



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİRİK BUĞDAYLARDA OKRATOKSİN A (OTA) VARLIĞININ
TESPİTİ

Cemil KADIOĞLU

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
EKİM-2018



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FİRİK BUĞDAYLARDA OKRATOKSİN A (OTA) VARLIĞININ
TESPİTİ**

Cemil KADIOĞLU

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY
EKİM- 2018**

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİRİK BUĞDAYLARDA OKRATOKSİN A (OTA) VARLIĞININ
TESPİTİ

Cemil KADIOĞLU
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Ahmet Doğan DUMAN danışmanlığında hazırlanan bu tez 05/10/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ahmet Doğan DUMAN
Başkan

Dr. Öğretim Üyesi Murat Reis AKKAYA
Üye

Dr. Öğretim Üyesi Yekta GEZGİNÇ
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

Bir öge seçin.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.



05.10.2018

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülediğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Cemil KADIOĞLU

ÖZET

FİRİK BUĞDAYLARDA OKRATOKSİN A(OTA) VARLIĞININ TESPİTİ

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı gıdalar tarladan tüketime kadar olan tüm süreçlerde mikotoksinlere maruz kalmaktadırlar. İnsanlarda kanser gibi sağlık sorunlarına neden olduğu ispatlanan bu tür oluşumların önlenmesi veya ürünlerden uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu tür oluşumların kontrol altına alınmasında çok olumlu gelişmeler olmasına rağmen yer fıstığı, tahıl gibi ürünlerde istenen düzeye gelinememiştir.

Okratoksin *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsi küfler tarafından üretilen önemli bir mikotoksindir. Okratoksin ürettiği belirlenen ilk tür ochareus'dur. 1965 yılında Van der Merwe ve ark. tarafından tanımlanmış ve üreticisi küften dolayı bu ismi almıştır. Okratoksin üreten küfler benzer yapıda birçok metabolit üretirler. Bunlar içerisinde en çok bilinen ve gıdalarda en çok rastlanan metabolit OTA'dır. OTA başta hububat ve hububat ürünleri olmak üzere, taze ve kuru meyveler, bira, şarap, baharat elde edilen bitkiler, kahve, kakao ile böbrek ve karaciğer gibi sakadatlar dahil birçok üründe görülür.

Tahıllarda en yaygın bulunan mikotoksin Okratoksin A olduğu ve vücuda giren günlük OTA'nın yarısından fazlası bu ürünlerden kaynaklandığı bilinmektedir. Tarımsal ürünlerin OTA üreten küflerle kontaminasyonu tarla ve bahçelerde başlar. Ancak OTA aslında yeterince kurutulmamış ürünlerin depolanması sırasında oluşmakta ve güvenli bir depolama için özellikle tahıllarda nem içeriğinin %14'ten az olması gerekmektedir.

Bu çalışmada Hatay ağırlıklı olmak üzere Akdeniz bölgesinden toplanan firik buğdaylarda OTA varlığı araştırılmıştır. Toksin varlığı saptanmasında HPLC tekniği kullanılmıştır. Sezonda toplanan numuneler tarladan veya rastgele seçilmiş satış yerlerinden (bakkal, şaruteri, zahireci vb.) alınmıştır. Numuneler 500 g'lık örnekleme ile toplamda 50 adettir. Numuneler analize alınmaya kadar; serin, havadar ve oda sıcaklığını geçmeyecek iklim şartlarında tutularak analizleri yapılmıştır. Analizler uluslararası akredite özel bir laboratuvarında yapılmıştır.

2018, 45 sayfa

Anahtar Kelimeler: Firik Buğday, Okratoksin A, Tahıl

ABSTRACT

DETECTION OF THE PRESENCE OF OCHRATOXIN A (OTA) IN FREEKEH WHEAT

Vegetative and animal derived foods are exposed to mycotoxins in all processes from farming to consumption. In humans, it is necessary to prevent such formations that are proven to cause health problems such as cancer or to remove them from products. Even though there have been very positive developments in controlling these types of occurrences, the products such as peanuts and grains have not reached the desired level

Ochratoxin is an important mycotoxin produced by the molds *Penicillium* and *Aspergillus*. *Ochrareus* is the first species identified to produce ochratoxin. In 1965, Van der Merwe et al. and the manufacturer has received this name because of the duvet. The molds that produce ochratoxin produce many metabolites in a similar structure. The most common of these is the OTA, the most common metabolite found in foods. OTA is seen in many products, including cereals and cereals, fresh and dried fruits, beer, wine, spices, coffee, cocoa, and kidneys and liver.

It is known that the most common mycotoxin in cereals is ochratoxin and that these OTC products are caused by more than half of the daily OTA entering the body. Contamination of agricultural products with OTA-producing molds begins in fields and gardens. However OTA actually occurs during the storage of products that are not dried enough and the moisture content in cereals should be less than 14% for safe storage.

In this study OTA presence was investigated in the firik wheat collected from the Mediterranean region, mainly Hatay. HPLC technique was used to detect toxin presence. Samples collected at the reception were taken from the farm or randomly selected sale places (grocery store, licorice, etc.). The samples are a total of 50 with 500 g sampling. Until samples are taken analytically; cool, airy and in the climatic conditions that will not exceed room temperature. The analyzes are carried out in a private laboratory with international accreditation.

2018, 45 pages

Key Words: Firik Wheat, Ochratoxin A, Cereal

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimimde bana destek olan başta danışman hocam Sayın Doç. Dr.Ahmet Doğan DUMAN'a, engin tecrübeleri ile yol gösteren ve destekleyen hocam Mustafa Didin'e, manevi destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili eşim Gülfem'e, çocuklarım; Koray, Ahmet Burak ve Işıl'a teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGE VE KISALTMALAR	VII
1. GİRİŞ.....	1
1.1.Mikotoksin Sorununun Ortaya Çıkması ve Tarihçe.....	5
1.2. Mikotoksinlerden Kaynaklı Ekonomik Kayıplar	7
1.3. Firik Buğday	8
1.3.1. Firik Buğday ve Ayırteci Özellikleri	8
1.3.2. Firik Buğdayın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	9
1.4.Okratoksin A.....	13
1.4.1.Okratoksin A Üreticisi Küfler.....	17
1.4.2.İnsan Sağlığı Üzerine Okratoksin A Etkisi.....	20
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	22
2.1.Okratoksin A ile İlgili Yasal Düzenlemeler.....	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1.Alet-Ekipman ve Aksesuarları	27
3.1.2.Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışı	28
3.1.2.1 PBS Çözeltisi Hazırlama	28
3.1.2.2. Mobil (Taşıyıcı) Faz Hazırlama:	28
3.1.2.3. Yıkama Çözeltisi Hazırlama	29
3.1.2.4. Mobil (Taşıyıcı) Faz Hazırlama	29
3.1.2.5. Yıkama Çözeltisi Hazırlama	29
3.1.2.6. Standart Dilüsyon Çözeltisi Hazırlama	29
3.1.2.7. Standart Hazırlama (Okratoksin A).....	29
3.1.2.8. Ara Stok Standart Çözeltilerini Hazırlama.....	30
3.1.2.9. Çalışma Standartlarını Çözeltilerini Hazırlama	30

3.2.Yöntem.....	30
3.2.1.Ekstraksiyon.....	31
3.2.2. Immunoaffinity Kolonun Hazırlanması.....	31
3.2.3.Immunoaffinity Safhası.....	31
3.2.4.Metodun Tanımı ve Uygulanışı.....	32
3.2.4.1.HPLC Sistemi ile Çalışma.....	32
3.2.4.2.Sonucun Hesaplanması	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
KAYNAK	40
ÖZGEÇMİŞ	45



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Önemli mikotoksinler, üreticileri, etkileri ve buldukları ürünler....	3
Çizelge 1.2. İnsan sağlığı ve ekonomik açıdan mikotoksinlerin sınıflandırılması..	4
Çizelge 1.3. Firik buğdayın fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	10
Çizelge 1.4. Okratoksin metabolitleri.....	14
Çizelge 1.5. Okratoksin üreten önemli <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> türleri.....	19
Çizelge 1.6. Türkiye ve Avrupa birliğinde izin verilen OTA limitleri.....	22
Çizelge 3.1. Çalışma standartları ara stoklardan alınması gereken hacimler.....	30
Çizelge 4.1. Firik buğday örneklerinde bulunan nem, kuru madde, su aktivitesi ve OTA miktarları	35
Çizelge 4.2. Firik buğday örneklerinde ölçümü yapılan renk parametreler.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Firik buğday.....	10
Şekil 1.2. Firik Buğday Üretim Aşamaları.....	12
Şekil 2.1. OTA Biyotransformasyonu	14
Şekil 1.4. OTA Biyosentezleri.....	16



SİMGE VE KISALTMALAR

OTA	: Okratoksin A
JECFA	: WHO ve FAO'nun gıda katkı maddeleri ile ilgili uzman dairesi
IARC	: Uluslararası Kanser Ajansı
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
RASSF	: Gıda ve Yemde Hızlı Alarm Sistemi
°C	: Santigrat Derece
aw	: Su aktivitesi
µg	: Mikrogram
ng	: Nanogram
ppb	: Milyonda bir
FKKL	: Fiziksel, Kimyasal, Katkı ve Mikotoksin Analiz Laboratuvarı
PBS	: Phosphate Buffered Saline
ACN	: Asetonitril
MeOH	: Metanol
GFP	: Glass microfiber paper
IAC	: Immunoaffinite kolonu
FLD	: Floresans dedektor
L	: Parlaklık
a	: Yeşillik kırmızılık
b	: Mavilik sarılık
N.D.	: Tespit edilemedi

1. GİRİŞ

Gıda güvenliği, sağlıklı ve hijyenik gıda üretiminin temelidir. Ülkemizde ve dünyada ekonomik açıdan da önemi giderek artan bir konu olmuştur. Gıda maddelerini insan sağlığı açısından zararlı hale getiren nedenlerden biri de mikrobiyolojik tehlikelerdir. Mikroorganizmalar, gıdanın yapısında doğal olarak bulunabilmekte veya dışarıdan bulaşmaktadır. Bu mikroorganizmalardan küfler, gıda maddelerini bozmaları sonucu oluşturdukları metabolitler nedeniyle zehirlenme ve hastalıklara yol açtıkları için büyük önem taşımaktadırlar. (Karadeniz ve Ekşi 2002).

Küfler tabiatta suda, toprakta, havada ve organik maddelerde bol miktarda bulunmaktadır. Saprofit özellikleri ile beslenmeleri ve çoğalmaları gerekli maddeleri sentezlemek için dışarıya ihtiyaç duymazlar. Bu nedenle zarar görmüş yüzeyler (tabakalar) ve birçok gıda maddesi üzerinde kolaylıkla koloni oluştururlar. Küfler, ekstrasellüler ve proteolitik enzimleri sayesinde gıdalarda yumuşamaya neden olan reaksiyonları katalize ederler (Omaye, 2004). Böylece ortama salgıladıkları çeşitli enzimlerle kompleks yapıları daha basit yapılara parçalayabilirler. Oluşan basit yapıları küfler, kendi hücre yapıları için elzem olan katabolik ve anabolik sentezlerde kullanılır. Kullanımdan sonra oluşan maddeler birincil ve ikincil metabolitler olarak ikiye ayrılır (Bozoğlu, 2003). İkincil metabolitler olarak üretilen maddeler mikotoksindir. Büyüme için esansiyel metabolitler, küfler ve diğer organizmalar için birincil metabolitleridir. Sentezleyen organizmanın metabolizması veya büyümesi için belirgin bir önemi yoktur. Ancak eksponensiyel büyüme evresi sonunda oluşmaktadır (Karadeniz ve Ekşi, 2002; Bozoğlu 2003).

Küflerin ikincil metabolizmaları sonucu sentezlenen toksik maddelere genel olarak "mikotoksin" denilmektedir. Mikotoksin kelimesi Yunancada fungus manasına gelen "mykes" ve Latince zehir manasına gelen "toxicum" kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşmuştur. Mikotoksinli gıdaların tüketimine bağlı olarak insan, yem tüketimine bağlı olarak da hayvan sağlığında oluşan sağlık bozukluklarına "mikotoksikozis" denir. İnsanların ve hayvanların immun sistemlerini etkileyebilmeleri olumsuz sağlık sorunlarını oluşturabilmeleri için gerekli olan toksin miktarı büyük ölçüde değişmektedir. Mikotoksinin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri; alınan toksin çeşidine ve miktarına bağlı olarak hem akut hem de kronik toksisiteye neden olabilmektedir. Akut

mikotoksikoz ölümle sonuçlanırken, kronik mikotoksikoz dolaylı yoldan ölüme kadar varan çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. Mikotoksin alınmasıyla meydana gelen sağlık sorunları; karsinojenik, teratojenik (embriyon zararlanmaları), tremorgenik (titreme ile refleks kaybı problemleri), dermatitik (deri lezyonları), hepatoksik (karaciğer zararlanmaları), hemoraljik (doku ve organlarda kanama sorunları), nefrotoksik (böbrek sisteminde zararlanmalar), nörotoksik (sinir sistemi zararlanmaları) vb. sıralanabilir. Mikotoksikozisin yol açtığı hastalık tipi, etkileri ve belirtilerinin şiddeti; genel olarak maruz kalınan mikotoksin türüne, miktarına, alınan gün veya alınma miktarına, birden fazla mikotoksin varlığına, canlının yaşına, cinsiyetine, vücut ağırlığına ve türüne, fiziksel ve beslenme durumuna bağlı olarak farklılıklar gösterebilir (Steyn ve Stander, 1999; Köppen ve ark.,2010). Mikotoksin ile kontamine gıda maddelerinin sindirim sisteminden vücuda alınan toksin sindirim sistemine geçerek sindirim kanalından bağırsaklara ve burada emilip kana geçerek kan sirkülasyonu ile doku ve organlara yayılmaktadır (Anonymous, 2015).

Küfler tarafından üretilen mikotoksinlerin tümü toksik özellikte olmayıp, antimikrobiyel ve antitümör etkileri nedeniyle daha çok ilaç üretiminde pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Sanchez ve ark. 2012).

Günümüzde 100'den fazla küfün 400 dolayında toksijenik etkiye sahip ikincil metabolit ürettikleri bildirilmiştir. Yaygın olarak görülenler bunlardan çok az bir kısmını oluşturmaktadır (Tunail, 2000). Küf ve mikotoksinleri gıda üretim zincirinin herhangi aşamasında (hasat öncesi, hasat ve kurutma işlemleri arasındaki süre ve depolama süreci vb.) ortaya çıkabilmektedir (Köppen ve ark., 2010). Mikotoksinlerin ortaya çıkması genellikle ülke ve bölgelere göre değişiklik göstermekle birlikte; baskın mikotoksinler olan *Aspergillus* cinslerinin oluşturduğu aflatoksinler; *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerinin oluşturduğu okratoksin A, *patulin*, *Fusarium* cinsi küflerin oluşturdukları deoksinivalenon (DON), zearalenone, T-2, HT-2 ve fumonisinlerdir (Krskave Molinelli,2007).

Mikotoksin üreten *Alternaria* ile *Fusarium* türleri tarla küfü, *Penicillium* ve *Aspergillus* ise depo küfü olarak sınıflandırılmaktadır. Tarım ürünlerinin veya gıdaların her birisinin su aktivitesi, bileşimi, yapısı ve bulunduğu iklim koşullarına bağlı olarak üzerlerinde gelişen küf türleri, oranları, oluşturdukları mikotoksin çeşitleri ile miktarları

farklıdır (Tunail, 2000). Tablo 1’de önemli mikotoksinler, üretici türleri, sağlığa etkileri ve buldukları ürünler gösterilmektedir.

Mikotoksinler farklı kimyasal yapıları ve fizikokimyasal özelliklerinden dolayı yapısal olarak birbirlerinden farklı özellik göstermektedirler. Genellikle birçok tahıl üretim proseslerinde ve depolama sürecinde kimyasallara ve ısıya karşı kararlı yapılarını koruyabilmektedirler (Köppen ve ark.,2010).

Çizelge 1.1. Önemli mikotoksinler, üreticileri etkileri ve buldukları ürünler (Tunail 2000).

Mikotoksin	Toksini üreten fungus türleri	Memeli hayvanlara etkileri	Bulduğu ürünler
Aflatoksin	<i>Asp. flavus</i> , <i>Asp. parasiticus</i>	hepatotoksik, kanserojen, teratojen (AFB1).	yer fıstığı, fındık vb. yem, süt, peynir
Sitrinin	<i>Pen. citrinum</i> , <i>Asp. terreus</i>	nefrotoksik, nörotoksik.	pirinç, arpa ve unları, fasulye
Siklopiazonik asit	<i>Pen. aurantiogriseum</i> (<i>Pen. cyclopium</i>), <i>Pen. griseofulvum</i> , <i>Asp. flavus</i>	hepatotoksik, kanserojen.	un, fasulye, yem, et ürünleri
İzlanditoksin	<i>Pen. islandicum</i>	hepatotoksik.	pirinç
Luteoksikrin	<i>Pen. islandicum</i>	hepatotoksik, kanserojen.	pirinç, yem
Okratoksin	<i>Asp. ochraceus</i> , <i>Asp. alutaceus</i> , <i>Pen. verrucosum</i> (<i>Pen. viridicatum</i>), <i>Pen. aurantiogriseum</i> (<i>Pen. cyclopium</i>)	nefrotoksik, hepatotoksik, teratojen, immunosupresif.	tahıllar, sebzeler, domuz eti, balık ürünleri, malt
Penisilikasit	<i>Pen. martensii</i> , <i>Pen. viridicatum</i> , <i>Pen. aurantiogriseum</i> , <i>Asp. alutaceus</i>	Hepatotoksik, nefrotoksik, teratojen.	pirinç, pirinç unu
Rubratoksin	<i>Pen. rubrum</i> , <i>Pen. purpurogenum</i>	Hepatotoksik, teratojen.	tahıllar
Sterigmatosistin	<i>Bipolaris species</i> , <i>Eur. amstelodamii</i>	kanserojen	buğday, yer fıstığı
Trikotesenler (Diasetoksisirpenol, T- 2 Toksin, Nivalenol)	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>Fus. graminearum</i> , <i>Myrothecium roridum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Trichothecium roseum</i>	Alimentary Toxic Aleukia (ATA), düşük dozlarda kusma, lökopeni, deri nekrozları.	tahıllar, fasulye, meyve ve sebzeler
Zearalenon (F-2 Toksin)	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fus. culmorum</i> , <i>Fus. equiseti</i>	östrojen benzeri etki.	mısır, buğday, fasulye, pirinç, yem.

İnsan sağlığı ve ekonomik açıdan yarattığı sorunlar nedeniyle 1993 yılında mikotoksinler aşağıdaki tablo 1.2'de olduğu gibi sınıflandırılmıştır (IARC 1993).

2012'de Aflatoksinler (M1 hariç) 1.Grupta Kanserojen olarak değerlendirilmektedir.

Çizelge 1.2.İnsan sağlığı ve ekonomik açıdan mikotoksinlerin sınıflandırılması.

Group 1	İnsanlara Karsinojenik	118 ajan
Group 2A	İnsanlar için karsinojen olması muhtemel	79
Group 2B	İnsanlar için olası kanserojen	290
Group 3	İnsanlara karsinojenisitesi açısından sınıflandırılmaz	501
Group 4	Muhtemelen insanlar için kanserojen değildir.	1

Bu mikotoksinler arasında 2B grubunda bulunan OTA canlılarda kansere ve organlarda kusurlu gelişimlere neden olduğu, hamilelikte bir kez alınan toksinin, doğan bebeklerde şekil bozukluklarının oluşmasına yani kusurlu organ gelişimine sebep olabildiği saptanmıştır. Bunun yanı sıra Nefrotoksik etki gösteren metabolitler arasında OTA ilk sırada olması nedeniyle de ayrı bir önem taşımaktadır (Soyöz ve Özçelik, 2002).

Pek çok mikotoksinin birden fazla kimyasal formu mevcut olup, her birinin sağlık üzerine etkileri farklılıklar göstermektedir. Sağlığa olumsuz etkisi ispat edilmiş mikotoksinlerle ilgili olarak başta WHO (Dünya Sağlık Örgütü), FAO (Gıda ve Tarım Örgütü), Avrupa Birliği, vb. oluşumların genel yaklaşımı, ürünü teknolojik olarak toksin içeriğini mümkün olduğunca düşük değerde tüketiciye ulaştırma yönündedir. Bu yaklaşım, ürünlerde mikotoksinlerle ilgili maksimum değerlerin daha da aşağıya çekilmesini sağlamıştır. FAO ve WHO'nun gıda katkı maddeleri konusunda uzman komitesi (JECFA)'nin 1995'te 44. toplantısında OTA ile ilgili yapılandırma, tolere edilebilir haftalık miktar olarak 0.1 µg/kg vücut ağırlığı (14 ng/kg vücut ağırlığı/gün'e eşittir) olarak bildirilmiştir (Anonymous, 1995; Soufleros ve ark., 2003; Anlı ve ark., 2005).

Bugün Okratoksin A, gıda maddelerinde ve hayvan yeminde bulunabilen en tehlikeli bulaşıcılardan biri olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle birçokülke, vatandaşlarını Okratoksin A bulaşmış gıda maddelerinin tüketimi sonucu ortaya çıkabilecek zararlardan korumak ve ihraç ettikleri ürünlerinin geri dönüşünü azaltabilmek için bir yandan yasal limitlerini belirlerken, öte yandan gıda maddelerindeki dağılımlarını

ortaya koyacak tarama ve izleme programlarına yönelmektedir. Bu programlarla hangi ürünlerde sorun olduğu belirlenmekte ve Okratoksin A oluşumunun kontrol edilmesine yönelik çalışmalara yön verecek veriler elde edebilmektedir. Bu şekilde sistemli bir yaklaşımla gelişmiş ülkelerde sorunlar önemli ölçüde azaltılabilmektedir.

Ülkemizde gıdalardaki okratoksin seviyelerinin belirlenmesiyle ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışma firik buğdaydaki toksin hakkındaki bilgileri arttıracığı gibi, yapılacak diğer okratoksin çalışmalarına da ışık tutarak, alınacak tedbirler konusunda faydalı bilgiler sağlayacaktır.

1.1. Mikotoksin Sorununun Ortaya Çıkması ve Tarihçe

Mikotoksin kavramı için 1960 yılı dönüm noktasıdır ve o tarihe kadar gıda maddelerinin küflenmesi yalnızca ekonomik açıdan sorun teşkil ediyordu. 1960 sonrası canlılarda oluşturduğu hastalıklar nedeniyle daha çok ilgi çekmeye başladı. Şapkalı küflerin de içinde olduğu Basidiomycota'nın ödürebilen toksinlerinin (küf atrofini, amanita toksin, muskarin) anlaşılmasına rağmen filamentli fungusların toksinleri hakkında yeterli bilgi toplanmamıştır. Fakat mikotoksinler, 1960 yılından sonra oral yolla alınması neticesinde yüksek canlılarda çok kuvvetli toksik etki gösteren, bununla birlikte bir metabolit olan aflatoksinin bulunmasından sonrayoğun araştırılan bir konu olmuştur. Fakat küflerin hastalık yaptığı ve hatta toplu ölümlere bile neden olduklarına dair kaynaklar çok eski tarihlere kadar uzanır. Kayıtlarda en çok rastlanan ve eskiden beri bilinen şapkalı mantarların haricinde küf toksisitesi, *Claviceps purpurea* bulaşmış hububatların yenmesi neticesinde görülen ve ergotizm olarak isimlendirilen mikotoksikosisdir. Ergotizmde etken madde küfün yaptığı ergot alkaloidlerdir (ergotoksin). Asur tabletlerinde M.Ö. 600 yıllarında çavdarmahmuzu denen *Clav. purpurea* sklerotialarıyla enfekte olmuş hububatların verdiği zararlardan bahsedilmiştir. İlk toplu zehirlenmeye ait kayıtlara M.Ö. 400 yılında Sparta'da rastlanmıştır. Orta çağda binlerce kişi ergotizme maruz kalmış, aynı tarihlerde karıncalanma ve uyuşma semptomları ile kendini gösteren sinir hastalığına da Aziz Antonius humması denilerek literatürlere geçirilmiştir. *Penicillium* türleri tarafından toksin oluşturulan pirinçlerin tüketilmesiyle canlı sağlığının bozulduğunu 1890'dan beri Japon bilim insanları bilmekteydi. Özellikle sarı pirinçte rastlanan bu zehirlenme olayının

aydınlatılması yine 1960'lı yıllarda olmuştur. Günümüzde *Pen. islandicum* ve *Pen. citreoviride* türlerinin sarı pirinçlerde sitrinin, luteosikrin, sitreoviridin gibi mikotoksinleri meydana getirdikleri, bu sebepten dolayı pirinçlerin toksisiteye sebep olduğu anlaşılmıştır.

Domuzlarda nefropatisi Almanya ve İskandinav bölgelerinde 1928 yılında tanılanmıştır. Nefropatiye sebep olan ve *Aspergillus ochraceus'un* meydana getirdiği klor ihtiva eden izokumarin yapıdaki OTA'dan kaynaklandığı görülmüştür. Romanya, Yugoslavya, Bulgaristan, gibi ülkelerin yer aldığı coğrafyalarda görülmeye başlayan Balkan nefropatisinin de sebebinin Okratoksin A olduğu çok zaman sonra anlaşıldı.

Küflü yemlerle beslenen at ölümleri daha çok Doğu Avrupa' da görülmüştür. Saman hastalığı olarak da bilinen bu mikotoksikosis aslında *Stachybotrys atra* 'nın neden olduğu *stachybotryotoksi-kosis* tir. Roridin, verrukorin ve stratoksin atların toksin ile ölümlerine sebep olan mikotoksinlerdir. Bu mikotoksinler akut etkilidir ve atların 6-72 saat içerisindezehirlenerek ölümüne neden olan doz her bir at için 1 mg'dır. *Penicillium rubrum* ile enfekte olmuş mısırlarla beslenen sığır ve atların öldüğüne dair raporlar da 1927'li yıllara kadar uzanmaktadır. *Pityomyces chartarum* küfü ile kontamine yemleri yiyen koyun ile sığırlarda yüz ekzamasına rastlandığı 1960 öncesi bilgiler arasındadır.

Rusya'da Orenburg bölgesinde 1942-1944 yıllarında binlerce insanın ölmesiyle biten mikotoksikosis vakası Alimentary Toxic Aleukia, ATA (beslenmeden kaynaklı toksik etkinin kandaki lökosit sayısını düşürmesi sonucunda meydana gelen lösemi hastalığı) olarak tarihteki yerini almıştır. Savaş nedeniyle tarlada zorunluluktan dolayı kışlatılan tahılların bu büyük afete neden olduğu anlaşıldı. Hububatlarda gelişen *Alternaria*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Penicillium*, ve özellikle de *Fusarium* cinslerinin meydana getirdiği mikotoksinlerin ölümlere sebep olduğu, günümüzde de *Fusarium T-2* toksini ile trikotesenlerin de ölümlerde etkili oldukları bilinmektedir.

1960'lı yıllarda Amerika'da 1 milyon genç alabalığın ve yine aynı yıllarda İngiltere' de 100 bin hindi civcivinin ani ölümü herkeste şaşkınlık yaratmış ve bu hastalığa 'Turkey X hastalığı' denilerek hastalığın sebepleri araştırılmıştır. Araştırmalar sonucunda hindi civcivlerinin yemlerinde Brezilya'dan gelen küflenmiş yer fıstığı küspesindeki *Aspergillus flavus* olduğu ve metaboliti olduğu difurankumarin yapının ölümle sebebiyet verdiği anlaşılmıştır. Bu araştırmalarda fungusun gelişim gösterdiği yemler tavuk ile

hindi civcivlerine, benzer hastalık belirtileri gözlenmiş ve hastalık sonucunda kısa sürede ölümler gerçekleşmiştir.

1910 yılında bir araştırmacı küflenmiş Brezilya cevizinden *Asp. flavus*' u izole ettiğini ve toksisitenin de bu küften kaynaklandığını açıklamasına rağmen, dikkate alınmamış fakat 1980'de yapılan bir araştırma önceden yapılmış çalışmayı doğrulamıştır.

Toksik etkili sekonder metabolitler Aflatoksinin keşfi ile önem kazanmış ve 40 yıldan beri sayısız araştırma yapılan çok geniş bir konu olmuştur. Günümüzde canlıları bu toksik gurubun etkisinden korumak için mikotoksinlerin gıda ve hammaddelerinde izin verilen (tolere edilebilen) azami miktarı yasal düzenlemelerle belirlenmekte, her ülke limit (sınır) değerlerini uluslararası ticarete belli normlara getirebilmek için çaba harcamaktadır.

İkincil toksik bir metabolit olan OTA *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilmektedir. Canlıların çoğunu etkileyen potansiyel kanserojen, teratojen, ile nefrotoksik olarak bilinmektedir (Parsi ve diğ., 2014). Tahıllardan Mısır, buğday, yulaf, pirinç, ve arpa gibi tahıllarda, meyve kurularında, bira, şarap, bebek mamaları ve çeşitli tarımsal ürünlerde bulunabilmektedir. İdrar, kan ile anne sütleri gibi biyolojik numunelerde görülmektedir (Nguyen ve Ryu, 2013). Gıdalara uygulanan proseslere (pişirme, kavurma, fermentasyon vb) çok dayanıklıdır. Tahıllar, kavrulmuş kahve, şarap, bira ve hayvan yemleri gibi işlenmiş ürünlerde de varlığını sürdürmektedir (Novo ve diğ.,2013). Bu çalışmamızda bölgesel ürün olan ve tüketimi gittikçe artan Firik Buğday'ın Okratoksin A içeriği araştırılması amaçlanmıştır.

1.2. Mikotoksinlerden Kaynaklı Ekonomik Kayıplar

Mikotoksin oluşumu ürün çeşidine göre değişmekle birlikte, hasattan önceki süreçten tüketime kadar her aşamada görülebilir. Ürün hasadı öncesi çevresel faktörlerin kontrolü her zaman mümkün olmadığından başta mısır, buğday ve arpa olmak üzere hububat vb. ürünleri küf gelişmesinden korumak çoğu kez mümkün olmamaktadır. Küfler diğer mikroorganizmalara göre daha kuvvetli enzim sistemine sahip organizmalardır. Hemen her çeşit üründe gelişerek onların parçalanmasına ve tüketilmez duruma gelmesine neden olurlar. Kuvvetli lipolitik aktiviteleri sayesinde, yağ içeriği yüksek yağlı tohumlar ve sert kabuklu meyvelerde; selülozik aktiviteleri sayesinde bitkiler, bitkisel

ürünler ve koruyucu kabuk üzerinde; proteolitik aktiviteleri sayesinde proteince zengin ürünlerde; pek çok şekeri kullanabildiklerinden karbonhidratça zengin ürünlerde gelişebilmektedir. Tüm dünyada tarımsal ürünlerin %25'i küf gelişmesi ve mikotoksin oluşumu nedeniyle kayba uğramaktadır (Veldman,2004).

Mikrobiyel gıda zehirlenmelerinden yılda 6,0-14,5 milyar dolarlık kayıp söz konusu olup, bu kaybın 3,0-8,5 milyar dolarlık kısmının bakteri dışındaki diğer biyolojik etkenlerden ileri geldiği bildirilmiştir (Anklam ve Battaglia, 2000).

Mikotoksinlerin yol açtığı ekonomik kayıpların parasal karşılığının tam olarak belirlenmesi, birden fazla sektörü etkilemesi, kayıtların yetersizliği ve bu konuda sınırlı sayıda veri bulunması nedeniyle kolay olmamaktadır. Bununla birlikte ihraç edilen gıda maddelerinin mikotoksinler nedeniyle uğradığı toplam parasal kaybın 100 milyar dolar civarında olduğu tahmin edilmektedir (Boutrif ve Pineiro, 2002). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), mısır, buğday ve yer fıstığında mikotoksin kaynaklı bulaşmaların (aflatoksin, fumonisin ve deoksinivalenol) yıllık yaklaşık 932 milyon dolarlık kayıplara neden olduğunu bildirmiştir (Richard, 2006).

Uluslararası tarımsal ürün ticaretinde önemli bir role sahip olan Avrupa Birliği, ülkemiz açısından da çok önemli bir ithalat ihracat merkezidir. Avrupa Birliği, güvenli bir gıda ithalatı için Gıda ve Yemde Hızlı Alarm Sistemini (RASFF) kurmuştur. RASFF, ürünlerde belirlenen risklere karşı alınacak önlemlerle ilgili bilgi akışını sağlamak için oluşturulan etkili bir araç olmuştur. Avrupa birliği tarafından oluşturulan bu çalışmada tüketici sağlığını korumak amacıyla sınır noktalarında pazarda tespit edilen risklere karşı bildirim yapmaktadır. Yasal gereklilikleri yerine getirmeyen ülkeler uyarı almaktadır. Türkiye'den Avrupa Birliği'ne gönderilen ürünlerde RASFF bildirim alınması durumunda ürünlerin iadesi, gümrüklerde bekletilmesi ya da imha edilmesi başta ekonomik ve ürün kalitesi olmak üzere, zaman kaybı yanında yurtiçi ve yurtdışında prestij kaybına neden olmaktadır.

1.3. Firik Buğday

1.3.1. Firik Buğday ve Ayırteci Özellikleri

Firik; buğdayın olgunlaşp kurumadan önceki safhasından elde edilen bir üründür. Demir, lif ve lutein içeriği bakımından zengindir. Ayrıca düşük glisemik indeksine sahip olması nedeniyle gün geçtikçe popüler olan ve tüketimi giderek artan geleneksel bir gıdadır. Görünüş olarak bulgur ve pirince benzeyen firik, yeşil-kahverengi renkli ve genellikle durum buğdayından elde edilir. Firik buğdayların hasadı, buğdayın olgunlaşması sırasında danelerin sertleşmeye başladığı fakat başağın, yeşil olduğu dönemde yapılır. Daneler buğday saplarının yakılması ile elde edilen ateşte yakılır. Ateşin etkisiyle danelerin etrfindaki kılçık yanarak daneden ayrılır. Danelerin etrfindaki kılçıkların yanması sırasında danede kendine has is tadı ve kokusu meydana gelir. Daneler yanmış kısımlardan ayrılması için rüzgârda savrulur. Böylelikle dış ile ezilebilecek yumuşaklıkta ve dış kabuğundan (kavuzundan) ayrılmış daneler elde edilmiş olur. Avrupa ve Amerika'da 'Freekeh' adı ile bilinen, kendine özgü tat ve is kokusuna sahip, rengi sarı-yeşil arasında değışen bu ürün firik olarak adlandırılır.

Firik yapımında genellikle *Triticum durum* buğdayı nadiren de ekmeklik *Triticum aestivum* buğdayı tercih edilmektedir. Üretilen firikler şekil ve besin değıerleri açısından yakın olsa da pişirme kalitesi (sertlik, bütünlük), renk ve duyuşal açılardan bölgesel farklılıklar mevcuttur. Firik, buğday ve bulgura göre daha pahalı bir üründür. Bu nedenle özellikle tüketiminin olduğu bölgelerde çiftçiler tarafından geleneksel yöntemlerle üretilmektedir. Firikte fruktoz açısından zengin bir polimer olan fruktooligosakkarit bol miktarda bulunmaktadır. Fruktooligosakkaritlerin antitümör, bağışıklık uyarıcı ve prebiyotik etki gibi biyolojik fonksiyonları bulunmaktadır. Bunun yanında birçok mineralin emilimine olumlu etki ederler. Bu nedenle olgunlaşmamış buğday fonksiyonel gıda olarak değıerlendirilir.

1.3.2. Firik Buğdayın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Buğday Firiğı'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.3'de verilmiştir. Firik az miktarda da olsa A, B1, B2, C ve E vitaminleri ile potasyum, magnezyum ve kalsiyum içermektedir.

Buğday danesinin olgunlaşma sürecinde fiziksel özellikleri ile kimyasal kompozisyonu değışmektedir. Durum buğdayında yapılan çalışmada nem ve kül miktarı düşerken, dane ağırlığı ve sertliğinin arttığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, bu süreçte

protein miktarında önemli bir değişiklik olmamasına rağmen, amino asit içerikleri değişebilmektedir.

Çizelge1.3.Firik buğdayın fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellikler	Değer
Uzunluk (mm)	3,8-4,2
Kalınlık(mm)	2,1-2,3
1000 Dane ağırlığı:	11,1-13,1
Nem(%)	9,4-10,5
Ham Selüloz (%KM)	2,3-2,6
Protein(% KM)	8,3-8,6
Yağ(%KM)	2,1-2,4
Kül(%KM)	1,6-1,8
Karbonhidrat(%KM)	76-78

Firiğin en önemli kalite parametreleri kendisine has is aroması ve sarı-yeşil renge sahip olmasıdır. Bu özellikler ise firiği uygun “yakma tekniği” ve daha sonrasında ürüne uygun rüzgâr ve sıcaklık faktörlerine bağlı olan doğru “kurutma” işleminle gerçekleşir.



Şekil 1.1. Firik buğday

1.3.3. Firiğin Kullanımı ve Benzer Ürünlerden Farkları

Firik yemeklerde (pilav vb.) ve çerez olarak tüketilir. Günümüzde, paketlenmiş veya dökme olarak piyasaya sürülmüştür. Firik, bulgur ve döğme ile aynı kategoride sayılabilir ancak birim fiyat olarak 3-4 katı daha fazladır. Firiğin en çok benzediği ürün bulgur olarak değerlendirilmiştir. Bulgur ile firik hammadde ve kullanım açısından benzerlik göstermesine rağmen besin değerleri ve üretim metodu açısından farklılıklar mevcuttur. Bulgur yarı pişmiş bir ürün olarak olgun buğdaydan üretilirken, firik olgunlaşmamış buğdaydan yakma yöntemi ile üretilir. Ayrıca bulgurda kabuk soyma işlemi kabuk soyucu ile yapılırken, firikte kabuk soyma yerine yakarak dış kabukların ayrılması sağlanır.

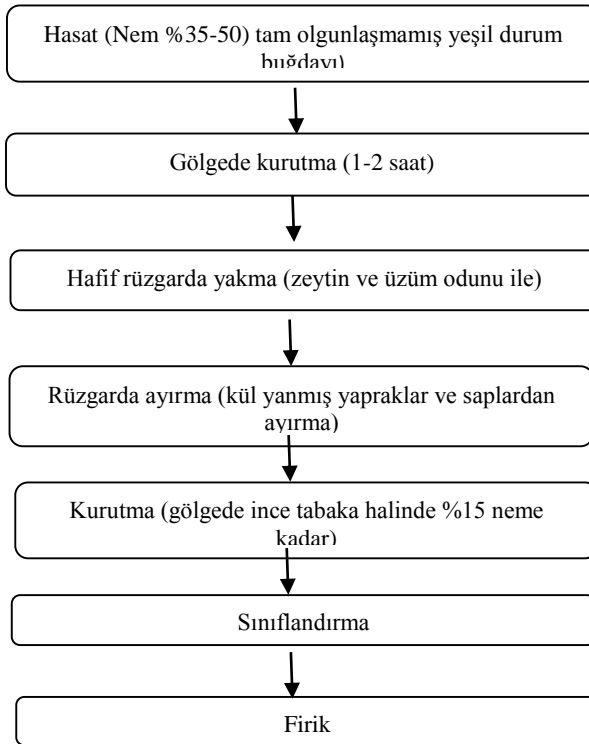
Firik bulgurun yapılış şekli, hammaddesi ve kullanım şekli temel ayırt edici özelliklerini oluşturmaktadır. Öncelikle firik, sert durum buğdayının tam olgunlaşmamış halinden yapılır. Üretim olarak toplanan yaş buğday başakları yeşil iken ateşte yakılır. Ateşte yakma işlemini için zeytin ağacının dalı ve/veya asma ağacının odunu olmalıdır. Akdeniz bölgesinde zeytin ve asma ağacı popülasyonu yüksek olduğu için bu iki ağaç türü firik üretiminde yakma işlemi için geçmişten beri kullanılmaktadır. Bu iki yakma malzemesi buğday firiğine özgü tadın oluşturulmasına yardımcı olur. Buğday firiği sarı ve yeşil renk tonları arasında, tercihen yeşil renktedir. Genellikle yeşil rengin kaybolmaması için kurutma işlemi direkt güneş altında yapılmamaktadır. Bu özellikler temel olarak buğday Firiğinin ayırt edici özelliklerini oluşturur.

1.3.4. Firik Buğday Üretim Metodu

Yapılan çalışmalar firik yapımı için hasadın en uygun zamanın süt olum evresinin sonu ile sarı olum evresinin başlangıç içindeki 2 haftalık süreç olarak belirlenmiştir. Ayrıca en lezzetli firik sert ve büyük durum buğdayından yapılmaktadır. Hasat döneminin süt olum evresinin sonu ile sarı olum evresinin başında olmasının en önemli sebebi bu dönemdeki basit şekerlerin miktarının fazla olmasıdır. Başakların yerden yüksekliğinin 15 cm, nem oranının %45 civarlarında olduğu yaklaşık 2 haftalık bir dönemde hasat edilir. Bu zamanda hasat edilen firik, lezzet-koku olarak en iyi sonuçları verir.

Hasat zamanı kaliteli ürün için en önemli faktördür. Erken hasatta daneler bütünlüğünü kaybeder, geç hasatta ise, kendine has renk ve aroma oluşmaz. Firik yapmak

üzere hasat edilen daneler yaklaşık %40-45 nem oranına sahip olurlar. Buğday danesinin dolgunluğuna göre hasat dönemi çiftçilerin tecrübeleri ile belirlenir. Buğday danesinin dolgunluğu tarlanın sulanıp sulanmaması veya sezonun yağışlı olup olmamasına bağlıdır. Hasat zamanını etkileyen bir diğer faktör ise yağışlı dönemin sona ermesidir. Üretim miktarına göre yakma değışiklik gösterebilir. Eğer üretim miktarı fazla ise, büyükçe bir odun ateşini hazırlanır ve üstüne bir elek yerleştirilir. Elek üzerinde yeşil buğdaylar çevrilerek kavrulur. Üretim miktarı az ise demetler halinde el ile yakılır ve sürekli çevrilir. Beyaz duman oluştuktan ve yanık kokusu alındıktan sonra firiğın “Yanma kıvamına” geldiğini anlaşılr, kavrulmuş buğday ateşin üstünden alınır, ağaçların gölgesine gelecek şekilde yere serilen örtünün üzerine yayarak kurumaya ve soğumaya bırakılır (1-3 gün). Bir süre sonra daneler ile yanmış kısımlar rüzgâr yardımı ile ayrılır. Bazı kısımlar avuç içinde ovularak ayrılır. Tütsüleme/yakma işleminden sonra ürün direkt güneş ışığı altına bırakılmaz, bu sayede firiğın kendine has sarı-yeşil renginin korunması sağlanmaktadır. Kuruma süresi hava sıcaklığına, rüzgâra göre tecrübe ile ayarlanır. Bu süre en az 1 en fazla 3 gün olarak belirlenir.



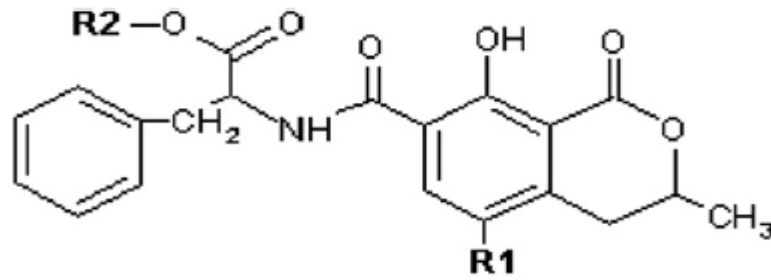
Şekil 1.2. Firik Buğday Üretim Aşamaları.

1.4. Okratoksin A

1965 yılında Van der Merwe ve ark. tarafından tanımlanan ve üreten küfünden dolayı bu ismi alan Okratoksin, *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi küfler tarafından oluşturulan önemli bir mikotoksindir Okratoksin ürettiği belirlenen ilk tür *Aspergillus ochraceus* olduğundan bu ismi almıştır (Van der Merwe ve ark.,1965). Okratoksin ürettiği belirlenen küfler benzer yapıya sahip çok sayıda metabolit üretmektedirler. Bu metabolitler içinde en çok bilinen ve tarımsal ürünlerde en sık rastlanan metabolit, Okratoksin A'dır. Okratoksin A sorgum danelerinden izole edilmiş olan *Aspergillus ochraceus* K-804 suşundan meydana getirilmiştir. Okratoksin A (OTA), tropikal bölgelerde *Aspergillus ochraceus*, ılıman iklimlerde *Penicillium verrucosum* türlerince meydana getirilir (Prelle ve ark., 2014). OTA oluşturan küfler arasında en fazla rastlananlar; *Aspergillus* türleri; *Circumdati* (*Aspergillus ochraceus* olarak ta isimlendirilir) , *Nigri* türleri ise, *Aspergillus* ve *Aspergillus niger*'dir (Hayat, 2012). OTA tarımsal ürünlerde tespit edilen en tehlikeli mikotoksinlerden birisidir (Rhouati ve ark.,2013). Tahıllarda bulunan en yaygın mikotoksin olan OTA'nın vücuda giren günlük miktarının yarıdan fazlası bu ürünlerden kaynaklanmaktadır (JECFA 2001;SCOOP, 2002). Tarımsal ürünlerin OTA kontaminasyonu bahçede ve tarlalarda başlar. Fakat OTA esasen yetersiz kurutulmuş ürünlerin depolanması aşamasında oluşur. Nem içeriğinin tahıllarda %14'ün altında olması güvenli bir depolama sağlar (Magan ve Aldred, 2005). OTA başta tahıl ve tahıl ürünleri olmak üzere, taze ve kuru meyveler, meyve suları, şarap, baharat olarak kullanılan bazı bitkiler, kahve ve kakao ile böbrek ve karaciğer gibi sakatatlarda dahil birçok üründe bulunur.

Okratoksin A tahıllarda bulunan en yaygın mikotoksindir. Vücuda giren günlük OTA'nın yarıdan fazlası hububat ve ürünlerinden kaynaklanır (JECFA 2001;SCOOP, 2002). Tarımsal ürünlerin OTA üreten küflerle bulaşması tarla ve bahçelerde başlar. Ancak OTA esas olarak yetersiz kurutulmuş ürünün depolanması sırasında oluşur. Özellikle hububatta nem içeriği %14 ten düşük ise ürün güvenli bir şekilde depolanabilir (Magan ve Aldred, 2005).OTA başta tahıl ve tahıl ürünleri olmak üzere, taze ve kuru meyveler, meyve suları, şarap, baharat olarak kullanılan bazı bitkiler, kahve ve kakao ile böbrek ve karaciğer gibi sakatatlarda dahil birçok üründe bulunur.

OTA tarımsal ürünlerde ve içeceklerde görülen en tehlikeli mikotoksinlerden birisidir (Rhouati ve ark., 2013). Günümüzde bilinmekte olan 300 mikotoksinin içinde, tarımsal ürünlerde en çok bulunan mikotoksindir. OTA kanserojenik, immünotoksik, nefrotoksik teratojenik ve nörotoksik etkilerinden dolayı halk sağlığını tehdit eden önemli bir sorundur (Nguyen ve Ryu, 2013). Şekil 2.1'de okratoksinlerin kimyasal yapısı gösterilmiştir (Remiro ve diğ., 2012)



Okratoksin	R ₁	R ₂
OTA	CL	H
OTB	H	H
OTC	CL	CH ₃ CH ₂

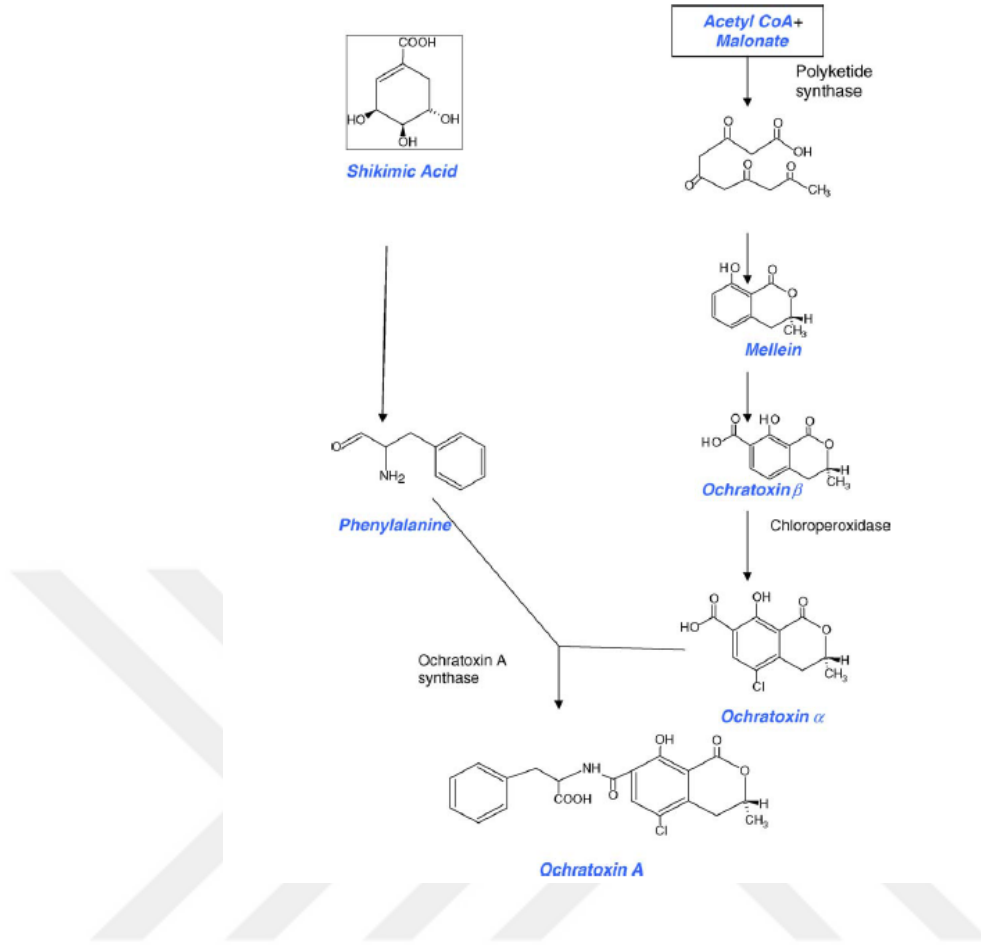
Şekil 2.1 .OTA kimyasal Formülü (Remiro ve diğ., 2012).

Okratoksin A'nın kimyasal formülü C₂₀H₁₈O₆NCl olup molekül ağırlığı 403.82'dir (Ringot ve ark., 2006). Beyaz renkli kristal ve toz haldedir. Ksilen ile yeniden kristalize olur. Kristal formu, ultraviyole ışığında, asit solüsyonda yeşil; alkali solüsyonlarda mavi floresans verir ve kristaller 169°C'de erir. OTA, havada ve ışık altında yapısını koruyamaz. Işık altında ve özellikle su aktivitesinin yüksek olduğu ortamlarda yapısı bozulabilir ve etkisini kaybedebilir. Etanol solüsyonunda, soğuk ve karanlık bir ortamdakoruma altına alınırsa, bir yıldan fazla bir süre yapısını koruyabilir. OTA, sığağa karşı yapısını koruyan bir özelliğe sahiptir; hububatların otoklav içinde (121°C, 1 Atm) 3 saat bırakılması halinde de toksinin etkinlik oranı %35'e düşer (Soyöz ve ark.,2002). 250°C altında bir kaç dakikada toksin miktarının azaldığı görülmüştür (Marin ve ark., 2013). Polar çözücülerde yüksek miktarlarda çözünür, suda çok az miktarda ve sodyum hidrojen karbonat içinde normal miktarlarda çözünebilmektedir.

Okratoksinlerin en toksik üyesi okratoksin A'dır vebir aminoasit olan fenilalanine benzeyen bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, fenilalanini substrat olarak kullanan enzimler üstünde inhibitör etki yapmaktadır. Protein sentezini inhibe eden Phe- tRNA sentetaz

üzerinde inhibitör etki göstermektedir. Bu etki mitokondrial hasar, oksidatif patlama ve lipid peroksidasyona sebep olan mitokondrial bir zehirlenme olup oksidatif fosforilasyonu engellemektedir. Buna ek olarak okratoksin A bazı hücrelerde hücre ölümünü yani apoptosisi artırmaktadır. Alışılabilen gıda üretim işlemleri ile yıkıma uğramadığı ve yapısının sabit kaldığı görülmüştür (Marin ve ark., 2013).

Biyosentezi birdizi aşamadan oluşan OTA'nın, enerji ile Mg⁺⁺ bileşiğine sentez esnasında enerjiye ihtiyacı vardır (Ünal, 2009). Fakat biyosentetik basamak tam olarak aydınlatılamamıştır. Karbon 13 ve Karbon 14 işaretlemeleri sonunda, fenilalanin kısmı şikimat basamağı sonucu oluşmuş ve dihidroizokümarin bölümünün ise pentaketide basamağında olduğu bildirilmiştir. İzokümarin poliketidin birinci aşaması bir asetat ünitesinin dört melonat ünitesine dönüşmesiyle oluşur. Veriler sözkonusu basamak için poliketid sentaz aktivitesine ihtiyaç olduğunu göstermiştir. *Aspergillus* ile *Penicillium* için poliketid sentezini kodlayan genler farklıdır. *A. ochraceus*'a ait poliketid sentezi geni sadece OTA'nın olduğu mikotoksin sentezinin ilk basamağında express edilir. *Penicillium* için bunun gibi bir veri bulunmamaktadır. *Penicillium* cinslerinde *P. nordicum* ve *P. verrucosum* OTA sentezi için iki farklı poliketid sentaz kullanır. Farklılığın *P. Verrucosum*' un OTA dışında ayrıca poliketid bazlı mikotoksin olan sitrinin üretme özelliği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. OTA biyosentezi şekil 2.2'de gösterilmiştir (Ringot ve ark., 2006).



Şekil 1.4. OTA biyosentezi (Ringot ve ark.,2006).

Okratoksin B, $C_{20}H_{19}NO_6$ kapalı formülü, 369 molekül ağırlığı ve $221\text{ }^{\circ}C$ erime noktasına sahiptir. Okratoksin C'nin kimyasal formülü $C_{22}H_{22}ClNO_6$ 'dır. Erime noktası $229^{\circ}C$ ve molekül ağırlığı ise 431. Okratoksin A, Okratoksin B'den daha toksiktir. Okratoksin C'nin de Okratoksin A'dan fazla toksik olduğu ispatlanmıştır. Okratoksin C'nin hücre dağılımını esterleşme yerine getirir ve hızla vücutta Okratoksin C'ye çevrilir. Bu çevirim dokulardaki konsantrasyonu ve bütün olarak toksisiteyi azami düzeye çıkarır. Bu durum Okratoksin A ve Okratoksin C'de sinerjik etkilere neden olur. Okratoksin A, Okratoksin B'den 10 kat daha toksiktir. Fakat bazı çalışmalar Okratoksin B'nin nefrotoksik, teratojenik ve sitotoksik etkileri olduğunu göstermiştir (Remiro ve ark., 2012).

Yapılan araştırmalar okratoksinin A, B, C, β ve α olmak üzere beş türevi olduğunu göstermiştir. toksisitesi en çok olan Okratoksin A'nın yarılanma süresi; insanlarda 840

saat, domuzlarda 72-120 saat, farelerde 24-39 saat, sıçanlarda 55-120 saat, maymunlarda 456-504 saat (Krogh 1992;Huff ve ark., 1979).

1.4.1. Okratoksin A Üreticisi Küfler

Van der Merve ve arkadaşlarının tanımladığı bir mikotoksin olan OTA, adını okratoksin ürettiği belirlenen ilk tür olan *Aspergillus ochraceus*'tan almıştır. OTA, tarımsal ürünlere küf etkisi ile direk ve hayvansal gıdalara da yemden dolayı olarak kontamine olur (Brera, 2013). OTA en fazla *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*'u da kapsayan *Aspergillus section Nigri* cinslerinin oluşturduğu mikotoksinlerdir (Nguyen ve ark.,2013). OTA üretebilen *Penicillium* türleri de *Penicillium verrucosum* ve *Penicillium nordicum*'dur (Heperkan ve ark, 2009; Coverelli, 2012).

Penicillium nordicum, *P. verrucosum* ile beraber okratoksinler, başta *Circumdati*, *Nigri* ve *Flavi* türlerini de kapsayan *Aspergillus* türlerince oluşturulmaktadır. Bu türlerden *Circumdati*'nin 10 farklı türü çok miktarda okratoksin A üretebilmektedir. *A.cretensis*, *Neopetromyces muricatus* *A. pseudoelegans*, *A.westerdijikiae*, *A. roseoglobulosus*,*A. flocculosus*, *A. sulphureus*, *A. steynii*, *A. ochraceus* ve *A. sclerotiorum* olarak sıralanabilir. OTA üretebilen *Flavi* cinsleri;*A. alliaceus* ve *A. albertensis*. OTA üretebilen *Nigri* türleri *A. carbonarius*, *A. niger*, *A. lacticoffeatus* ve *A. sclerotioniger* olarak sıralanabilir (Kocsube ve ark, 2013). Günümüzde, *Circumdati*'nin, *Aspergillus westerdijikiae* ve *Aspergillus steynii* denen türler *A.ochraceus*'dan ayrılmıştır ve *A. ochraceus*'dan daha çokfazla OTA ürettiği anlaşılmıştır (Heperkan ve ark. , 2009).

Tahıl ürünlerinde kontaminasyonu *Penicillium verrucosum* yaparken, *P. nordicum* genel olarak et ve süt ürünlerinde görülür. *Aspergillus ochraceus*, OTA üreten ilk tür olduğundan önemlidir. Sarımsı koyu renkli konidiyası ile diğer *Aspergillus* türlerinden ayırd edilir. Ayrıca *Aspergillus Section Circumdati*'nin (*A. ochraceus*) tek bir tür olmadığı benzer özelliklerde ikinci bir türü daha olduğu belirlenmiştir (Frisvad ve ark., 2004). Yer fıstığı,findık, baharat, fasulye, kurutulmuş meyve ve yeşil kahve çekirdeğinde çok fazla bulunmaktadır. İşlenmiş et mamülleri ve tütülenmiş, tuzlanmış balıklarda da rastlanmaktadır. OTA'yı Ilman iklimlerde tahıl, yağlı tohumlarda, hayvan yemlerinde *A.niger var niger* ve *A. ochraceus* oluşturur. *A. carbonarius* en çok üzümde,

kuru üzümde ve kahvede görülmektedir. *A. carbonarius* ve *A. niger*'in optimum küf gelişimi ve OTA oluşturma sıcaklıkları *A. carbonarius* için, 35-37°C ve *A. niger* için ise 15-25°C'dir (Heperkan ve diğ., 2012). OTA gelişimi *A. carbonarius* 15 °C ve 20°C'de, *A. niger* için 20 °C ve 25°C'de azami miktarlara ulaşmaktadır.

Su aktivitesi *A. carbonarius*'un gelişimini etkileyen önemlibir faktördür. 25 °C ile 30°C'de ve 0,96-0,98 aw arasındaki su aktivitesinin artması durumunda küf gelişimi de artmaktadır. Su aktivitesi 0,83 ile 0,87 aralıklarında olduğu zaman gelişim önemli miktarda azalmaktadır (Mitchell ve ark., 2004; Belli ve ark., 2007; Kapetanakou ve ark., 2009; Spadora ve ark., 2010).

Kapetanakou ve ark. (2009), ait bir araştırmada *Aspergillus ochraceus* ile *Aspergillus carbonarius* değişik pH'larda (3.9, 5.1, 5.9, 6.8), aw (0.87, 0.93, 0.99) ve sıcaklıklarda (10, 15, 20, 25, 30, 40°C) OTA oluşturma seviyelerini incelemiştir. OTA üretme seviyeleri her sıcaklık ve aw'de önemli miktarlarda farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca pH'nın tek başına etkili olmadığını görmüşlerdir. Miktar olarak en çok OTA'nın 0.99 aw'de üretildiği görülmüştür. (her üründe 25 µg/kg dan fazla). Su aktivitesi ile pH'ya bağlı olarak en fazla OTA *A. ochraceus* ve *A. carbonarius* için 20 ve 25°C sıcaklıklarda üretilmiştir..

A. carbonarius 0.87 aw hiçbir sıcaklık değerinde OTA üretmediği görülmüş, su aktivitesinin de bu türün gelişimi için engel oluşturmadığı anlaşılmıştır. *A. carbonarius* ve *A. ochraceus* için 10°C ve 40°C'lerde küf gelişimi ve OTA üretimine rastlanmamıştır.

Penicillium verrucosum hububatta, *P. nordicum* ise salam ve jambon gibi işlenmiş et ürünlerinde OTA üretir. *Aspergillus ochraceus* Sarımsı-kahverenkli konidiya ile diğer aspergillus türlerinden kolaylıkla ayrılan *A. ochraceus*'un (*Aspergillus section Circumdati*) aslında tek bir tür olmadığı, benzer özellikte ikinci bir türün daha bulunduğu 2004 yılında belirlenmiş ve yeni türe *A. westerdijkiae* ismi verilmiştir (Frisvad ve ark., 2004). İlerleyen yıllarda benzer morfolojiye sahip üçüncü bir küf türü, *A. steynii* tanımlanmıştır (Gil-Serna ve ark., 2011). Yeni iki türün de *A. ochraceus*'dan daha yüksek miktarda OTA ürettiği bildirilmiştir. OTA üreten diğer önemli *Aspergillus* türleri, *A. carbonarius* ve *A. niger*'dir (Leong ve ark., 2006).

Çizelge1.5. Okratoksin Üreten Önemli *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri ve sıklıkla buldukları ürünler.

Küf Türleri	Ürünler	Kaynaklar
<i>Aspergillus Section Circumdati</i>		
<i>A. ochraceus</i>	Üzüm	Gil-Serna ve ark., 2009
	Kahve çekirdeği	Sartori ve ark., 2006
	Hububat (arpa mısır)	Magan ve Aldred, 2005
<i>A. steynii</i>	Kırmızı biber	Sardinas ve ark., 2011
	Kahve çekirdeği	Taniwaki ve ark., 2003
<i>A. westerdijkiae</i>	Üzüm	Gil-Serna ve ark., 2009
	Kahve çekirdeği	Gil-Serna ve ark., 2009
<i>Aspergillus Section Nigri</i>		
<i>A. carbonairus</i>	Üzüm, kuru üzüm	Atoui ve ark., 2007
		Leong ve ark., 2006
	Kahve çekirdeği	Sartori ve ark., 2006
	Kırmızı biber	Sardinas ve ark., 2011
	Kakao	Copetti ve ark., 2013
	Kuru incir	Daskaya-Dikmen ve Heperkan, 2013
<i>A. niger</i>	Üzüm	Rossi ve ark., 2011
	Kuru incir	Daskaya-Dikmen ve Heperkan, 2013
<i>A. niger aggregate</i>	Kırmızı biber	Sardinas ve ark., 2011
	Kuru incir	Daskaya-Dikmen ve Heperkan, 2013
<i>Penicillium</i> türleri		
<i>P. nordicum</i>	Salam ve domuz jambonu	Bogs ve ark., 2006
<i>P. verrucosum</i>	Hububat (arpa, buğday ve diğerleri)	Lund ve Frisvad, 2003

Aspergillus türleri, farklı renkte konidiaları sayesinde birbirlerinden ayrılabilir. Siyah konidiaları nedeniyle siyah aspergilli olarak tanınan bir grup küf örnek olarak gösterilebilir. Ve bu grup *Aspergillus section Nigri* altında toplanmış ve OTA üretme potansiyelleri açısından incelenmiştir. 1994 yılına kadar tüm siyah *Aspergillus* türleri *Aspergillus Niger* olarak tanımlanıyordu. Ancak *A. carbonairus*'un *A. Niger*'den farklı bir

tür olduğu ve OTA ürettiği belirlendi (Abarca ve ark., 1994). Çizelge 1.5'de OTA üreten önemli küf türleri ve sıklıkla buldukları ürünler verilmiştir.

Aspergillus carbonairus pek çok özellik bakımından *A. niger*'e benzerlik gösterir. *Aspergillus carbonairus*'un konidia çapı *A. niger*'e göre daha büyük ve geliştiği sıcaklık derecesi daha düşüktür. *Aspergillus carbonairus*'un gelişme sıcaklıkları optimum 32-35°C maksimum 40°C'dir. *Aspergillus carbonairus*, *A. niger*'in bulunduğu tüm ortamlarda gelişebilir ancak kuru üzüm, üzüm ürünleri örneğin üzüm suyu ve şarapta OTA üretiminden sorumlu asıl küf türüdür (Benford ve ark., 2001).

Aspergillus niger'in gelişme sıcaklıkları; minimum 6-8°C, optimum 35-37°C ve maksimum 45-47°C dir. *Aspergillus niger* kserofilik bir küf olup, konidiaları 0,77 su aktivitesinde (aw)çimlenir (Benford ve ark.,2001).

1.4.2. İnsan Sağlığı Üzerine Okratoksin A Etkisi

OTA Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) tarafından olası insan kanserojenleri içinde sınıflandırılmıştır (kategori 2B). Hayvanlar üzerinde şimdiye dek yapılmış tüm çalışmalarda OTA ile böbrek hastalığı arasında ilişki vardır. Genellikle İnsan serumunda bulunan kan hücrelerinde ve hayvan dokusunda, anne sütü de dahil OTA tespit edilmektedir. Domuz nefropatisinden sorumlusu OTA'dır. Bu hastalık Danimarka'da görülen domuz nefropatisi endemiktir. Kuş ölümlerine de neden gösterilmiştir (Bezerra da Rocha ve ark.,2014). Balkanların (Hırvatistan, Bosna Hersek, Sırbistan, Romanya, Bulgaristan) kırsal bölgelerinde yaşayan halklarda tipik görülen Balkan Endemik Nefropatisi de denilen (BEN) böbrek hastalığıyla ilişkilidir, OTA'nın hedef organı böbreklerdir ve aynı zamanda OTA potansiyel bir nefrotoksindir (Marin ve ark.,2013).

WHO (Dünya Sağlık Örgütü) ve FAO'nun (Gıda Tarım Örgütü) Birleşik Gıda Katkıları Uzmanlar Komitesine göre, total okratoksin alım kaynağını; tahıl %58, şarap %21,üzüm suyu %7, kahve %5, iledomuz eti %3 oranlarıyla oluşturmaktadır (JEFCA, 2001).

Okratoksin Akaraciğer dokularında damar içinde , yağ ve kas dokularında birikerek hayvandan gıda zincirine geçtiği için yemlerde ve hayvansal dokularda bulunması insanlara bulaşmasına sebep olur (Persi ve ark., 2014). Fare ve sıçanlarda böbrek tümörü oluşumu ile kanserojen olduğu bilinen OTA'nın insanlarda idrar yolu tümörleri ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Brera ve ark.,2013). Bu hastalık karakteristik

özelliği olan tübülointerstisyel nefrit ile kendini göstermekte böbrek, pelvis, mesane ile üreter tümörleri için bu organlarda OTA'nın yüksek miktarlarda bulunması ile ilişkilidir (Parsi ve ark., 2014). Böbrek OTA'nın hedef organı böbrektir ve potansiyel nefrotoksin olarak bilinir. İnsanlarda nefropati tetikleyicisi olarak tanımlanmıştır ve üst idrar yolunda oluşan ürotelial kanserlerle ilişkilidir. Hayvanlarda görülen testis kanserinin OTA alımıyla ilgili olduğu ve alımın artması halinde kanserinde arttığı görülmüştür. Ayrıca OTA, genotoksik, teratojenik, kanserojenik ile immünotoksik olarak kabul edilmiştir, ancak nörotoksik etki halen doğrulanamamıştır. OTA'nın kronik etkisi daha çok yaygındır (Marin ve ark., 2013).

Hayvanlar OTA alımı devam ederse, böbrekte bulunan kıvrımlı tübüllerin dejenerasyona uğramasıyla sonuçlanan böbrek hastalığı ortaya çıkmaktadır. Böbrek içi fibrözleri oluşur, bazal membranda incelmeye olup, glomerüller hiyalinizasyon oluşmaktadır (Marin ve ark.,2013).

Böbrekteki hastalık belirtilerinin yanında OTA vücudun diğer sistemlerini de etkiler. Sıçan ile farelerde plasentaya geçip embriyotoksik etkide bulunur. OTA, immünotoksik özelliktedir ve hayvan bağışıklık sistemini baskılayıcı etkisi timüs, dalak ve lenf düğümlerinin hacminin küçülmesiyle kendini gösterir. Bağışıklık hücreleri sayısını ve fonksiyonlarını, yanı sıra sitokin üretim modülasyonunu da değiştirir. OTA nörolojik etkilerinin yanında serebral hipokampal etkilerle de ilişkisi vardır. Anne sütünde görülen OTA'nın, bebeklerin de OTA'ya maruz kalmalarına sebep olur (Hope ve Hope, 2012).

OTA'nın teratojenik, immünosüpresif, hepatonefrotoksik, apoptoz indükleyicisi, genotoksik ve lipid peroksidasyonu artırıcı etkide bulunduğu gösterilmiştir. OTA'nın protein sentezini inhibe etmesi ve glikoneogenez, DNA kırılmaları, mitokondride oksidatif fosforilasyonu bozması ve kanın pıhtılaşmasını engellemesi nedeniyle insan sağlığı için büyük bir önemi vardır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tarımsal ürünlerde Okratoksin A bulaşısı ilk olarak 1969 yılında ve mısırdaki tespit edilmiştir (Shotwell ve ark., 1969). OTA başta mısır, buğday, yulaf, pirinç, ve arpa gibi tahıllarda, kurutulmuş meyvelerde, şarapta, birada, bebek mamaları ve çeşitli gıda ürünlerinde bulunmaktadır. Tarımsal ürünlerin yanı sıra insan kanı, idrarı, ile anne sütü gibi biyolojik numunelerde de görülmüştür (Nguyen ve ark., 2013).

Okratoksin A hindistan cevizi, biber ile biber tozu, kişniş gibi farklı ürünlerde fazla miktarlarda ve çok sık bulaşma olmaktadır. OTA oluşumuna neden olan küf türleri iklime ve ürüne göre farklılık gösterir. OTA'nın hayvansal gıdalarda bulunması, yemlere OTA bulaşmasından ileri gelmektedir (EFSA, 2006).

Su aktivitesi, sıcaklık, substrat gibi değişkenler OTA oluşturan suşların gelişmesi ve toksijenitesinde çok önemlidir. Bu değişkenlerden olan pH, *A. ochraceus* gelişmesi ya da OTA oluşturmada etkin değildir. Fakat su aktivitesinin (a_w) etkisi önemlidir; gelişme ile toksin üretme için optimal değer 0,95'tir. 0,80 altındaki su aktivitelerinde küf gelişimi olmaz. Düşük a_w 'ye sahip kahve bezeri gıdalar küf gelişmesi açısından güvenli gıdalardır. Gelişim için uygun su aktivitesi olması durumunda sıcaklık toksin miktarını etkiler. Toksin üretimi, 10°C-35°C arasında olmaktadır (optimum sıcaklık olan 35 °C'dir). *A. ochraceus* için uygun a_w 0,80 ile 0,99 aralığındadır. Depolamadaki küf gelişiminde ekili koşullar, sıcaklık ile nemdir (Suarez-Quiroz ve ark., 2004).

Nijerya'da Makun ve ark. (2013), tarafından yapılan bir çalışmada mısır, millet, Guine mısırı, acha, susam, cassava incelemiştir. Millet, acha, susam, cassava numunelerinin %100'ünde OTA rastlanırken, mısır ve Guine mısır numunelerinin %94.1'inde OTA'ya rastlanmıştır. Çalışmada bulunan OTA değerleri; mısır 0-139.2µg/kg, millet 10.20-46.57µg/kg, Guine mısırı 0-29.50µg/kg, acha 1.38-23.90µg/kg, susam 1.90-15.66µg/kg, cassava 3.28-22.73µg/kg aralıklarındadır. Nijerya'da yapılmış farklı bir çalışmada pirinç, mısır, darı, millet, yer fıstığı incelenmiş pirinç %4.5, yer fıstığında %85.7 oranlarında OTA tespit edilirken mısır, darı, millette OTA'ya rastlanmamıştır. Görülen OTA değerleri ortalama olarak pirinçte 0.1 µg/kg , yer fıstığında 3.7 µg/kg'dır (Toffa ve diğ., 2013).

Türkiye'de yapılmış bir çalışmada kahvaltılık gevreklerde % 21.62, tahıllı gıdalarda %19.05 ve tarhanada% 55.95 oranında OTA'ya rastlanmıştır. Ortalama OTA

ise kahvaltılık gevreklerde 0.32, tahıllı gıdalarda 0.14 ve tarhanada 0.41 µg/kg değerlerinde görülmüştür (Özden ve ark., 2012). Ibáñez-Vea ve ark. (2012), İspanya'da yapılmış bir çalışmada mısır, buğday, pirinç, arpa numuneleri incelenmiş sırasıyla %4.7, %64.2, %87.5, %57.7 oranlarında OTA tespit etmiştir, OTA ortalaması ise sırasıyla 0.1, 0.43, 0.16, 0.1 µg/kg'dır. İspanya'da yapılmış bir başka çalışmada ise buğday ve yulaf numuneleri incelenmiş; buğdayda %29.72 ile yulafta %20 oranlarında OTA bulunmuştur, ortalama OTA miktarı ise sırasıyla 1.1 ve 0.3 µg/kg'dır (Vidal ve ark., 2013). Arjantin'de yapılan bir çalışmada yeşil kahve, kavrulmuş kahve, çözülebilir kahve örnekleri incelenmiş sırayla %100, %54.1, %77.27 oranlarında OTA bulunmuştur. Bulunan ortalama OTA ise sırayla 5.77, 1.0, 1.99 µg/kg'dır (Vanesa ve Ana, 2013). Vecchio ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmada kahve ve kahve ürünleri örnekleri incelenmiş %96'sında 0.32-6.49 µg/kg arasında OTA olduğu görülmüştür.

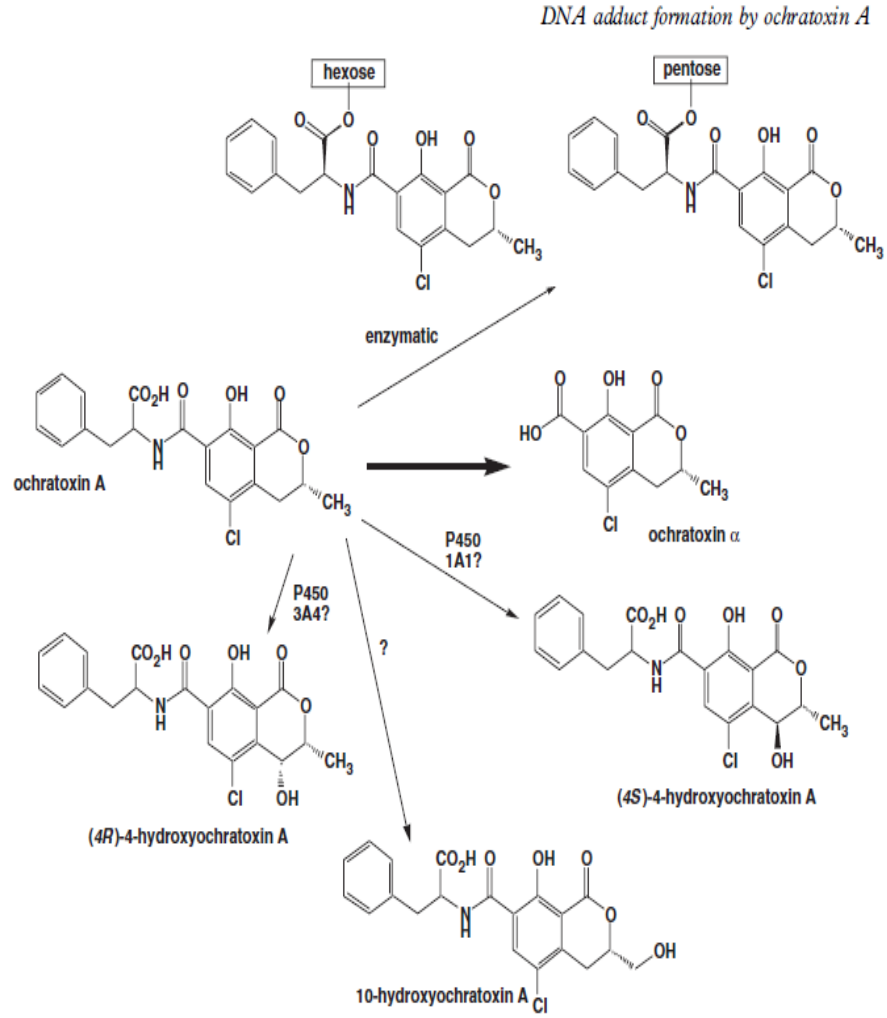
Türkiye'de çeşitli biberlerde (pul biber, kırmızı biber, karabiber), kimyon ve tarçın ürünlerinden alınan numuneler incelenerek şu sonuçlar elde edilmiştir; sırayla %75, %54.5, %17.4, %5.3 oranlarında OTA bulunmuştur. OTA ortalama miktarı 16.44, 24.65, 1.82, 0.63 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Tarçında OTA'ya rastlanmamıştır (Özbeş ve Kabak, 2012). Türkiye'deki başka bir çalışmada 69 adet bira örneği incelenmiş örneklerin tümünde 0.008-0.488 µg/kg aralığında OTA varlığı tespit edilmiştir (Anlı ve Alkış, 2010).

İtalya'da Pattano ve ark. (2013), tarafından yapılan çalışmada 32 tane peynir ve peynir içi araştırılmış örneklerin her biri için %18.75'inde OTA tespit edilmiştir. OTA miktarları ise peynir ve peynir içi olarak peynir 1-262 ve peynir içi 18.4-146 µg/kg aralıklarında bulunmuştur. Pakistan'da yapılan bir çalışmada çili sosu, öğütülmüş çili, çili tozu örnekleri incelenmiş örneklerin %34, %59.6, %57.1'inde (Iqbal ve ark., 2013). Türkiye'de yapılan bir çalışmada bebek mamaları incelenmiş 62 örneğin %19.35'inde 0.017-0.184 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir (Kabak, 2012). Dall'Asta ve diğ. (2010), yaptıkları çalışmada 110 adet jambon örneği incelenmiş jambon iç yüzeylerinin %29.1'inde ortalama olarak 0.24 µg/kg, dış yüzeylerinin %76.4'ünde 0.98 µg/kg OTA tespit edilmiştir. Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan (2008), Türkiye'de yaptıkları çalışmada 115 adet kuru incir örneği incelenmiş örneklerin %47.8'inde 0,12-15,31 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir.

100 adet bugday, arpa, yulaf ve karışık yem örneklerinde yapılan OTA analizinde 54 örnekte en çok 1300 ppb düzeyinde toksin bulunmuştur. Baska bir araştırmada, 127 bugday, arpa, un, yulaf gevregi ve hububat bazlı çocuk gıdalarında yapılmış OT-A analizi neticesinde örneklerden 84 'ünde <1 ppb, 24'ünde 1-5 ppb, 14'ünde 5-20 ppb ile 5'inde ise >20 ppb OTA tespit edildiği bildirilmiştir.

Bir araştırmada toplamda 108 adet örnek analiz edilmiştir. 67 bugday, kepek, yulaf, ev tipi un, 20 makarna, sehriye, bisküvi ve kahvaltılık tahıl ve 21 müsli analiz edilmiştir. Bugday, kepek, yulaf ve un örneklerinin 64'ünde <4 ppb, 1 kepek, 1 bisküvilik un ve ev tipi unda sırasıyla 4.2, 6.4 ve 5.3 ppb düzeylerinde OTA bulunmuştur. 21 adet müsli örneğinin ise 5'inde 0.6-1.7 ppbarasında OT-A bulunduğu ve müsli de kullanılan kuru üzüm örneğinin 6.5 ppb OTA içerdiği bildirilmiştir.

OTA dolaylı karsinojen mekanizması aracılığıyla epigenetik karsinojen olarak da isimlendirilmektedir. Fakat bununla birlikte DNA'ya direk bağlanabilmesi sebebiyle doğrudan karsinojen olarak kabul edilmektedir (Sabuncuoğlu ve ark., 2008). OTA'nın kandan uzaklaşma hızı dokulara göre daha yavaştır. Kanda yüksek miktarda OTA'nın doku içinde dağılımı böbrek>karaciğer>kas>yağ şeklindedir, et ürünlerindeki OTA varlığının ana kaynağı tüketilecek hayvanın kanındaki, böbreğindeki, karaciğerindeki bulaşmayla değil baharatın kontamine olmasıyla da olabilmektedir (Persi ve ark., 2014). OTA hayvanlarda hidroliz, hidroksilasyon, oksidasyon ve konjugasyon reaksiyonları sonucu biyotransformasyona uğrar şekil 2.1'de OTA biyotransformasyon gösterilmiştir (Han ve ark., 2013).



Şekil 2.1. OTA biyotransformasyonu (Han ve ark.,2013).

2.1. Okratoksin A ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Aflatoksinin 1960'lı yıllarda keşfedilmesiyle, tüketen canlıları gıdaları kontamine edebilen mikotoksinlerin zararlı etkilerinden korumak için birçok ülke gıda ticaretinde adil olmak için düzenleme oluşturmaya başlamıştır. 1974 yılından beri, bazı ülkeler gıdalarda bulunabilen mikotoksin oranları için maksimum limitler belirlemişlerdir (Cheli ve ark., 2014). İnsanların gıdalardan aldıkları OTA miktarı ile ilgili yaptıkları çalışmalarda bulaşma oranlarını; tahıllar ile tahıl ürünlerinden % 50, şaraptan %13, kahveden %10, baharattan %8, biradan %5, kakaodan %4, kuru meyveden %3 ve kümes hayvanı etinden %1 olarak bildirmişlerdir (EC, 2002). Çizelge 1.6'da Avrupa Birliği ile

Türkiye'de yapılan okratoksin A'daki yasal düzenlemeler gösterilmiştir (EC, 2006; EC, 2010; TGK, 2011).

Çizelge 1.6. Türkiye ve Avrupa Birliği'nde İzin Verilen OTA Limitleri.

Gıda Maddesi	Maksimum limit g/kg)	
	(TÜRKİYE) ¹	(AVRUPA BiRLiĞi) ²
İşlenmemiş tahıllar	5,0	5,0
Tahıldan elde edilen tüm ürünler(doğrudan tüketime sunulan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri dahil)	3,0	3,0
Kurutulmuş asma meyveleri (kuşüzümü, kuruüzüm ve çekirdeksiz üzüm dahil)	10,0	10,0
Kavrulmuş kahve çekirdeği ve öğütülmüş kahve	5,0	5,0
Kahve ekstraktı, çözünebilir kahve ve ekstraktı	10,0	10,0
şarap(köpüklü şarap/Şampanya dahil, likör şarapları ve hacmen alkol miktarı en az % 15olan şaraplar hariç) ve meyve şarapları	2,0	2,0
Aromatize şarap, aromatize şarap bazlı içki ve aromatize şarap kokteyli	2,0	-
Üzüm suyu, üzüm suyu konsantresi, üzüm nektarı ile doğrudan tüketime sunulan üzüm şırası ve konsantresi	2,0	2,0
Bebekve küçükçocuk ek gıdaları	0,5	0,5
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,5	0,5
Diğer gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar)	10,0	-
Baharatın aşağıdaki türleri için; Kırmızıbiber (<i>Capsicum spp.</i>) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil)	30,0	30,0* (30.06.2012 tarihine kadar)15,0*
Karabiber(<i>Piper spp.</i>) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) Hintcevizi/Muskat(<i>Myristicafragrans</i>) Zencefil(<i>Zingiberofficinale</i>) Zerdeçal(<i>Curcuma longa</i>)	(30.06.2012 tarihine kadar)15,0 (1.07.2012 tarihinden sonra)	30,0* (30.06.2012 tarihine kadar)15,0* (1.07.2012 tarihinden sonra)
Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat		
Meyan kökü (<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>G. inflatave</i> diğer türler)	20,0	20,0*
Meyan kökü (bitkisel infüzyon bileşeni olarak kullanılanlar) Meyan kökü ekstraktı (özellikle alkolsüz içecek ve şekerleme üretiminde kullanılan)	80,0	80,0*

¹ :Türk Gıda Kodeksi,2011; ² : European Commission,2006; * : European Commission,2010

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada Hatay ağırlıklı olmak üzere Adana, G. Antep, Mersin, ve K. Maraş illerinden toplanan firik buğdaylarda OTA varlığı araştırılmıştır. Toksin varlığı saptanmasında HPLC tekniği kullanılmıştır. Sezonda toplanan numuneler tarladan veya rastgele seçilmiş satış yerlerinden (bakkal, şarküteri, zahireci vb.) alınmıştır. Numuneler 500 g'lık örnekleme ile toplamda 50 adettir. Numuneler analize alınincaya kadar; serin, havadar ve oda sıcaklığını geçmeyecek iklim koşullarında tutularak analizleri yapılmıştır.

3.1.1. Alet-Ekipman ve Aksesuarları

- Analitik Terazı : Tartım hassasiyeti 0.01 g ve 0.0001 g (0.1 mg)
- Homojenizator : Silverson BX (Uygun aksesuarları ile birlikte) veya eşdeğeri
- Blender (Bıçaklı Parçalayıcı) : Yüksek hızlı, litrelik, Waring veya eşdeğeri, motoru, blender haznesi ve kapağı ile birlikte
- Sabit faz ekstraksiyon manifoldu (ünitesi): aksesuarları ve vakum pompası ile birlikte
- Ultrasonik su banyosu
- Çalkalama Cihazı : mekanik, hızı ayarlanabilir
- Genel Laboratuvar Cam Malzemeleri : Balon joje (A Class, ,5 ml, 10 ml, 20 ml (amber renkli), 100 ml, 1000 ml), Mezür (A Class, 110 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml), Erlen (250, 500 ml kapaklı), Beher (farklı ebatlarda), Huni (8-10 cm çaplarında , cam veya PP), Mobil faz Şişesi (1000 ml), Vial (Amber cam , 2 ml ,slit septa ve 12 ml kapaklı)
- Vorteks
- Otomatik Pipet : 0.5 – 5 ml ,100-1000 µl , 10-100 µl ve uçları ile birlikte
- Membran Filtre : 0.20 µm , PP (Whatman veya Sartorius)
- Membran Süzme Düzeneği: Mobil faz süzme aparatı, 0.20 µm filtresi ile birlikte
- Tek kullanımlık Enjektör (Şırınga) : 2 ml, 10 ml, 20 ml, 50 ml ve farklı ebatlarda
- Filtre Kağıdı (Whatman No:4,185 mm veya eşdeğeri)

- Buzdolabı (2-8 °C) ve Derin Dondurucu (-16/-18 °C)
- Immunoaffinite Kolonu : R-Biopharm Rhone Ltd (Darmstadt, Germany) ; Vicam (Watertown, MA) veya bu kolonlarla eşdeğer, sertifikalı (Bu kolonlar buzdolabında saklanır. Kullanılmadan önce ortam sıcaklığına getirilir.)
- HPLC-FLD sistemi: Shimadzu LC-20/ Prominence Sistemi (uygun bir software ile donatılmış)
 - Liquid Chromatograph, LC-20AD
 - Degasser, DGU-20A3
 - Auto sampler, SIL-20A,
 - Column oven, CTO-10AS,
 - Florescence Detector, RF-10AXL
 - Cihaz kodu: FKKL.C.06*
- HPLC Kolunu: ACE-5 5µm, 4.6x250mm veya bu kolonlarla eşdeğer özellikte, ön (guard kolonu ile birlikte)

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışı

- Metanol, HPLC saflıkta
- Asetonitril , HPLC saflıkta
- glacial Asetik Asit, 100% p.a.
- Fosfat Tamponlu Tuz tableti (Phosphate buffered saline tablet-PBS) (pH 7.4) :R-Biopharm Rhone veya eşdeğer kalite olanlar.
- Sertifikalı standart maddesi: Okratoksin A standardı , kuru film veya kristalize ve çözelti halinde ve belirsizliği ile birlikte verilmiş sertifikalı

3.1.2.1 PBS Çözeltisi Hazırlama

Tablet olarak temin edilen PBS, 1 tablet 100 ml distile suda çözüldürülerek hazırlanır. 25°C'nin altında muhafaza edilir.

3.1.2.2. Mobil (Taşıyıcı) Faz Hazırlama:

Ultra Saf Su / ACN /Asetik Asit (47:51:2) (v/v/v) karışımı hazırlanır. Karışım, mobil faz süzme düzeneğinde 0,2 mikron gözenekli membran filtre kâğıdından süzülür.

3.1.2.3. Yıkama Çözeltisi Hazırlama

ACN/saf su (1:1) karışımı hazırlanır.

Not: Bu çözelti HPLC kolonunun yıkanması amacıyla kullanılır. HPLC kolonu uzun süre kullanmadan saklamak için % organik solvent kullanılmalıdır
Tablet olarak temin edilen PBS, 1 tablet 100 ml distile suda çözündürülerek hazırlanır.
25°C'nin altında muhafaza edilir.

3.1.2.4. Mobil (Taşıyıcı) Faz Hazırlama

Ultra Saf Su / ACN /Asetik Asit (47:51:2) (v/v/v) karışımı hazırlanır. Karışım, mobil faz süzme düzeneğinde 0,2 mikron gözenekli membran filtre kâğıdından süzülür.

3.1.2.5. Yıkama Çözeltisi Hazırlama

ACN/saf su (1:1) karışımı hazırlanır.

Not: Bu çözelti HPLC kolonunun yıkanması amacıyla kullanılır. HPLC kolonu uzun süre kullanmadan saklamak için % organik solvent kullanılmalıdır.

3.1.2.6. Standart Dilüsyon Çözeltisi Hazırlama

Asetik Asit / Metanol (2:98, v/v) karışımı hazırlanır ve ultra saf su ile(1:1,v/v) oranında karıştırılır.

3.1.2.7. Standart Hazırlama (Okratoksin A)

Çalışmalarda kristal veya çözelti halinde, belirli konsantrasyonlarda temin edilmiş / hazırlanmış Okratoksin A Sertifikalı standart maddeleri kullanılır. Kristal halde veya çözelti halinde temin edilen Okratoksin A standartlarından üreticinin önerdiği şekilde göre ana stok çözeltisi hazırlanır.

Örneğin; Rhone diagnostics NL, 1000 ng/ml konsantrasyonda 6 ml toplam Okratoksin A içeren standart çözeltisinden aşağıdaki şekilde ara stok hazırlanır.

3.1.2.8. Ara Stok Standart Çözeltilerini Hazırlama

100 ng/ml içeren Okratoksin A içeren şekilde ara stok hazırlamak için; 1000 ng/ml sertifikalı standart ana stok çözeltisinden 5 ml'lik amber renkli balon jöjeye otomatik pipetle 500 µl alınır ve hacim acetic acid içeren methanol (2:98) ile 5 ml'ye tamamlanır.

3.1.2.9. Çalışma Standartlarını Çözeltilerini Hazırlama

Çalışma standartları 100 ppb'lik 'ara stok standart'tan hazırlanır. 7 konsantrasyon için ara stoktan alınması gereken hacimler aşağıdaki tabloda verilmiştir (Çizelge 3.1). Ara stoktan otomatik pipet ile aşağıda belirtilen miktarlar alınır. Hacim acetic acid içeren methanol (2:98) : Su (50:50 v/v) ile tamamlanır. Karıştırıcıda karıştırılır. Cihaza verilmek için otomatik pipet ile 2 ml'lik vial alınır ve son olarak cihaza enjekte edilir.

Çizelge 3.1.Çalışma standartlarını hazırlamak için ara stoktan alınması gereken hacimler.

Standart Ara Stok çözeltilerinden alınacak hacim	Okratoksin A ya ait Kalibrasyon Çözeltisi konsantrasyonu (ng/ml)	Okratoksin A ya ait numunedeki kons.(ng/g veya µg/kg)
10 µL	0,1	0.3
50 µL	0,5	1.5
100 µL	1	3.0
200 µL	2	6.0
500 µL	5	15.0
1000 µL	10	30.0
2500 µL	25	75.0

3.2. Yöntem

Okratoksin A analizleri AOAC.2000.03 High Performance Liquid

Chromotography (HPLC) Immuno Affinity Colon (IAC) yöntemi olan %96 geri kazanımlı, tespit limiti (LOQ) 0,5 ppb olan uluslararası akredite metod ile yapılmıştır (AOAC 2001).

3.2.1. Ekstraksiyon

- Homojenize hale getirilmiş numune blender kabına 25 g numune 0.1 g hassasiyetle tartılır.
- Üzerine 100 ml (6:4 ACN:H₂O v/v) ekstraksiyon solvent karışımı eklenir ve 3 dk. daha yüksek hızda karıştırılır.
- Karışım huni kullanılarak Whatman-4 filtre kağıdından süzülür ve filtrat 250 ml'lik erleninde toplanır.

3.2.2. Immunoaffinity Kolonun Hazırlanması

- Immunoaffinity Kolonlar (IAC) ortam sıcaklığına getirilir. IAC kolonun başındaki kısım çıkarılır ucu kesilir ve musluklarla manifolda yerleştirilir.
- Immunoaffinity Kolondan, 20 ml PBS (pH= 7.4), 5 ml/dakika hızla geçirilerek şartlandırılır. Kolonun üstünde 0.5 ml çözelti kalınca vanası kapatılır.

Not: Kolonların yüklenmesi, yıkanması ve elusyon çalışmaları kolon üreticilerinin talimatları takip edilerek yapılmalıdır.

3.2.3. Immunoaffinity Safhası

- Filtrantın 4 ml'si (1 g numuneye eşdeğer) temiz bir mezüre alınır ve üzerine 44 ml PBS çözeltisi eklenir, akış hızı 2 damla/saniye (~5 ml / dk) olacak şekilde Immunoaffinity Kolonlar (IAC) kolondan geçirilir. Eluat atılır.
- Sonra kolon, 10 ml su ile 5 ml/dakika hızla geçirilerek yıkanır. Eluat atılır.

- Kolondan 2-3 ml hava geçirilerek kurutulur.
- Kolonun altına 3-5 ml'lik bir amber renkli balon joje yerleştirilir ve kolondan saniyede 1 damla geçecek şekilde 1.5 ml asetik asit : metanol (2:98 v/v) ile eluat toplanır.
- Daha sonra kolondan 1.5 ml ultra saf su geçirilerek eluat aynı balon jodede toplanır. Böylece toplam hacim 3 ml olur. (Sonuçta 1 g örnek 3 kat seyreltilmiş olur, burada seyreltme faktörü 3)
- Çözelti vortekste iyice karıştırılır. 0,2 µm'lik filtreden geçirilerek HPLC amber vialine alınır. 100µl'si HPLC'ye enjekte edilir.(Numune enjeksiyon çözeltisi)

3.2.4. Metodun Tanımı ve Uygulanışı

Analiz edilecek numune asetonitril ve ultra saf su ile ekstrakte edilir. Ekstrakte edilen kısım filtre yardımıyla süzöldükten sonra sonra PBS ile seyreltilerek immunoaffinite kolonundan geçirilir. Affinite kolonunda bulunan antikolar yardımıyla toksinler tutulur. Son olarak kolonda tutulan toksinler % 2 asetik asit içeren metanol (2:98,v/v) ve saf su yardımıyla vialine alınarak HPLC'ye enjekte edilir.

3.2.4.1.HPLC Sistemi ile Çalışma

- Bu analiz için HPLC cihaz çalışma şartları aşağıdaki gibidir.
 - Floresans Dedektör Dalga Boyu: Ex: 333 nm; Em: 443 nm
 - Kolon Sıcaklığı: 40 °C
 - Basınç : <200 bar
 - Pompa Akış Hızı: 1 ml/dakika
 - Enjeksiyon Hacmi: 100 µl
 - Dilusyon (Seyreltme) Faktörü: 3
- HPLC-FLD sisteminin devreye alınması ve kolonun şartlanması tamamlandıktan sonra seçilen bir konsantrasyon da Okratoksin A içeren bir standart çalışma çözeltisi sisteme enjekte edilir.

- Elde edilen piklerin şekilleri, çıkış zamanları, alanları (yükseklikleri) ve miktarları değerlendirilir ve gerektiğinde kalibrasyon yeniden çizilir. Sonuçlar uygun ise numune enjeksiyon çözeltisi ile çalışmaya başlanır.
- Numune enjeksiyon çözeltisi ile yapılan çalışmalarda, Okratoksin A pikleri görülmediği takdirde bulgu madde 10.5'te belirtilen şekilde verilir.
- Numune enjeksiyon çözeltisi ile yapılan çalışmalarda, Okratoksin A pikleri görüldüğü takdirde, elde edilen Okratoksin A piklerinin alanları kullanılarak numunenin Okratoksin A miktarı hesaplanır. Numune absorbansı en yüksek standardın absorbansından büyük çıkar ise gerekli oranda seyreltmeler dışarıda yapılarak tekrar analiz edilir.

3.2.4.2.Sonucun Hesaplanması

HPLC sistemin programına tartım miktarı, dilusyon faktörleri girildiğinde; kalibrasyon eğrisinden faydalanarak Okratoksin A konsantrasyonları hesaplanır.

Burada; kalibrasyon yapıldığından cihaz programı kullanılarak $signal_{smp}$ 'den C_{smp} hesaplanır.

$$C_{smp} = a \times signal_{smp} + b$$

a = Sabit bir değer olup linear fonksiyonun (eğrisi) slope değeri

b = Fonksiyonun y eksenini kestiği noktanın değeri

C_{smp} = Linear regresyon ile hesaplanan Okratoksin A konsantrasyonu (ng/ml)

$signal_{smp}$ = Okratoksin A ölçümü yapılan çözeltilerdeki Okratoksin A pikinin alanı

Okratoksin A ($\mu\text{g}/\text{kg}$ - ng/g -ppb) konsantrasyonları aşağıdaki formülde (3.1) ile hesaplanır.

$$\text{Okratoksin A } (\mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{C_{smp} \times V_1 \times V_3}{M_S \times V_2} \quad (3.1)$$

M_S = Numune test porsiyonu tartımı (g)

V_1 = Ekstraksiyon solventi hacmi (ml)

V_2 = Immunoaffinity kolon için alınan numune ekstrakt süzüntü hacmi (ml)

V_3 = Elüsyondan sonra elde edilen çözeltinin hacmi (ml)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tahıl ve tahıl ürünleri dünyada ve ülkemizde temel gıda maddesi veya yem hammaddesi olarak çok yaygın kullanılmaktadır. Yeterli gıdaya ulaşamayan insan sayısının giderek arttığı dünyamızda, gıda güvenliğinin sağlanması tahıl üretiminin ve kalitesinin artırılması bu sayının azaltılması açısından çok önemlidir.

Bu çalışmada, Akdeniz bölgesinde daha yaygın tüketilen ve geleneksel bir ürün olan firik buğdayda OTA varlığı incelenmiştir. Toksin varlığı saptanmasında HPLC tekniği kullanılmıştır. Sezonda toplanan numuneler tarladan veya rastgele seçilmiş satış yerlerinden (Bakkal, Market, zahireci vb.) temin edilmiştir. Numuneler 500 gr'lık örnekleme ile toplamda 50 adettir. Numuneler analize alınıncaya kadar serin, havadar ve oda sıcaklığını geçmeyecek iklim şartlarında tutularak analizleri yapılmıştır.

Çizelge 4.1 Firik buğday örneklerinde bulunan nem, kuru madde, su aktivitesi ve OTA miktarları

Örnek	% Nem	% K.M	aw	OTA
1	12,23	87,77	0,584	N.D
2	12,54	87,46	0,554	N.D
3	12,94	87,06	0,565	N.D
4	13,01	86,99	0,564	N.D
5	12,73	87,27	0,578	N.D
6	11,94	88,06	0,612	N.D
7	12,25	87,75	0,622	N.D
8	12,33	87,67	0,577	N.D
9	12,32	87,68	0,603	N.D
10	11,96	88,04	0,586	N.D
11	13,21	86,79	0,579	N.D
12	13,01	86,99	0,577	N.D
13	12,76	87,24	0,589	N.D
14	11,86	88,14	0,613	N.D
15	11,48	88,52	0,627	N.D
16	13,03	86,97	0,611	N.D
17	12,76	87,24	0,591	N.D
18	12,14	87,86	0,587	N.D
19	13,11	86,89	0,586	N.D
20	12,68	87,32	0,632	N.D
21	12,44	87,56	0,603	N.D
22	11,43	88,57	0,596	N.D
23	12,55	87,45	0,578	N.D
24	11,43	88,57	0,564	N.D
25	13,16	86,84	0,577	N.D

Çizelge 4.1 (Devamı) Firik buğday örneklerinde bulunan nem, kuru madde, su aktivitesi ve OTA miktarları

Örnek	% Nem	% K.M	aw	OTA
26	11,54	88,46	0,563	N.D
27	12,23	87,77	0,552	N.D
28	11,96	88,04	0,554	N.D
29	12,21	87,79	0,571	N.D
30	13,03	86,97	0,561	N.D
31	12,55	87,45	0,552	N.D
32	11,86	88,14	0,580	N.D
33	12,13	87,87	0,564	N.D
34	11,46	88,54	0,576	N.D
35	11,00	89,00	0,577	N.D
36	12,03	87,97	0,611	N.D
37	12,23	87,77	0,591	N.D
38	11,84	88,16	0,583	N.D
39	11,44	88,56	0,576	N.D
40	12,33	87,67	0,559	N.D
41	11,96	88,04	0,573	N.D
42	12,31	87,69	0,549	N.D
43	11,78	88,22	0,576	N.D
44	11,96	88,04	0,577	N.D
45	13,01	86,99	0,603	N.D
46	12,24	87,76	0,607	N.D
47	11,96	88,04	0,599	N.D
48	12,03	87,97	0,584	N.D
49	11,04	88,96	0,578	N.D
50	13,03	86,97	0,571	N.D

Çizelge 4.2. Firik buğday örneklerinde ölçümü yapılan renk parametreler

ÖrnekNo	L	a	b
1	51.25	0.74	24.73
2	47.34	2.71	25.95
3	50.56	0.76	26.22
4	49.18	1.17	25.68
5	47.20	1.92	23.89
6	50.83	2.37	27.28
7	45.90	1.91	23.94
8	51.17	3.74	27.45
9	44.63	2.29	22.31
10	46.08	2.16	23.20
11	49.99	-0.01	25.06
12	44.64	0.71	23.07
13	45.09	0.09	25.29
14	48.04	0.15	20.58
15	43.93	1.82	21.74
16	53.80	0.24	27.20
17	46.26	0.15	24.64
18	47.46	-0.54	22.11
19	44.61	0.39	23.93
20	45.37	0.75	23.15
21	53.74	3.54	25.78
22	58.42	3.39	30.39

Çizelge 4.2.(Devamı) Firik buğday örneklerinde ölçümü yapılan renk parametreler

ÖrnekNo	L	a	b
23	53.04	2.69	24.75
24	49.47	3.82	28.90
25	57.13	4.05	29.03
26	52.62	2.61	27.54
27	57.67	3.26	30.78
28	59.40	3.28	27.85
29	50.33	3.83	24.44
30	55.53	4.46	29.74
31	48.47	1.19	25.51
32	46.64	1.06	24.76
33	47.39	1.87	25.83
34	54.63	0.74	24.92
35	53.99	1.36	29.34
36	44.80	1.70	22.70
37	51.54	2.62	29.01
38	55.30	0.39	29.27
39	47.61	1.91	26.37
40	45.89	1.61	24.80
41	47.70	1.92	22.05
42	43.74	2.31	22.60
43	46.17	1.41	23.31
44	46.37	1.14	23.89
45	51.48	1.09	24.89
46	47.62	0.88	25.30
47	48.82	0.73	22.26
48	49.19	0.47	23.82
49	48.27	1.05	24.94
50	43,49	0,28	20.52

Yapılan analizler sonucunda tespit edilebilir düzeyde Okratoksin A'ya rastlanmamıştır. Numunelerin nem değerleri % 11.04 ile % 13.21 arasında elde edilmiştir. Su aktivite ölçümleri ise 0.559 ve 0.632 aralığında bulunmuştur. Bu iki önemli parametre mikroorganizma gelişimini ve toksin oluşumu için emniyet bariyerleri içerisinde olduğundan OTA'ya rastlanmaması bizlerin çalışmadan elde ettiği değerleri destekler durumdadır.

Firik buğdayın elde edilmesindeki aşamalarda ürünün yakma işlemi ve ham yeşil buğdayın kavrulması ile üründe toksin oluşumunu engeller karakterizasyon oluşturmaktadır.

İngiltere'de Prickett ve diğer çalışma arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları bir araştırmada 106 arpa örneğinin 20'sinde OTA tespit etmişlerdir. Prickett ve çalışma arkadaşlarının yine aynı yılda yulafta yaptıkları bir diğer araştırmada ise 13 örneğin hiç birinde tespit edilebilir düzeyde OTA'ya rastlanmamışlardır. Ibanez-Vea ve çalışma arkadaşlarının 2012 yılında İspanya'da 21 adet mısır örneklerinden sadece birinde OTA'ya rastlamışlardır.

Geleneksel tüketim gıdalarımızdan olan firikte yaptığım çalışmada her ne kadar OTA'ya rastlanmamış olsa da insanlarda kanser başta olmak üzere çeşitli akut ve kronik tipte hastalık yaptıklarından mikotoksinlerin oluşumlarının önlenmesi veya ürünlerden uzaklaştırılması gerekir. Çoğu mikotoksinin kararlı moleküle sahip olması nedeniyle kimyasal olarak dayanıklı yapıdadır. Depolama, yüksek sıcaklıkta pişirme gibi işlemler sonucu bile ürünlerde bozulmadan kalabilmektedir. Bu nedenle gıda ve gıda ürünlerinde mikotoksin oluşumunu engellemek için gerekli tedbirlerin alınması gerekmektedir. Tahıllar depolanacak ise uygun koşullarda depolanmasına dikkat edilmelidir. Bu amaca yönelik olarak yapılan uygulamalardan diğeri de Laktik asit bakterileri ile mikotoksin uzaklaştırma işlemidir. Fermente gıda üretiminde kullanılan bu bakterilerin en önemli özelliği insan sağlığına zarar vermeden patojen bakterileri inhibe etmesidir. Bu arada ürünün yapısal ve duyuşsal özelliklerini geliştirmektedir. Bir diğeri uygulama ise mayalar ile mikotoksinlerin uzaklaştırılmasıdır. Özellikle *Saccharomyces* türü mayalar küf gelişmesini önlemekte ve ortamdaki mikotoksini absorbe ederek toksin miktarının da azalmasına neden olmaktadır. Bağlayıcı ajanlar kullanılarak da mikotoksinler uzaklaştırılabilmektedir. Zeolit, magnezyum smektit, sepiolit, aktif karbon ve hidratlanmış kalsiyum aluminosilikat gibi maddeler mikotoksinlerin bağlanmasında kullanılmaktadır. Bu ajanlar yemlere katılarak vucuda alınan toksin miktarının azalmasına neden olmaktadır. Amonyak, sodyum bisülfid ve kalsiyum hidroksit gibi kimyasallar mikotoksin üzerine etkili olmalarına rağmen ürünlerin bazı özelliklerinin kaybolmasına neden oldukları için kullanımları sınırlandırılmıştır. Ancak ABD, Fransa gibi ülkeler hayvan yemlerinde kullanılan mısır, yer fıstığı ve pamuk tohumunu gibi ürünleri amonyak ile muamele etmektedirler. Ama uygulama tamamen kontrollü koşullarda yapılmaktadır. Kavurma, kızartma, haşlama, mikrodalga ve ışınlama gibi prosesler mikotoksinlerin azaltılmasında etkilidir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gıda güvenliği, zengin beslenme değerleri ve kamuoyundaki yaşam güncelliği ile gün geçtikçe popüler olan firik buğday; olgunlaşma ve gelişme dönemlerinden önceki safhalarda elde edilen iyi kalite bir üründür.

Ürünlerde bozulma veya tüketicilerde gıda kökenli hastalık ve zehirlenmelere yol açabilen sorunlar genellikle mikroorganizmalar tarafından oluşturulmaktadır. Bu sorunlar aynı zamanda kullanılan ürün veya işleme tekniğine bağlı olarak da değişmektedir.

Mikroorganizmalar içinde, hava ve toprakta doğal olarak bulunan tarımsal ürünler ve işlenmiş gıdalar için önemli bir başı olan küfler çeşitli çevre şartlarına dayanıklılığı özellikle çok düşük su aktivitesi değerinde çalışabilmeleri ve tek spordan çok çabuk üremeleri nedeni ile gıdalarda önemli bozulma etmeni olarak görülebilmektedir. Küfler, geliştiği tarımsal ürünlerde çimlenme yeteneğinin düşmesine, tat, koku, görünümde bozulmalara, kuru madde ve yağda azalmaya, serbest yağ asitlerinde artışa, tohumdaki depo proteinlerinde daha küçük moleküllu bileşiklere parçalanmaya neden olmakta, enzim aktivitesi aminoasitler ve eterde çözünen yağda değişimlere, beslenme değerinin azalması gibi kayıpların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Mikotoksinler, küflerin gelişimi sırasında normal metabolizması için önemli bir role sahip olmayan ancak insan ve hayvanlarda kanserojen, mutajen, teratojen ve östrojenik etkiler gibi akut veya kronik etkilere neden olabilen ikincil toksik metabolitlerdir. Bu nedendir ki; mikotoksin sorunlar, fungal bozulmanın çok olduğu tropik ve subtropik bölgelerde daha yaygındır ve iklim koşulları ile doğrudan ilintilidir.

Tahıl ve tahıl esaslı firik bulgur vb. ürünlerde ürün kayıplarının engellenmesi, risklerin ve tehlikelerin ortaya konması büyük bir önem taşımaktadır. Okratoksin A tahıllarda tespit edilen ve ürünlerde en çok çalışılan mikotoksinlerden biridir. Vücuda giren günlük Okratoksin A'nın yarıdan fazlası hububat ve ürünlerinden kaynaklanır.

Tarımsal ürünlerin Okratoksin A üreten küflerle bulaşması tarla ve bahçelerde başlar. Burada firik buğdayın esas alınmasının temel gerekçelerinden biri de fizyolojik gelişimini tamamlamamış ürün olması küf gelişimi ve mikotoksin özellikle OTA riskini gözönünde bulundurmamızı gerektirmektedir.

Ancak Okratoksin A esas olarak yetersiz kurutulmuş ürünün depolanması sırasında oluşur. Özellikle hububatta nem içeriği %14'ten daha düşük ise ürün güvenli şekilde depolanmaktadır.

Okratoksin A başta tahıl ve tahıl ürünleri olmak üzere taze ve kuru meyveler, meyve suları, baharat vb olarak kullanılan bazı bitkiler, kahve ve kakao ile karaciğer gibi organlarda bulunabilir.

Sonuç olarak;

-WHO (Dünya Sağlık Örgütü) ve FAO (Gıda ve Tarım Organizasyonu) Birleşik Gıda Katkıları Uzmanlar Komitesine göre, toplam OTA alım kaynağının tahıl %58, şarap %21, üzüm suyu %7, kahve %5 ile domuz etinde %3 oranlarıyla belirlenmiştir. Bu durum OTA'nın ve bu toksini oluşturan küflerin bu ürünlerde gelişim toksin oluşumunu önleyecek her türlü tedbir oluşum öncesi alınacak tedbirler ile önlenir.

-İncelenen firik buğday numunelerinde tespit edilebilir ölçümlerde OTA'nın bulunmaması o üründe risk ve tehlikenin minimize olduğunu ortaya çıkarmamaktadır.

-Tarla ve depo küfleri ile riskli toksinlerin tespit edilmesi, önlenmesi ve daha detaylı/farklı mikotoksinlerde (DON, Aflatoksin, Fumonisin vb.) analizlerin de yapılması bu ürünlerde tavsiye edilebilir.

-Biyolojik değeri ve fonksiyonel besleme özellikleri ile güncellenen firik bulgurların daha çok üretimi yapılarak yeni nesil besleme tablolarının oluşturulması toplumların nesillerinin korunması ve hastalıkların önlenmesi açısından önem taşımaktadır.

-Bu tip yöresel ve bölgesel ürünlerde coğrafi işaretleri alınarak diğer ülke insanların kullanımına sunulmasında ticari potansiyelinin arttırılması açısından ayrı bir özellik beklentisi oluşturmaktadır.

-Gıda güvenliği ve güvencesi tüm gıdalarda olduğu gibi firik bulgurlarda önceden, sonradan işlemede ve depolamada hassasiyet gösterilmesi, depolama koşullarının iyileştirilmesi, ambalajlama materyalinin ürün özelliklerini koruyarak ve raf ömrünü uzatacak şekilde yeni çalışmalara fırsat verilmesi ayrı bir pencere açacaktır.

-Pazarlama ile firik bulgurların üretim potansiyelinin üreticilere fiyatlandırmada yardım edebilecek pazar talebinin sağlanması önemlidir.

KAYNAK

- Abarca, M.L.,Bragulat, M.R., Castella, G., Cabanes, F.J. 1994. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. **Applied Enviromental Microbiology**. 60:2650-2652.
- Anklam, E. ve Battaglia, R. 2000. Food Analysis and consumer protection. **Trends in Food Science and Technology**. 12:197-202.
- Anlı E.ve Alkış M.İ. 2010. Ochratoxin A and Brewing Technology: A Review, **J. Inst. Brew**, 116 , 27.
- Anlı, E., Çabuk, B., Vural, N., and Başpınar, E., 2005. Ochratoxin A in Turkish Wines. **Journal of Food Biochemistry**. Blackwell Publishing 29:611-623.
- Anlı, E., Çabuk, B., Vural, N., and Başpınar, E., 2005. Ochratoxin A in Turkish Wines. **Journal of Food Biochemistry**, Blackwell Publishing 29:611-623.
- Anonymous, 1995. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. **Forty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives** (WHO Technical Report Series, 859).
- Anonymous, 2015. Mycotoxins, Ochratoxin A. Chapter 5: 39-71
- Belli, N., Marin, S., Coronas, I., Sanchis, V. and Ramos, A. J.2007. Skindamage, high temperature and relative humidity as detrimental factors for *Aspergillus carbonarius* infection and ochratoxin A production in grapes. **Food Control**, 18, 1343–1349.
- Benford, D., Dekant, W., Fuchs, R., Gaylor, D.W., Hard, G., McGregor, D.B., Pitt, J.I., Plestina, R., Shephard,G.,Solfrizzo, M., Verger, P.J.P., Walker, R. 2001. Ochratoxins In Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additives series 47. Geneva, **World Health Organization**. 281-387.
- Bezerra, da Rocha, M.E., Freire, F.C.O., Maia F.E.F, Guedes, M. I. F., Rondina, D. 2014. Mycotoxins and their effects on human and animal health: A review. **Food Control**, 36, 159-165
- Boutrif, E. ve Pineiro, M. 2002. Global priorities and food safety does harmonization hold the key. **International Workshop of Mycotoxin**. 22-26 Temmuz. FDA-JIFSAN, University of Maryland, USA.
- Bozoğlu, F., 2003. Mikotoksinlerin Oluşum Mekanizması (Heperkan, D., Dalkılıç, G.,Şenyuva, H. Editör). **Ulusal Mikotoksin Kongresi**
- Brera, C. , Pannunzi, E. , Guarino, C., Debegnach, F., Gregori, E., De Santis, B.2013. Ochratoxin a determination in cured ham by High Performance Liquid Chromatography Fluorescence Detection and Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry: a comparative study, **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, doi: 10.1080/10826076.2013.825859.
- Cheli, F., Battaglia, D., Gallo, R., Dell’Orto, V. 2014. EU legislation on cereal safety: An update with a focus on mycotoxins, **Food Control**, 37, 315-325.
- Covarelli, L., Beccari, G., Marini A.,Tosi L.(2012). A review on the occurrence and control of ochratoxigenic fungal species and ochratoxin A in dehydrated grapes, non- fortified dessert wines and dried vine fruit in the Mediterranean area: a review. **Food Control**, 26,347-356.
- Dall’asta, C., Galaverna, G., Bertuzzi, T., Moseriti, A., Pietri, A., Dossena, A. ve Marchelli, R.2010. Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami and

- dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet, **Food Chemistry**, 120: 978-983.
- EC (European Commission) 2006. Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Food stuffs, B Commission Regulation (EC), EC-1881/2006, 17-18.
- EC (European Commission) 2010. Commission regulation 1881/2006 of February 5, 2010, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards ochratoxin A, **Official Journal European Union**, L 35/8.
- EC (European Commission), 2002. Assessment of Dietary Intake of Ochratoxin A by The Population of EU Member State, **Reports on Tasks for Scientific Cooperation, Rome, Italy**, p. 22.
- EFSA (European Food Safety Authority) 2006. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission Related to Ochratoxin A in Food, **The EFSA Journal**, 365, 1-56.
- Frisvad, J.C., Frank, J.M., Houbraken, J.A.M.P., Kuijpers, A.F.A., Samson, R.A. 2004. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. **Studies in Mycology**, 50:23-43.
- Gil-Serna, J., Vanquez, C., Sardinias, N., Gonzales-Jean, M.A.T., Vanquez, C., Patino, B. 2011. Revision of ochratoxin A production capacity by the main species of *Aspergillus* section *Circumdatti*. *Aspergillus steynii* revealed as the maniof OTA contamination. **Food Control**, 22(2):343-345.
- Han, Z., Zhao, Z., Shi, J., Liao, Y., Zhao, Z., Zhang, D., Wu Y., De Saeger, S., Wu, A.2013. Combinatorial approach of LC-MS/MS and LC-TOF-MS for uncovering in vivo kinetics and biotransformation of ochratoxin A in rat, **Journal of Chromatography B**, 925, 46– 53.
- Hayat, A., Paniel, N., Rhouati, A., Marty J. ve Barthelmebs, L. 2012. Recent advances in ochratoxin A producing fungi detection based on PCR methods and OTA analysis in food matrices, **Food Control**, 26, 401-415.
- Heperkan, D., Dazkir, D. S., Kansu, D. Z. ve Güler, F. K. 2009. Influence of temperature on citrinin accumulation by *Penicillium citrinum* and *Penicillium verucosum* in black table olives, **Toxin Reviews**, 28, 180–186.
- Hope, J.H., Hope, B.E. 2012. A Review of the Diagnosis and Treatment of Ochratoxin A Inhalational Exposure Associated with Human Illness and 73. Kidney Disease including Focal Segmental Glomerulosclerosis: A review. **Journal of Environmental and Public Health**,: doi:10.1155/2012/835059.
- Huff, W., Hamilton, P.B. 1979. Mycotoxins their biosynthesis in fungi ochratoxins-metabolites of combined pathways, **J. Food Prot.**, 42:815-820.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 1993. In 'IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risk to Humas: Some Naturally Occurring Substances; Food Items and Constitues, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins' **IARC**(Ed), Geneve, 56: 489.
- Ibanez-Vea, M., Martinez, R., Gonzales-Peñas, E., Lizarraga, E. ve Lopez de Cerain, A. 2012. Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin and zearalenone in breakfast cereals from Spanish market, **Food Control**, 22: 1949-1955.
- Iqbal, Z., Asi, M., Zuber, M., Akhtar, J. ve Saif, M.(2013). Natural occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in commercial chilli and chilli sauce samples, **Food Control**, 30: 621-625.

- JECFA, 2001. Ochratoxin A. Joint Food and Agriculture Organization/World Health Organization Expert Committee on Food Additives. <http://www.inchem.org/documents/jefca/jecmono/v47je04.htm>.
- Kabak, B., 2012. Aflatoxin M1 and ochratoxin A in baby formula in Turkey: Occurrence and safety evaluation, **Food Control**, 26, 182-187.
- Kapetanakou, A.E., Panagou, E.Z., Gialitaki, M., Drosinos, E. H., Skandamis, P. N. 2009. Evaluating the combined effect of water activity, pH and temperature on ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus carbonarius* on culture medium and Corinth raisins, **Food Control**, 20, 725-732.
- Karadeniz ve Ekşi, A. 2002. Gıdalarda Mikotoksin Olusumu ve Azaltılması. **Dünya Gıda Dergisi**, Temmuz-Agustos 2002, 104.
- Karbancıoğlu-Güler F, Heperkan D. 2008. Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs, **Anal Chim Acta**, 617, 32–36.
- Kocsube, S., Varga, J., Szigeti, G., Baranyi, N., Suri, K., Toth, B., Toldi, E., Bartok, T. ve Mesterhazy, A. 2013. *Aspergillus* Species as Mycotoxin Producers in Agricultural Products in Central Europe, **Jour. Nat. Sci**, 124, 13-25.
- Köppen, R., Koch, M., Siegel, D., Merkel, S., Maul, R., and Nehls, I., 2010. Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations, 86: 1595-1612.
- Krogh, P. 1992. Role of ochratoxin A in disease causation. **Food and Chemical Toxicology**, 3, 213-224
- Krska, R. ve Molinelli, A., 2007. Mycotoksin analysis :state-of-the-art and future trends. Analytical and Bioanalytical Chemistry . 387:145-148. Dalkılıç, G., Senyuva, H. Editör). **Ulusal Mikotoksin Kongresi, Sempozyumu**, 18-19 Eylül, _stanbul, 17-22.
- Leong, S.L., Hocking, A.D., Pitt, J.I., Kazi, B.A., Emmett, R.W., Scott, E.S., 2006. Australian Research on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A. **International Journal of Food Microbiology**. 111, S10-S17.
- Magan, N. ve Aldred, D. 2005. Conditions of formation of ochratoxin A in drying, transport and in different commodities. **Food Additives and Contaminants, Supplement 1**:10-16.
- Merin, B., Atış, E., Bektaş, Z., Salalı, E., Cankurt, M. 2013. An Analysis of International Raisin Trade, **A Gravity Model Approach**. In 57th AARES Annual Conference at The Sydney Convention and Exhibition Centre in Darling Harbour, Sydney, New South Wales, 5-8 Şubat. metabolites of combined pathways. **Journal of Food Protection**, 42, 815-820.
- Mitchell., Parra, R., Aldred, D., Magan, N. 2004. Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. **Journal of Applied Microbiology**, 97, 439–445.
- Nguyen, K.T.N., Ryu, D. 2013. Concentration of ochratoxin A in breakfast cereals and snacks consumed in the United States, **Food Control**, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.11.041
- Novo, P., Moulas, G., Franc, D.M., Prazeres, Chu, V., Conde, J.P. 2013. Detection of ochratoxin A in wine and beer by chemiluminescence-based ELISA in microfluidics with integrated photodiodes, **Sensors and Actuators B**, 176, 232-240.
- Omaye, S.T., 2004. Food and Nutritional Toxicology. **CRC Press LLC**, Boca Raton London, New York, Washington, D.C., Chapter 13.

- Özden, S., Akdeniz, A. ve Alpertunga, B.,2012. Occurrence of Ochratoxin A in cereal-derived food products commonly consumed in Turkey, **Food Control**, 25: 69-74.
- Özbey, F. ve Kabak, B.,2012. **Natural co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices**, **Food Control**, 28: 354-361.
- Pattano, D., Grosso, A., Stocco, P.P., Pazzi, M. ve Zeppa, G.2013. Survey of the presence of patulin and ochratoxin A in traditional semi-hard cheeses, **Food Control**, 33, 54-57.
- Persi, N., Pleadin, J., Kovačević D., Scortichini G., Milone S.2014. Ochratoxin A in raw materials and cooked meat products made from OTA-treated pigs, **Meat Science**, 96, 203-210.
- Prelle, A., Spadaro, D., Garibaldi, A., Gullino M. L. 2014. Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices commercialized in Italy, **Food Control**, 39, 192-197.
- Remiro, R., Gonzales-Penas, E., Lizarraga, E. ve Lopez de Cerain, A.,2012. Quantification of Ochratoxin A and five analogs in Navarra red wines, **Food Control**, 27: 139-145.
- Rhouati, A., Hayat, A., Hernandez, D.B., Meraihi, Z., Munoz, R. ve Marty, J.L. 2013. Development of an automated flow-based electrochemical aptasensor for on-line detection of Ochratoxin A. **Sensors and Actuators B**, 176, 1160-1166.
- Richard, J.L. 2006. Mycotoxins and mycotoxicoses: a 2004 update. Mycotoxins and Phycotoxins. 21-24. (Njapau, H., Trujillo, S., Van Egmond, HP., Park, DL. ed.) **Wageningen Academic Publishers**.
- Ringot, D.,Chango,A.,Schneider, Y.J., Larondelle, Y.2006. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update, **Chemico-Biological Interactions**, 159, 18-46.
- Sabuncuoğlu, S.A., Baydar, T., Giray, B., Şahin, G.2008. Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması, **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 28(1), 63-92.
- Sanchez, J.F.,Somoza,A.D., Kellerc, N.P.,Wang, C.C.C. 2012 Advancesin Aspergillus secondary metabolite research in the post -genomic era, **Naturel product Reports-The Royal Societyof Chemistry**, 29:351-371.
- Tunail, N., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı, **Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını**.
- SCOOP (Scientific Cooperation Task Reports). 2002. Assessment of Dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states; Erişim tarihi:2013 Nov 26.
- Shotwell O. L., Hesseltine C. W., Goulden M. L. 1969. Ochratoxin A: Occurrence as natural contaminant of a corn sample, **Applied Microbiology**, 17, 765–766.
- Soufleros, H. E., Tricard, C., and Bouloumpasi, E., 2003. Occurrence of Ochratoxin A in Greek Wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 83:173-179.
- Soyöz, M., ve Özçelik, N., 2002. Okratoksin A'nın toksik etkileri ve eliminasyonu. **T.Klin.Tıp Bilimleri**, 22: 421-427.
- Spadaro, D., Patharajan, S., Lore, A., Gullino, M. L., Garibaldi, A. 2010a. Effect of pH, water activity and temperature on the growth and accumulation of ochratoxin A produced by three strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from Italian vineyards, **Phytopathol. Mediterr.** 49, 65–73.
- Steyn, P.S., Stander, M.A., 1999. Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisin. Ballantyne, B., Marrs,

- T.C., Syversen, T.L.M., eds. **General and Applied Toxicology**. 2nd Edition. United Kingdom: Macmillan Reference Ltd, 2145-76.
- Suarez-Quiroz, M. L., Gonzalez-Rios, O., Barel, M., Guyot, B., Schorr-Galindo, S. ve Guiraud, J. P. 2004. Effect of chemical and environmental factors on *Aspergillus ochraceus* growth and toxigenesis in green coffee, **Food Microbiology**, 21, 629–634.
- Toffa, D.D., Mahnine N., Ouaffak, L., El Abidi, A., El Alaoui Faris, F.Z. ve Zinedine, A. 2013. First survey on the presence of ochratoxin A and fungi in raw cereals and peanut available in the Republic of Niger. **Food Control**, 32,558-562..
- Tunail, N., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genisletilmiş 2. Baskı, **Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını**.
- Ünal, A. 2009. Kuru Üzüm ve Ürünlerinde Okratoksin A Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, **İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul. ss.13-51.
- Van der Merve K.J., Steyn P.S., Fourie L.1965. Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilhm, **Journal of Chemical Society**, 7083-7088.
- Vanesa, D. ve Ana, P. 2013. Occurrence of ochratoxin A in coffee beans, ground roasted coffee and soluble coffee and method validation, **Food Control**, 30:675-678
- Vecchio, A., Mineo, V. ve Planeta, D., 2012. Ochratoxin A in instant coffee in Italy, **Food Control**, 28, 220-223.
- Veldman, B. 2004. Mycotoxins in the animal production chain. Meeting the Mycotoxin Menace. 275-280. (Barug, D., Van Egmond , H., Lopez-Garcia, R., Van Osenbruggen T., Visconti, A.ed). **Wageningen Academic Publishers**.
- Vidal, A., Marin. S., Ramos, A.J., Sancho, G. ve Sanchis, V. 2013. Determination of aflatoxins, deoxynivalenol, ochratoxin A and zearalenone in wheat and oat based bran supplements sold in the Spanish market. **Food and Chemical Toxicology**, 53, 133-138.

ÖZGEÇMİŞ

31.01.1971 yılında Antakya'da doğdum. Antakya Kurtuluş Lisesi'nden mezun olduktan sonra Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde lisans eğitimine başladım. Mezuniyetten sonra askerlik görevimi yedek subay olarak tamamladım. İş hayatına Akmaya A.Ş'de vardiya amiri olarak başladım. Daha sonra çeşitli kurumlarda çalışmaya devam ettim. Sırasıyla Yörsan-Doğu ve Güneydoğu bayiler müdürü, Roche T.A.Ş -Adana bölge şefi, Philip MorrisSA-Key Account Supervisor, Mirioğlu Un Fabrikası-Sorumlu mühendis. 2011 yılından bu yana da kendi aile firmamda çeşitli gıda firmalarının bölge bayiliklerini yürütmekteyim.

Akademik eğitimime 2007 yılında Çukurova Üniversitesi İ.İ.B.F'de İşletme yüksek lisans diplomasını ekledim. Kişisel gelişimime yönelik aldığım bazı sertifika ve eğitimler şöyledir;

- Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı C sınıfı İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanı
- Kalite-Denetim-İç denetçilik sertifikası
- ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi Eğitimi
- Bayiler Kanalı Satış Yöneticileri Eğitimi
- Effective Presentation Skills
- Coaching and Leadership Seminar
- Problem Solving and Decision Making Workshop
- Key Account Management
- Time Management
- Trade Marketing Workshop
- Temel Yöneticilik Becerileri
- Negotiation Skills
- Rapor Yazma Teknikleri
- Key Account Merchandising Seminar