsiyeti, alınan toksinin miktarı ve alınan süreye bağlı olarak değişiklik gösterir. Memeliler, kanatlılar ve balıkların büyük bir bölümünün aflatoksine duyarlı olduğu, fare ve koyunların aflatoksine dirençli olduğu, ancak koyunlardan genç ve gebe olanların daha hassas olduğu belirtilmektedir [3].

Aflatoksinlerin insan sağlığına en büyük etkileri immun sistemi baskılayıcı (immun supresif) etkileridir. İmmunosupresyon, infeksiyon hastalıklarına karşı hassasiyeti artırır [3]. Bununla birlikte; aflatoksinler insanlarda ve hayvanlarda toksijenik, mutajenik, teratojenik ve kanserojen etki gösterebilir. Aflatoksinlerin biyolojik ve moleküler düzeyde kanserojenik ve mutajenik etkileri DNA bağlanma özellikleri ile ilgilidir ayrıca akut etkileri aflatoksin-protein bağları nedeniyle ilgili olabilir [9].

Aflatoksinler (B1, B2, G1, G2) karaciğer, kolon (kalın bağırsak) ve böbrekte kanser (Kanserojenite) oluştururlar. Aflatoksin B1, kromozomal yanılmaya ve DNA kırılmasına (Mutajenite) neden olur. Aflatoksin B1 teratojen etkiye sahiptir ve protein sentezini inhibe eder. Canlılarda  l  veya sakat doğumlara (Teratojenite) neden olur. Aflatoksin B1 akut olarak böbreklerde hasar, tümör oluşumu, nefropati ve böbrekte ani kanama (Nefrotoksisite) yapar. Aflatoksin B1 karaciğerin hepatik dokularına zarar vererek, akut hastalığa ve ani ölüme neden olur. Hepatik lezyonları ve kanamayı (Hepatotoksisite) arttırır [3].

Bazı araştırmalara göre, Çin ve Afrika'nın Sahara bölgesinin güneyinde, yüksek miktarda aflatoksin içeren gıdalarla beslenen, hepatit B ve C virüsü taşımayan, karaciğer kanserine yakalanmış insanların karaciğerinden alınan örneklerde yapılan incelemeye göre, aflatoksin B1'in p53 kanser baskılayıcı genin 249'uncu kodonun üçüncü bazındaki (AGG_AGT) Guanin yerine Timin geçmesine ve karaciğerde primer kanser oluşumuna neden olduğu belirtilmektedir. Bu olaya "Hot Spot (Sıcak Nokta) Mutasyon" adı verilmekte ve yüksek miktarda aflatoksin bulunan yerlerde yaşayan karaciğer kanserine yakalanmış hastaların toplamının %50'sinde görülmektedir. Fakat aynı mutasyona düşük miktarda aflatoksin bulunan yerlerde ise %25'den daha az oranda rastlanmaktadır [3].

Aflatoksinlerin en yaygın emilimi deri, akciğer ve mide-bağırsak sindirim kanalından gerçekleşir [6]. Aflatoksinler gastrointestinal sistemde (mide-bağırsak) pasif difüzyonla etkin bir şekilde absorbe edilir ve öncelikle bağırsaktan karaciğere giden kana karışır [9]. Hayvanlarda yem yoluyla alınan aflatoksinler 30 dakika içerisinde mide-bağırsak kanalından geçerek kan dolaşımına katılırlar ve 1 saat içinde karaciğere ulaşmış olurlar [6].

Yumuşak dokularda ve hayvanların depo yağlarında birikme eğilimi gösterirler. Karaciğer ve böbrekler gibi kendi biyosentezini gerçekleştiren dokularda en yüksek seviyede birikmektedir [6]. Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde C₁₄ ile konjuge toksin işaretlenmiş ve vücuda verilen toksinin %90'dan fazlasının özellikle gaita ve idrarla 24 saat

içinde atıldığı belirtilmiştir. Gaita ile %75, idrarla ise %15-20 arasında atılım görülmüştür. Toksinin %5-6'lık bölümü ise karaciğerde tutulmaktadır [3].

Aflatoksinlerin en çok etkilediği organ karaciğerdir. Aflatoksin molekülü karaciğer hücreleri ile reaksiyona girer, DNA ve RNA polimerazları inhibisyona uğratar, özellikle mRNA'daki değişiklik sonucu protein sentezi büyük ölçüde bozulur. Sonuç olarak RNA ile birlikte bazı proteinlerin sentezi azalır ve hücre ölür [3].

Aflatoksinler kronik diyetle maruz kalma ile insanlarda büyük risk oluşturur. Bu şekilde diyetle aflatoksine maruz kalındığında hepatit B virüsü ile etkileşme ihtimali ile karaciğer kanseri riski yüksektir. Bu şekilde yüksek hepatit B görülme sıklığı ve günde 1,4 µg aflatoksin alımına bağlı Afrika ve Çin'de yılda 250,000 ölüm görülmüştür. Aflatoksinler bu hastalıkları tetikleyici olduğu düşünülen, Reye Sendromlu ve Kwashiorkor görülen çocukların dokularında tespit edilmiştir. Reye Sendromu, karaciğer ve böbrek büyümesi ve beyin ödemi ile sonuçlanan ensofalopati ve iç organların bozulması ile karakterize edilir [9].

Sonuç olarak aflatoksinler; insanlarda karaciğer kanserine ve gen yapısında değişikliklere neden olmakta, vücudun hormon dengesini bozmakta, bağışıklık sistemini zayıflatmakta, kısırlığa, sakat doğumlara neden olmakta, gıda emilimini azaltmakta ve vücut direncini düşürerek vücudu hastalıklara açık hale getirmektedir [3].

Aflatoksinler; aseton, asetonitril, etanol, benzol, kloroform, dimetilsülfoksit (DMSO) gibi birçok organik çözücülerde çözünmekle beraber, su içinde sınırlı olarak çözünüp; hekzan, izooktan, eter ve petroleterde ise çözünmezler [3, 4, 7]. Kloroform veya benzen içindeki çözeltileri yıllarca bozulmadan kalabilir [4].

Sodyum hipoklorit, potasyum permanganat, hidrojen peroksit ve ozon gibi oksitleyici ajanlar aflatoksin ile reaksiyona girer ve aflatoksin molekülünde bazı yollarla floresan kaybını gösteren değişiklikler yapar. Bu reaksiyonların mekanizması tam olarak bilinmemekte ve reaksiyon ürünleri birçok durumda saptanamamış olarak kalmaktadır [3].

Aflatoksinler oldukça stabil olduklarından; depolama, işleme, hatta ısı işlemlerinde varlıkları devam eder [9]. Aflatoksinler 200-250 °C'ye varan yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır [7]. Tümüyle parçalanmaları için 300 °C veya daha yüksek sıcaklık dereceleri gereklidir [3]. Isıya dayanıklı olduklarından normal gıda ve yem işleme teknikleriyle bozunmazlar. Detoksifikasyonları ancak özel mikrobiyal, kimyasal ve radyoaktif işlemler gerektirir. X-ray ve elektron irradyasyonun etkili dozları yıkım

proseslerine, bentonit, kil, asbest, alüminyum silikat gibi bazı maddeler adsorbsiyona, %90 sulu aseton çözeltisi, %95 etanol çözeltisi, hegzan, metanol gibi bazı kimyasallar solvent ekstraksiyonuna neden olur. Amonyak, asit, ozon, hidrojen peroksit, bisülfid ve C vitamini uygulamaları kimyasal bozunmaya neden olur. Bazı bakteri, maya, küf ve algler biyotransformasyonla yıkıma neden olur. Yapılan bir araştırmada kırmızı biberde aflatoksinlerin *Flavobacterium aurantiacum* ile detoksifikasyonunda başarı sağlanmıştır [9].

2.9.8.1. Aflatoksin Analizinde Kullanılan Yöntemler

Aflatoksin analizi için kullanılan çoğu prosedür; örnek hazırlama, homojenizasyon, ekstraksiyon ve temizleme (clean up) aşamalarından oluşmaktadır. Son ayırma ve ilgili bileşenin tespiti, genellikle kromatografik tekniklere dayanan çeşitli tespit metotlarıyla veya immünokimyasal yollarla sağlanmaktadır [26].

Yüksek akış hızı ve basınçta kromatografik ayırım sağlayan HPLC (High Performance Liquid Chromatography: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ile aflatoksin tespiti son zamanlarda büyük önem kazanmıştır [27]. HPLC kullanılarak; hassasiyeti, özgüllüğü, doğruluğu, kullanım kolaylığı ve tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlar alınabilmektedir. Aflatoksinler rijit ve konjuge bir yapı ihtiva ettikleri için doğal floresans özelliğe sahiptir. Küçük bir yapısal bir değişiklik bile floresans özelliklerinin önemli ölçüde artmasına sebep olabilir. Örneğin; aflatoksin G2 ve B2, aflatoksin G1 ve B1'den daha yüksek floresans özellik gösterir. Aflatoksin G1 ve B1'in tespit edilebilmesi için türevlendirilerek floresans özelliklerinin artırılması gerekir. Türevlendirme için en yaygın kullanılan yöntemler; trifloroasetik asit (TFA) ile kolon öncesi türevlendirme, iyot, siklerodekstrinler ve piridinyum hidrobromür perbromür ile kolon sonrası türevlendirme olarak sıralanabilir. Laboratuvar ortamında uygulanan bu yöntemlerden daha pratik olup daha isabetli sonuçlar veren kobra cell ünitesinde fotokimyasal türevlendirme, ideal bir yaklaşım sayılabilir [28].

Aflatoksinlerin tespitinde kullanılan bir diğer yöntem; HPLC ve MS (Kütle Spektrometresi) ünitelerinin birlikte çalıştırılarak miktar tayini yapılan Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (LC/MS)'dir [29]. LC/MS, metabolizma çalışmalarında yapısal analiz için sıklıkla kullanılmaktadır. Aflatoksinin *in vivo* etki şeklini anlamak ve gelecek araştırmalar için uygun biyobelirteçleri (biyomarker) bulmada yeni yaklaşımlar geliştirmek amacıyla; oligonükleotid katılma bileşikler, glutatyon katılma bileşikler ve merkapturik asit katılma bileşikler kullanılabilmektedir. Bütün bu olumlu gelişmelere rağmen; yiyecek, süt, baharat ve idrardaki aflatoksinlerin LC/MS ile

belirlenmesine yönelik sınırlı sayıda kantitatif prosedür geliştirilebilmiştir. Yapılabilecek ileri çalışmalarla; bu tekniğin daha kullanışlı hale gelmesi sağlanabilir [30].

Aflatoksinlerin tespitinde kullanılan bir diğer yöntem; silikajel, selüloz ve türevleri, nişasta, poliamid ve alüminyum oksit gibi organik ve inorganik maddelerin cam bir levha üzerine ince bir tabaka halinde sabit faz olarak kullanıldığı, ince tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography, TLC)'dir. Bu yöntemde hareketli faz olarak; aseton, metanol ve hekzan gibi solventler kullanılır. Yapılan ayırım; sabit ve hareketli faz etkileşimleriyle genel kromatografi mantığına dayanır [31]. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan aflatoksin analizlerinde analitik işlem basamakları; örnekleme, ekstraksiyon ve ekstrakt temizleme, yoğunlaştırma, kromatografik ayırım, kalitatif ve kantitatif tayin, doğrulama testleri şeklindedir [32]. İmmüno affinite kolonu kullanılarak uygulanan tek yönlü TLC metodu uzun bir müddet çeşitli gıda ürünlerindeki aflatoksinin tespiti için kullanılmış, ölçme işlemi yoğunlukla orantılı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu metot günümüzde aflatoksinlerin analizinde kullanılmaya devam etmekle birlikte, kullanımı eskisi kadar yaygın değildir [33].

Aflatoksinlerin tespiti için kullanılan diğer bir yöntem; antijen ya da antikor bir enzimle işaretlenip immunolojik reaksiyon ve enzimatik aktivite sonucu ölçüm yapılan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, Enzim İlintili İmmün Test) testidir. ELISA testi direkt ve indirekt olarak uygulanabilmektedir [34]. Aflatoksinler antijenik özellik göstermezler. Aflatoksinlerin antijenik özellik göstermeleri için bir protein veya polipeptid zincirine bağlanmaları gerekir. Aflatoksinlerin antijenik özellik göstermeleri için protein olarak genellikle serum albumin, gamma globulin ve polilisin kullanılmaktadır. Bazı mikotoksinler direk bağlanma reaksiyonları gösterirler, ancak aflatoksinler dahil birçok mikotoksin çeşidi reaktif gruptan yoksundur. Bu yüzden, reaktif karboksil veya (benzer özellikte) başka bir grubun öncelikle aflatoksine bağlanması gerekmektedir [32]. ELISA testi, başta aflatoksinler olmak üzere farklı gıdaların içerisinde bulunan pek çok mikotoksin için ticari olarak temin edilebilmektedir. Son zamanlarda, bazı aflatoksinlerin asetillenmiş formlarına özel monoklonal antikorlar kullanılarak, direkt ve indirekt ELISA çeşitleri geliştirilmiştir [35].

2.9.8.1.1. Aflatoksin Analizinde Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması

Aflatoksin analizi için çeşitli yöntemler geliştirilmiş olup, bu yöntemlerin birbirlerine göre bazı avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Bu yöntemlerin dezavantajlarının azaltılmasına yönelik çalışmalar yapılıyor olmasına rağmen, bu avantaj ve dezavantajlar

aflatoksin analizi için seçilecek yöntem konusunda belirleyici olmaktadır. Bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları Tablo.2.1’de gösterildiği gibidir [36].

Tablo.2.1: Aflatoksin analiz yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları [36]

Yöntemler	Avantajlar	Dezavantajlar
HPLC	Aynı anda birden çok mikotoksin analizi yapılabilmesi, yüksek hassasiyet, yüksek seçicilik, yüksek tekrar edilebilirlik, otomatik yürütülebilme (otoenjektör), kısa analiz süresi, resmi metotlara ulaşımın kolaylığı.	Ekipman ücretinin yüksek olması, uzmanlık gerektirmesi, bazı örneklerin türevlendirme gerektirmesi.
LC/MS	Aynı anda birden çok mikotoksin analizi yapılabilmesi, yüksek hassasiyet, kısa zamanda doğrulama yapılabilmesi, türevlendirme gerektirmemesi.	Ekipman ücretinin yüksek olması, uzmanlık gerektirmesi, duyarlılığın iyonizasyon tekniğine bağlı olması, verilebilecek standartların az bulunur olması.
TLC	Üzerinde nisbeten çok çalışma yapılmış olması, bazı toksin çeşitleri için uygun kantitatif ölçümler yapılabilmesi, resmi metotlara ulaşımın kolaylığı.	Pratik olmaması, izlenecek prosedürlerin uzun olması, hassas sonuç almanın zor olması.
ELISA	Örnek hazırlamanın kolaylığı, ekipman ücretinin düşük olması, aynı anda birden çok mikotoksin analizi yapılabilmesi.	Çapraz reaktivitenin mikotoksin çeşidine bağlı olması, negatif/pozitif sonuçların yanlış olabilmesi (kitte bozukluk olabilmesi).

2.10. Pul Biberin Türkiye ve Dünya Piyasasındaki Yeri

Kırmızı pul biber, kırmızı biberin (*Capsicum spp.*) tam olgunlaşmış meyvelerinin tekniğine uygun olarak kurutulup, sapları alındıktan sonra yarı öğütülerek pul haline getirilmiş, belirli oranlarda yemeklik bitkisel sıvı yağ ve yemeklik tuz karıştırılarak su ile tavllanmış halidir [37]. Türkiye’de pul biberin maksimum tolerans seviyesi aflatoksin B1 için 5 ppb (part per billion), toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) için 10 ppb olarak belirlenmiştir [38].

Pul biberin hammaddesi olan kırmızı biber askorbik asit ve karoten içeriği yönünden zengindir, gıda sanayinde başta et ürünlerinde ve çorbalarda olmak üzere; baharat karışımlarında, çeşni ürünlerinde, soslarda, alkolsüz içeceklerde ve turşularda kullanılmakla birlikte yakılarda analjezik hammaddesi olarak kullanılabilir [39]. Türkiye, dünyada en çok baharat kullanan ülkeler arasında yer almaktadır. Ülkemizde kullanılan baharatlar içerisinde de pul biber ilk sırada yer almaktadır [40].

Bibere acılığı içeriğinde bulunan “capsaicin” maddesi vermektedir. 100 g kuru kırmızı biber ortalama; 318 kcal enerji, 148 mg Ca, 76 mg C vitamini, 8,1 g su, 2014 mg K, 12 g protein, 293 mg P, 15 mg B3 vitamini, 17,3 g yağ, 152 mg Mg, 2 mg B2 vitamini, 56,6 mg karbonhidrat, 30 mg Na, 1 mg B1 vitamini, 24,9 g lif, 8 mg Fe, renk (capsanthin) maddesi gibi organik bileşikler içermektedir [39].

Kırmızı biber, hem yurt içinde yüksek bir tüketim potansiyeline sahip olması hem de yurt dışına ihracatta rağbet görmesi sebebiyle önemli bir tarımsal ürün olarak görülmektedir.

Ülkemiz için böylesine önem taşıyan kırmızı biber üretiminde karşılaşılan kayıplar ile bozulmaların azaltılması ve üretim kalitesinin artırılması için çeşitli önlemlerin alınması gereklidir [39].

Türkiye önemli biber üreticisi ülkeler arasında yer almakta olup (yılda 2 072 132 ton ile dünya 3.sü) [41], kırmızı biber verimi dünya ortalamasının üzerindedir (yılda 204 131 ton) [42]. Türkiye’de toz ve pul biber üretiminin, dünya geneli yapılan üretimin yaklaşık %0,6’sına denk geldiği (yıllık 16 800 ton) söylenilebilir [40]. Türkiye’de baharatlık kırmızı biber üretiminin Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nin üç ilinde yoğunlaştığı bilinmektedir. Üretim tesislerinin %55’i Kahramanmaraş, %35’i Gaziantep ve %10’u ise Şanlıurfa illerinde bulunmaktadır [43]. ABD, Almanya, Hollanda, Romanya, Fransa, İngiltere, Kosova, Makedonya, Suudi Arabistan, Birleşik Arap Emirlikleri, Irak vb. ülkelere ihracat yapılmaktadır [39].

Geniş bir kullanım alanına sahip kırmızı biberin yetiştirilmesinde karşılaşılan sorunlar üretimi azaltıp ürün verimini düşürdüğü için genel maliyeti yükseltmektedir. Bu durum kırmızı biber üretiminin karlılığını azaltarak, üreticinin biber tarımını dışlamasına ve kalitenin düşmesine neden olmaktadır. Dahası kurutma ve işleme sırasında yapılan hatalar kaliteyi daha da düşürmektedir [39].

Kırmızı biber yetiştirme aşamasında toprak ve suyla doğrudan temasta olduğundan, doğal olarak pek çok bakteri ve küf ile kontamine olmaktadır. Kırmızı biberin sıcak ve nemli bölgelerde yetiştirilmesi, hasatın hijyen kurallarına uyulmadan yapılması kontaminasyon riskini artırmaktadır. Bununla birlikte mikroorganizmalarla veya onların ürettiği toksinlerle kontamine olmuş kırmızı biberler, hammaddesi oldukları gıdaların mikroorganizma sayısını artırmakta ve gıda bozulmalarını hızlandırmaktadır. Kırmızı biberde renk, koku ve tat bozulmalarına neden olan küf ve mayalar; dondurma, ısıtma, antibiyotik ve radyasyon uygulaması gibi koruma ve depolama tekniklerine direnç gösterebildiklerinden, kırmızı biberde mikotoksin oluşumunun engellenmesi zorlaşmaktadır [39].

Pul biber üretiminde gıda güvenliğini sağlamak sıhhi, ticari ve resmi düzenlemelerle kolaylaştırılabilmektedir. Bu düzenlemelerle; patojen mikroorganizma kontaminasyonları, toksin oluşumları, toksin kaynaklı hastalıklar ve mikrobiyal bozulmalar önlenebilmektedir. Kalite sorunlarının giderilmesiyle; pul biberin tüketimden kaldırılmasının önüne geçilebilmekte ve ihracat sırasında pul biberin iadesiyle sonuçlanan büyük boyutlu ekonomik kayıplar önlenebilmektedir. Bu kayıpların mümkün olduğunca azaltılması için;

ihraç edilen pul biberin, tüketileceği ülkelerin yasal düzenlemelerine uygunluğuna da dikkat edilmelidir [39].

2.11. Pul Biberin Üretim Aşamalarında Alınması Gereken Önlemler

a. Yetiştirme ve hasat etme: Kırmızı biber tarlada olgunlaştıktan sonra hasat edilmektedir. Bu hasat genellikle, haziran ayı sonuyla ekim ayı ortaları arasında gerçekleşir. Kırmızı biber yetiştirilip hasat edilirken; insan, hayvan, evsel, sanayi ve tarımsal atık gibi kontaminantlardan korunmalıdır [39].

b. Kurutma: Kurutma işleminde; kaliteye zarar verilmeden, böcek istilasına, bakteri ve küf üremesine fırsat verilmeden, mümkün olan en kısa sürede, değişik teknikler kullanılarak biberin ihtiva ettiği nemin giderilmesi sağlanmalıdır. Kırmızı biberin kurutulması kontaminasyonlardan korunmak koşulu ile doğal (güneş altında) veya yapay kurutma yöntemleriyle yapılabilir. Kurutma işlemi mikotoksin üreten küflerden korunacak şekilde ve mümkün olduğunca çabuk yapılmalıdır [39].

Genellikle yaş biberdeki nem oranı %90,8, kuru biberdeki nem oranı %7,35 olarak gösterilmektedir. Hasat sonrası bekleme ve yavaş kuruma aflatoksin oluşumunun artışı hızlandıracağından, kurutma işleminin mümkün olan en kısa sürede gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Ezik ve çürük olan biberlerde zararlı bakterilerin üremesi daha kolay olacağından kalitenin korunması için biberler ayıklanmalıdır [39].

Biberlerin geleneksel olarak kurutulmasında, önceden düzlenmiş olan toprağın üzerine serildiği bilinmektedir. Kontaminasyonun önlenmesi açısından biberler toprak yerine; bez, naylon, beton veya asfalt üzerine serilerek kurutulmalıdır. Ortalama 12-15 günde kurutma tamamlandıktan sonra çuvalara doldurularak işletmelere götürülmektedir. Güneş altında kurutma yapılırken; kurutma zeminlerinin temiz olmasına, karıştırma ve havalandırma işlemlerinin düzenli yapılmasına, kurutma hatlarının yağmurdan, nemden ve zararlı böceklerden korunmasına dikkat edilmelidir [39].

Mekanik kurutucular, kurutma işleminin hem sıcaklık hem de zaman açısından daha kontrollü yapılmasını sağlamaktadır. Mekanik kurutucular aynı zamanda, biberin rengine, aromasına ve lezzetine zarar vermeyen daha etkili bir kurutma sunmaktadır. Mekanik kurutma kalitesinin artırılması için; mekanik kurutucunun temizliğinin, kurutma prosesindeki zamanın ve hava sıcaklığının kontrol edilmesi gereklidir [39]. Mekanik kurutucuların aflatoksin oluşumunu engellemede doğal kurutma yöntemlerinden daha etkin olduğu da söylenebilir. Nitekim, Öztekin ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada Türkiye'deki 23 üretim tesisini ele almış; mekanik kurutucu kullanan işletmelerdeki

aflatoksin B1 miktarlarının yasal sınırların altında olduğunu, doğal kurutma yöntemlerini kullanan işletmelerin bir kısmındaki aflatoksin B1 miktarlarının yasal sınırların üzerinde olduğunu belirtmişlerdir [43].

c. Temizleme: Kurutulmuş biberler, harman savurarak veya bir ağ yardımıyla içindeki toz, toprak, çöp, sap gibi kısımlardan kabaca temizlenir. Bunun yanında ezik, çürük, böcek veya diğer zararlılar tarafından hasara uğramış olan ürünler ayıklanır. Bu aşamada, biberlerin düzgün bir şekilde ve uygun hijyenik yöntemlerle temizlenmesine dikkat edilmelidir.[39].

d. Depolama ve taşıma: Biberler tarladan işletmeye gelene kadar; taşıma, depolama, ürünün satılması gibi pek çok aşamadan geçebilir. Bütün bu aşamalarda kuru biberin nem oranının sabit tutulması (%7,35), küf gelişimine olanak vermeyecek kadar düşük rutubette depolanıp taşınması gereklidir. Biberlerin tarladan firmaya gelme süresi (kurutma işlemi dahil) mümkün olduğunca kısa tutulmalıdır. Taşıyıcı konteynırlar, kullanım öncesinde buharla dezenfekte edilmeli ve neme karşı iyi havalandırılmış olmalıdır. Ayrıca, gündüz ve gece arasındaki iklimsel değişimlere karşı tedbirler alınmış olmalıdır [39].

e. İşleme ve paketleme: İşletmeye getirilen ürünlerin ilk etapta fiziksel (kirlilik, renk, koku, vb.) analizleri yapılır. Fiziksel analiz sonucu kabul gören ürün işletmeye alınır. Gelen miktara ve ürüne göre alınacak numune sayısı belirlenir, alınan numuneler homojenize edildikten sonra kimyasal analizi (uçucu yağ, tuz, uçucu olmayan eter ekstrakt, kül, nem, mikotoksin, yabancı madde, boya vs.) yapılır. Kimyasal analiz sonucunda uygun olan ürünlerin mikrobiyolojik analizleri de yapılır [39].

Daha önceki aşamalarda olduğu gibi, ürünün işlenme aşamasında da gerekli hijyen önlemleri alınmalıdır. İşletme alanlarındaki zemin her gün düzenli olarak uygun dezenfektan ile dezenfekte edilmeli, çalışan işçilerin temizlik yönünden (kılık kıyafet, saç, sakal, makyaj, tırnak, bone ve terlik kullanımı, el dezenfektanının kullanılması, vb.) gerekli kontrolleri yapılmalıdır. İşlenip yarı mamule dönüşen biber paketlemeye gönderilmek üzere depolama şartlarına uygun şekilde raflara dizilmelidir. Rafta bekleyen yarı mamulde bir değişme olup olmadığını görmek için tekrar analiz yapılmalıdır. Analiz sonuçlarına göre her yönden kabul gören yarı mamul paketlemeye alınmalıdır. Paketleme işleminden önce, kullanılacak makineler uygun dezenfektanla temizlenmelidir. Paketleme için; her türlü kontaminasyona karşı koruyucu, kırmızı biberin doğasına uygun, çevre nemini absorblayıcı özelliği olmayan ambalajlar kullanılmalıdır [39].

f. Son depolama: İşlenmiş ve paketlenmiş biber satılana kadar depolanır. Kullanılan depolar ani hava değişimlerine uygun dizayn edilmiş olmalıdır. Bu depoların nem oranı %70'in üzerine çıkmamalıdır. Ürünler getirilmeden önce, depolarda temizlik açısından bütün gerekler yerine getirilmiş olmalıdır [39].

g. Taşıma: Taşıma sırasında konteynırların böcek, kemirgen vb. zararlılardan arındırılmış olduğundan emin olunmalıdır. Çünkü bu etkenler bibere fiziksel zararlar vermekle birlikte bulaştırdıkları salgılarla ürünü kontaminasyona açık hale getirebilir. Eğer ürün yeterli kalitede olmayan çuval ve benzeri ambalaj materyali ile paketlenmişse taşıma yapılan araç mutlaka dezenfekte edilmelidir. Taşımadan önce istif yapılan alan ve biberler kontrol edilmeli, dezenfeksiyon prosedürüne uyulup uyulmadığına bakılmalı, sıcaklık ve nem ölçülmelidir [39].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Pul Biber Numunelerinin Temini

Deneyisel süreçten önce aflatoksin B1 konsantrasyonlarının tespiti amacıyla, kapalı ambalaj içerisinde satılan 500 g ağırlığındaki üç farklı marka pul biber temin edilmiştir. Bu pul biberler Elazığ ilindeki farklı marketlerden, son kullanma tarihleri geçmemiş olarak temin edilmiş olup, deneyisel süreç devam ederken saklama koşullarına uygun bir biçimde muhafaza edilmiştir.

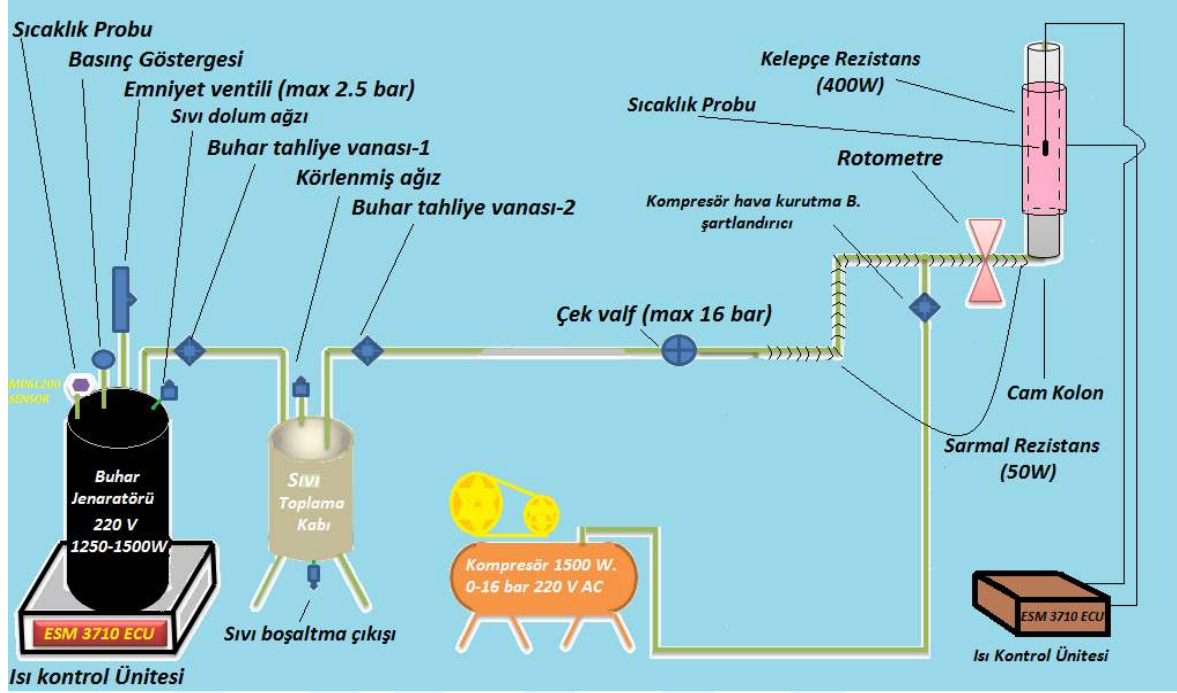
3.2. Metot

3.2.1. Pul Biber Numunelerindeki Aflatoksin B1 Konsantrasyonlarının Tespiti

Pul biber numunelerindeki aflatoksin B1'in HPLC (Shimadzu/LC-20AT) ile tespiti, hizmet alımıyla Elazığ İl Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda AOAC 999.07 kodlu metoda göre gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Aflatoksin B1'in Amonyak Çözeltisi Buharıyla Giderimi

Deneylerin kontrollü yapılabilmesi için; buhar kazanına (özel tasarım, bkz. Şekil.E7.3.1) konulan çözeltinin, deneyin gerçekleştiği süre içerisinde tamamen buharlaşması gerekmektedir. Bu yüzden; deneyler yapılmadan önce, hedeflenen süre ve çıkış sıcaklıklarına bağlı olarak eklenmesi gereken çözelti hacimleri denemelerle belirlenmiştir. Pul biber numunelerinden 5'er g alınıp cam kolon (özel tasarım, bkz. Şekil.E7.3.2) içerisine konulmuş ve son sıcaklık ayarının yapıldığı sıcaklık probu (Emko/ESM 3710-N) numune içerisine gömülmüştür. Buhar kazanına da yeterli süre buhar üretecek hacimde amonyak çözeltisi eklenmiştir. Buhar kazanı belirli bir sıcaklığa ulaştığında tahliye vanası açılarak sisteme buhar verilmiş, cam kolona gelen buharın, dağıtıcı sayesinde pul biberlerin içerisinden homojen bir şekilde geçmesi sağlanmıştır. Kolona bağlanan rezistansla (400 W) son sıcaklığın sabitlenmesi sağlanmıştır. Kısa sürede stabil duruma geçen sistem farklı sürelerde çalıştırılmıştır. Hedeflenen sürelerde buhara maruz kalan numuneler kompresörden (Chatell/2B-1-2024) verilen havayla hafifçe kurutulmuş, ardından kurutma etüvüne (Jeio Tech/On-22G) alınmıştır. Başlangıç ağırlığına yaklaşıncaya kadar etüvde tutulan numuneler, konik tabanlı vida kapaklı tüplere alınıp kapak bölgeleri parafilm ile sarılmış, ardından -20 °C'lik buzdolabı (Ariston/Hotpoint) bölmesinde muhafaza edilmiştir.



Şekil.3.1: Oluşturulan deney düzeneği

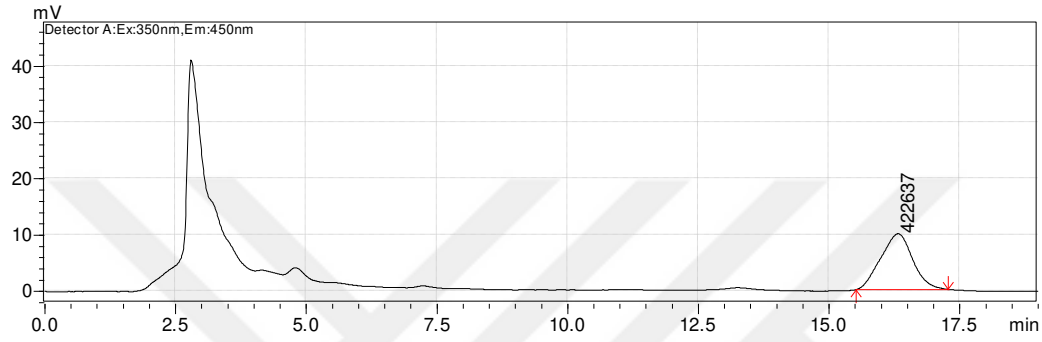
3.2.3. FTIR (Fourier Transform Infrared) Analizlerinin Yapılışı

Detoksifikasyon işlemi gerçekleştirilen pul biber numuneleriyle birlikte; detoksifikasyon işlemi yapılmamış pul biber numunesinin ve yüksek saflıktaki aflatoxin B1 numunesinin FTIR analizleri yapılmıştır. Analizi yapılacak numuneden çok küçük bir parça alınıp havan içerisinde KBr ile karışacak şekilde ezilmiştir. Hazırlanan karışım, yaklaşık 10 tonluk basınç altında preslenip ince film haline getirildikten sonra FTIR (Ati Unicam 1000 Series) cihazına yerleştirilip analiz edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Farklı Pul Biber Numunelerindeki Aflatoksin B1 Konsantrasyonlarının Tespiti

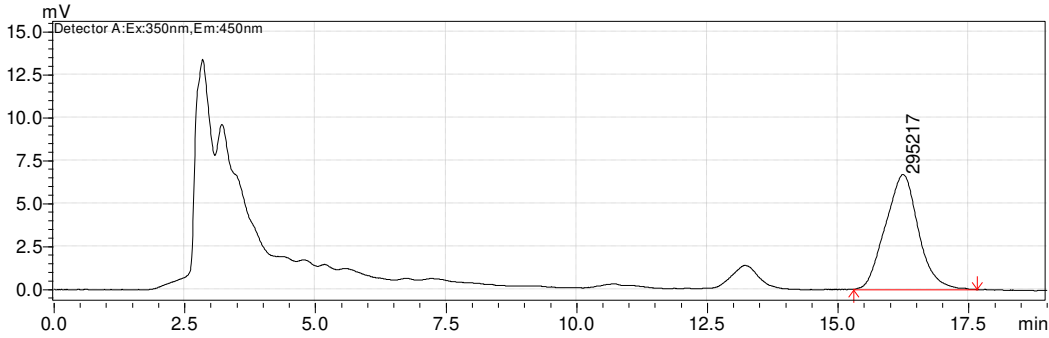
Deneysel çalışmalara başlamadan önce, hazır halde satışa sunulan üç farklı pul biber numunesi temin edilip, içlerindeki aflatoksin B1 konsantrasyonları HPLC ile belirlenmiştir. Numunelerin kromatogram görüntüleri ve aflatoksin konsantrasyonları aşağıda belirtildiği gibi elde edilmiştir.



Şekil.4.1: A kodlu numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.4.1: A kodlu numunenin aflatoksin konsantrasyonu değerleri

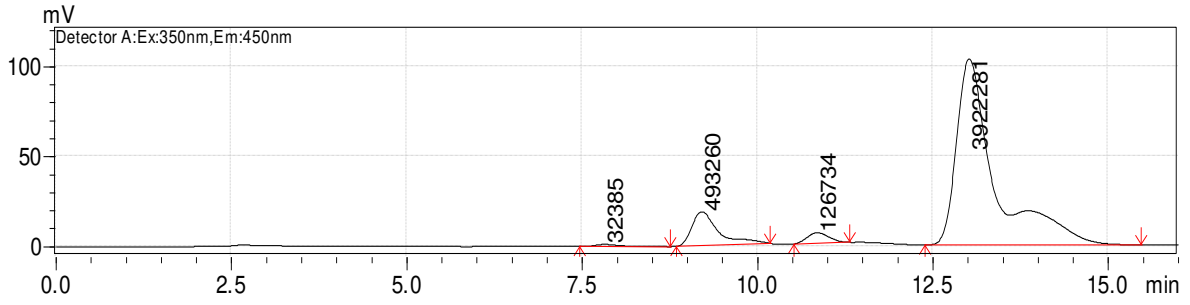
İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Aflatoksin G2	-	0	1
Aflatoksin G1	-	0	2
Aflatoksin B2	-	0	3
Aflatoksin B1	16,316	2,88399	4



Şekil.4.2: B kodlu numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.4.2: B kodlu numunenin aflatoksin konsantrasyonu değerleri

İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Aflatoksin G2	-	0	1
Aflatoksin G1	-	0	2
Aflatoksin B2	-	0	3
Aflatoksin B1	16,238	2,08720	4



Şekil.4.3: C kodlu numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.4.3: C kodlu numunenin aflatoksin konsantrasyonu değerleri

İsim	Alınma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Aflatoksin G2	7.815	0.44568	1
Aflatoksin G1	9.200	4.71443	2
Aflatoksin B2	10.848	0.73390	3
Aflatoksin B1	13.012	24.76836	4

4.2. Deneysel Parametrelerin Pul Biberdeki Aflatoksin B1 Konsantrasyonuna Etkisi

Analiz sonuçlarından en yüksek aflatoksin B1 konsantrasyonunun C numunesinde olduğu görülmektedir. Bu yüzden aflatoksin giderim deneylerinde C numunesinin kullanılması kararlaştırılmış, aflatoksin B1 giderim yüzdeleri bu numunenin başlangıçtaki aflatoksin B1 konsantrasyonuna göre belirlenmiştir. Tez kapsamında çalışılması planlanan; sıcaklık, amonyak konsantrasyonu ve süre parametrelerinin aralık değerleri; Design Expert 8 deneyel programında Merkezi Karma Tasarım (Central Composit Design, CCD) kullanılarak girilmiş ve her bir deneyin parametre değerleri buna göre belirlenmiştir.

Tablo.4.4: Merkez Karma Tasarım deney tablosunda bulunan parametreler ve incelenen aralıklar

Parametre	- α	-1	0	+1	+ α
Sıcaklık (°C)	100	104,3	110,5	116,7	121
%Amonyak	0	0,4	1	1,6	2
Süre (dk)	5	19,2	40	60,8	75

Deneylerle gerçekleştirilen aflatoksin B1 giderim yüzdeleri tablo halinde belirtilmiştir (Tablo.4.5). Sonuçların genel bir değerlendirmesinin yapılabilmesi için; sıcaklık, amonyak konsantrasyonu ve sürenin (bağımsız değişkenler), aflatoksin B1 giderimine (bağımlı değişken) olan ikili etkileri grafikler halinde ifade edilmiş ve yorumlanmıştır.

Tablo.4.5: Merkez Karma Tasarım matrisi ve deneylerin sonunda pul biber numunelerindeki aflatoksin B1'in giderim yüzdeleri

Deney No	Sıcaklık (°C)	%Amonyak	Süre (dk)	Kalan AFB1 (ppb)	Giderim Yüzdesi
1	104,3	0,4	19,2	8,60631	65,2523
2	116,7	0,4	19,2	14,14294	42,89834
3	104,3	1,6	19,2	9,36177	62,20216
4	116,7	1,6	19,2	13,67570	44,7848
5	104,3	0,4	60,8	4,11515	83,38521
6	116,7	0,4	60,8	9,32502	62,35053
7	104,3	1,6	60,8	5,52533	77,69166
8	116,7	1,6	60,8	9,86418	60,17369
9	100	1	40	3,91280	84,2022
10	121	1	40	12,24789	50,54954
11	110,5	0	40	8,42672	65,97739
12	110,5	2	40	6,94098	71,97602
13	110,5	1	5	21,04758	15,02108
14	110,5	1	75	9,43556	61,90423
15	110,5	1	40	11,45437	53,75335
16	110,5	1	40	11,11736	55,11402
17	110,5	1	40	11,04895	55,39022

Tablo.4.6: Aflatoksin B1 gideriminin kuadratik modeli için ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob > F
Model	4257,022	9	473,0025	27,14106	< 0.0001
A-Sıcaklık	1332,929	1	1332,929	76,48395	< 0.0001
B-amonyak	0,081404	1	0,081404	0,004671	0.9469
C-süre	1588,99	1	1588,99	91,17681	< 0.0001
AB	8,932306	1	8,932306	0,512539	0.4904
AC	0,185645	1	0,185645	0,010652	0.9198
BC	5,622495	1	5,622495	0,322621	0.5826
A ²	388,5639	1	388,5639	22,29594	0.0008
B ²	477,8863	1	477,8863	27,42129	0.0004
C ²	364,5934	1	364,5934	20,9205	0.0010
Kalan	174,2756	10	17,42756		
Uyum Eksikliği	172,3334	5	34,46667	88,72734	< 0.0001
Salt Hata	1,94228	5	0,388456		
Cor Total	4431,298	19			

Programa göre; sonuçların anlamlı olabilmesi için modelde "Prob>F" diye ifade edilen olasılık değerinin 0,05'ten küçük olması ($P < 0,05$) gerekir. Aynı değer 0,1'den büyük olduğu ($P > 0,1$) durumlarda tasarım cevap değişkenleri için anlamsız olur. Şu durumda; sıcaklık ve süre parametrelerinin model üzerinde önemli etkilerinin olduğu; amonyak konsantrasyonunun model üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Modelin

F-değerinden ve Prob>F değerinin çok düşük olmasından anlaşıldığı üzere, model anlamlıdır.

Uyum eksikliği (lack of fit), regresyonda içerilmeyen noktalarda deneysel kümedeki verileri göstermek için modelin başarısını ölçer. Anlamlı olmayan uyum eksikliği iyi olarak yorumlanır. Bu çalışmanın uyum eksikliği değerindeki önemlilik; kontrol edilemeyen veya göz ardı edilen bazı faktörlerden modeli olumsuz etkilemiş olabileceği anlamına gelmektedir.

Tablo.4.7: Modellemenin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler

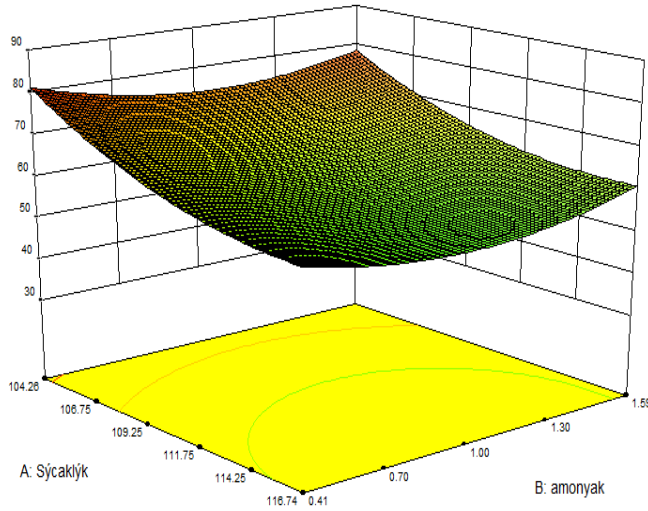
Standart sapma	4,174633
Ortalama	58,91855
Varyasyon Katsayısı (C.V. %)	7,085431
Tahmindeki kalıntı hata kareler toplamı (PRESS)	1309,983
R ²	0,960672
Adj R ²	0,925276
Pred R ²	0,704379
Yeterli Kesinlik (Adeq Precision)	21,56876

Yeterli kesinlik (adequate precision), sinyal gürültü oranını gösterir. Sinyal gürültü oranının ise 4'ün üstünde olması beklenir. Bu çalışmada bulunan sinyal gürültü oranı 21,56876 yeterli sinyale işaret etmektedir.

Tablo 4.7'ye bakıldığında, R² değerinin 0,960672 olduğu görülecektir. Yüzde olarak ifade edildiğinde, elde edilen sonuçların programın önerdiği kuadratik modele (2. dereceden polinom) yaklaşık %96 oranında uygun olduğu, modele uygun olmayan sonuçların oranının sadece %4 olduğu anlamı ortaya çıkmaktadır. R² değerinin 1'e yakın olması modelin güvenilirliği için istenilen bir durumdur. Diğer bir deyişle R² nin değeri 1'e ne kadar yakınsa, deneysel ve model değerler arasındaki korelasyon o ölçüde iyidir. Program tarafından önerilen kuadratik model denklemi aşağıda gösterildiği gibidir:

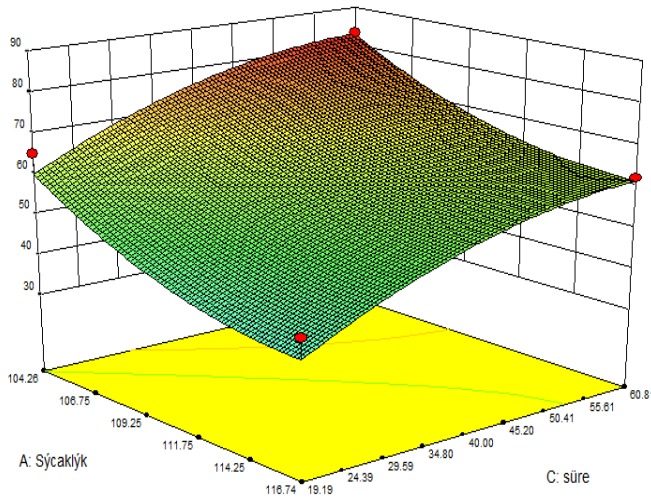
$$R_1 = 1867,059 - 31,354*T - 61,1878*N + 1,385583*t + 0,284638*T*N + 0,001172*T*t - 0,06775*N*t + 0,133213*T^2 + 16,28755*N^2 - 0,01161*t^2$$

Bu denklemde aflatoksin B1 giderim yüzdesi R₁, sıcaklık T, amonyak konsantrasyonu N ve süre t ile sembolize edilmiştir.



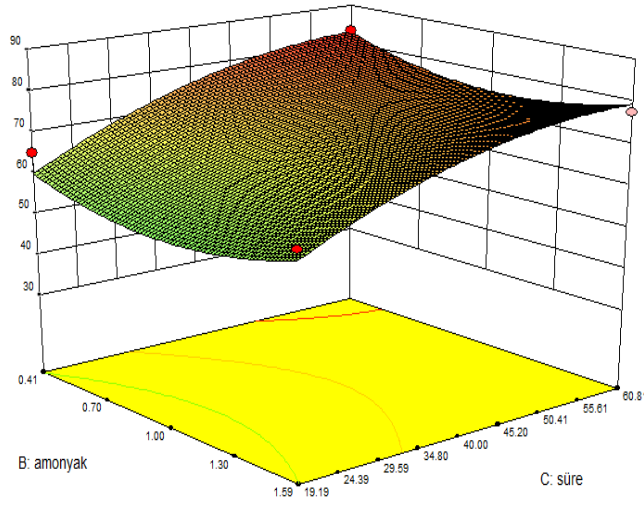
Şekil.4.4: Sıcaklık ve amonyak konsantrasyonu etkileşiminin aflatoksin B1 giderimine etkisi

Şekil.4.4'e bakıldığında, belirlenen çalışma aralığında aflatoksin B1 gideriminin sıcaklık arttıkça azaldığı görülmektedir. Bununla birlikte; amonyak konsantrasyonu %1 civarına ulaşana kadar aflatoksin B1 gideriminin azaldığı, %1'den sonra artma eğiliminde olduğu görülmektedir. Genel olarak, daha etkin bir aflatoksin B1 giderimi yapılabilmesi için; mümkün olduğunca düşük sıcaklıkta, amonyak konsantrasyonu %0'a yakın veya %1'in üzerinde olacak şekilde çalışılması gerektiği söylenebilir.



Şekil.4.5: Sıcaklık ve süre etkileşiminin aflatoksin B1 giderimine etkisi

Şekil.4.5'e bakıldığında, belirlenen çalışma aralığında aflatoksin B1 gideriminin süre arttıkça arttığı görülmektedir ki bu beklenen bir durumdur. Bununla birlikte; sıcaklık arttıkça aflatoksin B1 gideriminin azaldığı görülmektedir. Genel olarak aflatoksin B1 gideriminin daha yüksek oranda gerçekleştirilebilmesi için; mümkün olduğunca düşük sıcaklıkta uzun süre çalışılması gerektiği söylenebilir.



Şekil.4.6: Amonyak ve süre etkileşiminin aflatoksin B1 giderimine etkisi

Şekil.4.6'ya bakıldığında, belirlenen çalışma aralığında amonyak konsantrasyonu %1 civarına ulaşana kadar aflatoksin B1 gideriminin azaldığı, %1'den sonra artma eğiliminde olduğu görülmektedir. Bununla birlikte; aflatoksin B1 gideriminin süre arttıkça arttığı görülmektedir. Genel olarak, aflatoksin B1 gideriminin artırılması için; amonyak konsantrasyonunun %0'a yakın veya %1'in üzerinde olacak şekilde ayarlanması, sürenin de artırılması gerektiği söylenebilir.

Denemelerden önce genel beklenti; sıcaklık, süre ve amonyak konsantrasyonu artışının aflatoksin B1 giderimini arttıracak yönündeydi. Ancak aflatoksin B1 giderimi, bu parametrelerden sadece sürenin arttırılmasıyla artmış; sıcaklığın arttırılmasıyla azalmış ve amonyak konsantrasyonunun arttırılmasıyla ilk etapta azalıp sonra artmıştır.

Süre arttıkça aflatoksin B1 gideriminin azalan bir artış gösterdiği, bu artışın da 60,8 dk civarında iyice azaldığı görülmektedir. Bu durum; optimum sürenin 60,8 dk'ye yakın olduğu, sürenin 60,8 dk'den fazla olduğu denemelerle optimum noktanın net olarak ortaya konulabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Sıcaklık azaldıkça aflatoksin B1 gideriminin net bir şekilde arttığı görülmektedir. Bu durum; nisbeten düşük sıcaklıktaki amonyak çözeltisi buharının pul bibere ulaşınca yoğunlaşması, bu yoğunlaşmayla birlikte pul biber numulerinin amonyak çözeltisiyle daha etkin bir biçimde karışabilmesi ile açıklanabilir. Nitekim denemeler yapılırken; son sıcaklık 110 °C olana kadar bu yoğunlaşmaların azalarak devam ettiği, 110 °C'den itibaren yoğunlaşmaların iyice azaldığı, 121 °C'de ise herhangi bir yoğunlaşma olmayıp gelen amonyak buharının hızlı bir biçimde sistemi terk ettiği görülmüştür. Kazan sıcaklığı 100 °C'nin altındayken elde

edilen buharı sistem içerisinde hareket ettirebilecek basınç farkı oluşmadığından, buhar sıcaklığının en düşük değeri 100 °C ile sınırlı kalmaktadır. Dahası deneysel süreçte son sıcaklığın 100 °C’de sabitlenmesinin bile zor olduğu görülmüştür.

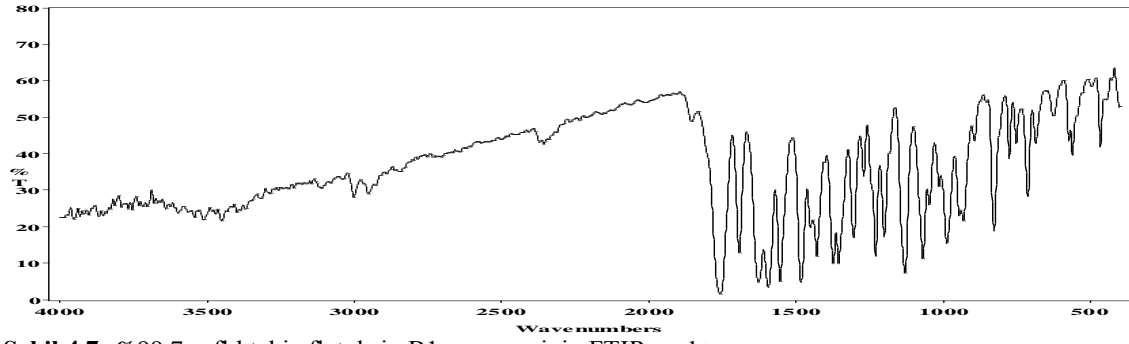
Daha önce de belirtildiği gibi aflatoksin B1 giderimi; amonyak konsantrasyonu %1 civarına ulaşana kadar azalma, %1’den sonra da artma eğilimindedir. Şekil.4.4 ve Şekil.4.6’da amonyak konsantrasyonunun %0,4 ile %1,6 olduğu noktalar karşılaştırılacak olursa; %0,4’te gerçekleştirilen aflatoksin B1 gideriminin daha başarılı olduğu söylenebilir.

4.3. FTIR Analizleri

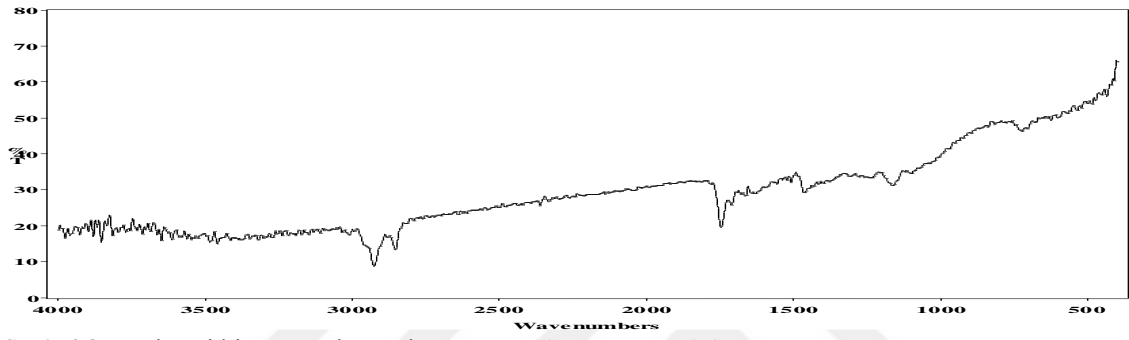
Amonyak çözeltisi buharına maruz bırakılan pul biber numuneleriyle birlikte; herhangi bir muamele yapılmamış pul biber numunesinin (en yüksek miktarda aflatoksin B1 içeren numune) ve yüksek saflıktaki aflatoksin B1 numunesinin FTIR analizleri yapılmıştır. Olası benzerliklerin ve farklılıkların net bir şekilde anlaşılabilmesi için bu bölümde; aflatoksin B1 numunesinin, herhangi bir muamele yapılmamış pul biber numunesinin ve aflatoksin B1 gideriminin en yüksek oranda gerçekleştirildiği iki numunenin FTIR spektrumları ele alınmıştır.

Şekil.4.7’ye bakıldığında; 1700 nm dalga boyu civarında görülen büyük piklerin, aflatoksin B1’in yapısındaki keton gruplarından kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Herhangi bir muamele yapılmamış pul biber numunesinin spektrumunda da (Şekil.4.8) bu pikler belirgin bir şekilde görülmektedir. Aynı pikler, Şekil.4.9 ve Şekil.4.10’da belirgin olmasa da görülmektedir ki yüksek oranda aflatoksin B1 giderimi gerçekleştirildiği için bu durum normaldir.

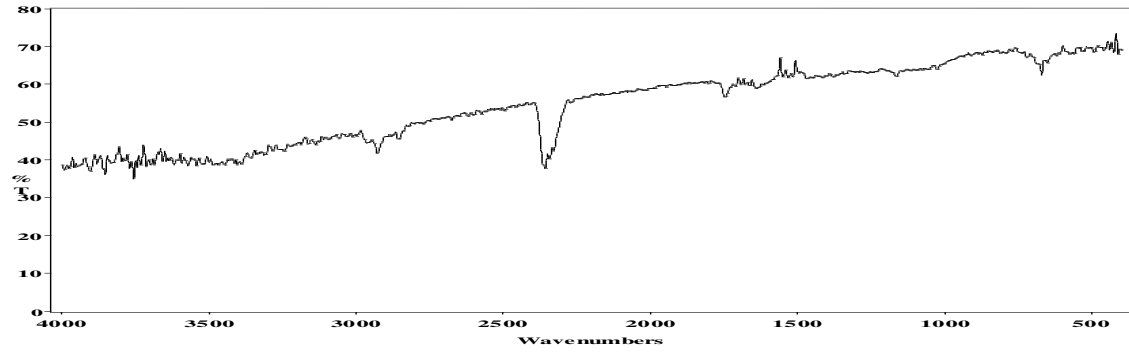
Aflatoksin B1 gideriminin en yüksek oranda gerçekleştirildiği numunelerde amonyak kalıntısı bulunup bulunmadığı, N-H bağının pik verdiği 3000-3500 nm dalga boyları arasına bakılarak anlaşılabilir. Ancak herhangi bir muamele yapılmamış pul biber numunesinde bile bu dalga boylarında çok sayıda küçük çaplı pik (gürültü) görülmektedir. Bu durum pul biberin saf bir madde olmamasından kaynaklanmaktadır. Dahası aflatoksin B1 gideriminin en yüksek oranda gerçekleştirildiği numunelere ait spektrumlarda da aynı dalga boylarında çok sayıda pik görülmekte, görülen bu piklerin pul biber içerisindeki hangi madde grubundan kaynaklandığı, hangi pikin muameleden önce veya sonra oluşmuş olabileceği net bir şekilde ortaya konulamamaktadır.



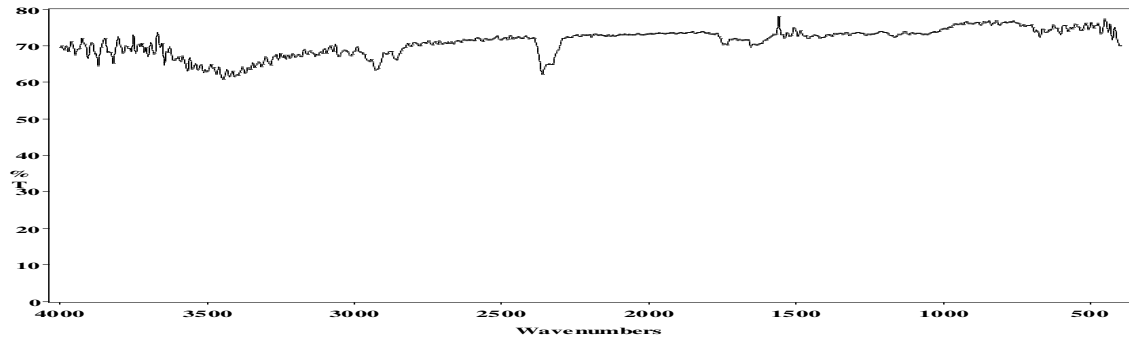
Şekil.4.7: %99,7 saflıktaki aflatoksin B1 numenesinin FTIR spektrumu



Şekil.4.8: Herhangi bir muamele yapılmamış pul biber numenesinin FTIR spektrumu



Şekil.4.9: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



Şekil.4.10: 40 dakika süreyle 100 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu

4.4. Yapılan Çalışmanın Performans Değerlendirmesi

Bugüne kadar aflatoksin B1 giderimine yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda; fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar kullanılmış ve farklı giderim yüzdeleri elde edilmiştir. Bu bölümde yapılan çalışmalarından bahsedilmiş, bu çalışmaların verileri yapılan tez çalışmasına ait verilerle birlikte Tablo.4.8’de özetlenmiştir.

Aflatoksinleri hasat sonrası engelleme; fiziksel, kimyasal veya mikrobiyolojik uygulamalarla yıkım, modifiye etme veya absorbe etme yoluyla işlemeyi içinde barındırmaktadır. İdeal metotlar; kullanımı kolay, ekonomik olmalı ve toksik yan ürünler üretmemeli veya gıdanın besleyiciliği gibi kalite parametrelerini değiştirmemelidir [8].

Aflatoksinlerin insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik etkili stratejilere olan ihtiyaç yüksektir. Bu stratejiler içerisindeki fiziksel yöntemlerden bazıları; mekanik işlemler, yoğunluk (dansite) ayrımı, termal inaktivasyon ve ısıtma işlemleri olarak sıralanabilir [44]. Aflatoksinlerle mücadelede gereksinim duyulan önleyici fiziksel yöntemlere ek olarak kimyasal ve biyolojik mücadele yöntemlerine de ihtiyaç duyulmaktadır [17]. Bu yöntemler arasında kimyasal inaktivasyon, detoksifikasyon için en etkili yöntemlerden biri olarak görülmektedir. Kimyasal inaktivasyon yöntemlerinde; alkali, asit, propilen oksit, klorin, ozon, sodyum hipoklorit, hidrojen peroksit ve diğer kimyasallar denenmektedir [45]. Biyolojik inaktivasyon yöntemlerinin geliştirilmesi için de çeşitli mikrobiyal işlemler denenmektedir [17].

Liu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, suya aflatoksin B1 ve UV uygulanmış, aflatoksin B1’in fotodegradasyon ürünleri karışımının (Pw) farklı konsantrasyonlarına maruziyetin mutajenitesi ve sitotoksitesisi belirtilmiş, buna göre UV uygulanmış örneklerin mutajenik aktivitesinin, uygulanmamış örneklerle göre düşük olduğu fakat tamamen elimine edilemediği sonucuna varılmıştır. HepG2 hücreleri bu bileşenlere belli süre ve konsantrasyonlarda maruz bırakılmış, Pw bileşiklerinin sitotoksitesisinin aflatoksin B1’e göre %40 daha düşük olduğu görülmüştür [46]. Bu durum; kimyasal detoksifikasyon yöntemlerinde görülebilen kimyasal atık ve yan ürün oluşumu problemlerine, fiziksel detoksifikasyon yöntemlerinde de rastlanabileceğini göstermektedir.

Alberts ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Rhodococcus erythropolis*’ in sıvı kültürlerinden elde edilen ekstraselüler ekstraktın aflatoksin B1’in biyodegradasyonunda kullanılabilirliği incelenmiş, aflatoksin B1’in etkili bir biçimde

biyodegrede olduğu, *R. erythropolis*'in ekstraselüler fraksiyonunun mutajenite düşüşüyle bağlantılı olduğu ve gerçekleşen biyodegradasyonun enzimatik olduğu sonuçlarına varılmıştır [47].

Alberts ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada beyaz çürükçül funguslardan lakkaz üretimi yoluyla aflatoksin B1'in biyodegradasyonu incelenmiş, lakkaz aktivitesi ile aflatoksin B1 degradasyonu arasında önemli bir korelasyon olduğu belirtilmiştir. Yapılan denemelerde, çeşitli suşların (bazıları rekombinant olmak üzere) ve/veya bunlardan elde edilen saf lakkaz enziminin değişik koşullar altında aflatoksin B1 degradasyonu incelenmiş, degradasyonun %35'ten % 87'ye kadar gerçekleşebildiği ortaya konulmuştur [48].

Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *Aspergillus niger*'in bir suşu olan ND-1'in sıvı besi ortamında 48 saatlik fermentasyondan sonra aflatoksin B1'i %26,3 oranında uzaklaştırabildiği belirtilmiştir. Fermentasyon şartları optimize edildilip, aynı suş optimal fermentasyon şartlarında 24 saat kültüre edildikten sonra ortamdaki aflatoksin B1'in %58,2'sinin degrade olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Daha sonra yapılan denemelerle *Aspergillus niger* suşunun süpernatantının degradasyon aktivitesinin, hücre ve hücre ekstraktından önemli derecede güçlü olduğu anlaşılmış, dahası; ısıtma işlemleri, pH ve metal iyonlarının süpernatantla aflatoksin B1 degradasyonuna etkisi incelenmiştir. Tüm bu sonuçlar; *Aspergillus niger*'in aflatoksin B1 degradasyonunun enzimatik olduğu ve sürecin hücre dışında işlediğini göstermiştir [49].

Biyolojik çalışmalar; kullanılan ajanın farklı ve uzun kültür süreleri gerektirmesi, yüksek sıcaklığa hassas olabilmesi, kullanıldığı ürünü tüketebilmesi ve bazı rekombine suşlarda kararsızlık gibi temel dezavantajlara sahiptir. Yapmış olduğumuz çalışmada en uzun deney süresi 75 dk'dır, ayrıca kullanılan kimyasalın ürünü tüketme riski, kullanılan kimyasalın zamanla farklı formlara dönüşme ihtimali yoktur.

Velazhahan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Ajowan bitkisinin (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill) diyalize edilmiş tohum ekstraktının aflatoksin B1 gideriminde %61'lik bir başarı sağladığı ortaya konulmuştur [50].

Yaptığımız çalışmada ise aflatoksin B1 giderimi; diyaliz ve ekstraksiyon gibi zahmetli işlemler olmadan, kullanımı kolay ve geliştirilmeye müsait bir sistemle %84,2'ye varan başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Mendez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; aflatoksin B1 ve aflatoksin B2'nin toplam konsantrasyonu $140 \pm 7,3$ ng/g olan sorgum, tek vidalı ekstrüderde pişirilmiştir. Ekstrüderin kovan bölümlerindeki sıcaklık profilinin 80-150-200 °C olduğu, unun nem içeriğinin; 0.5, 1, 2, 4 ve 8 N konsantrasyonlarındaki sitrik asit kullanılarak 200, 250 ve 300 g/kg'ye ayarlandığı belirtilmiştir. Kovanın sıcaklık profili, nem içeriği ve sitrik asit konsantrasyonu gibi faktörlerin birleşerek, ekstrüde edilmiş sorgumdaki aflatoksinin düşüş derecesini %17 den %92'ye kadar varan oranlarda etkilediği ortaya konulmuştur. Değişik ekstrüzyon şartları kullanılmasına rağmen, kabul edilebilir ürün rengi, viskozite, fonksiyonel ve yapısal özelliklerin görüldüğü ifade edilmiştir [51].

Yaptığımız çalışmada ise çıkılan en yüksek sıcaklık 121 °C'dir. Dahası kullanmış olduğumuz sistem düşük sıcaklıklarda daha başarılı sonuçlar vermiştir. Bu durum, çalışmada kullanılan sistemin çok daha düşük enerjiyle önemli ölçüde giderim yapabildiğini göstermektedir. Dahası sıcaklığın korozif etkisinden dolayı bakım masraflarının da daha düşük olacağı öngörülebilir. Genel olarak yaptığımız çalışmanın maliyet yönünden avantajlı olduğu yorumu yapılabilir.

Amonyak uygulamasıyla aflatoksinlerin bozunması laboratuvarlarda ve deneme arazilerinde yaygın bir şekilde çalışılmıştır. Bu detoksifikasyon çeşidi çok sayıda bilim adamı tarafından araştırılmıştır. Weng ve arkadaşları, amonyak uygulamasını; gaz amonyak veya amonyum hidroksitle mısır üzerinde denemiş ve aflatoksin konsantrasyonunu bazı koşullar altında (121 °C, 17 psi, 60 dk), %99'dan fazla oranda azaltmıştır [52].

Yaptığımız çalışmada ise pul biber üzerine belirli sıcaklıklardaki amonyak çözeltisi buharının açık bir sistemde uygulanmasıyla aflatoksin B1 giderimi yapılmıştır. Sistem atmosfere açık olduğu için pul biber üzerinde herhangi bir basınç oluşumu söz konusu değildir. Çalışmamızda kullandığımız açık sistemde elde edilen maksimum giderim yüzdesi, önceden yapılmış çalışmada kullanılan kapalı sisteme göre daha düşüktür. Bununla birlikte kullandığımız sistem; daha az güvenlik önlemi gerektirebilmekte, sıcaklık düştükçe daha başarılı sonuç vermekte ve kimyasalın akıp gitmesi sağlandığı için, ürünün kimyasal atık barındırma riskini düşürmektedir.

Tablo.4.8: Aflatoksin B1 giderimi için yapılan farklı çalışmaların deneysel verileri

Kullanılan Ajan	Sistem Türü	Maksimum Giderim Yüzdesi	Referans
Lakkaz enzimi	Kapalı	%87	48
<i>A. niger</i> (ND-1)	Kapalı	%58,2	49
Ajowan ekstraktı	Açık	%61	50
Sitrik asit	Açık	%92	51
Amonyak	Kapalı	%99>	52
Amonyak	Açık	%84,2	Tez çalışması

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; Türkiye ve Dünya için önemli bir ticari ürün olan pul biber içerisindeki aflatoksin B1 miktarı; açık bir sistemde uygulanan amonyak ile %15'ten %84,2'ye varan oranlarda azaltılmıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilen kazanımlar şu şekilde sıralanabilir:

- ✓ Çalışmada elde edilen maksimum giderim oranı %84,2'dir. Kullanılan yöntemin başarısı; giderim yapılan ürün çeşidi, giderimde kullanılan kimyasal çeşidi ve belirlenen deneysel aralıklara göre değişebileceğinden, yapılacak ileri çalışmalarla giderim oranı daha da arttırılabilir.
- ✓ Çalışmada elde edilen sonuçlar kendi içerisinde tutarlı olmakla birlikte umut vericidir. Ancak, giderim işlemine maruz kalan ürünlerin insan tüketimine sunulabilmesi için; öncelikle deney hayvanları üzerinde denenmesi, herhangi bir sağlık problemine yol açmadığı saptanırsa da duysal analizlerle desteklenmesi gerekmektedir.
- ✓ Yapılan uygulamanın sağlık sorunlarına yol açmayıp duysal açıdan problem teşkil etmesi durumunda, giderim yapılan ürünlerin hayvan yemi olarak değerlendirilmesine yönelik çalışmalar yapılabilir. Bu çalışmalar başarılı olursa da; herhangi bir biçimde atıl duruma düşen insani gıdaların (küflü ekmek, restoranların yemek artıkları gibi) bu işleminden geçirilerek hayvan yemi olarak değerlendirilmesi mümkün olabilir.
- ✓ Yapılan uygulamanın herhangi bir şekilde insan hayatına adapte edilebileceği anlaşırsa, endüstriyel boyutta giderim için ölçek büyütme çalışmaları yapılmalıdır. Çalışma dahilinde kullanılan sistemin açık olması nedeniyle, işlem kapasitesinin endüstriyel ölçeğe uyarlanmasının kolay olabileceği düşünülmektedir.
- ✓ Kurutmanın iyi yapılmadığı durumlarda, aflatoksin B1 giderimi yapılan ürünün nem kapıp tekrar küflenmesi ve tekrar aflatoksin B1 üretmesi mümkün olabilmektedir. Bu durumun engellenebilmesi için aflatoksin B1 giderimi yapılan ünitelerin kurutma sistemleriyle desteklenmesi sağlanmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- [1] **Çelik, K. S.**, 2010. Gıda Ürünlerinde İmmüno Afinite Kolonunda Temizleme (Clean Up) İşleminde Sonra İyot Türevlendirmesi Yapılarak HPLC ile Aflatoksin B1, B2, G1, G2 Türevlerinin Tayini, *Yüksek Lisans Tezi*. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- [2] **Girgin, G., Başaran, N. ve Şahin, G.**, 2001. *Dünyada ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler*. Mycotoxins in Turkey and the World, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, **58**(3): s. 97-118.
- [3] **Güntekin, S.**, 2007. Tüketime Sunulan Kırmızı Pul Biberlerde Aflatoksin B1 Miktarının Elisa Yöntemiyle Araştırılması.
- [4] **Arslan, R.**, 2013. Türkiye’de Üretilen Bazı Organik Baharat ve Bitkisel Çayların Aflatoksin B1 Düzeyleri ve Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- [5] **Inoue, T., Nagatomi, Y., Uyama, A. and Mochizuki, N.**, 2013. *Fate of mycotoxins during beer brewing and fermentation*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 77(7), 1410-1415.
- [6] **Sedefoğlu, C.**, 2013. Antep Fıstıklarında Okratoksin A ve Aflatoksin Varlığının İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [7] **Karapınar, H. S.**, 2013. Bazı gıdaların aflatoksin içeriğinin HPLC metodu ile tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- [8] **Yang, J., Li, J., Jiang, Y., Duan, X., Qu, H., Yang, B. and Sivakumar, D.**, 2014. *Natural occurrence, analysis, and prevention of mycotoxins in fruits and their processed products*. Critical reviews in food science and nutrition, 54(1), 64-83.
- [9] **Karakaş, T.**, 2013. İnce Tabaka Kromatografisinde Yeni Bir Teknikle Kırmızı Biberde Aflatoksin Tayini.

- [10] **Strosnider, H., Azziz-Baumgartner, E., Banziger, M., Bhat, R. V., Breiman, R., Brune, M. N. and Henry, S. H.,** 2006. *Workgroup report: public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries.* Environmental health perspectives, 1898-1903.
- [11] **Tunail, N.,** 2000. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları.* Baskı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, s. 44.
- [12] **Aydın, N.,** 2000. *Hayvan Sağlığında Mikotoksinler ve Mikotoksikozisler.*
- [13] **Tiryaki, O., Seçer, E. ve Temur, C.,** 2011. *Yemlerde Mikotoksin Oluşumu, Toksisiteleri ve Mikotoksin Kalıntı Analizleri,*
- [14] **Fernández-Cruz, M.L., Mansilla, M. L. and Tadeo, J. L.,** 2010. *Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications.* Journal of Advanced Research, **1**(2): s. 113-122.
- [15] **Oliveira, P.M., Zannini, E. and Arendt, E. K.,** 2014. *Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: From crop farming to cereal products.* Food microbiology, **37**: s. 78-95.
- [16] **da Rocha, M. E. B., Freire, F. D. C. O., Maia, F. E. F., Guedes, M. I. F. and Rondina, D.,** 2014. *Mycotoxins and their effects on human and animal health.* Food Control, 36(1), 159-165.
- [17] **Keser, O. ve Kutay, H. C.,** 2009. *Mikotoksinlerin Önlenmesinde Kullanılan Bazı Yöntemler II. Kimyasal ve Biyolojik Yöntemler.* İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, **35**(1): s. 19-30.
- [18] **Barkai-Golan, R. and Paster, N.,** 2011. *Mycotoxins in fruits and vegetables,* Academic Press.
- [19] **Jackson, L.S. and Al-Taher, F.,** 2001. *Factors affecting mycotoxin production in fruits.* The Fungi, s. 75.

- [20] **Topdemir, A.**, 2010. Hazır Elma ve Domates Suları ile Domates Salçalarındaki Alternaria Toksinlerinin Belirlenmesi, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [21] **Prelle, A., Spadaro, D., Garibaldi, A. and Gullino, M. L.**, 2013. *A new method for detection of five alternaria toxins in food matrices based on LC–APCI-MS*. Food chemistry, 140(1), 161-167.
- [22] **Van Egmond, H., Jonker, M. and Rivka, B.**, 2008. *Regulations and limits for mycotoxins in fruits and vegetables*. Mycotoxins in fruits and vegetables, **1**: s. 45-74.
- [23] **Aydin, H. ve Oğuz, H.**, 2012. *Mısır silajında aflatoksin b1 ve zearalenon kirliliklerinin yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC)-florodansitometrik yöntemle belirlenmesi*. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Dergisi, **18**(1): s. 151-156.
- [24] **Kadakal, Ç. ve Nas, S.**, 2011. *Elma ve Elma Ürünlerinde Patulin Miktarını Etkileyen Faktörler*. Pamukkale University Journal of Engineering Sciences, **6**(1).
- [25] **Saraçoğlu, A. ve Ergun, B.**, 2003. *Fumonisinler: Toksisite ve Etki Mekanizmaları Üzerine*.
- [26] **Berthiller, F., Sulyok, M., Krska, R. and Schuhmacher, R.**, 2007. *Chromatographic methods for the simultaneous determination of mycotoxins and their conjugates in cereals*. International Journal of Food Microbiology, 119(1), 33-37.
- [27] **Yıldız, T.**, 2014. *Tavuk Etinde Antibiyotik Kalıntılarının HPLC Yöntemiyle Belirlenmesi*, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [28] **Asghar, M. A., Iqbal, J., Ahmed, A., Khan, M. A., Shamsuddin, Z. A. and Jamil, K.**, 2016. *Development and validation of a high-performance liquid chromatography method with post-column derivatization for the detection of aflatoxins in cereals and grains*. Toxicology and industrial health, 32(6), 1122-1134.

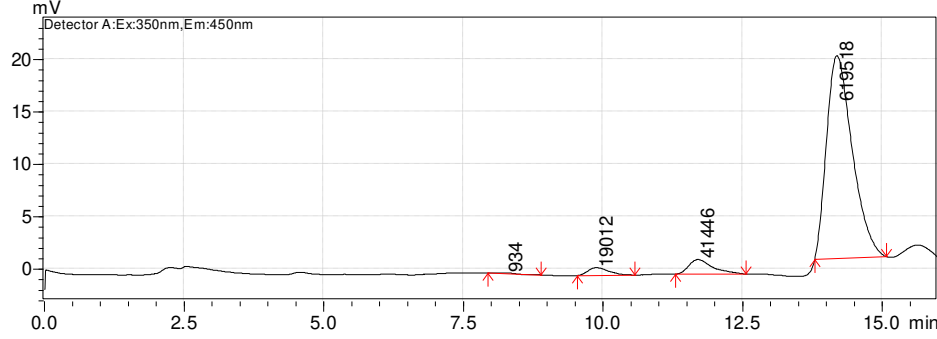
- [29] <http://ttm.istanbul.edu.tr/?p=8677> İstanbul Üniversitesi Teknoloji Transfer Merkezi (İÜTTM), Likit Kromatografisi-Kütle Spektrometresi. 10 Temmuz 2016.
- [30] **Zöllner, P. and Mayer-Helm, B.**, 2006. *Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography-atmospheric pressure ionisation mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, **1136**(2): s. 123-169.
- [31] **Oruç, H. H.**, 2005. *Mikotoksinler ve tanı yöntemleri*. Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med, **24**: s. 105-110.
- [32] **Var, I., Kabak, B. ve Özkarslı, M.**, 2004. *Mikotoksin aranmasında kullanılan analiz yöntemleri*. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, **2**(11): s. 1-11.
- [33] **Turner, N.W., Subrahmanyam, S. and Piletsky, S.A.**, 2009. *Analytical methods for determination of mycotoxins: a review*. Analytica Chimica Acta, **632**(2): s. 168-180.
- [34] **Aras, Z.**, 2011. *Mikrobiyolojide Kullanılan Hızlı Tanı Yöntemleri*. Türk Hij. Den. Biyol. Derg., **68**(2): s. 97-104.
- [35] **Goryacheva, I. Y., Saeger, S. D., Eremin, S. A. and Peteghem, C. V.**, 2007. *Immunochemical methods for rapid mycotoxin detection: Evolution from single to multiple analyte screening: A review*. Food additives and contaminants, **24**(10), 1169-1183.
- [36] **Pascale, M. N.**, 2009. *Detection methods for mycotoxins in cereal grains and cereal products*. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, (117): s.15-25.
- [37] **Demircioğlu, S. ve Filazi, A.**, *Türkiye’de Üretilen Kırmızıbiberlerde Aflatoksin Kalıntılarının Araştırılması*.
- [38] <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8-1.pdf> Türk Gıda Kodeksi (TGK), Gıdalardaki Bulaşanların Maksimum Limitleri. 13 Temmuz 2016.

- [39] **Yalçın, D.**, 2008. *Kırmızı Pul Biber Üretiminde Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri*. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, **11**: s. 2.
- [40] **Akbay, C., Tiryaki, G. Y., Candemir, S., ve Arpacı, B. B.**, 2012. *Kahramanmaraş ve Gaziantep İllerinde Kırmızıbiberin Üretim Yapısı ve Kurutma Yöntemleri*. Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal Of Natural Sciences, 15(2), 1-10.
- [41] <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> Faostat, Türkiye'de Yıllık Biber Üretim Miktarı (Ton). 15 Şubat 2016.
- [42] www.tuik.gov.tr. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Türkiye'de Yıllık Kırmızı Biber Üretim Miktarı (Ton). 15 Şubat 2016.
- [43] **Öztekin, S., Işıkber, A. A., Dayısoylu, K.S., Duman, A. D., ve Soysal, Y.**, 2006. *Baharatlık Kırmızı Biber Üretiminde Güncel Uygulamalar ve Sektörün Sorunları*. Tarım Makinaları Bilimi Dergisi, 2(3).
- [44] **Keser, O. ve Kutay, H. C.**, 2008. *Mikotoksinlerin Önlenmesinde Kullanılan Bazı Yöntemler I. Fiziksel Yöntemler*. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, **34**(2): s. 63-70.
- [45] **Lillehoj, E., Lagoda, A. and Maisch, W.**, 1979. *The fate of aflatoxin in naturally contaminated corn during the ethanol fermentation*. Canadian journal of microbiology, **25**(8): s. 911-914.
- [46] **Liu, R., Chang, M., Jin, Q., Huang, J., Liu, Y. and Wang, X.**, 2011. *Degradation of aflatoxin B1 in aqueous medium through UV irradiation*. European Food Research and Technology, 233(6), 1007-1012.
- [47] **Alberts, J. F., Engelbrecht, Y., Steyn, P. S., Holzapfel, W.H. and Van Zyl, W. H.**, 2006. *Biological degradation of aflatoxin B1 by Rhodococcus erythropolis cultures*. International journal of food microbiology, 109(1), 121-126.
- [48] **Alberts, J. F., Gelderblom, W. C. A., Botha, A. and Van Zyl, W. H.**, 2009. *Degradation of aflatoxin B1 by fungal laccase enzymes*. International journal of food microbiology, 135(1), 47-52.

- [49] **Zhang, W., Xue, B., Li, M., Mu, Y., Chen, Z., Li, J. and Shan, A., 2014.** *Screening a strain of Aspergillus niger and optimization of fermentation conditions for degradation of aflatoxin B1.* *Toxins*, 6(11), 3157-3172.
- [50] **Velazhahan, R., Vijayanandraj, S., Vijayasamundeeswari, A., Paranidharan, V., Samiyappan, R., Iwamoto, T. and Muthukrishnan, S., 2010.** *Detoxification of aflatoxins by seed extracts of the medicinal plant, Trachyspermum ammi (L.) Sprague ex Turrill—Structural analysis and biological toxicity of degradation product of aflatoxin G1.* *Food Control*, 21(5), 719-725.
- [51] **Mendez-Albores, A., Martinez-Bustos, F, Veles-Medina, J. J., Moreno-Ramos, C., Del Rio-Garcia, J., C. and Moreno-Martinez, E., 2009.** *Effect of Citric Acid Addition on Aflatoxin Degradation and on Functional Properties of Extruded Sorghum Products.* *Interciencia*, 34(4): s. 252-258.
- [52] **Leibetseder, J., 2006.** *Decontamination and detoxification of mycotoxins.* *Biology of Growing Animals*, 4: s. 439-465.

7. EKLER

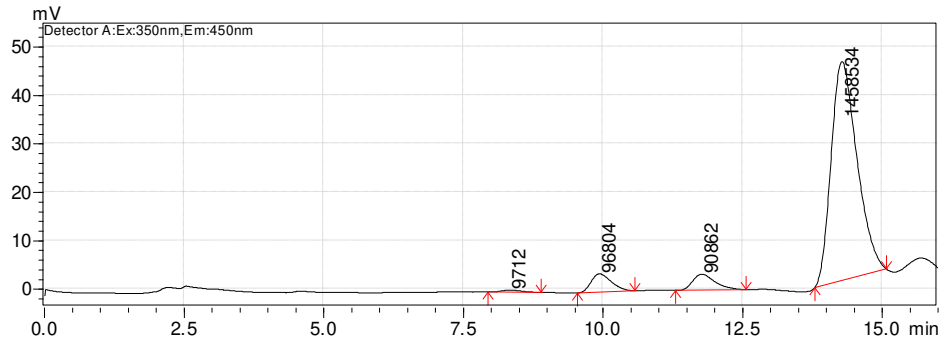
7.1. Pul Biber Numunelerinin Kromatogramları ve Aflatoksin İçerikleri



Şekil.E7.1.1: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.1: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

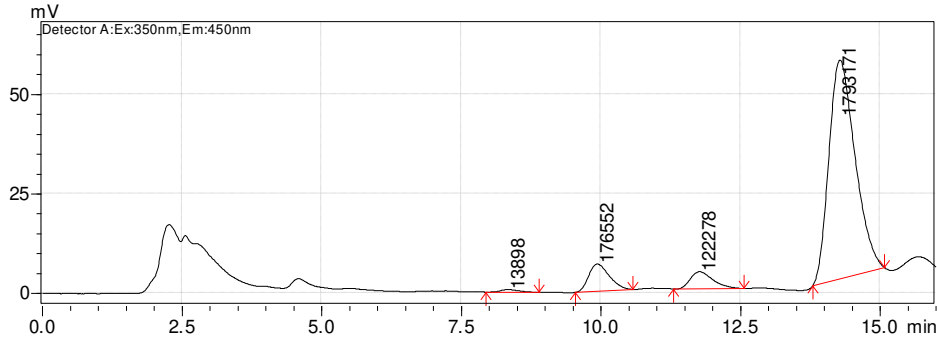
İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.260	0.23803	1
Afla G1	9.884	0.39922	2
Afla B2	11.696	0.38723	3
Afla B1	14.187	4.11515	4



Şekil.E7.1.2: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.2: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

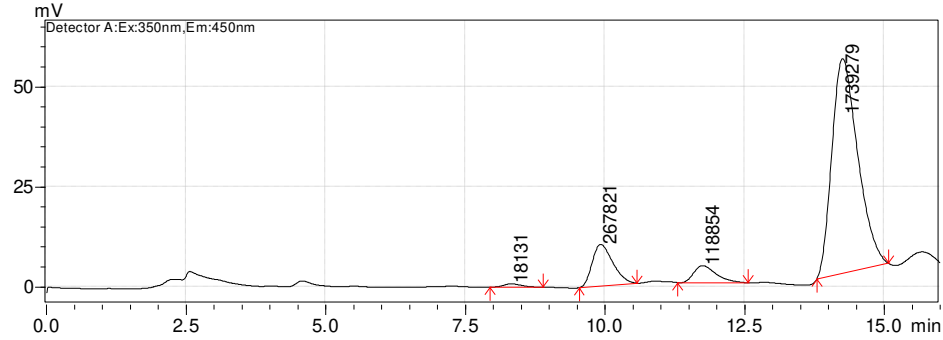
İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.322	0.29599	1
Afla G1	9.930	1.10706	2
Afla B2	11.769	0.58809	3
Afla B1	14.277	9.36177	4



Şekil.E7.1.3: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü(1)

Tablo.E7.1.3: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları(1)

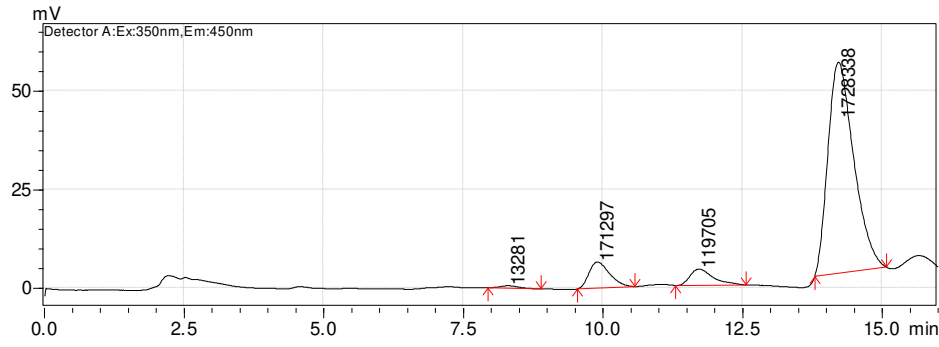
İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.336	0.32362	1
Afla G1	9.929	1.83269	2
Afla B2	11.761	0.71579	3
Afla B1	14.275	11.45437	4



Şekil.E7.1.4: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü(2)

Tablo.E7.1.4: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları(2)

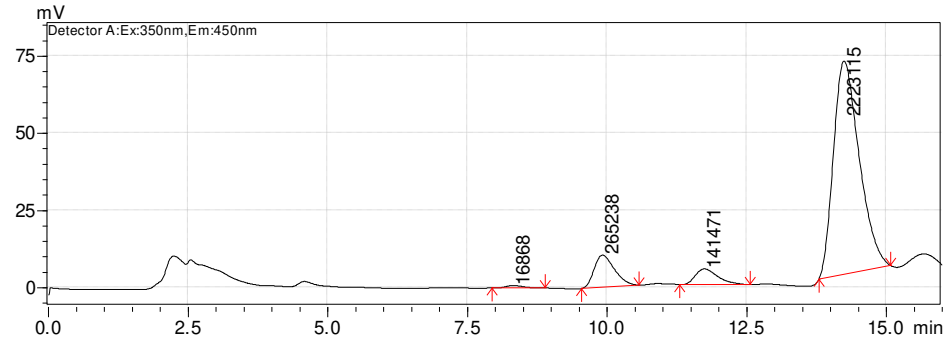
İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.322	0.35157	1
Afla G1	9.917	2.66315	2
Afla B2	11.744	0.70187	3
Afla B1	14.251	11.11736	4



Şekil.E7.1.5: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü (3)

Tablo.E7.1.5: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları(3)

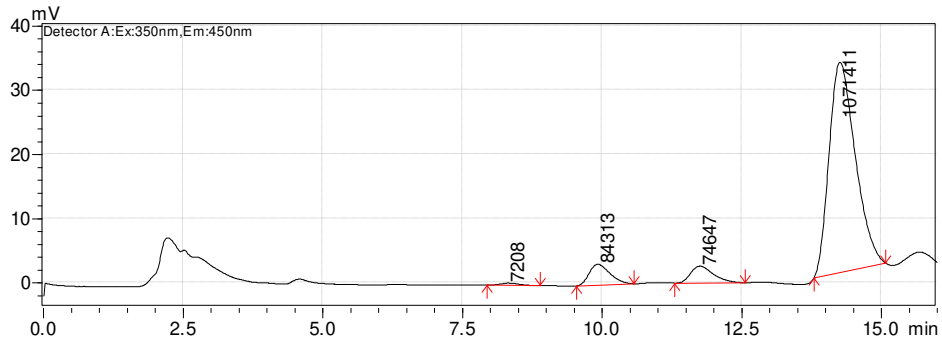
İsim	Ahkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.301	0.31955	1
Afla G1	9.892	1.78488	2
Afla B2	11.714	0.70533	3
Afla B1	14.212	11.04895	4



Şekil.E7.1.6: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.6: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

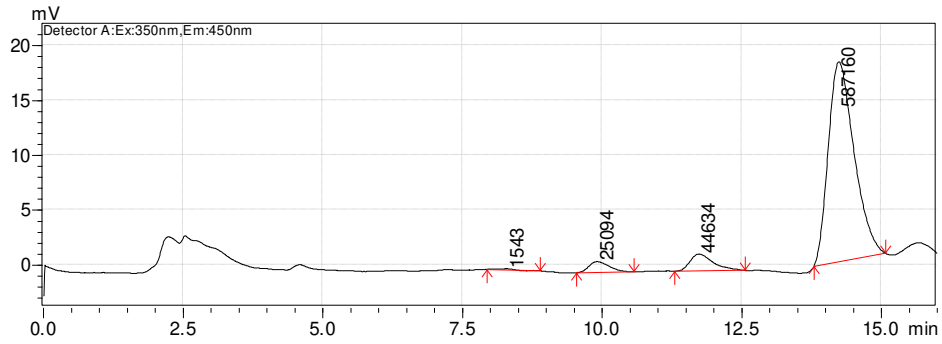
İsim	Ahkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.318	0.34323	1
Afla G1	9.915	2.63965	2
Afla B2	11.734	0.79380	3
Afla B1	14.240	14.14294	4



Şekil.E7.1.8: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %2 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.8: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %2 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

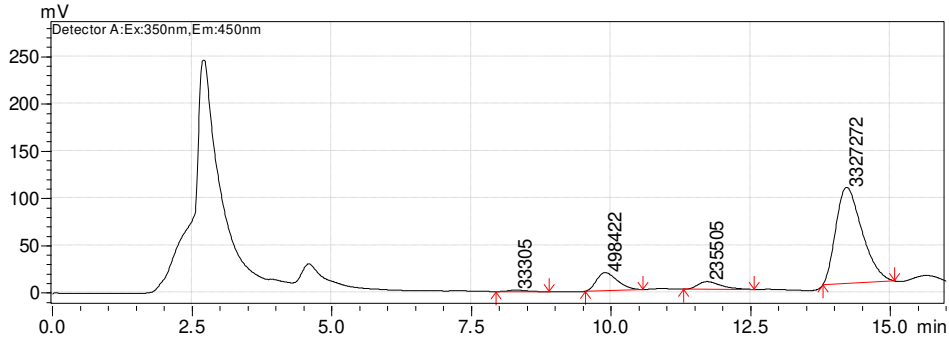
İsim	Ablıkona Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.315	0.27945	1
Afla G1	9.921	0.99340	2
Afla B2	11.751	0.52218	3
Afla B1	14.255	6.94098	4



Şekil.E7.1.9: 40 dakika süreyle 100 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.9: 40 dakika süreyle 100 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

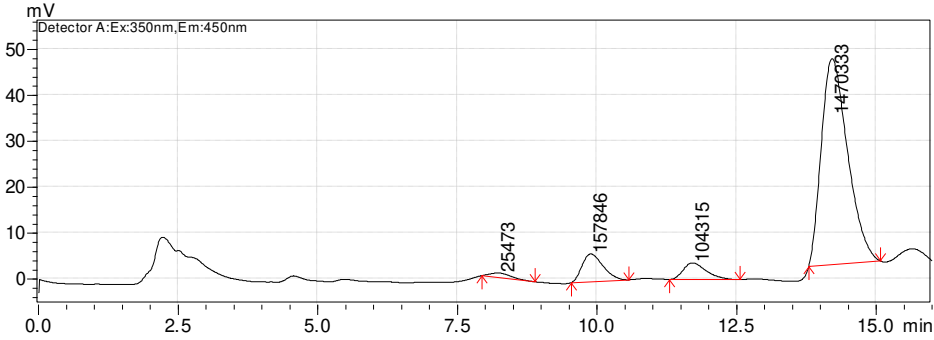
İsim	Ablıkona Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.298	0.24205	1
Afla G1	9.909	0.45456	2
Afla B2	11.733	0.40019	3
Afla B1	14.237	3.91280	4



Şekil.E7.1.10: 5 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.10: 5 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

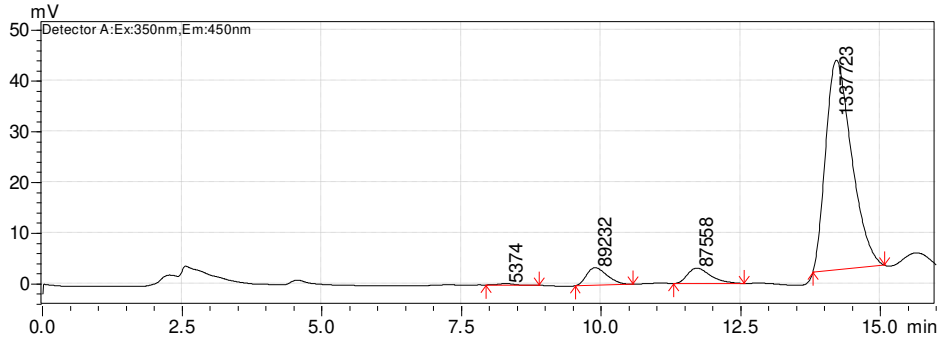
İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.286	0.45175	1
Afla G1	9.891	4.76140	2
Afla B2	11.717	1.17601	3
Afla B1	14.215	21.04758	4



Şekil.E7.1.11: 75 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.11: 75 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

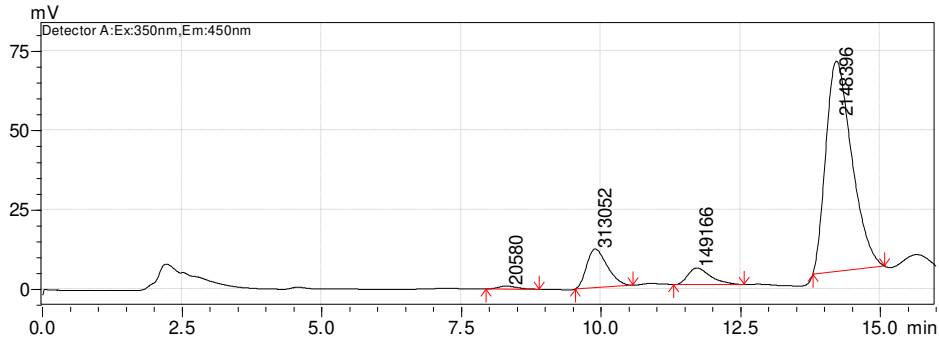
İsim	Alıkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.234	0.40004	1
Afla G1	9.886	1.66248	2
Afla B2	11.709	0.64277	3
Afla B1	14.207	9.43556	4



Şekil.E7.1.12: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.12: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

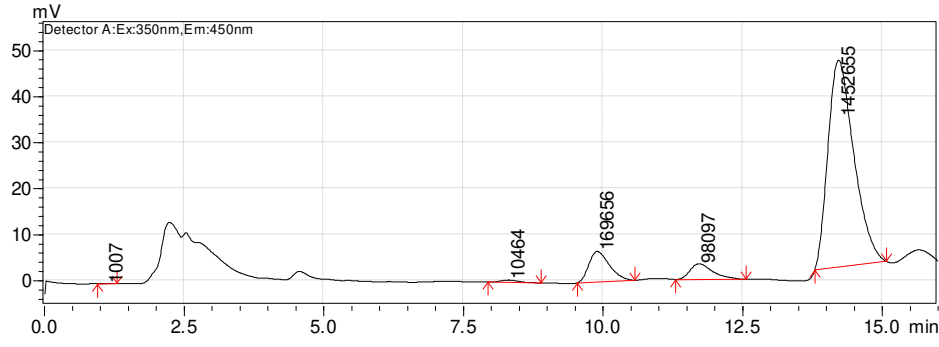
İsim	Ablkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.302	0.26734	1
Afla G1	9.891	1.03816	2
Afla B2	11.710	0.57466	3
Afla B1	14.210	8.60631	4



Şekil.E7.1.13: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.13: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

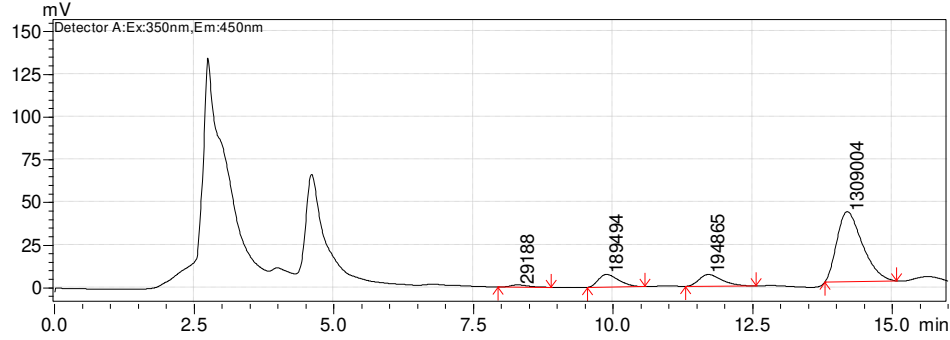
İsim	Ablkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.302	0.36774	1
Afla G1	9.893	3.07471	2
Afla B2	11.707	0.82507	3
Afla B1	14.211	13.67570	4



Şekil.E7.1.14: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.14: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

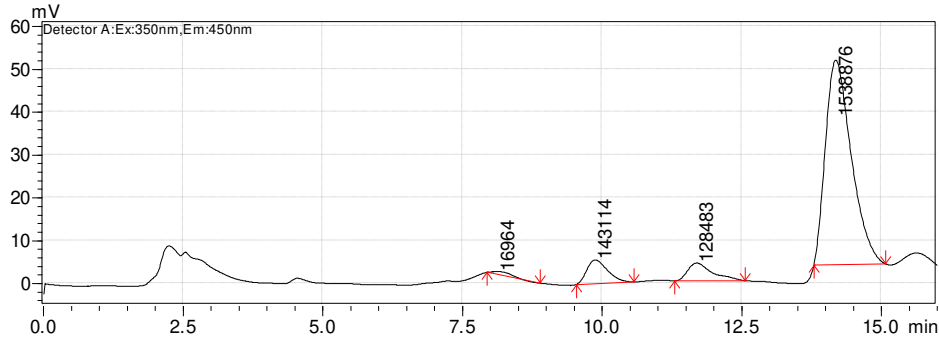
İsim	Ahkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.305	0.30095	1
Afla G1	9.892	1.76994	2
Afla B2	11.713	0.61750	3
Afla B1	14.213	9.32502	4



Şekil.E7.1.15: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.15: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

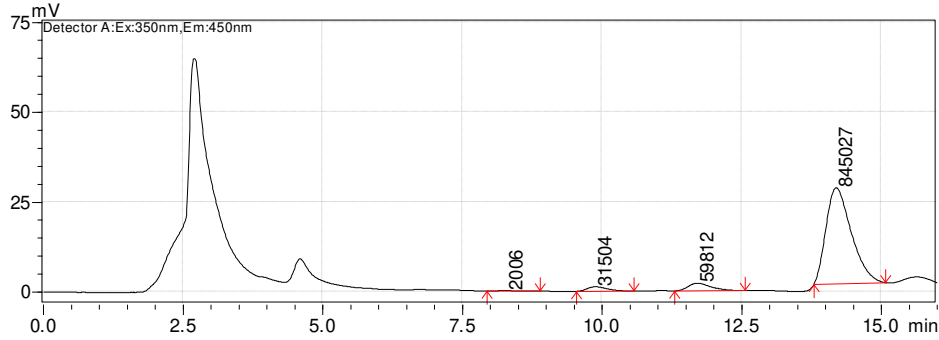
İsim	Ahkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.288	0.42457	1
Afla G1	9.881	1.95045	2
Afla B2	11.703	1.01083	3
Afla B1	14.191	8.42672	4



Şekil.E7.1.16: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.16: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

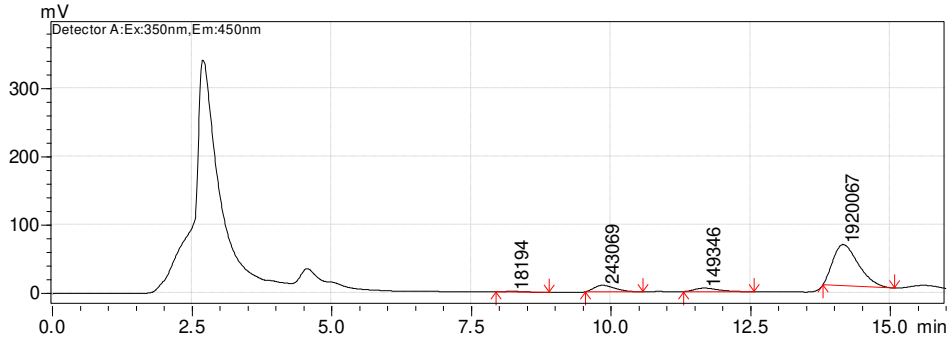
İsim	Altkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.137	0.34387	1
Afla G1	9.877	1.52843	2
Afla B2	11.694	0.74101	3
Afla B1	14.181	9.86418	4



Şekil.E7.1.17: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

Tablo.E7.1.17: 60,8 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

İsim	Altkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.286	0.24511	1
Afla G1	9.878	0.51288	2
Afla B2	11.696	0.46188	3
Afla B1	14.188	5.52533	4

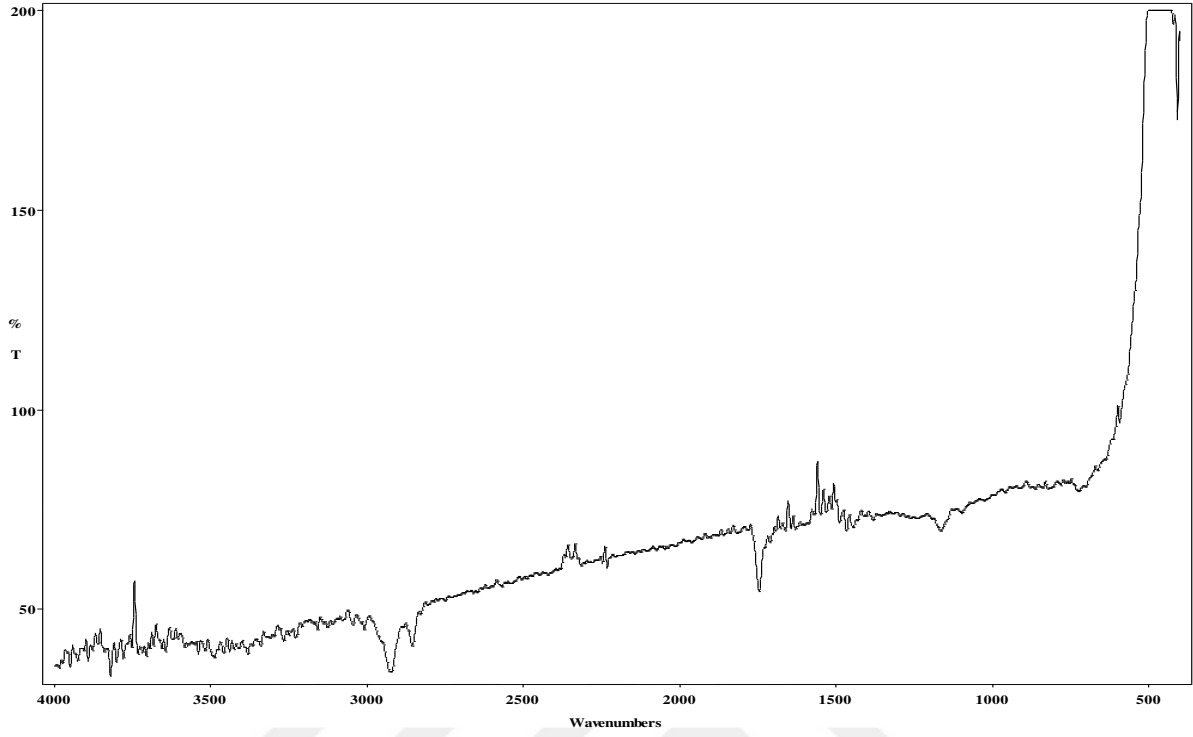


Şekil.E7.1.18: 40 dakika süreyle 121 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin kromatogram görüntüsü

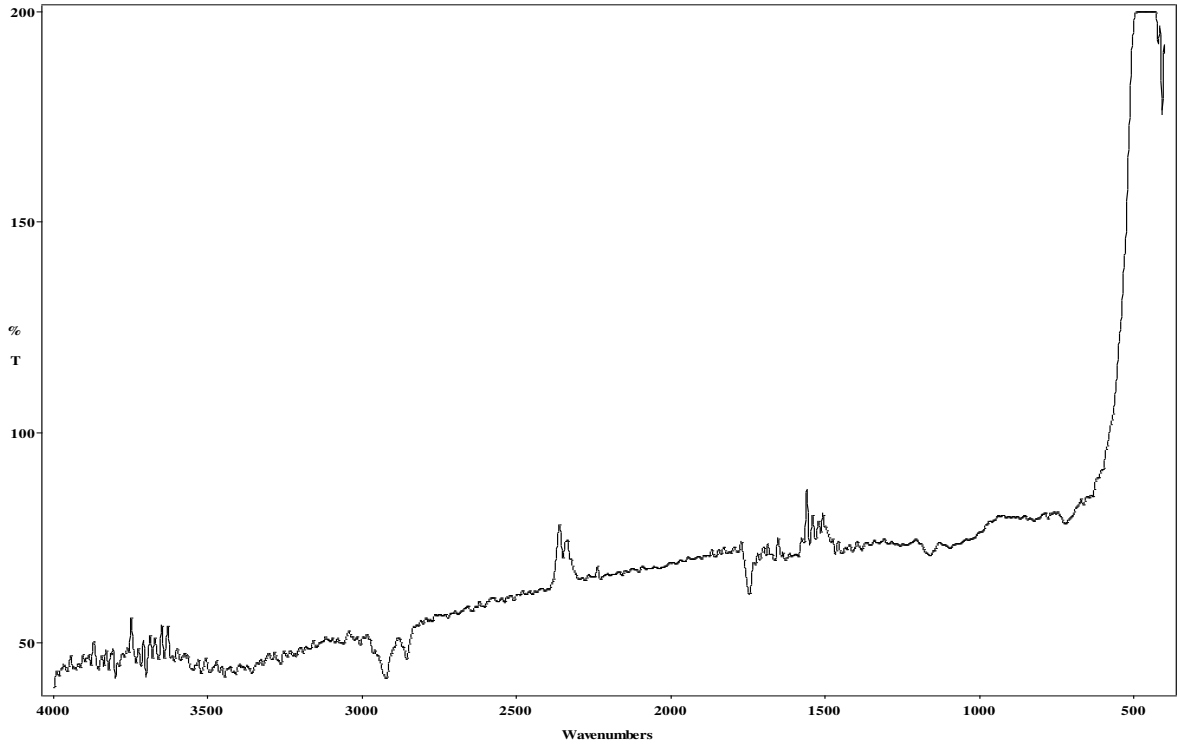
Tablo.E7.1.18: 40 dakika süreyle 121 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin aflatoksin konsantrasyonları

İsim	Ablkonma Süresi	Konsantrasyon (ppb)	Pik Sırası
Afla G2	8.227	0.35199	1
Afla G1	9.845	2.43793	2
Afla B2	11.664	0.82581	3
Afla B1	14.150	12.24789	4

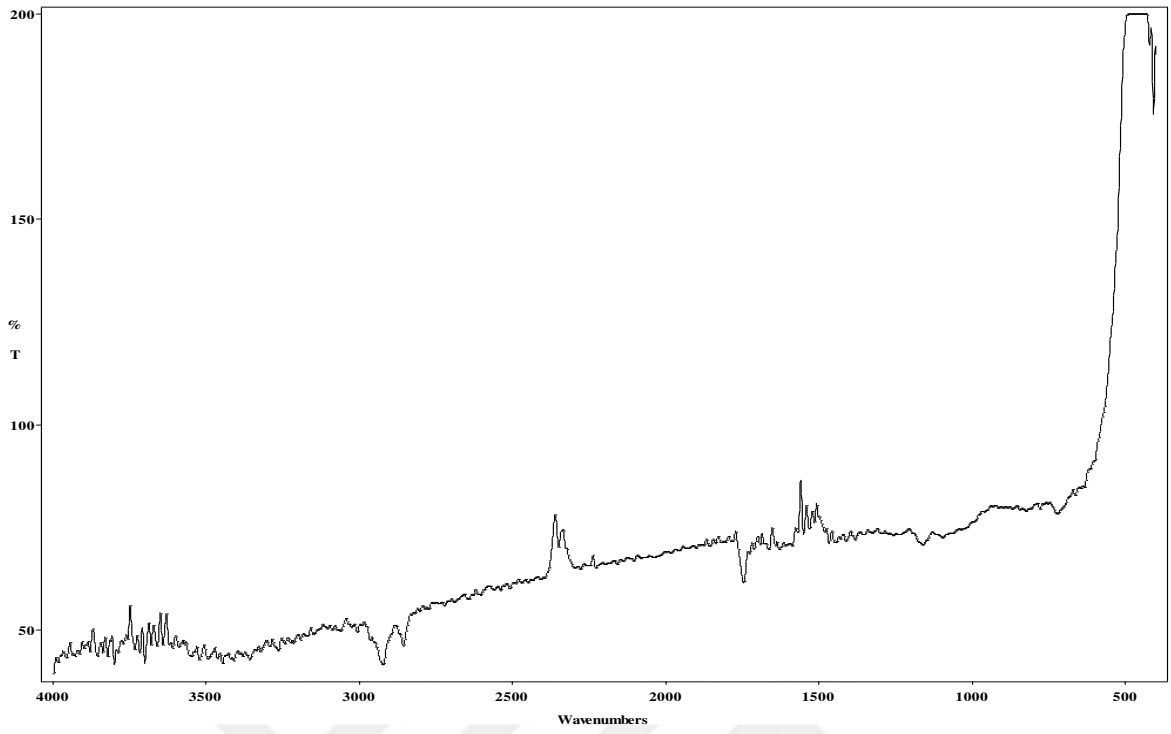
7.2. Pul Biber Numunelerinin FTIR Spektrumları



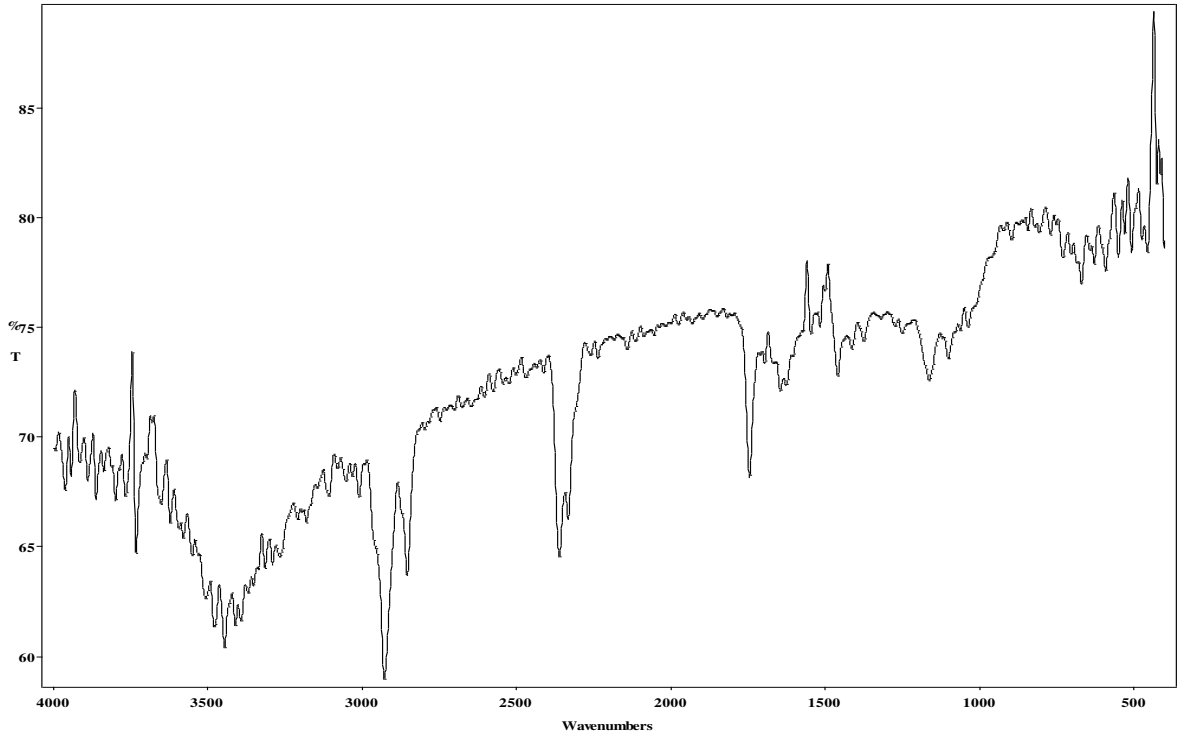
Şekil.E.7.2.1: 15 dakika süreyle 100 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



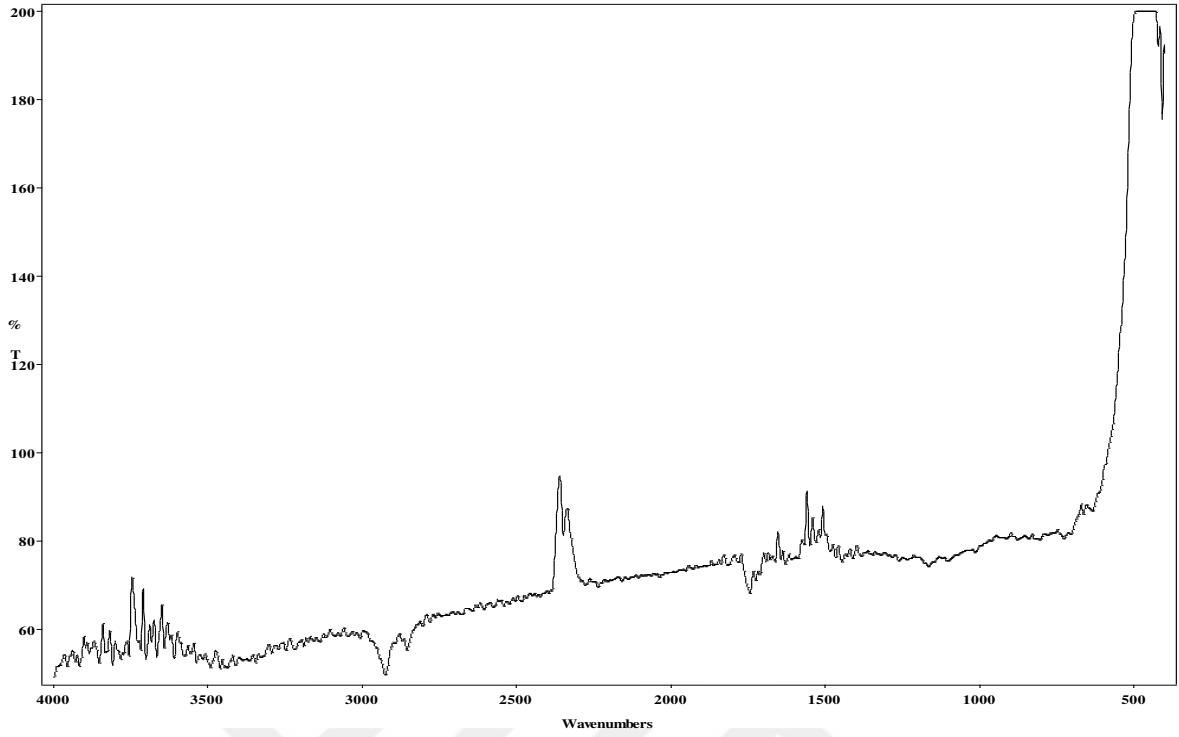
Şekil.E7.2.2: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



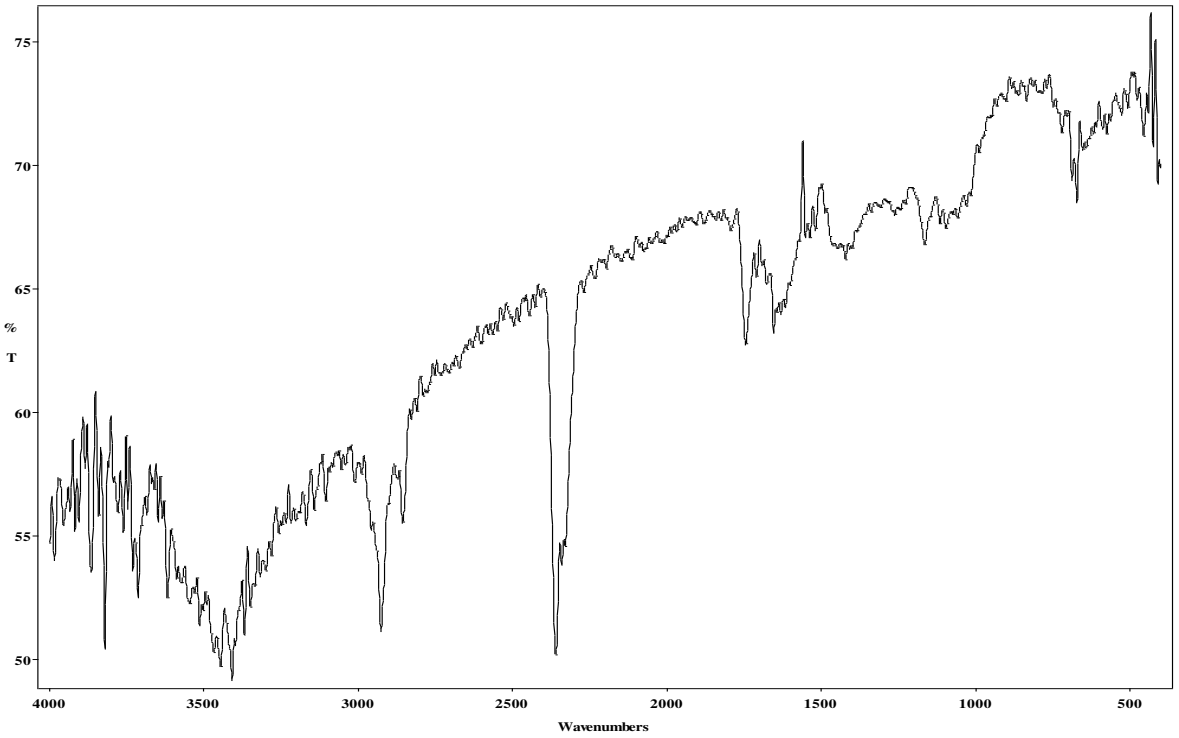
Şekil.E7.2.3: 19,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



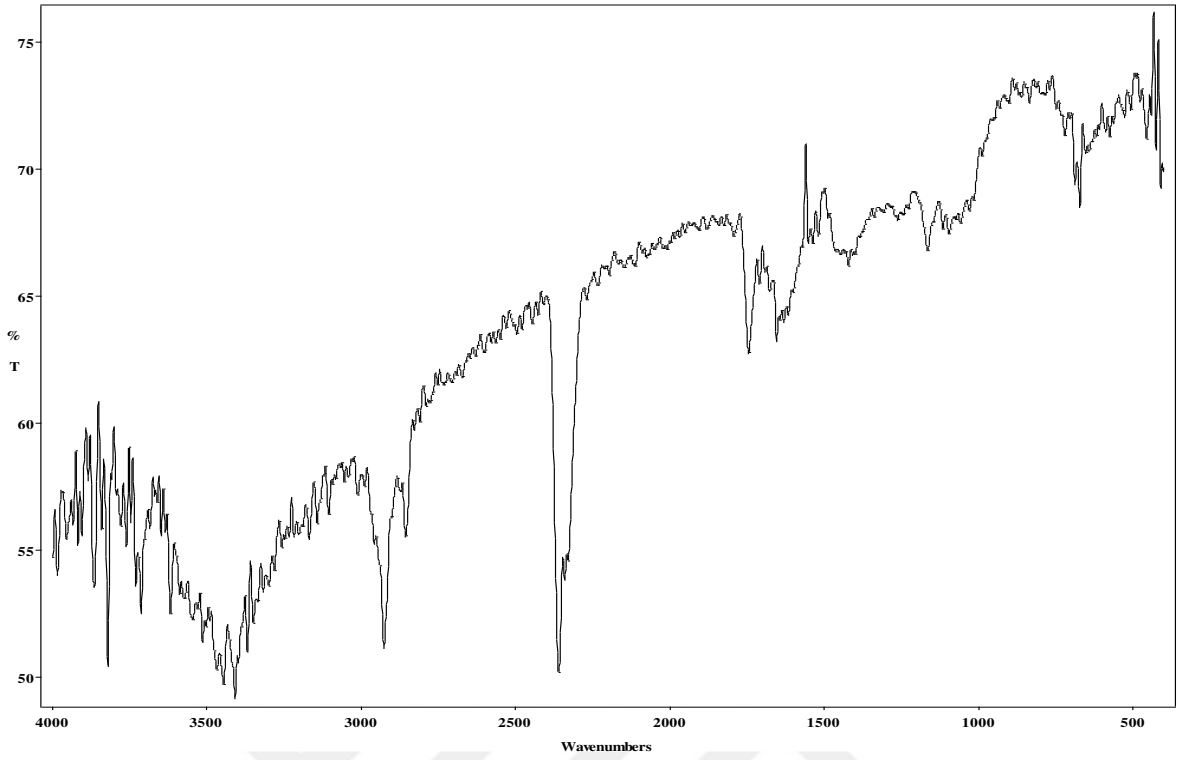
Şekil.E7.2.4: 60,2 dakika süreyle 104,3 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



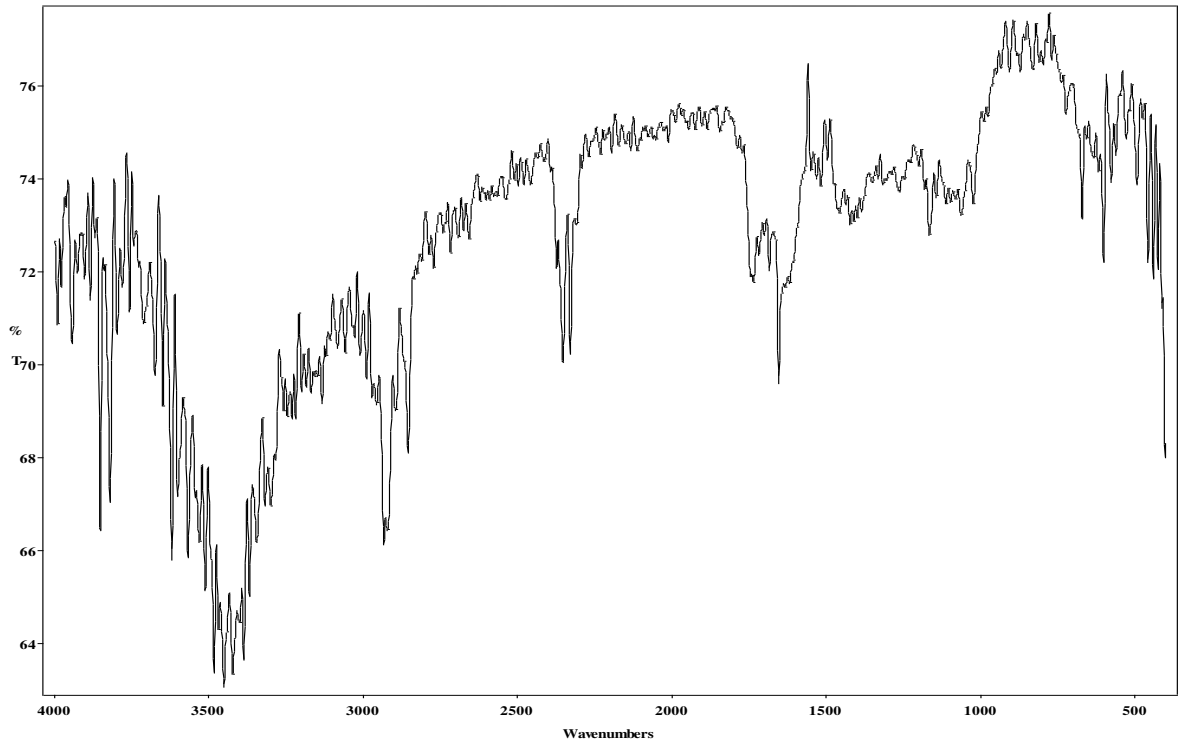
Şekil.E7.2.5: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %0 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



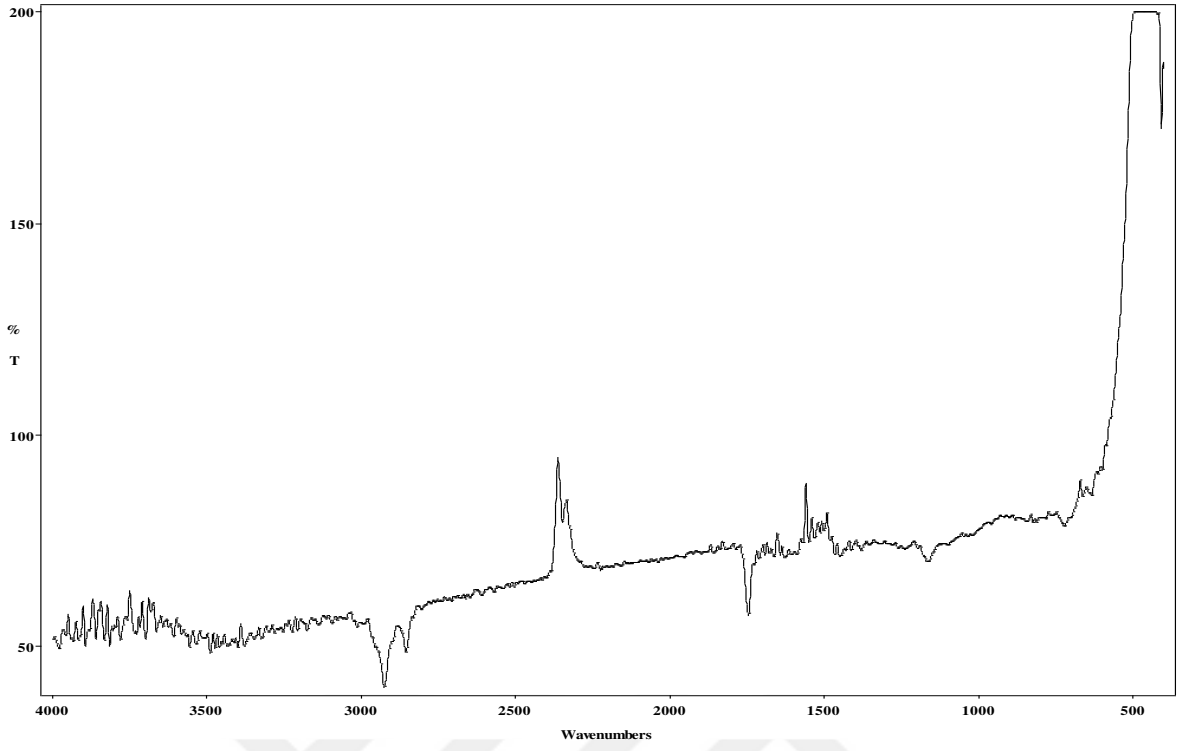
Şekil.E7.2.6: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



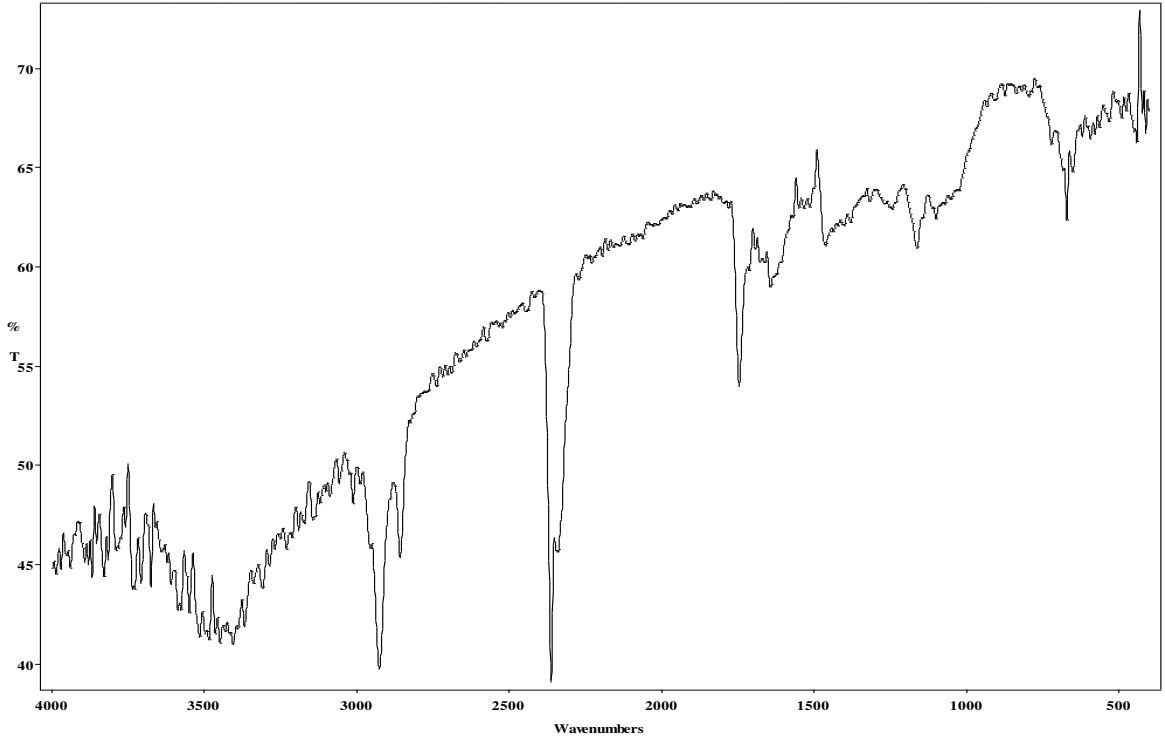
Şekil.E7.2.7: 5 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



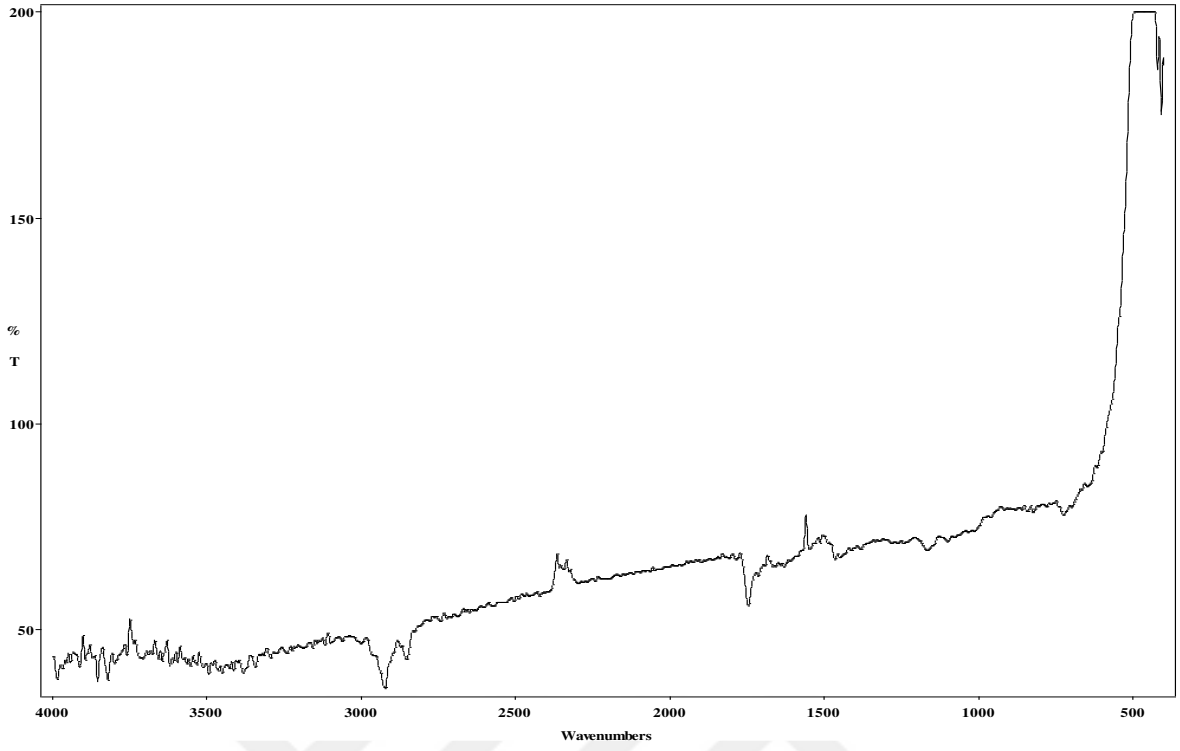
Şekil.E7.2.8: 75 dakika süreyle 110,5 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



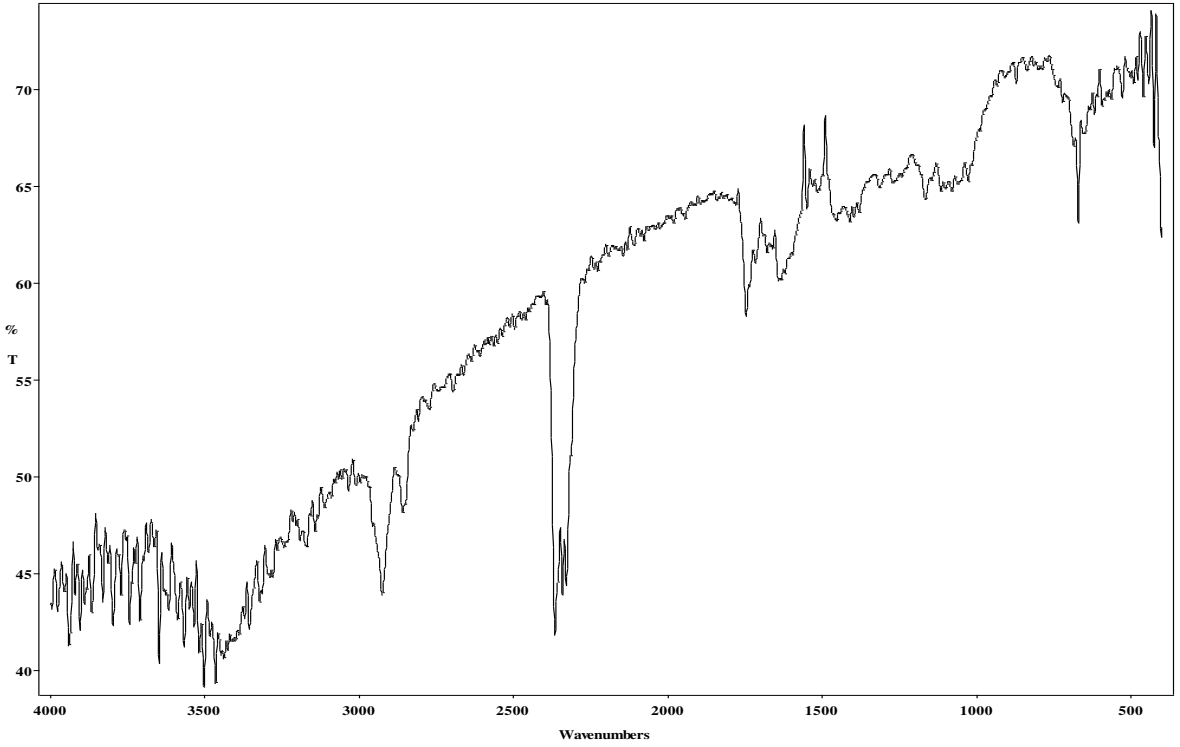
Şekil.E7.2.9: 40 dakika süreyle 110,5 °C’de, %2 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



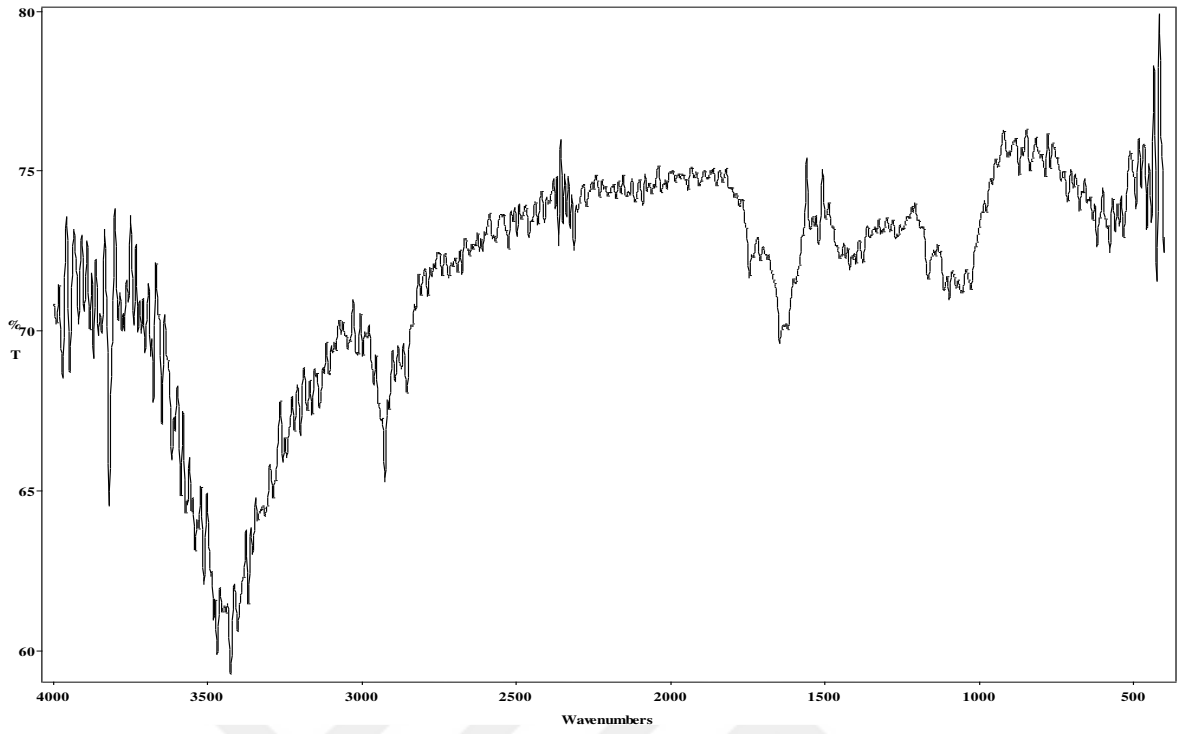
Şekil.E7.2.10: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



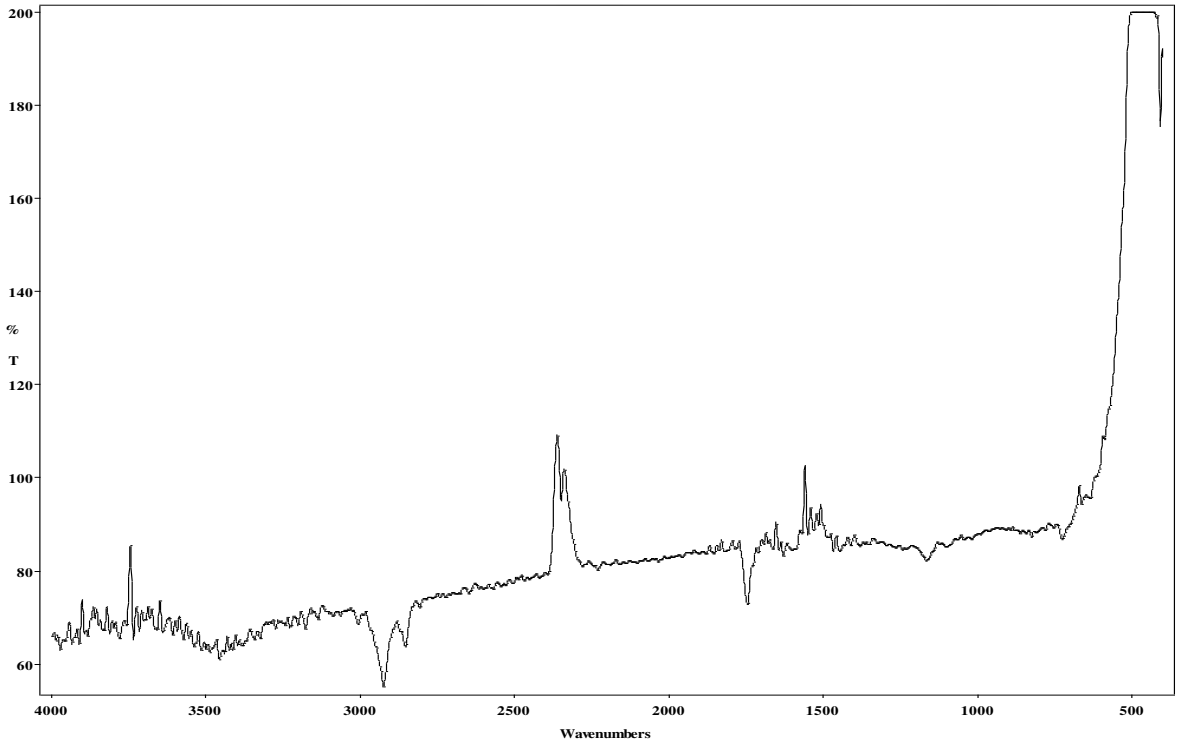
Şekil.E7.2.11: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %0,4 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



Şekil.E7.2.12: 19,2 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu



Şekil.E7.2.13: 60,8 dakika süreyle 116,7 °C’de, %1,6 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR spektrumu

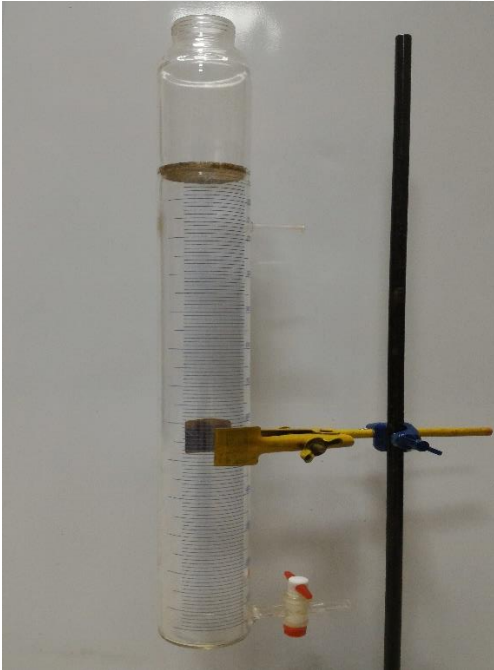


Şekil.E7.2.14: 40 dakika süreyle 121 °C’de, %1 amonyak ile muamele edilen numunenin FTIR Spektrumu

7.3. Deney Düzeneği İçin zel Olarak Tasarlananan Bazı Ekipmanlar



Şekil.E7.3.1: Deney düzeneği için özel olarak tasarlanan buhar kazanı



Şekil.E7.3.2: Deney düzeneği için özel olarak tasarlanan cam kolon

ÖZGEÇMİŞ

Ahmet DÜZEL

Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

23200 ELAZIĞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Doğum Yeri: HATAY

Doğum Tarihi: 23.12.1990

Medeni Durum: Bekâr

Yabancı Dil: İngilizce

Elektronik posta: ahmetduzel@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

2013-2016: Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

2009-2013: Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

2004-2008: Osman Ötken Anadolu Lisesi, Sayısal Bilimler

İŞ TECRÜBESİ

Araştırma Görevlisi, F.Ü. Mühendislik Fak., Biyomühendislik Bölümü (2014 – devam ediyor)

Staj, Algen Tarım ve Gıda San. Tic. Ltd. Şti., 2012

Staj, Progen Tohum A.Ş., 2011

YAYINLAR

Düzel, A., Elçiçek, S., Tanyıldızı, M.Ş. (2015). Conversion of Fructose to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in Biphasic Ionic Liquids for Synthesis Bio-based Value Added Products. 7nd International Bioengineering Congress (BEC 2015), Ege University (Poster bildirisi).

Gür, N., Kadıköylü, G., Özdemir, F.A., Topdemir, A., Düzel, A. (2015). *In Vitro* Bulblet Regeneration from *Pancreaticum maritimum* Twin Scale Explants. 7nd International Bioengineering Congress (BEC 2015), Ege University (Poster bildirisi).

Topdemir, A., Gür, N., Düzel, A., Asitliğin *Prunus armeniaca* L. (Kayısı) ve *Persica vulgaris* Miller (Şeftali) Bitkilerinin Polen Tüpü Gelişimi Üzerine Etkisi, Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi 6 (Özel Sayı 2): 113-118, 2015.

PROJELER

Piyasada Hazır Halde Satılan Pul Biberlerdeki Aflatoksin B1 Miktarının Amonyak ile Azaltılması, Proje No: MF.15.11, Araştırmacı, 2015-2016