

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA BİLİMLERİ BİLİM DALI**

**BAZI SADE VE ÇEŞNİLİ PESTİL ÇEŞİTLERİNİN
MİKOTOKSİNLER AÇISINDAN İNCELENMESİ**

Aslı TALAY

**Danışman
Doç Dr. Özlem ÇAĞINDI**



MANİSA-2019

Aslı TALAY

**BAZI SADE VE ÇEŞNİLİ PESTİL ÇEŞİTLERİNİN MİKOTOKSİNLER AÇISINDAN
İNCELENMESİ**

2019

TEZ ONAYI

Aslı TALAY tarafından hazırlanan "**Bazı Sade ve eşnili Pestil eşitlerinin Mikotoksinler Açısından İncelenmesi**" adlı tez çalışması 09/07/2019 tarihinde aşığıdaki jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Özlem Çağındı
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Semih ÖTLEŞ
Ege Üniversitesi

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Ash TALAY



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
TABLO DİZİNİ	V
RESİM DİZİNİ	VII
TEŞEKKÜR.....	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Pestil	2
2.2. Mikotoksinler	3
2.2.1. Aflatoksinler	6
2.2.2. Okratoksinler	8
2.2.3. Fumonisinler	10
2.2.4. Aflatoksin, okratoksin ve fumonisin İle İlgili Yapılmış Çalışmalar	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Nem Tayini	20
3.2.2. Su Aktivitesi Tayini	20
3.2.3. pH Tayini	20
3.2.4. Mikotoksin Analizleri	20
3.2.4.1. Validasyon.....	20
3.2.4.2.1. Aflatoksin Analizi	24
3.2.4.2.1.1. Aflatoksin Analizinde Kullanılan Kimyasal Çözeltiler	25
3.2.4.2.1.2. Analiz Yöntemi	25
3.2.4.2.1.3. Ekstraksiyon	25
3.2.4.2.1.4. İmmunoaffinite kolon	25
3.2.4.2.1.5. Ölçüm	26
3.2.4.2.1.6. Aflatoksin Tayini Kalibrasyon Eğrisi Oluşturulması.....	27
3.2.4.2.2. Okratoksin Analizi.....	28
3.2.4.2.2.1. Okratoksin Analizinde Kullanılan Kimyasal Çözeltiler	28
3.2.4.2.2.2. Analiz Yöntemi	28

3.2.4.2.2.3. Ekstraksiyon	28
3.2.4.2.2.4. İmunoaffinite Kolon	28
3.2.4.2.2.5. Ölçüm	29
3.2.4.2.2.6. Okratoksin A Tayini Kalibrasyon Eğrisi Oluşturulması	29
3.2.4.2.3. Fumonisin Analizi.....	30
3.2.4.2.3.1. Fumonisin Analizinde Kullanılan Kimyasal Çözeltiler.....	30
3.2.4.2.3.2. Analiz Yöntemi	31
3.2.4.2.3.3. Ekstraksiyon	31
3.2.4.2.3.4. İmunoaffinite kolon	31
3.2.4.2.3.5. Türevlendirme Prosedürü	32
3.2.4.2.3.6. Ölçüm	32
3.2.4.2.3.7. Fumonisin Tayini Kalibrasyon Eğrisi Oluşturulması	33
3.2.5. İstatistiksel Analiz.....	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	35
4.1. Nem, Su Aktivitesi ve pH.....	35
4.2. Aflatoksin	42
4.3. Okratoksin	52
4.4. Fumonisin	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR.....	74
ÖZGEÇMİŞ	78

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HNO₃	Nitrik Asit
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline)
MeOH	Metanol
NaCl	Sodyum Klorür
AFB₁	Aflatoksin B ₁
AFB₂	Aflatoksin B ₂
AFG₁	Aflatoksin G ₁
AFG₂	Aflatoksin G ₂
AOAC	Analitik Kimyacılar Birliği (Association of Analytical Chemists)
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)
IARC	Uluslararası Kanser Ajansı (The International Agency for Research on Cancer)
OTA	Okratoksin A
LOD	Tespit Limiti (Limit of Detection)
LOQ	Ölçüm Limiti (Limit of Quantitative Measurement)
DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
M	Molarite
PTFE	Politetra-floroetilen
TGK	Türk Gıda Kodeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Pestil üretim aşamaları	3
Şekil 2.2. Bazı Aflatoksinlerin kimyasal yapısı	8
Şekil 2.3. Okratoksin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.4. Fumonisin B ₁ ve B ₂ 'nin kimyasal yapıları.....	12
Şekil 4.1. Aflatoksin G ₂ 'ye ait kalibrasyon eğrisi.....	43
Şekil 4.2. Aflatoksin G ₁ 'e ait kalibrasyon eğrisi.....	43
Şekil 4.3. Aflatoksin B ₂ 'ye ait kalibrasyon eğrisi.....	44
Şekil 4.4. Aflatoksin B ₁ 'e ait kalibrasyon eğrisi	44
Şekil 4.5. 0,56 (B ₁ ,G ₁)- 0,168 (B ₂ ,G ₂) ppb'lik standarda ait kromatogram.....	45
Şekil 4.6. Dut pestiline ait aflatoksin kromatogramı	50
Şekil 4.7. Kayısı pestiline ait aflatoksin kromatogramı	51
Şekil 4.8. Üzüm pestiline ait aflatoksin kromatogramı	51
Şekil 4.9. Erik pestiline ait aflatoksin kromatogramı	52
Şekil 4.10. Aflatoksin tespit edilemeyen pestil örneğine ait kromatogram	52
Şekil 4.11. Okratoksin A'ya ait kalibrasyon eğrisi	53
Şekil 4.12. 0,50 ppb'lik standarda ait kromatogram.....	54
Şekil 4.13. Dut pestiline ait okratoksin A kromatogramı	58
Şekil 4.14. İncir pestiline ait okratoksin A kromatogramı	59
Şekil 4.15. Fındıklı dut pestiline ait fındıklı dut pestiline ait okratoksin A kromatogramı	59
Şekil 4.16. Okratoksin A tespit edilemeyen pestil örneğine ait kromatogram	60
Şekil 4.17. Fumonisin B ₁ 'ye ait kalibrasyon eğrisi	61
Şekil 4.18. Fumonisin B ₂ 'ye ait kalibrasyon eğrisi	61
Şekil 4.19. 10000 (FB ₁) – 2000 (FB ₂) ppb'lik standarda ait kromatogram.....	62
Şekil 4.20. Fındıklı dut pestiline ait fumonisin kromatogramı.....	66
Şekil 4.21. Cevizli dut pestiline ait fumonisin kromatogramı.....	67
Şekil 4.22. Dut pestiline ait fumonisin kromatogramı	67
Şekil 4.23. Erik pestiline ait fumonisin kromatogramı	68

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Belli başlı mikotoksinler, bu mikotoksinleri üreten küfler ve bulunabilecekleri tarım ürünleri ve gıda maddeleri	4
Tablo 2.2. Bazı mikotoksinlerin çeşitli etkileri ve sebep oldukları hastalıklar	5
Tablo 2.3. Bazı <i>Aspergillus</i> türlerinin optimum su aktivitesi (a_w) ihtiyaçları açısından kıyaslanması.....	6
Tablo 2.4. Okratoksinlere ait moleküler yapılar.....	9
Tablo 2.5. FDA'nın bazı gıdalar için önerdiği maksimum toplam fumonisin seviyeleri	11
Tablo 2.6. Aflatoksin, okratoksin ve fumonisin gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum limitler	15
Tablo 3.1. Aflatoksinler (Afs), okratoksin A ve fumonisinlerin (FB ₁ ve FB ₂) için metot validasyon sonuçları.....	22
Tablo 3.2. Aflatoksinler (Afs), okratoksin A ve fumonisinlerin (FB ₁ ve FB ₂) geri kazanım değerleri	23
Tablo 3.3. Aflatoksin kalibrasyon eğrisi için standartların hazırlanması	27
Tablo 3.4. Aflatoksin kalibrasyon tablosunun.....	27
Tablo 3.5. Okratoksin A kalibrasyon eğrisi için standartların hazırlanması	26
Tablo 3.6. Okratoksin A Kalibrasyon tablosunun hazırlanması.....	30
Tablo 3.7. Fumonisin B ₁ ve B ₂ kalibrasyon eğrisi için standartların hazırlanması... 33	
Tablo 3.8. Fumonisin B ₁ ve B ₂ kalibrasyon tablosunun hazırlanması	33
Tablo 4.1. Sade dut pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları	35
Tablo 4.2. Fındıklı dut pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları	36
Tablo 4.3. Cevizli dut pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları	37
Tablo 4.4. Üzüm pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları	38
Tablo 4.5. Erik pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları	39
Tablo 4.6. Kayısı pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları	40
Tablo 4.7. İncir pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları	40
Tablo 4.8. Pestil çeşitlerine ait ortalama nem sonuçları.....	41
Tablo 4.9. Pestil çeşitlerine ait ortalama a_w sonuçları	41
Tablo 4.10. Pestil çeşitlerine ait ortalama pH sonuçları.....	42
Tablo 4.11. Pestil çeşitlerinde tespit edilen minimum ve maksimum aflatoksin miktarları.....	45
Tablo 4.12. Sade dut pestillerine ait aflatoksin sonuçları.....	46
Tablo 4.13. Fındıklı dut pestillerine ait aflatoksin sonuçları.....	46
Tablo 4.14. Cevizli dut pestillerine ait aflatoksin sonuçları.....	47
Tablo 4.15. Üzüm pestillerine ait aflatoksin sonuçları.....	47
Tablo 4.16. Erik pestillerine ait aflatoksin sonuçları.....	48

Tablo 4.17. Kayısı pestillerine ait aflatoksin sonuçları	48
Tablo 4.18. İncir pestillerine ait aflatoksin sonuçları	48
Tablo 4.19. Pestil çeşitlerinde tespit edilen aflatoksinlerin % olarak değerlendirilmesi	49
Tablo 4.20. Pestil çeşitlerinde tespit edilen minimum ve maksimum okratoksin A miktarları	54
Tablo 4.21. Sade dut pestillerine ait okratoksin A sonuçları	55
Tablo 4.22. Fındıklı dut pestillerine ait okratoksin A sonuçları	55
Tablo 4.23. Cevizli dut pestillerine ait okratoksin A sonuçları	56
Tablo 4.24. Üzüm pestillerine ait okratoksin A sonuçları	56
Tablo 4.25. Erik pestillerine ait okratoksin A sonuçları	57
Tablo 4.26. Kayısı pestillerine ait okratoksin A sonuçları	57
Tablo 4.27. İncir pestillerine ait okratoksin A sonuçları	57
Tablo 4.28. Pestil çeşitlerinde tespit edilen okratoksin A'nın % olarak değerlendirilmesi	58
Tablo 4.29. Pestil çeşitlerinde tespit edilen fumonisin miktarları	62
Tablo 4.30. Sade dut pestillerine ait fumonisin sonuçları	63
Tablo 4.31. Fındıklı dut pestillerine ait fumonisin sonuçları	63
Tablo 4.32. Cevizli dut pestillerine ait fumonisin sonuçları	64
Tablo 4.33. Üzüm pestillerine ait fumonisin sonuçları	64
Tablo 4.34. Erik pestillerine ait fumonisin sonuçları	65
Tablo 4.35. Kayısı pestillerine ait fumonisin sonuçları	65
Tablo 4.36. İncir pestillerine ait fumonisin sonuçları	65
Tablo 4.37. Pestil çeşitlerinde tespit edilen fumonisinin % olarak değerlendirilmesi	66

RESİM DİZİNİ

Sayfa

Resim 4.1. HPLC cihazı.....	24
Resim 4.2. İmmunoaffinite kolon	26



TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem ÇAĞINDI'ya, çalıőmalarım sırasında akademik ve manevi desteğini her zaman hissettiğim sevgili ablam Dr. Öğr. Üyesi Nazlı SAVLAK'a, çalıőmalarımın yürütölmesi için bana maddi destekte bulunan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (BAP2013-005) teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ve hep yanımda olan anne ve babama, evliliğimizin 1. ayında baőlayan bu yolculuğumda her zaman desteğini hissettiğim sevgili eőim Efe TALAY'a yürekten teşekkür ederim.

Aslı TALAY
Manisa, 2019



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Bazı Sade ve Çeşnili Pestil Çeşitlerinin Mikotoksinler Açısından İncelenmesi

Ash TALAY

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem ÇAĞINDI

Bu çalışmada Ege Bölgesi piyasasından temin edilen dut, fındıklı dut, cevizli dut, kayısı, üzüm, erik ve incir pestillerinin aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, okratoksin A ve fumonisin B₁ ve B₂ içerikleri tespit edilmiştir. Ayrıca nem, pH ve su aktivitesi analizleri yapılmış ve bu değerlerin toksin yükü üzerine etkileri incelenmiştir. Pestillerin pH değerleri 3,33 – 7,39, su aktivitesi 0,52 – 0,61, nem içerikleri %10,67 – 28,03 arasında değişmiştir. 60 örneğin (14 sade dut, 8 fındıklı dut, 12 cevizli dut, 10 üzüm, 8 erik, 6 kayısı, 2 incir) birinde aflatoksin G₂, ikisinde aflatoksin G₁, sekizinde aflatoksin B₂, onbirinde aflatoksin B₁ tespit edilmiştir. Toplam aflatoksin miktarkarı 0,20 – 5,83 ng/g arasında değişmektedir. 60 örneğin 59'unda 0,12 – 0,84 ng/g arasında değişen miktarlarda okratoksin A tespit edilmiştir. 60 örneğin 60'ında 200,46 – 447,82 ng/g arasında fumonisin B₁, 10'unda 203,26 – 274,50 ng/g arasında fumonisin B₂ tespit edilmiştir. Tüm pestil örneklerinin mikotoksin içeriklerinin yasal sınırların altında kaldığı belirlenmiştir.

Bu çalışmanın amacı daha önce kısıtlı araştırmalar yapılan çeşitli meyve pestillerinin aflatoksin, okratoksin ve fumonisin içeriklerinin belirlenerek üretim ve depolama aşamalarında üreticilerin bilinçlendirilmesinin sağlanmasıdır. Geleneksel ürünlerin mikotoksinler açısından incelenmesi ile hem üreticilerin hem de tüketicilerin bu konuda bilinçlendirilmesi ve bu ürünlere dikkatin çekilmesi sağlanacaktır.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, fumonisin, mikotoksin, okratoksin A, pestil

2019, 80 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Investigation of Natural Occurrence of Mycotoxins In Plain Pestils And Pestils with Dried Nuts

Ash TALAY

**Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özlem ÇAĞINDI

In this study, aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, ochratoxin A, fumonisin B₁ and fumonisin B₂ content of 60 pestil samples (14 mulberry, 8 nut mulberry, 12 walnut mulberry, 10 grape, 8 plum, 6 apricot, 2 fig) obtained from the Eagean market were determined. Moisture, water activity and pH value of pestil samples and the effects of these parameters on toxin contents were also detected. Moisture content, water activity and pH of pestil samples were between 10.67 – 28.03%, 0.52 – 0.61 and 3.33 – 7.39. One of 60 pestil samples were contaminated with aflatoxin G₂, two of 60 pestil samples were contaminated with aflatoxin G₁, eight of 60 samples were contaminated with aflatoxin B₂ and eleven of 60 samples were contaminated with aflatoxin B₁. 59 of 60 samples were contaminated with ochratoxin varying between 0.12 – 0.84 ng/g. All of 60 samples were contaminated with fumonisin B₁ varying between 200.46 – 447.82 ng/g and 10 samples were contaminated with fumonisin B₂ between 203.26 – 274.50 ng/g. Besides, it was observed that mycotoxin content of pestil samples was lower than legal limits.

The aim of this study is to determine aflatoxin, ochratoxin and fumonisin contents of fruit pestils which limited researchers have been conducted on and raise awareness of manufacturers about production and storage steps. By examining the traditional products in terms of mycotoxins, both producers and consumers will be made aware of this issue and attracted attention to these products.

Key words: Aflatoxin, fumonisin, mycotoxin, ochratoxin A, pestil

2019, 80 pages

1. GİRİŞ

Meyve yetiştiriciliği ve çeşitliliği bakımından zengin olan ülkemizde yaz meyveleri çoğunlukla taze tüketilmekle birlikte hiç bulunmadığı dönemlerde teminini sağlamak ve dayanımını artırmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaçla genel olarak meyveler ya kurutulmakta ya da çeşitli şekillerde işlenerek yeni birçok ürün elde edilmektedir.

Meyvelerin üretim, hasat, kurutma, taşıma ve depolama işlemleri sırasında yetersiz ve yanlış uygulamalar mikotoksin olarak adlandırılan fungus türleri tarafından sentezlenen metabolizma ürünlerinin oluşumu riskini arttırmaktadır. Kurutulmuş meyveler içerdikleri yüksek şeker içeriği, toplanma yöntemi ve kurutma koşulları nedeniyle küf gelişimine oldukça müsaittirler. Ayrıca meyvenin kurutma esnasında toprakla temas etmesi ve çevreden böceklerin istilasına sebebiyle küf gelişimi riski artmaktadır [1]. Mikotoksinler, yem ve gıda maddelerinde fungus türleri tarafından sentezlenen metabolizma ürünleridir. Mikotoksin terimi Yunanca küf anlamına gelen *mykes* ve zehir anlamına gelen *toxicum* kelimelerinin birleştirilmesinden oluşmuş [2] olup, bunlarla beslenen hayvan ve insanlarda latent, akut, sub-akut veya kronik karakterde mikotoksikozislere neden olan toksik maddelerdir [3].

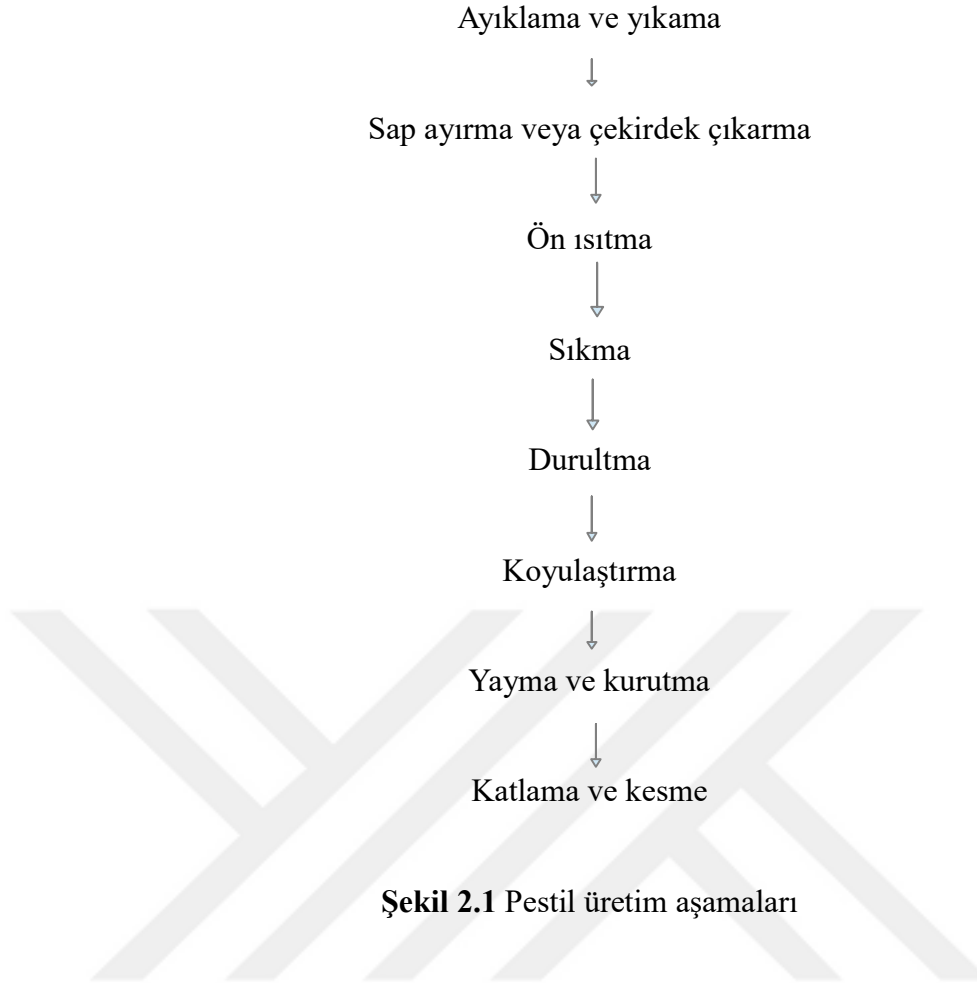
Bu çalışmada Ege Bölgesi piyasasından temin edilen dut, fındıklı dut, cevizli dut, kayısı, üzüm, erik ve incir pestillerinin aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, okratoksin A ve fumonisin B₁ ve B₂ içerikleri tespit edilmiştir. Ayrıca nem, pH ve a_w analizleri yapılarak bu parametrelerin mikotoksin içeriğine etkisi yorumlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestil

Pestil, Anadolu, Ermenistan, Lübnan, Suriye, Arabistan ve İran'da yaygın olarak üretilen geleneksel bir meyve ürünüdür [4]. Çoğunlukla üzümünden üretilmekle birlikte dut, kayısı, erik gibi meyveler de pestile işlenmektedir. Pestil eldesinde meyve dışında nişasta veya düşük randımanlı un ve bazı yörelerde şeker kullanılmaktadır. Ayrıca ceviz, fındık veya badem içi ile yerfıstığı vb. de katılabilmektedir.

Ayıklama ve yıkama aşamalarında işlenecek meyve üzerindeki toz, toprak, kum ve ilaçlama kalıntıları uzaklaştırılır. Ayrıca çürük, ezik ve lekeli meyveler ayrılır. Bunu çekirdek çıkarma (kayısı, erik) ve sap ayırma (üzüm, dut) işlemleri izlemektedir. Daha sonra meyve parçalanır ve ön ısıtma işlemine geçilir. Ön ısıtma işlemi kayısı ve erik için uygulanan bir işlemdir. 85-90 °C'da 3-5 dakika ısıtılarak enzimlerin etkisizleşmesi sağlanmaktadır. Ayrıca bu işlem ile meyve pulpu randımanı da artmaktadır. Isıtılan meyve ezmesi sıkılarak meyve pulpu ve meyve suyu elde edilmektedir. Meyve suyu (sadece üzüm pestili için uygulanır) durultma işlemine tabi tutulur. Durultma ile meyve suyunda doğal olarak bulunan ve bulanıklık veya tortulaşmaya neden olan pektin, protein ve şarap taşı gibi bileşikler uzaklaştırılır. Durultma işlemi için üzüm suyuna bir miktar pekmez toprağı katılmakta ve 10-15 dakika kaynatılmaktadır. Bu işlemleri takiben koyulaştırma işlemine geçilir. Bu aşamada meyve suyuna un ve nişasta eklenir ve yayma kıvamına ulaşana kadar ısıtma ve karıştırma işlemleri yapılır. Yayma kıvamına ulaşıncaya kaput bezi üzerinde 2 kişi tarafından yayma işlemi yapılır. Ceviz, badem gibi kuru yemişler bu aşamada ilave edilir. Yayılan karışım bir gün süre ile güneşte tutulur ve ertesi gün elle bezden ayrılıp ipe asılarak 1-2 saat daha diğer yüzeyin de güneşte kuruması için bekletilir. Kurutulan pestil arasına un, nişasta veya pudra şekeri serpilerek katlanır. 100 kg üzümünden yaklaşık 25-30 kg, 100 kg erik ve kayısıdan ise 20-25 kg arasında pestil elde edilmektedir. Meyveden pestil üretim aşamaları Şekil 2.1'de verilmektedir [5];



Şekil 2.1 Pestil üretim aşamaları

Sağlıklı bir atıştırılabilir olan pestil hammaddesi olan meyveler, içerisine eklenen kuruyemişler, uygulanan yetersiz kurutma ve depolama koşulları nedeni ile mikotoksinler açısından riskli bir gıda maddesidir. Buğday nişastası ve durultulmuş çeşitli meyve sularının karıştırılması ve güneşte kurutulması ile üretilen pestil de bu ürünlerden biridir [6].

2.2. Mikotoksinler

Gıda zincirini etkileyen mikotoksinler üç türdür: *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türleri. *Fusariumlar* hasat öncesinde veya hemen sonrasında mikotoksin üretirken *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri gıdalarda kurutma esnasında veya hemen sonrasında ürerler [7]. Tablo 2.1’de belli başlı mikotoksinler, bu mikotoksinleri üreten küfler ve bulunabilecekleri tarım ürünleri ve gıda grupları yer almaktadır.

Tablo 2.1 Belli başlı mikotoksinler, bu mikotoksinleri üreten küfler ve bulunabilecekleri tarım ürünleri ve gıda maddeleri [8]

Mikotoksin	Bazı üretici küf türleri	Bulunabileceği tarım ürünleri ve gıda maddeleri
Aflatoksinler	<i>Aspergillus flavus</i> A. <i>Parasiticus</i>	Tahıl taneleri (buğday, mısır, arpa), yer fıstığı, antepfıstığı, fındık, kırmızıbiber, süt ve süt ürünleri, incir ve diğer bazı meyveler
Okratoksin A	<i>A. ochraceus</i> <i>A. versicolor</i> <i>Penicillium viridicatum</i>	Tahıl taneleri (buğday, mısır, arpa), yer fıstığı, kahve çekirdeği, fındık
Patulin	<i>P. expansum</i> P. <i>griseofulvum</i> P. <i>chrysogenum</i> A. <i>terreus</i>	Meyve ve meyve ürünleri (özellikle elma ve elma suyu), tahıl taneleri
Zearalenon	<i>Fusarium graminearum</i> <i>F. Tricinctum</i>	Tahıl taneleri
Deoksinivalenol (DON)	<i>F. graminearum</i>	Tahıl taneleri
Fumonisinler	<i>F. moniliforme</i>	Mısır

Mikotoksinlerin gıda ve yemlerle alım miktarı ve süresi göz önüne alındığında, canlılarda çeşitli etkilerinin görülebileceği ve bu nedenle de alınan gıda ve yemlerde mikotoksin bulunmaması gerektiği kabul edilmektedir. Bazı mikotoksinlerin sebep oldukları hastalıklara Tablo 2.2’de yer verilmektedir.

Tablo 2.2 Bazı mikotoksinlerin çeşitli etkileri ve sebep oldukları hastalıklar [9]

Mikotoksin	Üreten cins	Etkisi	Neden olduğu saptanan hastalıklar
Aflatoksin B ₁	<i>Aspergillus</i>	Karsinojenite, Teraojenite	İnsanda primer karaciğer kanseri
Sitrinin	<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i>	Nefrotoksisite	-----
Fumonisin B ₁	<i>Fusarium</i>	Karsinojenite Nörotoksisite	Atlarda ensefalomalazi Domuzlarda pulmoner ödem
Okratoksin A	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	Karsinojenite Nefrotoksisite	Domuzlarda ve kümes hayvanlarında nefropati
Patulin	<i>Penicillium</i>	Mutajenite, Antibakteriyal	-----
Zearalenon	<i>Fusarium</i>	Östrojenizm, Üreme bozuklukları	Domuzlarda hiperöstrojenizm, vulvovajinit ve düşükler

Küflerin üremelerini ve mikotoksin sentezlemelerini genel olarak etkileyen başlıca faktörler; rutubet, sıcaklık, pH, oksijen ve karbondioksit, gıda maddesinin yapısı, süre ve diğer faktörler olarak adlandırılabilir [10]. Gıdalarda küf ve mikotoksin kontaminasyonunun anahtar bileşenleri hakkında bilgi üretimin çeşitli aşamaları için zorunludur. Küf kontaminasyonu ve mikotoksin üretimi çevre koşulları ile çok fazla değişkenlik gösterdiğinden; hasat öncesi koşulları, hasat sonrası depolama, taşıma, işleme gıda zincirinde izlenmesi gereken önemli aşamalarıdır. Farklı üretim, depolama ve işleme koşullarındaki gıdaların güvenliği bu gıdalarda görülebilecek küf popülasyonu çeşitliliği ve mikotoksijenik potansiyelleri hakkındaki bilgilerin bir göstergesidir [11].

Çoğu küf aerobiktir. Küfler 10-40 °C'lik sıcaklık aralığı üzerinde, 4-8 arası pH aralığında, 0,70 a_w (su aktivitesi) üzerinde, %13-15 nem içeriği üzerinde çoğalabilir [10].

Aspergillus türleri *Fusarium* türlerine göre daha düşük su aktivitesi ve yüksek

sıcaklıkta üreyebilir. *Penicillium* türlerinin sıcaklık ve nem açısından değişken gereksinimleri vardır, ancak hasat sonrası koşullarda, soğuk iklimlerde, ıslak koşullarda ve düşük pH'ta çoğalmaları olasıdır. *Fusariumlar* hasat öncesi hızla çoğalırlar ancak hasat sonrası da çoğalmaya devam ederler [12].

Aflatoksinlerin geliştiği optimum sıcaklık 12- 40 °C arasındadır [7]. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'lar 2,10 – 11,20 pH aralığında çoğalabilirler. Optimum çoğaldıkları pH aralığı ise 3,50 -8,00 arasındadır [7]. Optimum çoğaldıkları ve toksin ürettikleri su aktiviteleri ise Tablo 2.3'te verilmektedir.

Tablo 2.3 Bazı *Aspergillus* türlerinin optimum su aktivitesi (a_w) ihtiyaçları açısından kıyaslanması [7]

Tür	Mikotoksin	Su Aktivitesi (a_w)	
		Çoğalma	Toksin üretme
<i>A. flavus</i>	Aflatoksin	< 0,80	0,82
<i>A. parasiticus</i>	Aflatoksin	0,84	0,87
<i>A. ochraceus</i>	Okratoksin A	0,77	0,85
<i>A. ochraceus</i>	Penisilik Asit	0,77	0,88
<i>A. clavatus</i>	Patulin	0,88	0,99

Okratoksin üretimi için su aktivitesi arttıkça yüksek olmalıdır. 0,96-0,98 su aktivitesi değerlerinde OTA üretimi maksimumken 0,83-0,87'de minimumdur [13]. Okratoksin A'nın üreticisi olan *A. Verrucosum*'un çoğaldığı pH değeri 2,10 -10,00 aralığıdır. Optimum 6,00- 7,00 aralığında çoğalırlar [7].

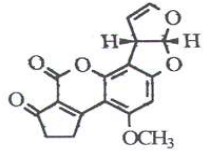
FB₁ üreten *F. moliforme* optimum 22,50- 27,50 °C'da çoğalır. Çoğalmak için en az 0,87, toksin üretebilmek için en az 0.92 su aktivitesine ihtiyaç duyarlar. 0.85 su aktivitesi değerinin altında toksin üretimi olmaz [7].

2.2.1. Aflatoksinler

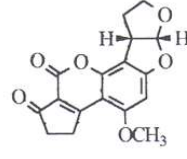
Aflatoksinler *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen mikotoksin çeşididirler. 20'den fazla aflatoksin çeşidi vardır ancak aflatoksin B₁(AFB₁), aflatoksin B₂ (AFB₂), aflatoksin G₁ (AFG₁), aflatoksin G₂ (AFG₂) doğal

olarak üretilen 4 ana aflatoksindir [14]. Aflatoksinin insan ve hayvan sağlığına kanserojen, mutajen, teratojen ve bağıışıklık bastırıcı etkisi vardır. AFB₁ en genotoksik ve kanserojen aflatoksindir ve tarım ürünlerinde yaygın olarak bulunur [15]. Aflatoksinlerin DNA, RNA ve protein sentezi inhibisyonu; çeşitli enzim aktivitelerinde azalma; glukoz metabolizması depresyonu; fosfolipidler, serbest yağ asitleri, trigliseritler ve kolesterol ve esterleri dahil olmak üzere lipid sentezi inhibisyonu ve pıhtılaşma faktörü inhibisyonu gibi metabolik etkileri vardır [9]. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) aflatoksinleri 1. sınıfa sokmuştur [16]. Aflatoksinlerin akut toksisitesi hakkında hayvanlar üzerinde çalışma yapılmış ve aflatoksin B₁'in hayvanlarda hepatokarsinomaya sebep olduğu tespit edilmiştir. İnsanlarda ise fıstık ve fıstık ürünlerinin tüketimi ile insan karaciğer kanseri riskinin arttığı gözlenmiştir [2]. Türkiye'de ilk defa 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen 10 ton iç fıstıkta aflatoksin olduğu gerekçesi ile iade edilmesi üzerine, bu konuda çalışmalar başlamıştır [17]. Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ çoğunlukla yüksek yağ içerikli gıdalarda bulunurlar. Bunlar yer fıstığı ve ürünleri, badem, antep fıstığı, Brezilya cevizi, mısır, pirinç, incir, pamuk tohumu ve baharatlardır [13]. Fındıkta küf bulaşması yaygın olup, gelişmeleri insan ve hayvan sağlığı için önemli bir risk oluşturmaktadır. Küf gelişimi bahçede başlamakta, depolama ve taşıma sırasında da bulaşma miktarı büyüebilmektedir. Tüketici ülkeler ve dünya piyasaları kanserojen olan aflatoksin açısından riskli ürünlerde aflatoksin limitinin sifıra indirilmesini hedeflemektedir. Bu hedef doğrultusunda birçok ülkede aflatoksin B₁ limiti 5 ppb'den 2 ppb'ye, fıstıkta toplam aflatoksin (B₁+B₂+G₁+G₂) 10 ppb'den,4 ppb'ye indirilmiştir [18].

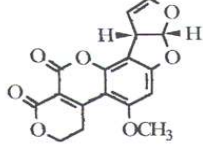
Aflatoksin B₁ kristal yapıdadır, erime noktası 268-269 °C'dir. Ultraviyole ışık altında mavi floresans verir. C₁₇H₁₂O₆ kapalı formülüne sahiptir. Aflatoksin B₂ aflatoksin B₁'in 8,9-dihidro türevi olup, kristal yapıdadır, erime noktası 286-289 °C'dir. Ultraviyole ışık altında mavi floresans verir. C₁₇H₁₄O₆ kapalı formülüne sahiptir. Aflatoksin G₁ kristal yapıdadır. Erime noktası 244-246 °C'dir. Ultraviyole ışık altında yeşil floresans verir. C₁₇H₁₂O₇ kapalı formülüne sahiptir. Aflatoksin G₂ aflatoksin G₁'in 9,10- dihidro türevi olup, kristal yapıdadır. Erime noktası 237-240 °C'dir. Ultraviyole ışık altında yeşil floresans verir. C₁₇H₁₄O₇ kapalı formülüne



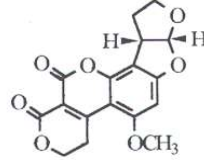
Aflatoxin B₁



Aflatoxin B₂



Aflatoxin G₁



Aflatoxin G₂

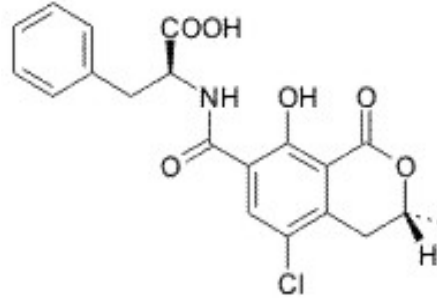
sahiptir [19].

Şekil 2.2. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapısı

2.2.2. Okratoksinler

Okratoksin *Penicillium* ve *Aspergillus* küfleri tarafından üretilen bir mikotoksindir [10]. İlk olarak *Aspergillus ochraceus*'un ikincil metaboliti olarak izole edilmiştir. İlerleyen zamanlarda başka *Aspergillus* ve *Penicillium* suşlarının da uygun sıcaklık, bağıl nem ve ürün neminde OTA üretme kapasitelerinin olduğu ortaya konmuştur. Okratoksin A doğada sık olarak bulunması ve neden olduğu patolojik durumlar itibariyle oldukça önemli bir okratoksindir [10]. OTA ve aflatoksin gıdaları en çok kontamine eden iki mikotoksin olmalarına rağmen, aflatoksinler ürünü tarlada, OTA ise daha çok kurutma ve depolama sırasında kontamine etmesiyle birbirinden ayrılır [20].

OTA, renksiz kristal yapıda bir bileşiktir ve polar organik çözücüde ve seyreltilmiş sulu bikarbonat çözeltisinde çözünebilir. Suda çözünürlüğü azdır [21]. Şekil 2.3'de okratoksin A'nın kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Okratoksin kimyasal yapısı

OTA üreticisi küfler diğer bileşikleri de oluşturabilirler. Bunlara örnek olarak okratoksin B (OTB), okratoksin C (OTC), okratoksin A metil ester (MeOTA) ile OTB metil ve etil esterler (sırasıyla MeOTB ve EtOTB) verilebilir [22]. Tablo 2.4'te bu bileşiklere ait moleküler yapılar gösterilmiştir.

Okratoksin A domuzlarda böbrek hastalığına neden olmaktadır. Bu nedenle domuz nefropatisi olarak da adlandırılır. Okratoksinlerin birincil toksik etkisi protein sentezinin inhibasyonudur. Ayrıca genotoksik kanserojen olduğu düşünülmektedir [10]. Okratoksin A insan ve hayvanlarda böbrek toksisitesi, mutajenite, teratojenite ve immünotoksisite dahil olmak üzere çeşitli toksikolojik etkileri içermesinden dolayı dikkat çekmektedir [23] Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) okratoksin A'yı (OTA) kansere neden olma ihtimali sebebiyle 2B grubuna dahil etmiştir [24].

Tablo 2.4 Okratoksinlere ait moleküler yapılar [22]

Okratoksin	R ₁	R ₂
OTA	C ₁	H
MeOTA	C ₁	CH ₃
OTC	C ₁	CH ₃ CH ₂
OTB	H	H
MeOTB	H	CH ₃
EtOTB	H	CH ₃ CH ₂

Okratoksinler; arpa, mısır, buğday, çavdar ve yulafın yanı sıra fasulye, incir, kuru üzüm, zeytin, kabuklu yemişler, kahve tohumu, baharatlar ve greylift suyunda

da bulunabilmektedirler [9].

2.2.3. Fumonisinler

Fumonisinler, *F. moniliforme* ve *F. proliferatum* gibi Fusarium türleri tarafından üretilen ve dünya genelinde çoğunlukla mısır ve mısır ürünlerinde bulunan bir mikotoksin grubudur [12]. Fumonisinler ilk defa 1988'de Güney Afrika'da rapor edilmiştir [25].

Bugüne kadar altı farklı fumonisin tanımlanmıştır. Bunlardan fumonisin B₁ (FB₁) ve fumonisin B₂ (FB₂) major toksinler olup, FB₃, FB₄, FA₁ ve FA₂ minör olanlarıdır [9]. *Fusarium* spp. ve fumonisinlerle kontaminasyon düzeyini etkileyen faktörler tohum çeşidi, iklim ve tarımsal uygulamalar, bitki stresi, toprağın nem içeriği, gündüzlerin uzun olduğu mevsimlerde maksimum sıcaklık dereceleri, toprağın besin içeriği gibi etkenlerdir. Yüksek sıcaklık ve neme sahip bölgelerde gıdalardaki fumonisin düzeyleri diğer bölgelere göre artış göstermektedir [12]. Farelerde yapılan çalışmalarda fumonisinin kansere yol açtığı gözlemlenmiştir. İnsanlar üzerinde henüz böyle bir etkisi gözlemlenmemiş olsa da hayvanlar üzerindeki etkisi sebebiyle Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı (IARC) fumonisinleri 2B grubuna sokmuştur [26].

Avrupa Birliğinde FB₁ seviyeleri için hala yasal bir düzenleme bulunmamaktadır. İsviçre mısırdaki maksimum fumonisin seviyesinin kısıtlandığı (FB₁ ve FB₂ toplamı $\leq 1000 \mu\text{g}/\text{kg}$) tek ülkedir [27]. Bununla birlikte FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)'nin bazı gıdalar için önerdiği maksimum toplam fumonisin seviyeleri Tablo 2.5'de verilmiştir [28].

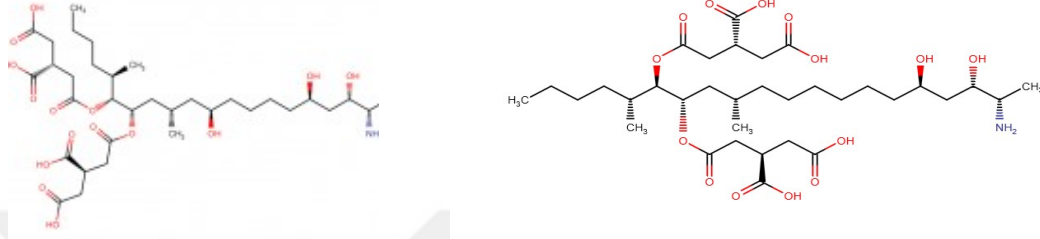
Tablo 2.5. FDA'nın bazı gıdalar için önerdiği maksimum toplam fumonisin seviyeleri [28]

Gıda	Toplam fumonisin (FB ₁ +FB ₂ +FB ₃) miktarı (ppb)
Parçalanmış kuru öğütülmüş mısır ürünleri (mısır pulcukları, mısır kırıkları, mısır küspesi, kuru maddede %2.25'in altında yağ oranına sahip mısır unu)	2000
Bütün veya kısmen parçalanmış öğütülmüş mısır ürünleri (mısır pulcukları, mısır kırıkları, mısır küspesi, kuru maddede %2.25'in altında yağ oranına sahip mısır unu)	4000
Kuru öğütülmüş mısır kepeği	4000
Masa hamuru üretiminde kullanılmak üzere temizlenmiş mısır	4000
Popcorn üretiminde kullanılmak üzere temizlenmiş mısır	3000

Mısırdaki FB₁ üretimi için en uygun sıcaklık 20 °C'dır. Uygun depolama koşulları (tane nem içeriği <%22, düşük O₂ tension) depolanmış mısırdaki toksin üretimini engellemekte ya da azaltmaktadır [29].

Diğer mikotoksinler gibi fumonisinler de ısıya dirençlidir. FB₁ ve FB₂'nin sulu çözeltilerinin 150 °C'a ısıtılmasıyla çok az kayıp meydana gelmektedir. Sadece 150 °C'dan yüksek sıcaklıklar bu toksinlerin bozunmasında etkilidir. Kuru veya nemli mısırdaki önemli derecede fumonisin yıkımı için yaklaşık 200 °C'da 60 dakikalık uygulamalar gereklidir. Yapılan bir çalışmada 220 °C'da 25 dakika pişirme ile muffinlerde fumonisinlerin bir kısmının yok edildiği belirlenmiştir. Farklı mısır ürünlerinin 121 °C'da farklı sürelerde konservenlemesi fumonisinlerde önemli bir azalma (≤15%) ile sonuçlanmamıştır. Öğütme işlemi ise mısırın fumonisin içeriğinde daha fazla azalma sağlamaktadır. Mısır unu boyutu azaldıkça fumonisin seviyesi eleğin diğer kalın mısır unu fraksiyonlarına göre %95'e kadar azalabilmektedir. Kuru öğütme fumonisinlerin kepek ve rüşeym fraksiyonlarında birikmesini sağlamaktadır. Bu fraksiyonlar daha çok hayvan yemi üretiminde kullanılsa da kepek bazen kahvaltılık tahıl üretiminde de kullanılmaktadır. Snack gıdalar ve kahvaltılık

tahıllarda kullanılan yassılaştırılmış mısır kırıkları ise kontaminasyondan arıdır. Bununla birlikte, mısır kırığı boyutunun azaltılması fumonisin konsantrasyonunda artışa neden olmaktadır. Islak öğütme sırasında ise fumonisinlerin çoğu tavlama suyunda, gluten, lif ve rüşeym fraksiyonlarında bulunurken nişasta fraksiyonunda algılanabilir seviyede fumonisine rastlanmamıştır [29]. Şekil 2.4'te fumonisin B₁ ve B₂'nin kimyasal yapıları gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Fumonisin B₁ ve B₂'nin kimyasal yapıları

2.2.4. Aflatoksin, okratoksin ve fumonisin ile ilgili yapılmış çalışmalar

Juan ve ark. (2008) 20 kuru üzüm, 20 ceviz, 20 fıstık, 20 kuru incir ve 20 antep fıstığı üzerinde yapmış oldukları çalışmada antep fıstıklarının %5'i, cevizin %20'si ve kuru üzümün %20'si EU (Avrupa Birliği) tarafından belirlenmiş olan maksimum kabul edilebilir limitin (2 µg/kg) üzerinde AFB₁ (Aflatoksin B₁) içermektedir ve kuru incirlerin %15'i EU tarafından belirlenmiş olan maksimum kabul edilebilir limitin (4 µg/kg) üzerinde AFT (Toplam Aflatoksin) içermektedir [14].

Gürses (2006) 28 fındık, 24 ceviz, 18 yer fıstığı ve 11 leblebi örneğinde İnce Tabaka Kromatografisi ile aflatoksin analizi yapmıştır. 94 örneğin 26'sında 1-113 ppb aralığında aflatoksin tespit etmiştir. 1 fındık örneğinde 113 ppb aflatoksin tespit edilmiştir. Bu tespit edilen en yüksek miktardır [30].

Gölge ve ark. (2016) 112 cevizli sucuk ve Türk Lokumu numunesinde analiz yapmışlardır. Cevzili sucuk ve Türk lokumunda kullanılan cevizlerin %43,8'inde ve fındıkların %60,90'unda 0,58-15,20 µg/kg ve 0,43-63,40 µg/kg seviyelerinde

aflatoksin tespit edilmiştir. Bu durum cevizli sucuk ve Türk lokumunda aflatoksin seviyesinin 6,10-9,50 µg/kg düzeyinde olduğu anlamına gelmektedir [31].

Bircan (2009) Türkiye'den Avrupa Birliği ülkelerine gidecek olan 98 kuru incir, 53 çekirdeksiz kuru üzüm ve 20 kuru kayısı örneğinde okratoksin A (OTA) analizi yapmıştır. Çekirdeksiz kuru üzümlerin %4'ünün Avrupa Birliği tarafından belirlenen maximum limitlerin (10 ng g⁻¹) üzerinde OTA içerdiği saptanmıştır. Ayrıca 28 (%53) çekirdeksiz kuru üzümde saptanabilir seviyede (0,51-58,04 ng g⁻¹) OTA tespit edilmiştir. Kuru incirlerin %18'i saptanabilir seviyede (0,87-24,37 ng g⁻¹) OTA içermektedir. 20 kuru kayısıdan sadece birinin OTA ile kontamine olduğu belirlenmiş olup OTA miktarı 0,97 ng g⁻¹ dir [20].

Mac Donald ve ark. (1999) yapmış oldukları çalışmada 60 kuru üzüm numunesinde OTA analizi yapmışlardır. 20 kuşüzümünün 19'unun, 20 sultani üzümünün 17'sinin ve 20 kuru üzümünün 17'sinin 0,2µg/kg'ı geçen miktarda OTA içerdiğini tespit etmişlerdir [32].

Kösoğlu ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmada 262 incir örneğinin %67,50'inde fumonis (FB₁+ FB₂) tespit edilmiştir. FB₁ 'in bulunma sıklığı FB₂ 'den daha fazladır [33].

Yapılan literatür taramalarında pestillerde mikotoksin analizlerinin kısıtlı olduğu görülmüştür. Maragos ve ark (2015) elma pestilinde patulin tespitine yönelik çalışması bulunmuştur [34]. Şenyuva ve ark. (2009) baklava, helva gibi şekerli geleneksel ürünlerde aflatoksin analizleri yapmıştır [35]. Ayrıca Erdoğan ve ark. (2003) yapmış oldukları çalışmada Erzurum'da satışa sunulan köme (cevizli pestil sucuğu) ve kuru incirlerin aflatoksin içeriklerini araştırmıştır. Köme pestil ile benzerlik gösteren ancak pestilden farklı olarak ipe dizilmiş cevizlerin dutlu şıraya ard arda birkaç defa daldırılıp çıkarılması sonucu elde edilen bir üründür. Çalışma sonunda 18 köme örneğinin 8'inde aflatoksin rastlanmıştır. Erzurum'dan temin edilen 11 örneğin 4'ünde, Elazığ'dan temin edilen 3 örneğin 2'sinde ve Gümüşhane'den temin edilen 4 örneğin de 2'sinde aflatoksin tespit edilmiştir.

Erzurum'dan alınan köme örneklerinde belirlenen toplam aflatoksin miktarları 3,50-12,50 µg/kg, Elazığ'dan alınanlarda 7,60- 13,20 ve Gümüşhane'den alınan köme örneklerinde işe 1,80-10,10 µg/kg arasında bulunmuştur. Analize tabi tutulan köme örneklerinin sağlık açısından çok fazla risk oluşturacak seviyede aflatoksin içermediği tespit edilmiştir [36]. Kaymak ve ark. (2019), tarhana örneğinde aflatoksin ve okratoksin A seviyelerinin multi affinite kolon ve floresans dedektör kullanılarak belirlenmesine yönelik bir yöntem çalışması gerçekleştirmişlerdir [37]. Ancak bu çalışma bir yöntem çalışması olup pestillerde toksin miktarını belirlemeye yönelik değildir.

Kalkışım ve ark. (2012), Pestil ve Köme Teknolojisi kitabında pestil ve kömede küflenme ve aflatoksin oluşumundan bahsetmişlerdir. Çalışmada Gümüşhane pestillerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, kanserojenik özellik taşıyan aflatoksin miktarının yok denecek kadar az seviyelerde çıktığı, toplam aflatoksin miktarı 10 µg/kg'a kadar izin verilirken analizlerde 0,16 µg/kg'ın altında çıktığından bahsedilmiştir [38].

Bu çalışmada Ege Bölgesi piyasasından temin edilen dut, fındıklı dut, cevizli dut, kayısı, üzüm, erik ve incir pestillerinin aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, okratoksin A ve fumonisin B₁ ve B₂ içerikleri tespit edilerek literatürdeki bu eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

2.2.5. Yasal Mevzuat

29 Aralık 2011 tarihli Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde [39] gıdalarda mikotoksinlerin bulunmasına izin verilen maksimum limitler verilmiştir. Tablo 2.5'te aflatoksin, okratoksin ve fumonisinin gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum limitlerine yer verilmiştir.

Tablo 2.6 Aflatoksin, okratoksin ve fumonisinin gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum limitler [39]

Aflatoksin	B₁ (µg/kg)	B₁+B₂+B₃+ B₄ (µg/kg)	M₁ (µg/kg)
Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar ⁽⁵⁾ (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama ve diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) -Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç.	8,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	-
Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	-
Fındık ve Brezilya fıncığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) -Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	-
Sert kabuklu meyveler (Bölüm 2.1.2 ve 2.1.3'de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	-
Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ⁽⁵⁾ ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) -Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç.	5,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	-
Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği ⁽⁷⁾ (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	-
Fındık ve Brezilya fıncığı ⁽⁷⁾ (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) -Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç.	5,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	-
Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.6. ve 2.1.7.'de belirtilenler			

hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	-
Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	-
Tahıllar bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.11, 2.1.14 ve 2.1.16'da belirtilenler hariç)	2,0	4,0	-
Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	-
Çiğ süt ⁽⁸⁾ , ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0,050
Baharatın aşağıdaki türleri için; - Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp.) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) - Karabiber (<i>Piper</i> spp.) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hintceviz/Muskat (<i>Myristica fragrans</i>) - Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) - Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>) -Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat	5,0	10,0	-
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ⁽³⁾ , ⁽⁹⁾	0,10	-	-
Bebek formülleri ve devam formülleri ⁽⁴⁾ , ⁽¹⁰⁾ (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0,025
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar ⁽¹¹⁾ , ⁽¹²⁾	0,10	-	0,025
Okratoksin A	(µg/kg)		
İşlenmemiş tahıllar	5,0		
İşlenmemiş tahıldan elde edilen tüm ürünler (doğrudan insan tüketimine sunulan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri dahil) (Bölüm 2.2.9 ve 2.2.10'da belirtilenler hariç)	3,0		
Kurutulmuş asma meyveleri (kuşüzümü, kuru üzüm ve çekirdeksiz üzüm)	10,0		
Kavrulmuş kahve çekirdeği ve öğütülmüş kahve (Bölüm 2.2.5'de belirtilenler hariç)	5,0		
Kahve ekstraktı, çözünebilir kahve ekstraktı veya çözünebilir kahve	10,0		

Şarap ve meyve şarapları (köpüklü şarap/şampanya dahil, likör şarapları ve hacmen alkol miktarı en az %15 olan şaraplar hariç)	2,0 ⁽¹³⁾
Aromatize şarap, aromatize şarap bazlı içki ve aromatize şarap kokteyli ⁽¹⁴⁾	2,0 ⁽¹³⁾
Üzüm suyu, konsantreden üretilen üzüm suyu , üzüm nektarı, üzüm şırası ve konsantreden üretilen üzüm şırası ⁽¹⁵⁾ (doğrudan insan tüketimine sunulan)	2,0 ⁽¹³⁾
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ⁽³⁾ , ⁽⁹⁾	0.5
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar ⁽¹¹⁾ , ⁽¹²⁾	0.5
Baharatın aşağıdaki türleri için; - Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp.) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) - Karabiber (<i>Piper</i> spp.) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hintceviz/Muskat (<i>Myristica fragrans</i>) - Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) - Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>) -Bunların birkaçını içeren karışım baharat	30,0 (30.6.2012 tarihine kadar) 15,0 (1.7.2012 tarihine kadar)
Meyan kökü (<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>G. inflata</i> ve diğer türler),	20,0
Meyan kökü (bitkisel infüzyon bileşeni olarak kullanılanlar)	80,0
Meyan kökü ekstraktı ⁽¹⁶⁾ (özellikle alkolsüz içecek ve şekerleme üretiminde kullanılan)	
Fumonisinler	FB ₁ + FB ₂ (µg/kg)
İşlenmemiş mısır ⁽²⁰⁾ (ıslak öğütülecekler hariç) ⁽²¹⁾	4000
Mısır ve mısır bazlı ürünler (doğrudan insan tüketimine sunulan) (Bölüm 2.6.3. ve 2.6.4.'de belirtilenler hariç)	1000
Mısır bazlı kahvaltılık tahıllar ve mısır bazlı çerezler	800
İşlenmiş mısır bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ⁽³⁾ , ⁽⁹⁾	200
500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen	

küçük parçalar ve mısır irmiği (GTİP 1103 13) veya mısırdan elde edilen pelleter (GTİP 1103 20 40) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması ile elde edilen gıda maddeleri	1400
500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu (GTİP 1102 20) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	2000

- (³) Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.
- (⁴) Maksimum limit, üretici tarafından beyan edilen kullanım talimatına göre hazırlanan veya doğrudan tüketime hazır olarak piyasaya arz edilen ürünler için geçerlidir.
- (⁵) GTİP 1201, 1202, 1203, 1204, 1205, 1206, 1207 kapsamındaki yağlı tohumları ve GTİP 1208'den üretilen ürünler; GTİP 1207 99 kavun tohumu hariç
- (⁶) Maksimum limit; yerfıstığı ve sert kabuklu meyvelerin yenilebilir kısımlarına uygulanır. Yerfıstığı ve sert kabuklu meyveler kabuklarıyla analiz edilirse Brezilya fıstığı hariç, aflatoksin miktarı hesaplanırken tüm bulaşanın yenilebilir kısım üzerinden olduğu kabul edilir.
- (⁷) İşlenmiş ürünlerin tamamı veya hemen hemen tamamı bahse konu sert kabuklu meyvelerden üretiliyorsa bu sert kabuklu meyveler için belirlenen maksimum limit; işlenmiş ürünü için de kullanılır. Aksi halde 6ıncı maddenin birinci, ikinci ve üçüncü fıkraları uygulanır.
- (⁸) Hayvansal Gıdalar için Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliğinde tanımlanan ürünleri kapsar. Maksimum limit; kuru madde üzerinden geçerlidir. Kuru madde, mikotoksin limitlerinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri ilgili mevzuatında belirtilen şekilde hesaplanır.
- (⁹) Maksimum limit; kuru madde üzerinden geçerlidir. Kuru madde, mikotoksin limitlerinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri ilgili mevzuatında belirtilen şekilde hesaplanır.
- (¹⁰) Bebek formülleri ve devam formülleri ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri

kapsar.

(¹¹) Özel tıbbi amaçlı diyet gıdaları ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(¹²) Maksimum limit; süt ve süt ürünleri için üretici tarafından beyan edilen kullanım talimatına göre hazırlanan veya doğrudan tüketime hazır olarak piyasaya arz edilen ürünlere uygulanırken süt ve süt ürünleri dışındaki ürünler için ise kuru madde üzerinden geçerlidir. Kuru madde, mikotoksin limitlerinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz kriterleri ilgili mevzuatında belirtilen şekilde hesaplanır.

(¹³) Maksimum limit; 2005 yılı ve sonrasında hasat edilen ürünlere uygulanır.

(¹⁴) Aromatize şarap, aromatize şarap bazlı içki ve aromatize şarap kokteyli ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar. Maksimum OTA limiti; son ürünlerdeki şarap ve /veya şıra oranı hesaplanarak uygulanır.

(¹⁵) Meyve suyu ve benzer, ürünler mevzuatından tanımlanan ürünleri kapsar.

(¹⁶) Maksimum limit; 3-4 kg meyan kökünden üretilen 1 kg saf ve seyreltilmemiş ekstraktlara uygulanır.

(²⁰) Maksimum limit; birincil işleme tabi tutulacak olan işlem görmemiş tahıllara uygulanır. Birinci işlem; tahıl tanesinin kurutulması haricindeki herhangi bir fiziksel veya ısıl işlemi ifade eder. Temizleme, ayıklama ve kurutma birinci işlem olarak değerlendirilmez. Uygulanan temizleme veya ayıklama sonrasında tahıl tanesinin aslını bozacak fiziksel işlemler uygulanmaz.

(²¹) İstisnalar sadece kullanım amacı etiketinde ve/veya ürün işe birlikte hareket eden Orijinal Doküman üzerinde açıkça belirtilen mısırlar için kullanılır. Örneğin; etiketinde veya herhangi bir bölgesinde “nişasta üretimi için” gibi kullanım amacı belirtilenler vb.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

Ege bölgesi piyasasından farklı markalara ait olmak üzere 60 pestil örneği (14 sade dut, 8 fındıklı dut, 12 cevizli dut, 10 üzüm, 8 erik, 6 kayısı, 2 incir) satın alınmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Nem Tayini

Pestilin şekerli bir gıda maddesi olması ve yüksek ısılarda yanma ihtimali taşınması nedeniyle vakumlu etüv kullanılarak nem tayini TS 485 Kuru Kayısı Standardına [40] göre yapılmıştır. 0,90- 1,20 g arasında 0,0001 g hassasiyette analitik terazi ile tartılan pestillerin nem tayini cam vezin kapları kullanılarak ve vakumlu etüvde (Nüve, EV 018, Türkiye) yapılmıştır. Her bir numune 3 paralel olacak şekilde vezin kaplarına alınmış ve sabit ağırlığa gelene kadar 70 °C sıcaklık ve 0,60 bar basınçtaki vakumlu etüvde nemi uçurulmuştur.

3.2.2. Su Aktivitesi Tayini

Su aktivitesi tayini için pestiller makas yardımıyla parçalanmış ve su aktivitesi tayin cihazının (Rotronic, Hygropalm, İsviçre) kendine ait örnek kaplarına yerleştirilmiştir. Her bir numuneden 3 paralel olacak şekilde ölçüm yapılmıştır.

3.2.3. pH Tayini

10 g parçalanmış pestil örneği 0,0001 g hassasiyette tartılarak üzerine 100 mL saf su ilave edilmiştir. 30 dakika bekletildikten sonra WTW (Inolab, pH 7110 Almanya) pH metre ile 3 paralel olacak şekilde ölçüm yapılmıştır.

3.2.4. Mikotoksin Analizleri

3.2.4.1. Validasyon (Geçerli Kılma)

Validasyon bir metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif olarak test edilerek yazılı hale getirilmesidir. Bir

laboratuvarında kullanılacak her türlü metot önce laboratuvar koşullarında analiz yapan kişiler tarafından valide edilmelidir. Bu amaçla validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada geri kazanım, lineerlik, tayin limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik gibi HPLC performans parametreleri saptanmıştır. Metodun lineerliği 5 noktalı kalibrasyon eğrisi çizilerek saptanmıştır. AFG₂ ve AFB₂ kalibrasyon eğrileri 0,024-2,16 ng mL⁻¹ değerleri arasında, AFG₁, AFB₁ kalibrasyon eğrileri 0,08-7,20 ng mL⁻¹ arasında lineerdir. OTA 0,05-20,00 ng mL⁻¹, fumonisin B₁ ve fumonisin B₂ 200-10000 ng mL⁻¹ değerleri arasında lineerdir. Tayin limiti sinyal gürültü oranının S/N=3/1 olmasında dayanılarak, ölçüm limiti ise sinyal gürültü oranının S/N=10/1 olmasına dayanılarak hesaplanmıştır. ISO 11843 Bölüm 2'de (British Standard 2000) detaylı olarak anlatılmaktadır. Hesaplanan LOD ve LOQ yasal sınırın altındadır. Metot kesinliğini belirlemek üzere bağıl standart sapma yüzdeleri tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik cinsinden, bir standart konsantrasyonunda aynı gün altı replikasyon ve üç ayrı günde üçer replikasyon olarak hesaplanmıştır.

Mikotoksin içermediği tespit edilmiş örneklere ayrı ayrı aflatoksin (AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂), okratoksin A ve fumonisin (FB₁ ve FB₂) standartları belli miktarlarda eklenmiş ve tüm analiz aşamaları uygulanmıştır. Her bir geri kazanım çalışması iki örnek için aynı miktarda standart ile tekrarlanmış ve cihaza ikiler defa verilerek ortalaması alınmıştır. Aflatoksinler (Afs), okratoksin A ve fumonisinlerin (FB₁ ve FB₂) geri kazanım değerleri Tablo 3.2'de verilmiştir. Fumonisin analizlerinde azot ile uçurma aşaması sırasında oluşabilecek kayıplar göz önünde bulundurulduğunda ve türevlendirme aşamasında pipet ile yapılan işlemlerin çokluğu nedeniyle geri kazanım değerleri aflatoksin ve okratoksinin geri kazanım değerlerine oranla düşük bulunması normaldir. Pestilde aflatoksinler (Afs), okratoksin A ve fumonisinlerin (FB₁ ve FB₂) için metot validasyon sonuçları geri kazanım değerleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Aflatoksinler (Afs), okratoksin A ve fumonisilerin (FB₁ ve FB₂) için metot validasyon sonuçları

Analit	LOD (µg kg ⁻¹)	LOQ (µg kg ⁻¹)	Lineerlik	R ²	Aralık (µg kg ⁻¹)	% RSD*	% RSD**
AFG ₂	0,05	0,15	y=23,0706932x-0,0034219	1	1,05	0,72	1,25
AFG ₁	0,03	0,09	y=22,7301305x+0,0178513	0,990	0,50- 2,75	0,24	0,80
AFB ₂	0,05	0,15	y=88,4236701x+0,0118342	0,994	0,20- 1,88	0,37	4,20
AFB ₁	0,03	0,09	y=44,6565372x+0,0333794	0,991	0,210- 4,9	0,18	9,24
OTA	0,10	0,30	y=856,169527x-0,0049864	0,999	0,12- 0,84	0,98	7,06
FB ₁	10	30	y=31,5926946x+6,8889545	0,996	200,46- 447,82	3,40	2,05
FB ₂	20	60	y=28,1919517*x+4,6109251	0,997	203,26- 274,50	2,39	3,15

*tekrarlanabilirlik,**tekrarüretilebilirlik

Tablo 3.2. Aflatoksinler (Afs), okratoksin A ve fumonisinlerin (FB₁ ve FB₂) geri kazanım değerleri

Analit	Zenginleştirme miktarı (µg kg⁻¹)	Geri Kazanım	% RSD
AFG ₂	0,15	94,19	2,84
	0,30	90,66	1,65
AFG ₁	0,50	92,20	9,85
	1,00	69,66	3,12
AFB ₂	0,15	114,76	7,89
	0,30	90,20	4,80
AFB ₁	0,50	68,00	21,21
	1,00	69,00	2,53
OTA	0,10	83,84	28,06
	0,20	99,61	9,05
FB ₁	250	103,36	0,40
	500	105,06	2,17
FB ₂	250	122,53	0,22
	500	113,60	2,81

3.2.4.2. Mikotoksinlerin Analiz Yöntemi

Mikotoksin analizleri genellikle örnekleme, ekstraksiyon, temizleme (clean-up), saptama ve bazı mikotoksinler için türevlendirme aşamalarından oluşur. Örnekleme mikotoksinlerin gıdalarda heterojen dağılımı sebebiyle büyük önem taşır [24]. Ekstraksiyon işleminde mikotoksinlerin kullanılan solvente kayıpsız geçmesi önemlidir. Ekstraksiyon solventi ve karıştırma önem taşımaktadır. Temizleme (clean-up) aşamasında ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstrakt örneğin içerdiği organik asitler ve tüm şekerlerden arındırılır [41].

Mikotoksinleri saptama amacıyla floresans dedektörlü HPLC cihazı (Agilent Technologies, ABD) kullanılmıştır. Aflatoksin, okratoksin A ve fumonisinlerin floresans dedektörle saptanabilmeleri için türevlendirme işlemi gerekmektedir. Aflatoksin tayininde coring cell vasıtasıyla kolon sonrası türevlendirme uygulanmış olup fumonisin tayininde OPA kimyasalı ile kolon öncesi türevlendirme uygulanmıştır. HPLC cihazına ait fotoğraf Resim 4.1'de verilmiştir.



Resim 4.1. HPLC cihazı

3.2.4.2.1. Aflatoksin Analizi

3.2.4.2.1.1. Aflatoksin Analizinde Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

Fosfat tampon çözeltisi hazırlanırken 1 adet PBS (Oxoid) tablet 100 mL ultra saf suda çözündürülmüştür.

Mobil Faz hazırlanırken Ultra Saf Su:metanol:asetonitril (Merck, HPLC saflıkta) (50:30:20 %, v:v:v %) + 120 mg KBr + 350 µL 4M HNO₃ karıştırılmış ardından Whatman No 4 ile süzülerek degaz edilmiştir.

3.2.4.2.1.2. Analiz Yöntemi

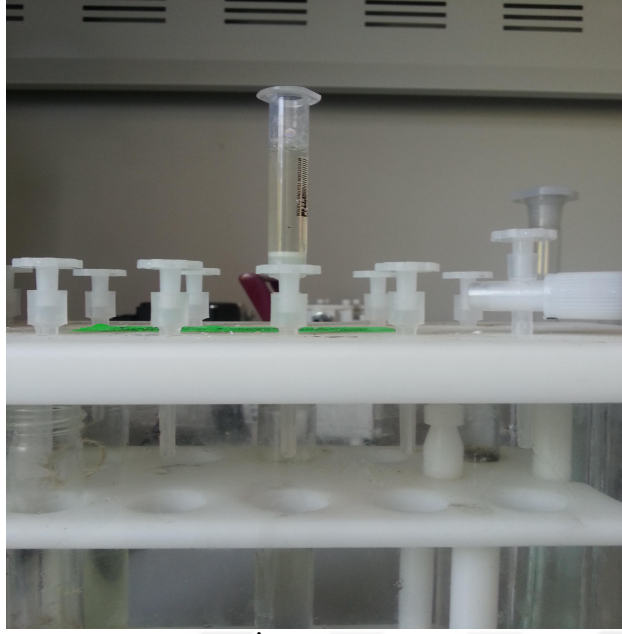
Aflatoksin tayininde 999.07 Sayılı AOAC Resmi Metodu referans alınmış ve ürünün özelliğine bağlı bazı modifikasyonlar yapılmıştır [42].

3.2.4.2.1.3. Ekstraksiyon

Homojen örnek alma için 500 g pestil 500 g ultra saf su ile parçalayıcıda (Waring blender, ABD) öğütülmüştür, ardından bu karışımdan 100 g (50 g ultra saf su + 50 g pestil) alınmış ve üzerine 5 g NaCl ve 200 mL MeOH (Sigma, HPLC saflıkta) eklenerek 3 dakika Waring blender ile yüksek hızda karıştırılmıştır. Whatman No:4 ile süzme işlemi yapılmış ve bu süzüntüden 5 mL alınarak 20 mL PBS çözeltisi ile karıştırılmıştır. Elde edilen bu karışım vorteks (WiseMix, Kore) ile 2 dk karıştırılmış sonrasında 1,5µm'lik mikrofiber filtre ile süzülerek immunoaffinite kolondan geçmeye uygun hale getirilmiştir.

3.2.4.2.1.4. İmmunoaffinite kolon

İmmunoaffinite kolon çalışma prensibi; mikotoksin içeren örnek ekstraktı kolondan geçirilerek immunoaffinite kolonun içerdiği özel monoklonal antikora mikotoksinler tutunması ve daha sonra geçirilen eluentin kolonda antikorunu denatüre etmesidir. Böylece toksinler elusyon çözücüsüne geçer. Vakum manifold düzeneğine yerleştirilmiş immunoaffinite kolon Resim 4.2'de gösterilmektedir.



Resim 4.2. İmmunoaffinite kolon

Oda sıcaklığına ulaşan immunoaffinite kolon (Aflatest, VICAM, Watertown, MA, ABD) vakum monifold düzeneğine yerleştirilmiş ve dakikada 2-3 mL olacak şekilde süzüntü kolondan geçirilerek mikotoksinin antikor tarafından tutulması sağlanmıştır. Örneğin hepsi kolondan geçirildikten sonra kolondan 15 mL ultra saf su geçirilerek kolon yıkanmış ve daha sonra 1 dakika kolondan hava geçirilerek su damlacıklarının kalması önlenmiştir. 1 mL MeOH (HPLC saflıkta) ve sonrasında 1 mL ultra saf su kendi akışıyla kolondan geçirilerek aflatoksinin elusyon çözücüsüne geçmesi sağlanmıştır.

3.2.4.2.1.5. Ölçüm

İmmunoaffinite kolondan vialden alınan eluat HPLC'ye (Agilent 1260 Infinity) verilerek numune kromatogramındaki piklerle, standart pikinin alıkonma zamanı karşılaştırılmıştır. Numune içerisinde aflatoksin olması durumunda enjekte edilen numunedeki aflatoksin G₂, G₁, B₂, B₁ miktarları kalibrasyon eğrisinden tespit edilmiştir.

HPLC sisteminde 4,6 mm x 250 mm x 5 µL ölçülerinde C18 kolon (Termo Scientific) kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 25 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Floresans dedektörün dalga boyları ekstinksiyon: 362 nm, emisyon: 425 nm olacak şekilde

ayarlanmıştır. Hareketli faz akış hızı dakikada 1 mL'dir. Türevlendirme Coring Cell (Coring System Diagnostix GmbH, Almanya) ile yapılmıştır.

3.2.4.2.1.6. Aflatoksin Tayini Kalibrasyon Eğrisi Oluşturulması

“İkinci Aşama Standart” hazırlamak için 0,3 µg/mL G₂ ve B₂, 1 µg/mL G₁ ve B₁ içeren 1 mL'lik karışık aflatoksin standardı (Supelco Bellefonte, ABD) ampullerinden bir tanesi kırılarak 10 mL'lik vial e aktarılmış ve üzerine 9 mL metanol ilave edilmiştir. Daha sonra ikinci aşama standarttan 5 adet hazırlanmış ve miktarlar Tablo 3.3.'te gösterilmiştir.

Hazırlanan standartlar cihaza verilerek hesaplamalarda kullanılmak amacıyla kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Kalibrasyon grafiği oluşturulurken cihaza Tablo 3.4'te verilen değerler girilmiştir.

Tablo 3.3. Aflatoksin kalibrasyon eğrisi için standartların hazırlanması

Çalışma Standart Numarası	İkinci Aşama Std. Hacmi (µL)	Metanol (µL)	Ultra Saf Su (mL)
1	40	43960	6
2	120	43880	6
3	200	43880	6
4	280	43720	6
5	360	43640	6

Tablo 3.4. Aflatoksin kalibrasyon tablosunun hazırlanması

Çalışma Standart Numarası	Aflatoksin B ₁ (ng/100 µL)	Aflatoksin B ₂ (ng/100 µL)	Aflatoksin G ₁ (ng/100 µL)	Aflatoksin G ₂ (ng/100 µL)
1	0,008	0,0024	0,008	0,0024
2	0,024	0,0072	0,024	0,0072
3	0,040	0,0120	0,040	0,0120
4	0,056	0,0168	0,056	0,0168
5	0,072	0,0216	0,072	0,0216

3.2.4.2.2. Okratoksin Analizi

3.2.4.2.2.1. Okratoksin Analizinde Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

Mobil Faz hazırlanırken su: asetonitril : asetik asit (495:495:10) (v:v:v) karıştırılmış ardından Whatman No 4 ile süzülerek degaz edilmiştir.

Tween 20 içeren fosfat tampon çözeltisi 100 mL fosfat tampon solüsyonuna %0,01 Tween 20 ilave edilerek hazırlanır.

Elusyon çözgeni = HPLC saflıkta metanol: asetik asit (98:2)

Enjeksiyon çözgeni = metanol: asetik asit (98:2): ultra saf su (1:1)

3.2.4.2.2.2. Analiz Yöntemi

3.2.4.2.2.3. Ekstraksiyon

Homojen örnek alma için 500 g pestil 500 g ultra saf su ile Waring blenderda öğütülmüş, ardından bu karışımdan 100 g (50 g ultra saf su + 50 g pestil) alınarak üzerine 140 mL MeOH (HPLC saflıkta) ve 10 mL ultra saf su eklenmiştir. Sonrasında 1 dakika yüksek hızda Waring blender ile karıştırılmıştır. Whatman No:4 ile süzme işlemi yapılmış ve bu süzüntüden 10 mL alınarak 40 mL 0,01% Tween 20 içeren fosfat tampon çözeltisi ile 2 dk karıştırılmıştır. Daha sonra 20 mL filtrat alınarak immunoaffinite kolondan (Ochrates, VICAM, Watertown, MA, ABD) geçirilmiştir.

3.2.4.2.2.4. İmunoaffinite Kolon

Oda sıcaklığına ulaşan immunoaffinite kolonlar vakum monifold düzeneğine yerleştirilmiş ve 1-2 damla/saniye sabit hızla süzüntü kolondan geçirilerek mikotoksinin antikor tarafından tutulması sağlanmıştır. Süzüntünün hepsi kolondan geçirildikten sonra kolondan yaklaşık 1-2 damla/saniye sabit hızla 10 mL distile su geçirilerek kolon yıkanmıştır. Kolondan yaklaşık 1 damla/saniye sabit hızla 1,5 mL elusyon solventi geçirilerek kolondan okratoksinler ayrılmıştır ve eluat temiz bir cam tüpte toplanmıştır, sonrasında 1,5 mL distile su ilave edilerek vortekste

kariştirilmiştir.

3.2.4.2.2.5. Ölçüm

İmmunoaffinite kolondan viale alınan eluat HPLC'ye (Agilent 1260 İfinity) verilerek numune kromatogramındaki piklerle, standart pikinin alıkonma zamanı karşılaştırılmıştır. Numune içerisinde okratoksin A olması durumunda numunedeki okratoksin A miktarı kalibrasyon eğrisinden belirlenmiştir.

HPLC sisteminde 4,6 mm x 250 mm x 5 µL ölçülerinde C18 kolon (Termo Scientific) kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 25 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Floresans dedektörün dalga boyları ekstinksiyon: 333 nm, emisyon: 460 nm olacak şekilde ayarlanmıştır. Hareketli faz akış hızı dakikada 0,8 mL'dir. Enjeksiyon hacmi 100 µL'dir.

3.2.4.2.2.6. Okratoksin A Tayini Kalibrasyon Eğrisi Oluşturulması

Kristal haldeki standart (Supelco Bellefonte, ABD) buzluktan çıkarılarak çözünmesi sağlanmıştır. “İkinci Aşama Standartı“ hazırlamak için standart kırılarak 40 µL'si temiz bir 10 mL'lik balon jøjeye alınmış ve üzerine 960 µL HPLC saflıkta metanol ilave edilmiştir.

“Üçüncü Aşama Standartı“ hazırlamak için “İkinci Aşama Standartı“ından 100 µL temiz bir balona alınmış ve enjeksiyon solventi ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Sonrasında üçüncü aşama standart kullanılarak standartlar hazırlanmıştır (Tablo 3.5). Kalibrasyon eğrisi oluşturulurken Tablo 3.6'daki değerler kullanılmıştır.

Tablo 3.5. Okratoksin A kalibrasyon eğrisi için standartların hazırlanması

Çalışma Standart Numarası	Üçüncü Aşama Std. Hacmi (µL)	Enjeksiyon Solventi Hacmi (µL)	Enjeksiyon Hacmi (µL)
1	12,5	4987,5	100
2	25	4975	100
3	125	4875	100
4	250	4750	100
5	500	4500	100

Tablo 3.6. Okratoksin A Kalibrasyon tablosunun hazırlanması

Çalışma Standartı Numarası	Okratoksin A (ng/µL)
1	0,00005
2	0,00010
3	0,00050
4	0,00100
5	0,00200

3.2.4.2.3. Fumonisin Analizi

3.2.4.2.3.1. Fumonisin Analizinde Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

Mobil Faz hazırlanırken Metanol : 0,1 M Sodyum dihidrojen fosfat solusyonu (77:23) karıştırılmış ardından Whatman No 4 ile süzülerek degaz edilmiştir ve pH'ı O-phosphorik asit kullanılarak 3.35'e ayarlanmıştır.

Fosfat tampon solusyonu hazırlanırken 1 adet PBS (Oxoid) tablet 100 mL ultra saf suda çözündürülmüştür).

Elusyon çözgeni = HPLC dereceli metanol: asetik asit (99:1)

OPA Reaktifi: 40 mg phthaldialdehyde (Sigma) 1 mL HPLC saflığında metanolde (Sigma) çözündürülür. 5 mL 0,1 M'lık sodyum tetraborat çözeltisi ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) ile seyreltilir, üzerine 50 µL 2- Mercaptoethanol (Merck) eklenir.

Sodyum tetraborat çözeltisi ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$): 3,80 g di-sodium tetraborate

decahydrate ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) (Merck) tartılır ve ultra saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Sodyum dihidrojen fosfat çözeltisi: 15,60 g Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ultra saf su ile 1 L'ye tamamlanır.

3.2.4.2.3.2. Analiz Yöntemi

Fumonisin tayininde 2001.04 Sayılı AOAC Resmi Metodu referans alınmış ve ürünün özelliğine bağlı bazı değişiklikler yapılmıştır [43].

3.2.4.2.3.3. Ekstraksiyon

Homojen örnek alma için 500 g pestil 500 g ultra saf su ile Waring blenderda öğütülmüş, ardından bu karışımdan 40 g (20g ultra saf su + 20 g pestil) alınarak üzerine 25 mL MeOH (HPLC saflıkta), 25 mL Asetonitril ve 30 mL ultra saf su eklenmiştir. Sonrasında 10 dakika yüksek hızda Waring blender ile karıştırılmıştır. Whatman No:4 ile süzme işlemi yapılmış ve bu süzüntüden 10 mL alınarak 40 mL fosfat tampon çözeltisi ile karıştırılmıştır. Elde edilen bu karışım 0,45 µm şırınga ucu PTFE filtre (Isolab, Almanya) ile süzölmüş ve 10 mL filtrat immunoaffinite kolondan (VICAM, Watertown, MA, ABD) geçirilmiştir.

3.2.4.2.3.4. İmmunoaffinite kolon

Oda sıcaklığına ulaşan immunoaffinite kolonlar vakum monifold düzeneğine yerleştirilmiş ve 1-2 damla/saniye sabit hızla süzüntü kolondan geçirilerek mikotoksinin antikor tarafından tutulması sağlanmıştır. Daha sonra kolondan yaklaşık 1-2 damla/saniye sabit hızla 10 mL PBS geçirilerek kolon yıkanmıştır. Kolondan 1,5 mL elusyon solventi geçirilerek fumonisin ayrılmış ve elusyon solventi ile beraber vialde alınmıştır.

Viale alınan ekstraktın azot gazı altında 60°C'da metanolü uçurulmuş ve +4°C'da muhafaza edilmiştir. Daha sonra her vialde 200 µL Asetonitril: Ultra Saf Su (50:50) ilave edilip vorteks ile 2 dakika karıştırılarak yeniden çözülmüştür. Vialden 50 µL örnek temiz bir vialde aktarılmış ve üzerine türevlendirme amacıyla 50 µL OPA

ilave edilerek 30 saniye karıştırılmış, OPA ilavesinden itibaren toplam 3 dakika bekleme süresi sonrasında 20 µL enjeksiyon yapılmıştır.

3.2.4.2.3.5. Türevlendirme Prosedürü

Fumonisinler floresans dedektörlü HPLC'de saptanmalarını sağlayacak kromofom veya floroformlardan yoksundurlar. Bu nedenle fumonisinlere floresan özellik sağlayacak çeşitli kimyasallara ihtiyaç duyulmaktadır. Türevlendirme amacıyla kullanılan bu kimyasallar 9-fluorenylmethyl chloroformate (FMOC-CL), 4-fluoro-7-nitrobenzofurozan (NBD-F), o-phthaldialdehyde (OPA), naphthalene-2-3-dicarboxaldehyde (NDA) ve dansil klorürdür (DNS-Cl)

Bu çalışmada birçok laboratuvar tarafından da tercih edilen OPA kullanılmıştır. Ancak OPA fumonisin ile reaksiyona girdikten sonra oda sıcaklığında 4 dakika boyunca stabildir, eklendikten 8 dakika sonra %5 azalma, 64 dakika sonra %52 azalma gözlemlenmiştir [44]. Bu nedenle OPA'nın örnek ile karıştırıldıktan sonra 2-4 dakika arası cihaza verilmesi gerekmektedir. Karbancıoğlu Güler ve Heperkan'ın (2010) kuru incirde yaptıkları analizde 25 µL ekstrakta 225 µL OPA eklemişlerdir. FB₁ için ortalama %83 geri kazanım elde etmişlerdir [13]. Köseoğlu ve ark. (2011) kurutulmuş incirde aflatoksin B₁ ve B₂ tayini için 200 µL ekstrakta 200 µL OPA ilave etmişler 3 dakika sonra enjeksiyon yapmışlardır [33].

3.2.4.2.3.6. Ölçüm

Eluat HPLC'ye (Agilent 1260 İfinity model) verilerek numune kromatogramındaki piklerle, standart pikinin alıkonma zamanı karşılaştırılmıştır. Numune içerisinde fumonisin B₁ ve/veya B₂ olması durumunda kalibrasyon eğrisinden enjekte edilen numunedeki fumonisin miktarı bulunmuştur.

HPLC sisteminde 4,6 mm x 250 mm x 5 µL ölçülerinde C18 kolon (Termo Scientific) kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 22 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Floresans dedektörün dalga boyları ekstinksiyon: 335 nm, emisyon: 440 nm olacak şekilde ayarlanmıştır. Hareketli faz akış hızı dakikada 1 mL'dir. Enjeksiyon hacmi 20 µL'dir.

3.2.4.2.3.7. Fumonisin Tayini Kalibrasyon Eğrisi Oluşturulması

Eşit miktarda FB₁ ve FB₂ (50 µg/mL) içeren fumonisin stok standardı (Fulkar) ve metanol viallere alındıktan sonra her bir vialin içindeki standart azot gazı altında buharlaştırılmıştır. Sonrasında her bir vialdeki standart 200 µL asetonitril:ultra saf su (50:50) içinde yeniden çözündürülüp, vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır. Sonrasında vialden 50 µL yeniden çözünmüş standart temiz bir vialle alınmış ve üzerine türevlendirme amacıyla 200 µL OPA reaktifi ilave edilmiştir. OPA reaktifi eklendikten sonra 30 saniye karıştırılmış ve 1 dakika beklendikten sonra cihaza 20 µL enjeksiyon yapılmıştır.

Kalibrasyon eğrisi hazırlanırken kullanılan standart miktarları Tablo 3.7'de verilmiştir ayrıca Tablo 3.8'deki değerler kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

Tablo 3.7 Fumonisin B₁ ve B₂ kalibrasyon eğrisi için standartların hazırlanması

Çalışma Standart Numarası	Stok Std. Hacmi (µL)	Metanol (µL)	Standarttaki FB ₁ ve FB ₂ miktarları (µL)
1	2	1498	FB ₁ = FB ₂ = 0,1
2	20	1480	FB ₁ = FB ₂ = 1
3	40	1460	FB ₁ = FB ₂ = 2
4	80	1420	FB ₁ = FB ₂ = 4
5	160	1340	FB ₁ = FB ₂ = 8

Tablo 3.8. Fumonisin B₁ ve B₂ kalibrasyon tablosunun hazırlanması

Çalışma Standart Numarası	FB ₁ konsantrasyonu (ng/µL)	FB ₂ konsantrasyonu (ng/µL)
1	2,5	0,1
2	5	1
3	10	2
4	20	4
5	25	8

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Piyasadan farklı zamanlarda olmak üzere temin edilen örneklerde analizler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Tamamen Rastgele Desen kullanılmıştır. Pestil örneklerinin fiziksel ve kimyasal analizleri için uygulama ortalamaları varyans (ANOVA) analizi yoluyla The SAS® System (by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA: SAS Proprietary Software Release 8.2) programı kullanarak $\alpha=0.05$ önem düzeyinde (GLM prosedürü ile) değerlendirilmiştir. Uygulama ortalamaları arasındaki En Küçük Anlamlı Fark (LSD) değeri 'DUNCAN Yeni Çoklu Aralık Testi' ile belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Nem, Su Aktivitesi ve pH

60 pestil örneğinde (14 sade dut, 8 fındıklı dut, 12 cevizli dut, 10 üzüm, 8 erik, 6 kayısı, 2 incir) nem, su aktivitesi ve pH analizleri 3 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Sade dut pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları

Pestil Çeşidi	Nem %	a_w	pH
Dut 1	11,87±0,042 ^{cd}	0,54±0,018 ^{bcd}	6,19±0,014 ⁱ
Dut 2	11,85±0,212 ^{cd}	0,52±0,028 ^e	6,77±0,000 ^d
Dut 3	12,53±0,010 ^{abcd}	0,52±0,014 ^{de}	6,36±0,014 ^g
Dut 4	12,80±0,141 ^{abcd}	0,53±0,001 ^{bcd}	6,41±0,014 ^f
Dut 5	13,74±0,085 ^a	0,59±0,006 ^a	6,41±0,028 ^f
Dut 6	12,25±1,141 ^{bcd}	0,55±0,017 ^b	6,34±0,028 ^g
Dut 7	12,69±0,438 ^{abcd}	0,52±0,013 ^e	6,25±0,000 ^h
Dut 8	12,71±0,552 ^{abcd}	0,52±0,006 ^e	7,01±0,000 ^b
Dut 9	13,55±0,537 ^{ab}	0,52±0,003 ^e	6,94±0,014 ^c
Dut 10	13,10±0,141 ^{abc}	0,52±0,003 ^e	7,34±0,000 ^a
Dut 11	12,37±0,184 ^{bcd}	0,53±0,003 ^{cde}	6,42±0,042 ^f
Dut 12	11,78±0,170 ^d	0,53±0,003 ^{cde}	6,61±0,014 ^e
Dut 13	12,20±0,071 ^{cd}	0,55±0,008 ^b	5,53±0,000 ^j
Dut 14	12,54±0,226 ^{abcd}	0,55±0,004 ^{bc}	6,59±0,014 ^e
p değeri	>0.05	<0.0001	<0.0001

Tablo 4.1 incelendiğinde dut pestillerinin nem içeriği bakımından istatistiksel açıdan farklı olmadığı görülmektedir ($p>0.05$). Dut pestillerinin nem içeriği %11,78 – 13,74 arasında değişmekte olup 5 numaralı pestil en yüksek 12 numaralı pestil ise en düşük nem içeriğine sahiptir. Dut pestilleri su aktivitesi ve pH bakımından istatistiksel açıdan farklılıklar göstermektedir ($p<0.0001$). Pestillerin su aktivitesi 0,52-0,59 arasında değişmiştir. En yüksek nem içeriğine sahip olan 5 numaralı pestil aynı zamanda en yüksek su aktivitesi değerine sahip olup istatistiksel açıdan diğer

örneklerden farklıdır. Örneklerin nem içeriklerindeki farklılıkların üretim sürecinde kurutma sürelerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Dut pestillerinin pH sonuçları incelendiğinde 5,53-7,34 arasında değiştiği ve genel olarak pestillerin hafif asidik olduğu tespit edilmiştir. 13 nolu dut pestili en düşük pH değeri ile en asidik, 10 numaralı pestil ise en yüksek pH değerine sahip olup bazik özelliktedir. Örneklerin pH değerleri arasındaki farklılıklar bileşenler ve başlıca da kullanılan dutun başlangıç pH'ı olmak üzere üretim koşullarından kaynaklanmaktadır.

Tablo 4.2’de fındıklı dut pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH sonuçları verilmiştir. Pestiller nem, su aktivitesi ve pH bakımından istatistiksel açıdan farklılıklar göstermektedir ($p<0.0001$). Fındıklı dut pestillerinin nem içerikleri %10,82–15,33 arasında, su aktiviteleri 0,53-0,57 arasında ve pH değerleri 5,70-6,60 arasında değişmiştir.

Tablo 4.2. Fındıklı dut pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları

Pestil Çeşidi	Nem %	a_w	pH
Fındıklı Dut 1	13,03±0,141 ^{bc}	0,57±0,003 ^a	6,44±0,028 ^c
Fındıklı Dut 2	15,33±0,127 ^a	0,53±0,007 ^d	6,60±0,000 ^a
Fındıklı Dut 3	14,15±0,212 ^{ab}	0,54±0,001 ^{cd}	5,78±0,028 ^g
Fındıklı Dut 4	15,09±0,311 ^a	0,54±0,001 ^c	5,70±0,028 ^h
Fındıklı Dut 5	10,82±0,156 ^e	0,57±0,002 ^b	6,53±0,007 ^b
Fındıklı Dut 6	11,00±0,170 ^{de}	0,54±0,006 ^c	5,82±0,000 ^f
Fındıklı Dut 7	12,08±0,255 ^{cd}	0,55±0,001 ^c	6,31±0,014 ^d
Fındıklı Dut 8	11,84±0,170 ^{cde}	0,55±0,004 ^c	6,22±0,028 ^e
p değeri	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Cevizli dut pestillerinin nem, su aktivitesi ve pH değerleri Tablo 4.3’te verilmiştir. Pestillerin nem içeriği bakımından istatistiksel açıdan farklı olduğu görülmektedir ($p<0.01$). Bununla birlikte cevizli dut pestillerinin nemlerinin dar bir aralıkta (%10,67- 13,42) değiştiği görülmektedir. 8 numaralı pestil en düşük, 11

numaralı pestil ise en yüksek nem içeriğine sahiptir. Cevizli dut pestilleri su aktivitesi ve pH bakımından istatistiksel açıdan farklıdır ($p<0.0001$). Pestillerin su aktiviteleri 0,53-0,58 arasında, pH değerleri ise 6,06-6,76 arasında değişmiştir. Cevizli dut pestilleri fındıklı dut ve sade dut pestillerine benzer şekilde hafif asidiktir.

Tablo 4.3. Cevizli dut pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları

Pestil Çeşidi	Nem %	a_w	Ph
Cevizli Dut 1	12,12±0,325 ^{bcd}	0,58±0,003 ^{ab}	6,62±0,000 ^c
Cevizli Dut 2	12,48±0,339 ^{abcd}	0,58±0,003 ^a	6,68±0,000 ^b
Cevizli Dut 3	13,00±0,184 ^{ab}	0,56±0,004 ^{cd}	6,58±0,007 ^d
Cevizli Dut 4	12,56±0,467 ^{abcd}	0,54±0,001 ^f	6,54±0,007 ^e
Cevizli Dut 5	11,75±0,354 ^{cde}	0,53±0,003 ^g	6,25±0,014 ^h
Cevizli Dut 6	12,34±0,311 ^{abcd}	0,56±0,001 ^{cd}	6,76±0,057 ^a
Cevizli Dut 7	11,76±0,283 ^{cde}	0,56±0,000 ^c	6,38±0,007 ^f
Cevizli Dut 8	10,67±0,467 ^e	0,55±0,000 ^d	6,36±0,028 ^f
Cevizli Dut 9	11,38±0,255 ^{de}	0,54±0,003 ^{ef}	6,59±0,014 ^d
Cevizli Dut 10	12,83±0,255 ^{abc}	0,54±0,001 ^{ef}	6,06±0,014 ^j
Cevizli Dut 11	13,42±0,368 ^a	0,58±0,003 ^b	6,31±0,014 ^g
Cevizli Dut 12	12,82±0,523 ^{abc}	0,54±0,001 ^e	6,17±0,007 ⁱ
p değeri	<0.01	<0.0001	<0.0001

Üzüm pestillerinin nemleri incelendiğinde (Tablo 4.4), sonuçların geniş bir aralıkta değişim gösterdiği (%10,74- 19,10) ve örneklerin nem bakımından istatistiksel olarak farklı olduğu görülmektedir ($p<0.0001$). En yüksek nem içeriğine 1 numaralı örnekte, en düşük nem içeriğine ise 4 numaralı örnekte rastlanmıştır. Üzüm pestilleri su aktivitesi bakımından istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.0001$). Neme benzer şekilde örneklerin su aktiviteleri de geniş bir aralıkta değişmektedir (0,51-0,60). Bu durum nem oranlarında gözlenen değişimin bir sonucu olup doğaldır. Pestillerin pH değerleri incelendiğinde, 4,24 – 7,39 gibi oldukça geniş bir aralıkta değiştiği ve bu değişimin istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.0001$). Bazı örneklerin asidik, bazı örneklerin hafif asidik bazı örneklerin ise

nötre yakın ve bazık olmasında pestil üretiminde kullanılan üzüm çeşidi ve üzüm şeker oranının etkisi olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.4. Üzüm pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları

Pestil Çeşidi	Nem %	a_w	pH
Üzüm 1	19,10±0,792 ^a	0,60±0,001 ^a	4,39±0,014 ^f
Üzüm 2	18,98±0,141 ^a	0,60±0,003 ^{ab}	4,39±0,000 ^f
Üzüm 3	15,30±0,156 ^c	0,53±0,003 ^{cd}	6,97±0,000 ^b
Üzüm 4	10,74±0,481 ^f	0,53±0,004 ^c	6,68±0,014 ^c
Üzüm 5	11,77±0,198 ^{de}	0,52±0,006 ^{de}	7,39±0,014 ^a
Üzüm 6	11,64±0,424 ^{de}	0,51±0,001 ^e	6,52±0,014 ^d
Üzüm 7	17,71±0,311 ^b	0,60±0,004 ^a	4,25±0,000 ^g
Üzüm 8	18,52±0,297 ^a	0,61±0,003 ^a	4,24±0,000 ^g
Üzüm 9	12,36±0,283 ^d	0,59±0,004 ^b	5,69±0,014 ^e
Üzüm 10	11,21±0,651 ^{ef}	0,51±0,006 ^c	5,67±0,014 ^e
p değeri	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Erik pestillerinin nem, su aktivitesi ve pH sonuçları Tablo 4.5'te verilmiştir. Pestiller nem içeriği, su aktivitesi ve pH bakımından istatistiksel olarak farklılıklar göstermektedir ($p<0.0001$). Erik pestillerinin nem içeriğinin diğer pestillerden yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Pestillerin nem içerikleri %18,78 – 28,03 arasında değişmiştir. 6 numaralı pestil en düşük, 8 numaralı pestil en yüksek nem içeriğine sahiptir. Erik pestillerinin su aktiviteleri 0,52 – 0,59, pH değerleri ise 3,33 – 3,96 arasında değişmiştir. Diğer pestil çeşitlerinden farklı olarak erik pestilleri oldukça asidiktir. Pestillerin asidik olması üretimde kullanılan eriklerin asidik olmasının bir sonucudur.

Tablo 4.5. Erik pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları

Pestil Çeşidi	Nem %	a_w	pH
Erik 1	23,81±1,442 ^{bcd}	0,58±0,003 ^a	3,46±0,014 ^c
Erik 2	25,84±0,410 ^{abc}	0,59±0,004 ^a	3,36±0,000 ^f
Erik 3	21,79±0,523 ^{de}	0,59±0,001 ^a	3,62±0,014 ^a
Erik 4	23,31±0,354 ^{cd}	0,58±0,001 ^a	3,33±0,000 ^g
Erik 5	19,40±0,693 ^e	0,52±0,004 ^c	3,96±0,007 ^a
Erik 6	18,78±1,867 ^e	0,52±0,004 ^c	3,72±0,014 ^b
Erik 7	26,88±0,368 ^{ab}	0,56±0,003 ^b	3,66±0,000 ^c
Erik 8	28,03±1,047 ^a	0,56±0,014 ^b	3,65±0,007 ^c
p değeri	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Tablo 4.6’da kayısı pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH sonuçları görülmektedir. Pestiller nem içeriği, su aktivitesi ve pH bakımından istatistiksel olarak farklıdır (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). Kayısı pestillerinin nem içerikleri %17,13 – 19,21 arasında değişmekte olup pestiller orta seviyede nem içermektedir. Pestillerin su aktivite değerleri 0,53 – 0,61 arasında, pH değerleri ise 4,31 – 4,58 arasında değişmektedir. Genel olarak, kayısı pestillerinin nem ve pH sonuçları dar bir aralıkta değişmektedir. Kayısı pestilleri diğer pestillere oranla orta seviyede nemli olup asidik özelliktedir.

Tablo 4.6. Kayısı pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları

Pestil Çeşidi	Nem %	a_w	pH
Kayısı 1	19,21±0,849 ^a	0,61±0,004 ^a	4,58±0,007 ^a
Kayısı 2	18,93±0,240 ^{ab}	0,60±0,003 ^a	4,31±0,014 ^c
Kayısı 3	16,35±0,863 ^c	0,59±0,006 ^b	4,38±0,007 ^b
Kayısı 4	16,48±0,127 ^a	0,58±0,006 ^b	4,40±0,014 ^b
Kayısı 5	17,32±0,156 ^{bc}	0,53±0,004 ^c	4,31±0,014 ^c
Kayısı 6	17,13±0,184 ^c	0,53±0,003 ^c	4,31±0,000 ^c
P değeri	<0.01	<0.0001	<0.0001

İncir pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH sonuçları Tablo 4.7’de gösterilmiştir. Pestiller nem ve pH bakımından istatistiksel açıdan farklılık göstermezken ($p < 0.05$) su aktivitesi bakımından istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0.001$). İncir pestilleri genel olarak yüksek nemli ve asidik karakterdedir.

Tablo 4.7. İncir pestillerine ait nem, su aktivitesi ve pH analiz sonuçları

Pestil Çeşidi	Nem %	a_w	Ph
İncir 1	23,25±0,382 ^a	0,58±0,001 ^a	4,75±0,007 ^a
İncir 2	23,36±0,283 ^a	0,59±0,001 ^b	4,75±0,000 ^a
p değeri	>0.05	<0.001	>0.05

Tablo 4.8’de pestil çeşitlerine ait ortalama nem sonuçları gösterilmiştir. En yüksek ortalama nem değerleri erik pestillerinde gözlenmiştir. İncir pestilleri de erik pestillerine benzer şekilde yüksek nem içeriğine sahiptir. Pestil çeşitleri yüksek nem içeriğinden düşük nem içeriğine doğru sıralandığında, erik ve incir pestillerini kayısı pestilleri takip etmektedir. Kayısı pestilleri % 16,35 – 19,21 nem içerikleri ile orta düzeyde nem içeriğine sahiptir. Sade ve çeşnili dut pestilleri ise erik incir ve kayısı pestillerine göre daha düşük nem içermektedir.

Tablo 4.8. Pestil çeşitlerine ait ortalama nem sonuçları

Pestil çeşidi	%Nem _{ort}
Dut	12,57 ± 0,60
Fındıklı Dut	12,91 ± 1,77
Cevizli Dut	12,26 ± 0,77
Üzüm	14,73 ± 3,54
Erik	23,48 ± 3,37
Kayısı	17,57 ± 1,22
İncir	23,30 ± 0,07

Pestil örneklerinin su aktivitesi değerlerine bakıldığında (Tablo 4.9) en yüksek su aktivitesi değerleri bazı üzüm ve kayısı pestillerinde saptanmıştır. Dut, cevizli dut ve fındıklı dut pestillerinin ise diğer pestil çeşitleri ile kıyaslandığında orta ve düşük seviyede su aktivitesine sahip olduğu gözlenmektedir. Okratoksin üretimi için su aktivitesi arttıkça yüksek olmalıdır. 0,96-0,98 su aktivitesi değerlerinde OTA üretimi maksimumken 0,83-0,87'de minimumdur [14].

Tablo 4.9. Pestil çeşitlerine ait ortalama a_w sonuçları

Pestil Çeşidi	a _w ort
Dut	0,53 ± 0,019
Fındıklı Dut	0,54 ± 0,014
Cevizli Dut	0,55 ± 0,017
Üzüm	0,56 ± 0,042
Erik	0,56 ± 0,028
Kayısı	0,57 ± 0,035
İncir	0,59 ± 0,000

Pestil örneklerinin pH değerlerine bakıldığında (Tablo 4.10) sade ve çeşnili dut örneklerinin pH içeriklerinin diğer çeşitlerden yüksek ve nötre yakın olduğu dikkat çekmektedir. Kayısı, üzüm ve incir pestillerinin pH seviyesi 6'nın altında

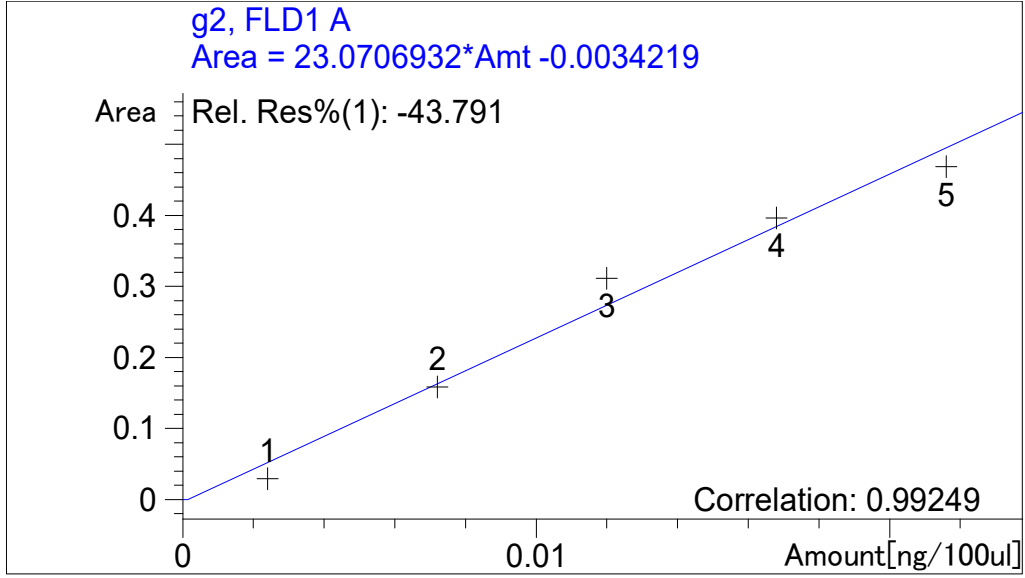
iken, erik pestillerinin pH değerleri 4'ün altında olup en asidik pestiller bu çeşide aittir. Bu durum meyvelerin asit içeriğinden ileri gelmektedir. Tablo 4.10'da pestil çeşitlerinin ortalama pH değerleri verilmiştir. Okratoksin A'nın üreticisi olan *A. Verrucosum*'un çoğaldığı pH değeri 2,10 -10,00 aralıdır. Optimum 6,00- 7,00 aralığında çoğalırlar [8]. Analizler neticesinde elde edilen ortalama pH değerleri 3,5948-6,516 aralığındadır, bu değerler optimuma yakındır. Özellikle sade dut, cevizli dut, fındıklı dut pestilleri *A. Verrucosum*'un çoğaldığı optimum değere çok yakındır.

Tablo 4.10. Pestil çeşitlerine ait ortalama pH sonuçları

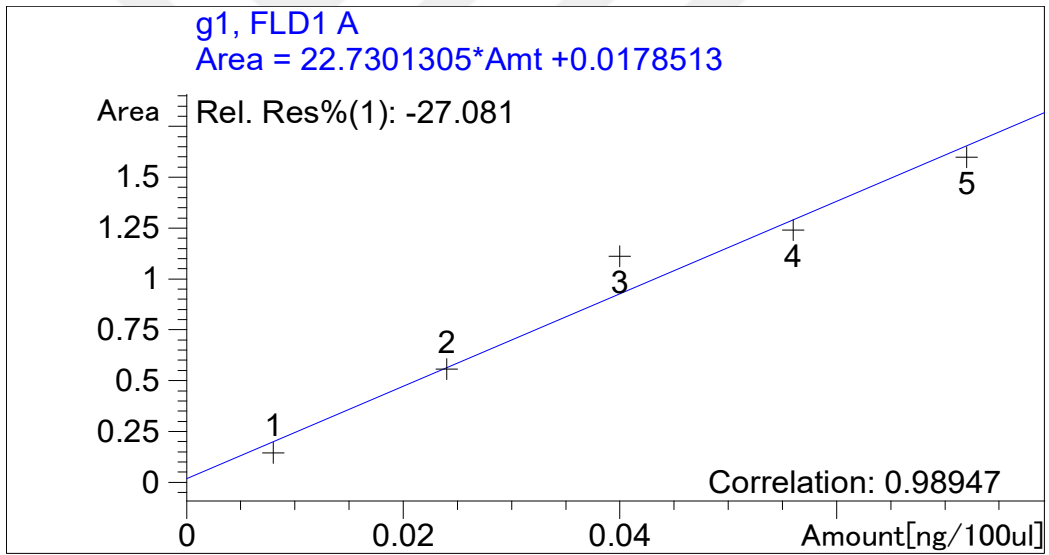
Pestil Çeşidi	pH _{ort}
Dut	6,51 ± 0,43
Fındıklı Dut	6,17 ± 0,35
Cevizli Dut	6,44 ± 0,21
Üzüm	5,61 ± 1,23
Erik	3,59 ± 0,20
Kayısı	4,38 ± 0,10
İncir	4,75 ± 0,00

5.2. Aflatoksin

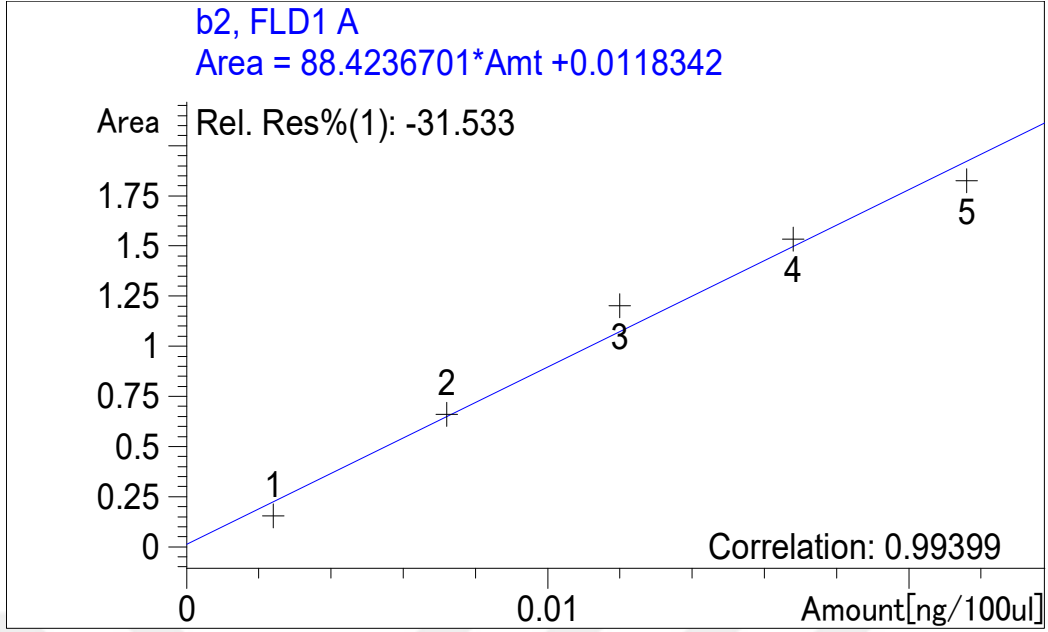
Aflatoksin analizlerinde Bölüm 3.2.4.2.1.6' da belirtildiği gibi toplam aflatoksin içeren standartlar kullanılarak hazırlanan standartlar ile 5 noktalı kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Her standart üçer kez cihaza verilmiş ve taradığı alan-konsantrasyon değerlerine göre grafikler çizilmiştir. Aflatoksinlere ait kalibrasyon eğrileri Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4 'de gösterilmektedir.



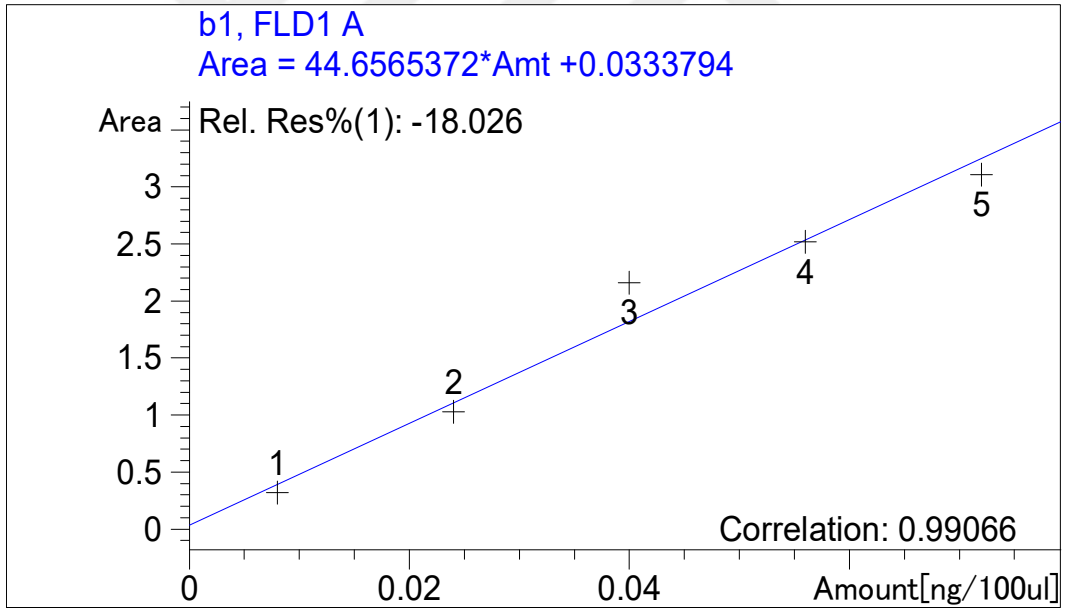
Şekil 4.1. Aflatoxin G₂'ye ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2. Aflatoxin G₁'e ait kalibrasyon eğrisi

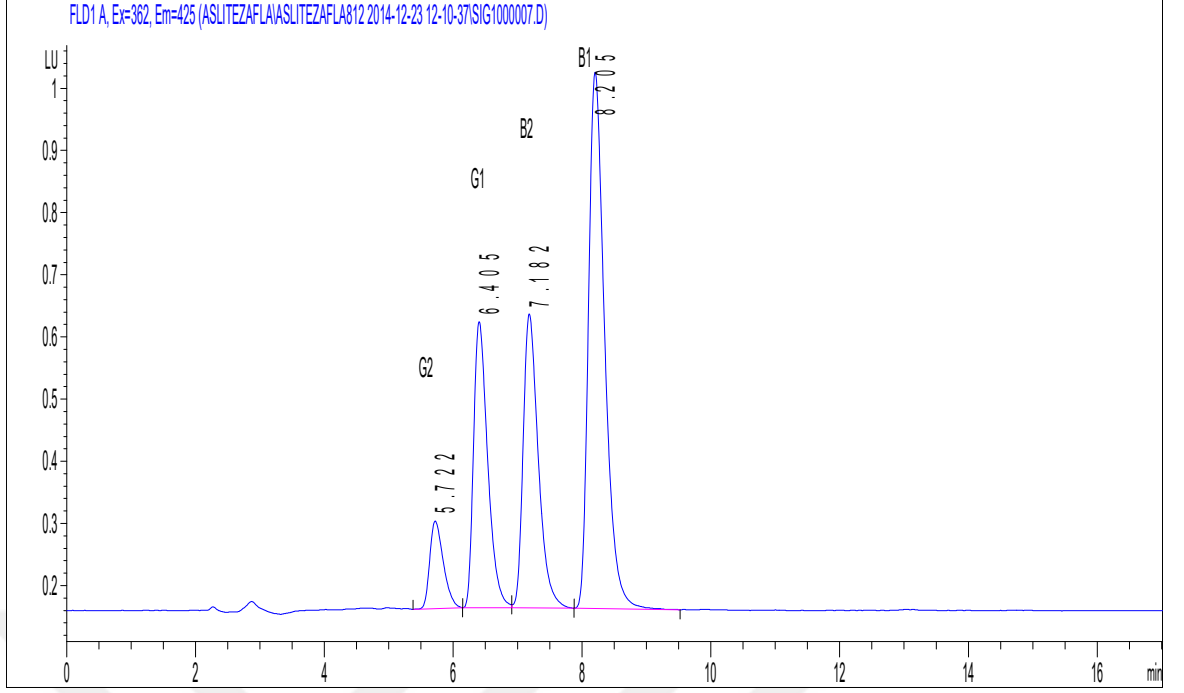


Şekil 4.3. Aflatoxin B₂'ye ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4. Aflatoxin B₁'e ait kalibrasyon eğrisi

Aflatoxin G₂, G₁, B₂, B₁ için alıkonma süreleri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Kolonu ilk olarak G₂, son olarak B₁ terk etmektedir.



Şekil 4.5. 0,56 (B₁,G₁)- 0,168 (B₂,G₂) ppb'lik standarda ait kromatogram

Tablo 4.11. Pestil çeşitlerinde tespit edilen minimum ve maksimum aflatoksin miktarları

Pestil çeşidi	Aflatoksin G ₂ ng/g		Aflatoksin G ₁ ng/g		Aflatoksin B ₂ ng/g		Aflatoksin B ₁ ng/g	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
Sade Dut (14 örnek)	-	-	-	0,50	-	-	-	0,21
Fındıklı Dut (8 örnek)	-	-	-	-	-	0,26	-	0,50
Cevizli Dut (12 örnek)	-	1,05	-	-	-	-	1,11	1,51
Üzüm (10 örnek)	-	-	-	-	0,20	1,06	0,48	2,29
Erik (8 örnek)	-	-	-	-	0,87	1,88	-	4,96
Kayısı (6 örnek)	-	-	-	2,75	0,20	1,33	0,74	2,88
İncir (2 Örnek)	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.12. Sade dut pestillerine ait aflatoksin sonuçları

Pestil Çeşidi	Aflatoksin G₂ ng/g	Aflatoksin G₁ ng/g	Aflatoksin B₂ ng/g	Aflatoksin B₁ ng/g
Sade Dut 1	-	-	-	-
Sade Dut 2	-	-	-	-
Sade Dut 3	-	0,50	-	-
Sade Dut 4	-	-	-	-
Sade Dut 5	-	-	-	-
Sade Dut 6	-	-	-	-
Sade Dut 7	-	-	-	-
Sade Dut 8	-	-	-	-
Sade Dut 9	-	-	-	0,21
Sade Dut 10	-	-	-	-
Sade Dut 11	-	-	-	-
Sade Dut 12	-	-	-	-
Sade Dut 13	-	-	-	-
Sade Dut 14	-	-	-	-

Tablo 4.13. Fındıklı dut pestillerine ait aflatoksin sonuçları

Pestil Çeşidi	Aflatoksin G₂ ng/g	Aflatoksin G₁ ng/g	Aflatoksin B₂ ng/g	Aflatoksin B₁ ng/g
Fındıklı Dut 1	-	-	-	-
Fındıklı Dut 2	-	-	-	-
Fındıklı Dut 3	-	-	0,26	0,50
Fındıklı Dut 4	-	-	-	-
Fındıklı Dut 5	-	-	-	-
Fındıklı Dut 6	-	-	-	-
Fındıklı Dut 7	-	-	-	-
Fındıklı Dut 8	-	-	-	-

Tablo 4.14. Cevizli dut pestillerine ait aflatoksin sonuçları

Pestil Çeşidi	Aflatoksin G₂ ng/g	Aflatoksin G₁ ng/g	Aflatoksin B₂ ng/g	Aflatoksin B₁ ng/g
Cevizli Dut 1	-	-	-	-
Cevizli Dut 2	-	-	-	-
Cevizli Dut 3	-	-	-	1,11
Cevizli Dut 4	-	-	-	-
Cevizli Dut 5	-	-	-	-
Cevizli Dut 6	-	-	-	-
Cevizli Dut 7	-	-	-	-
Cevizli Dut 8	-	-	-	-
Cevizli Dut 9	-	-	-	-
Cevizli Dut 10	-	-	-	-
Cevizli Dut 11	-	-	-	1,51
Cevizli Dut 12	1,05	-	-	-

Tablo 4.15. Üzüm pestillerine ait aflatoksin sonuçları

Pestil Çeşidi	Aflatoksin G₂ ng/g	Aflatoksin G₁ ng/g	Aflatoksin B₂ ng-/g	Aflatoksin B₁ ng/g
Üzüm 1	-	-	-	-
Üzüm 2	-	-	-	-
Üzüm 3	-	-	-	2,29
Üzüm 4	-	-	-	-
Üzüm 5	-	-	-	-
Üzüm 6	-	-	0,20	-
Üzüm 7	-	-	-	-
Üzüm 8	-	-	1,06	0,48
Üzüm 9	-	-	0,69	0,50
Üzüm10	-	-	-	-

Tablo 4.16. Erik pestillerine ait aflatoksin sonuçları

Pestil Çeşidi	Aflatoksin G₂ ng/g	Aflatoksin G₁ ng/g	Aflatoksin B₂ ng/g	Aflatoksin B₁ ng/g
Erik 1	-	-	-	-
Erik 2	-	-	-	-
Erik 3	-	-	-	-
Erik 4	-	-	-	-
Erik 5	-	-	0,87	4,96
Erik 6	-	-	1,88	-
Erik 7	-	-	-	-
Erik 8	-	-	-	-

Tablo 4.17. Kayısı pestillerine ait aflatoksin sonuçları

Pestil Çeşidi	Aflatoksin G₂ ng/g	Aflatoksin G₁ ng/g	Aflatoksin B₂ ng/g	Aflatoksin B₁ ng/g
Kayısı 1	-	-	-	2,88
Kayısı 2	-	-	-	0,74
Kayısı 3	-	-	-	-
Kayısı 4	-	-	-	-
Kayısı 5	-	-	1,33	2,05
Kayısı 6	-	2,75	0,20	-

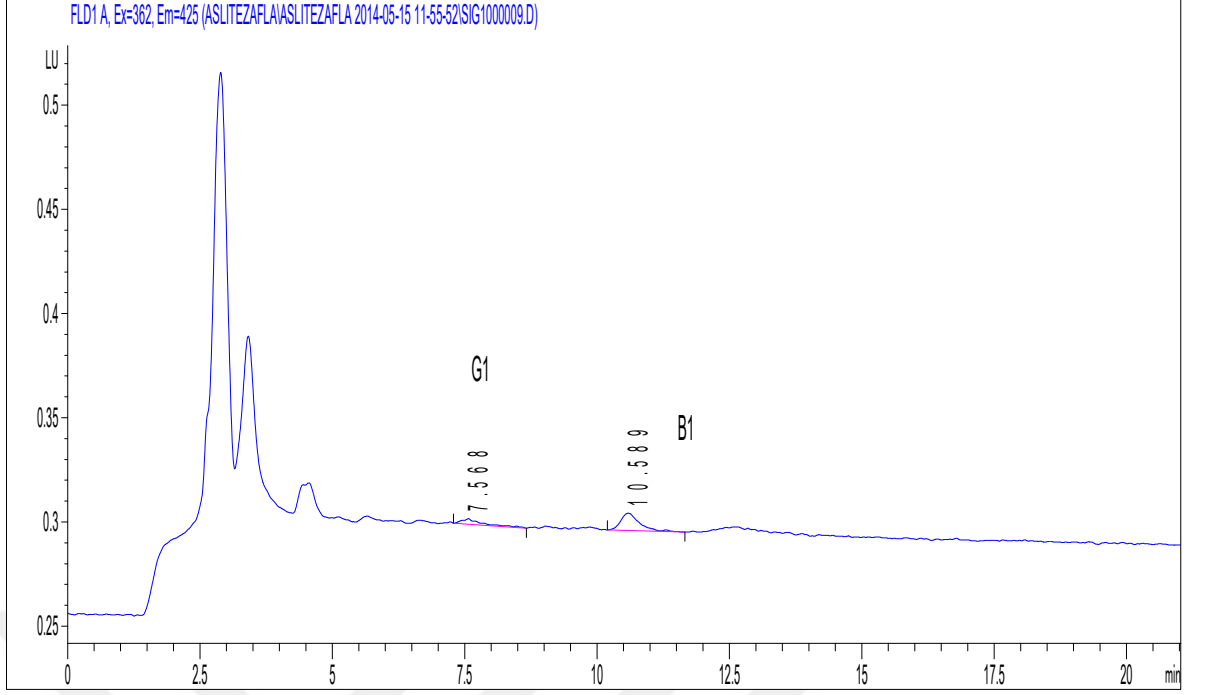
Tablo 4.18. İncir pestillerine ait aflatoksin sonuçları

Pestil Çeşidi	Aflatoksin G₂ ng/g	Aflatoksin G₁ ng/g	Aflatoksin B₂ ng/g	Aflatoksin B₁ ng/g
İncir 1	-	-	-	-
İncir 2	-	-	-	-

Çalışmada 60 pestil örneği için aflatoksin analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler neticesinde sade dut pestillerinin birinde aflatoksin G₁ birinde aflatoksin B₁, fındıklı dut pestillerinin birinde aflatoksin B₂ birinde aflatoksin B₁, cevizli dut pestillerinin birinde aflatoksin G₂ ikisinde aflatoksin B₁, üzüm pestillerinin üçünde aflatoksin B₂ üçünde aflatoksin B₁, erik pestillerinin ikisinde aflatoksin B₂ birinde aflatoksin B₁, kayısı pestillerinin birinde aflatoksin G₁ ikisinde aflatoksin B₂ üçünde aflatoksin B₁ tespit edilmiştir. İncir pestillerinde aflatoksin tespit edilememiştir.

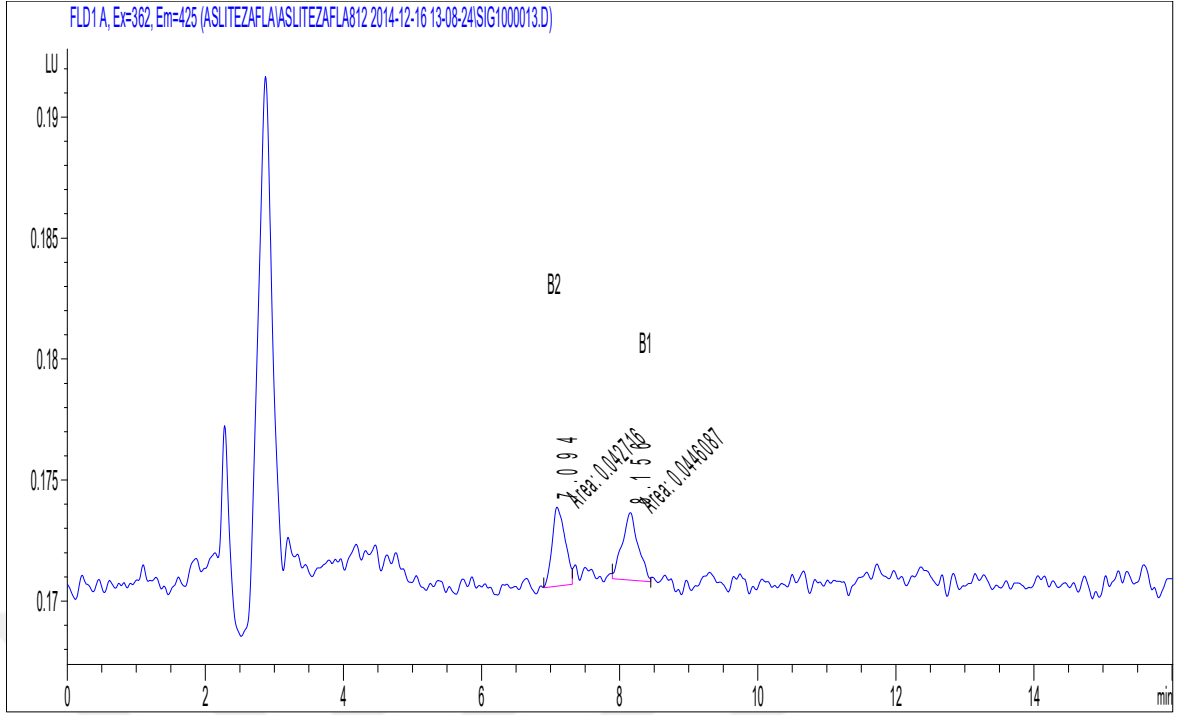
Tablo 4.19 Pestil çeşitlerine tespit edilen aflatoksinlerin % olarak değerlendirilmesi

Pestil çeşidi	Aflatoksin G₂ %	Aflatoksin G₁ %	Aflatoksin B₂ %	Aflatoksin B₁ %
Sade Dut (14 örnek)	0	7	0	7
Fındıklı Dut (8 örnek)	0	0	12	12
Cevizli Dut (12 örnek)	8	0	0	16
Üzüm (10 örnek)	0	0	30	30
Erik (8 örnek)	0	0	25	12
Kayısı (6 örnek)	0	16	33	50
İncir (2 Örnek)	0	0	0	0

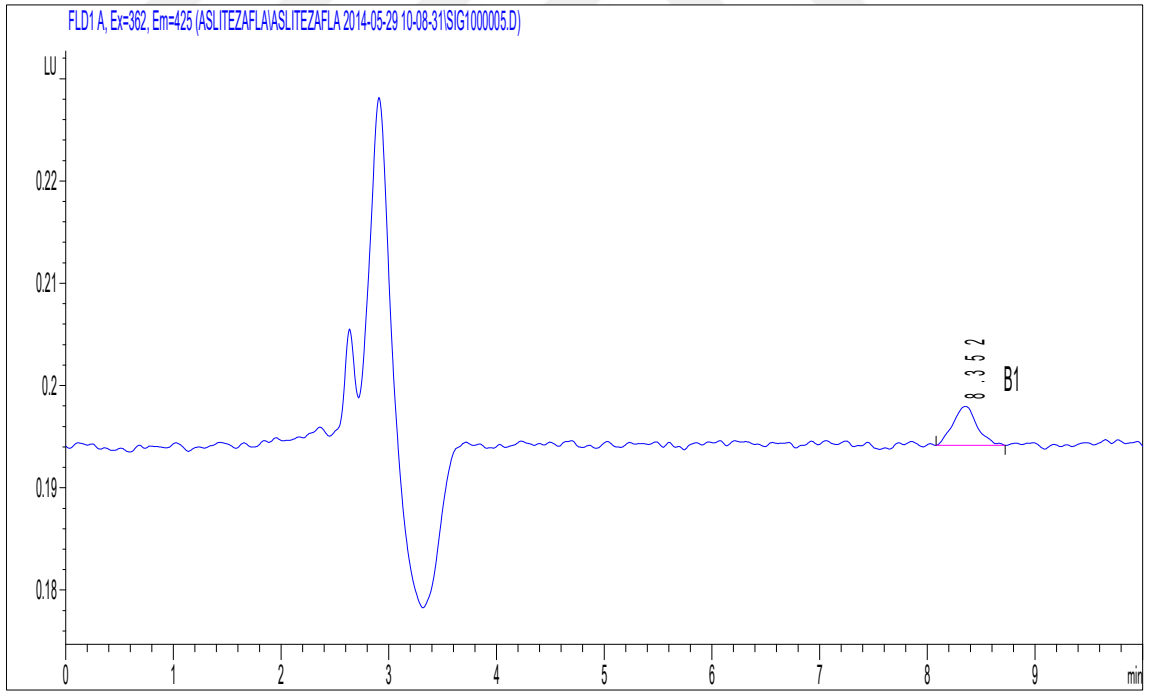


Şekil 4.6. Dut pestiline ait aflatoksin kromatogramı

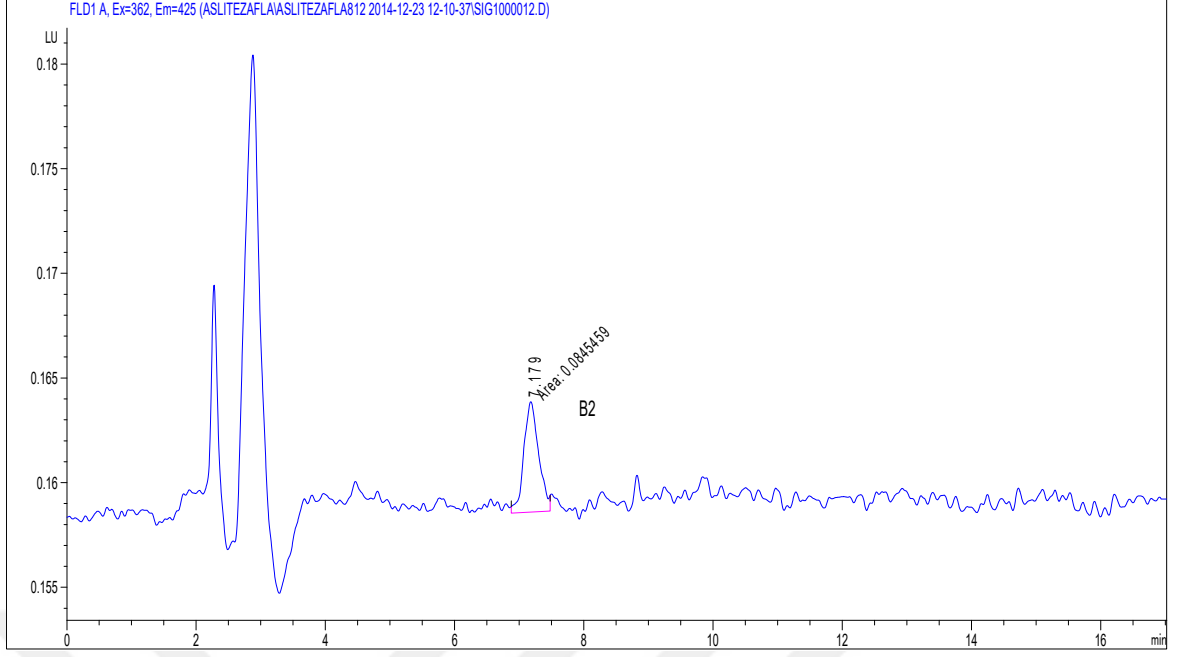
Şekil 4.6'da aflatoksin G₁ ve B₁ tespit edilmiş bir dut pestiline ait kromatograma yer verilmiştir. Şekil 4.7'de aflatoksin B₂ ve B₁ tespit edilmiş bir kayısı pestiline ait kromatograma yer verilmiştir. Şekil 4.8'de aflatoksin B₁ tespit edilmiş bir üzüm pestiline ait kromatograma yer verilmiştir. Şekil 4.9'da aflatoksin B₂ tespit edilmiş bir erik pestiline ait kromatograma yer verilmiştir. Şekil 4.10'da ise aflatoksin tespit edilememiş incir pestiline ait kromatograma yer verilmiştir.



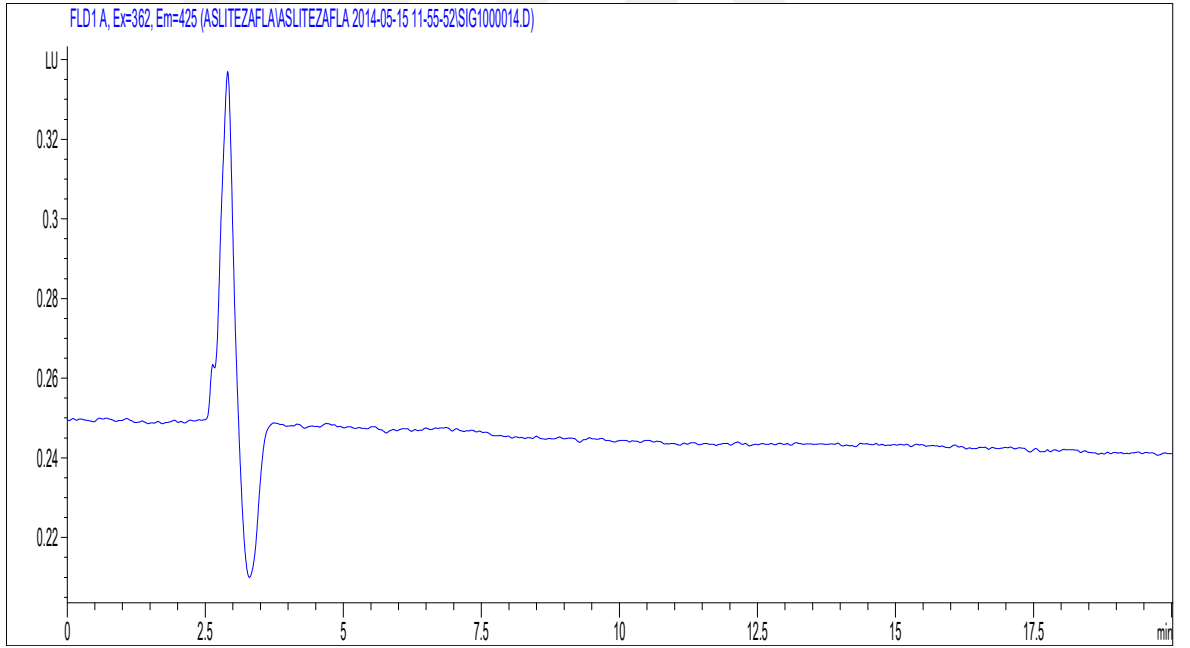
Şekil 4.7. Kayısı pestiline ait aflatoksin kromatogramı



Şekil 4.8. Üzüm pestiline ait aflatoksin kromatogramı



Şekil 4.9. Erik pestiline ait aflatoksin kromatogramı



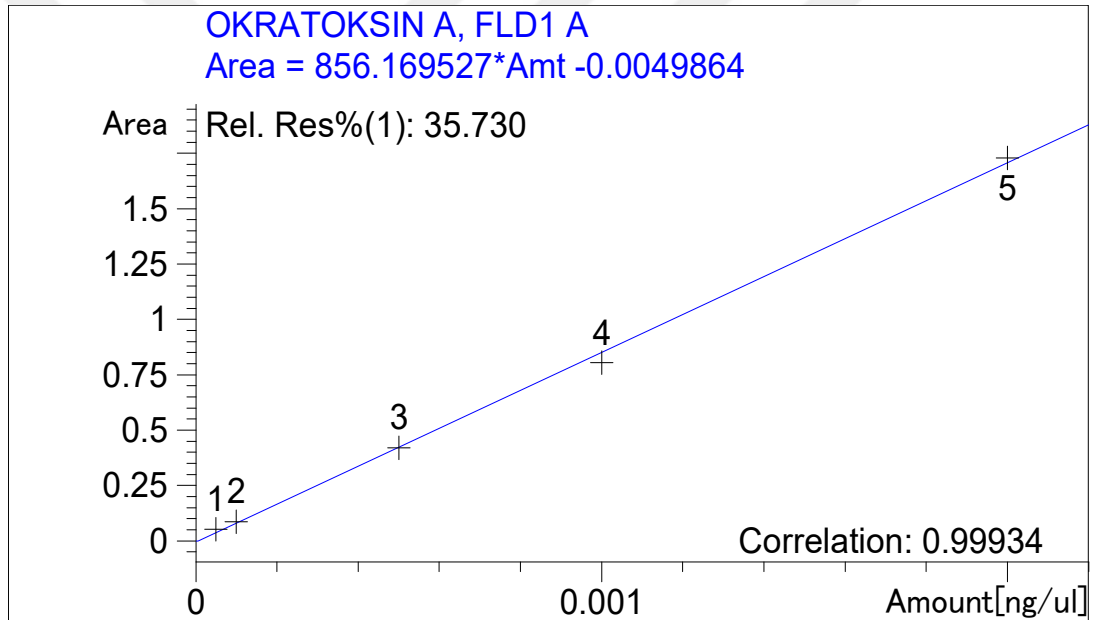
Şekil 4.10. Aflatoksin tespit edilemeyen pestil örneğine ait kromatogram

4.3. Okratoksin A

Bölüm 3.2.4.2.2.6.'da belirtildiği gibi okratoksin A içeren standartlar kullanılarak hazırlanan standartlar ile 5 noktalı kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Her standart

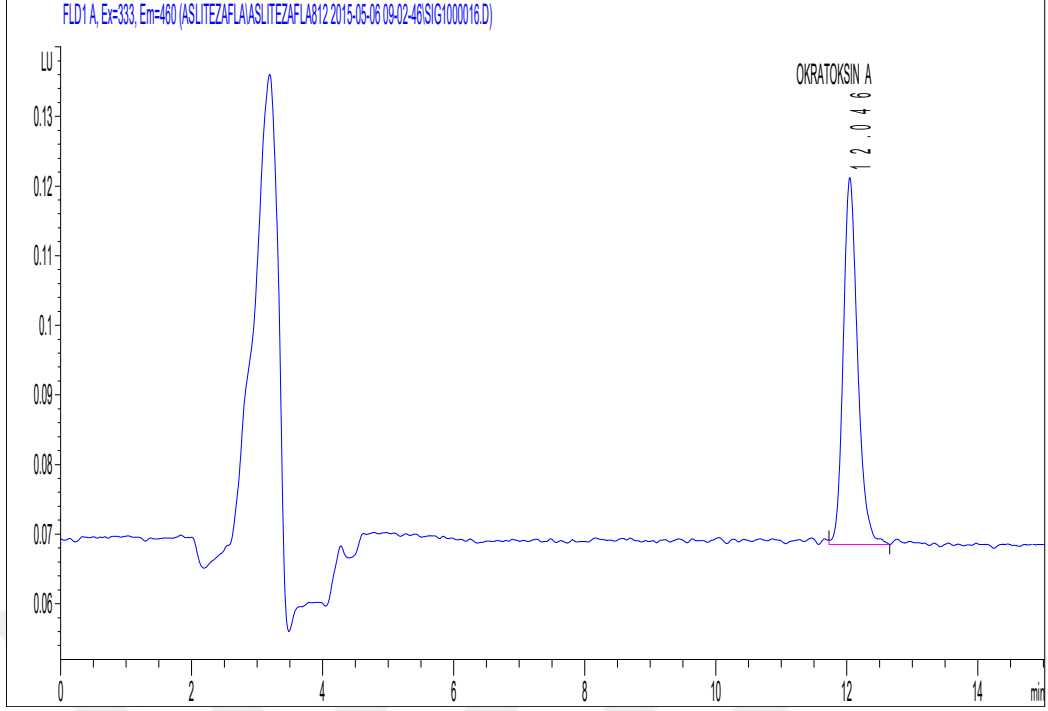
üçer kez okutulmuş ve toksin analizle taradığı alan-konsantrasyon değerlerine göre grafik çizilmiştir. Okratoksin A'ya ait kalibrasyon eğrisi Şekil 4.11'de verilmiştir.

Çalışmada 60 pestil örneği (14 sade dut, 8 fındıklı dut, 12 cevizli dut, 10 üzüm, 8 erik, 6 kayısı, 2 incir) için okratoksin A analizi gerçekleştirilmiştir. Pestil çeşitlerinin 59'unda okratoksin A tespit edilmiştir. Bir adet sade dut pestilinde okratoksin A tespit edilememiştir. Tablo 4.20'de görüldüğü üzere en yüksek miktarda OTA erik örneğinde saptanmıştır. Erik pestillerinin en yüksek nem değerine sahip olduğu göz önünde bulundurulduğunda en yüksek okratoksin A seviyesinin bu pestil çeşidinde belirlenmesi olağan görünmektedir.



Şekil 4.11. Okratoksin A'ya ait kalibrasyon eğrisi

Okratoksin A'nın kolonu terk etme süresi (12 dk) Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. 0,50 ppb'lik standarda ait kromatogram

Tablo 4.20. Pestil çeşitlerinde tespit edilen minimum ve maksimum okratoksin A miktarları

Pestil çeşidi	Okratoksin A ng/g	
	Minimum	Maksimum
Sade Dut (14 örnek)	0,12	0,66
Fındıklı Dut (8 örnek)	0,14	0,53
Cevizli Dut (12 örnek)	0,13	0,40
Üzüm (10 örnek)	0,12	0,42
Erik (8 örnek)	0,13	0,84
Kayısı (6 örnek)	0,26	0,39
İncir (2 Örnek)	0,28	0,38

Tablo 4.21. Sade dut pestillerine ait okratoksin A sonuçları

Pestil Çeşidi	Okratoksin A ng/g
Sade Dut 1	0,33
Sade Dut 2	0,39
Sade Dut 3	0,26
Sade Dut 4	0,66
Sade Dut 5	0,19
Sade Dut 6	0,20
Sade Dut 7	0,13
Sade Dut 8	-
Sade Dut 9	0,23
Sade Dut 10	0,20
Sade Dut 11	0,18
Sade Dut 12	0,35
Sade Dut 13	0,12
Sade Dut 14	0,22

Tablo 4.22. Fındıklı dut pestillerine ait okratoksin A sonuçları

Pestil Çeşidi	Okratoksin A ng/g
Fındıklı Dut 1	0,33
Fındıklı Dut 2	0,26
Fındıklı Dut 3	0,14
Fındıklı Dut 4	0,22
Fındıklı Dut 5	0,50
Fındıklı Dut 6	0,53
Fındıklı Dut 7	0,28
Fındıklı Dut 8	0,35

Tablo 4.23. Cevizli dut pestillerine ait okratoksin A sonuçları

Pestil Çeşidi	Okratoksin A ng/g
Cevizli Dut 1	0,23
Cevizli Dut 2	0,30
Cevizli Dut 3	0,40
Cevizli Dut 4	0,32
Cevizli Dut 5	0,29
Cevizli Dut 6	0,30
Cevizli Dut 7	0,16
Cevizli Dut 8	0,13
Cevizli Dut 9	0,21
Cevizli Dut 10	0,13
Cevizli Dut 11	0,21
Cevizli Dut 12	0,24

Tablo 4.24. Üzüm pestillerine ait okratoksin A sonuçları

Pestil Çeşidi	Okratoksin A ng/g
Üzüm 1	0,14
Üzüm 2	0,14
Üzüm 3	0,23
Üzüm 4	0,13
Üzüm 5	0,22
Üzüm 6	0,12
Üzüm 7	0,28
Üzüm 8	0,28
Üzüm 9	0,41
Üzüm10	0,42

Tablo 4.25. Erik pestillerine ait okratoksin A sonuçları

Pestil Çeşidi	Okratoksin A ng/g
Erik 1	0,34
Erik 2	0,14
Erik 3	0,13
Erik 4	0,12
Erik 5	0,80
Erik 6	0,84
Erik 7	0,42
Erik 8	0,32

Tablo 4.26. Kayısı pestillerine ait okratoksin A sonuçları

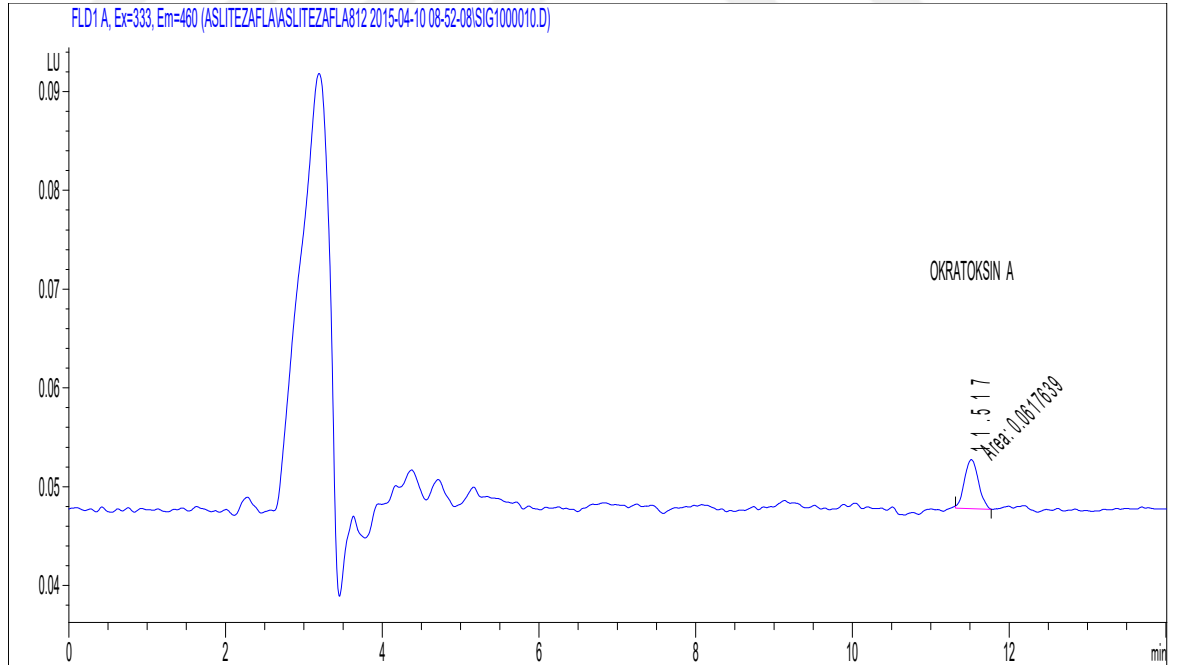
Pestil Çeşidi	Okratoksin A ng/g
Kayısı 1	0,36
Kayısı 2	0,32
Kayısı 3	0,39
Kayısı 4	0,26
Kayısı 5	0,30
Kayısı 6	0,28

Tablo 4.27. İncir pestillerine ait okratoksin A sonuçları

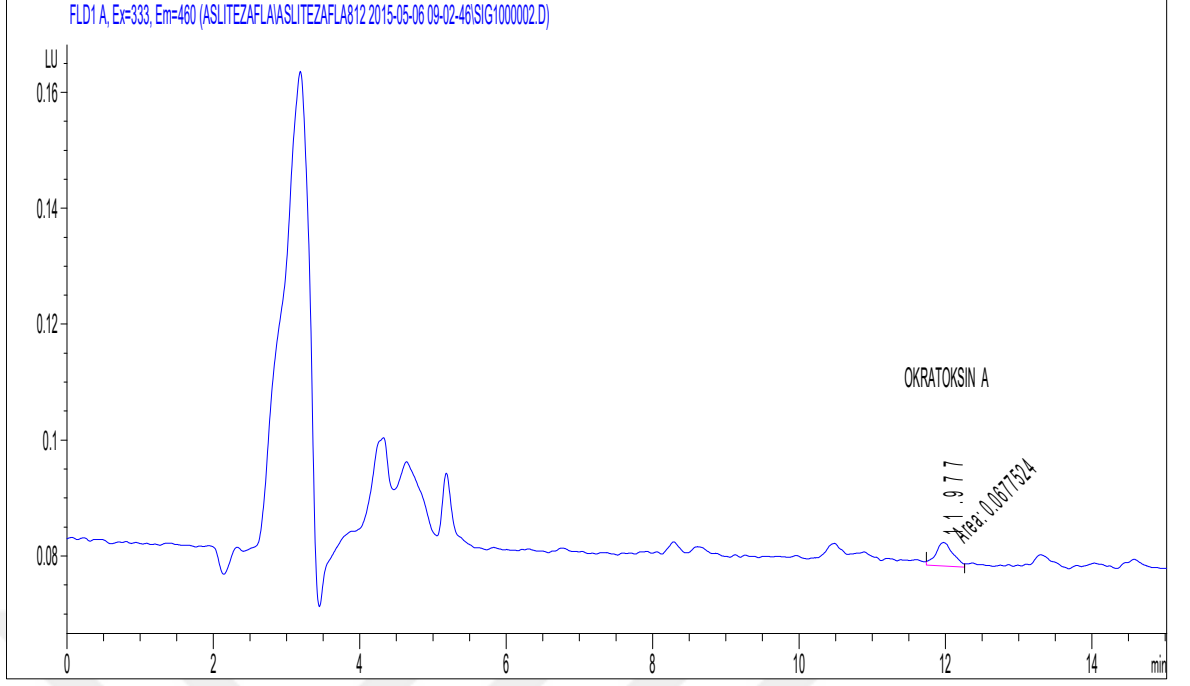
Pestil Çeşidi	Okratoksin A ng/g
İncir 1	0,28
İncir 2	0,38

Tablo 4.28 Pestil çeşitlerinde tespit edilen okratoksin A'nın % olarak değerlendirilmesi

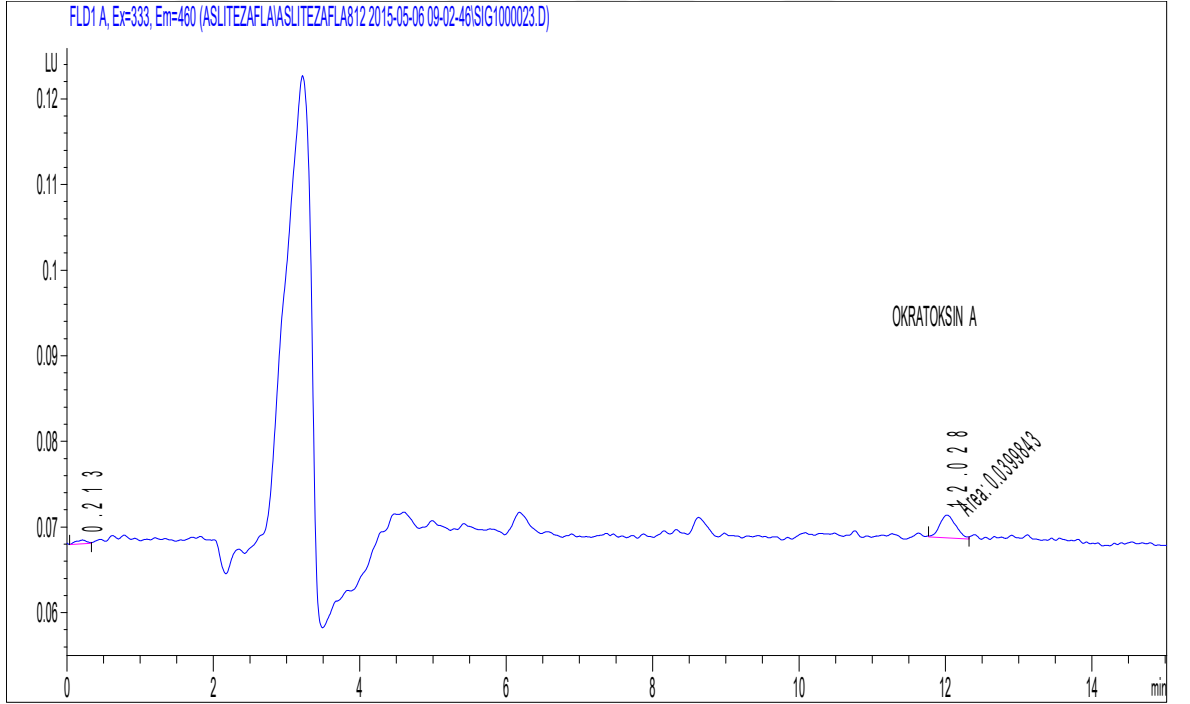
Pestil çeşidi	Okratoksin A %
Sade Dut (14 örnek)	92
Fındıklı Dut (8 örnek)	100
Cevizli Dut (12 örnek)	100
Üzüm (10 örnek)	100
Erik (8 örnek)	100
Kayısı (6 örnek)	100
İncir (2 örnek)	100



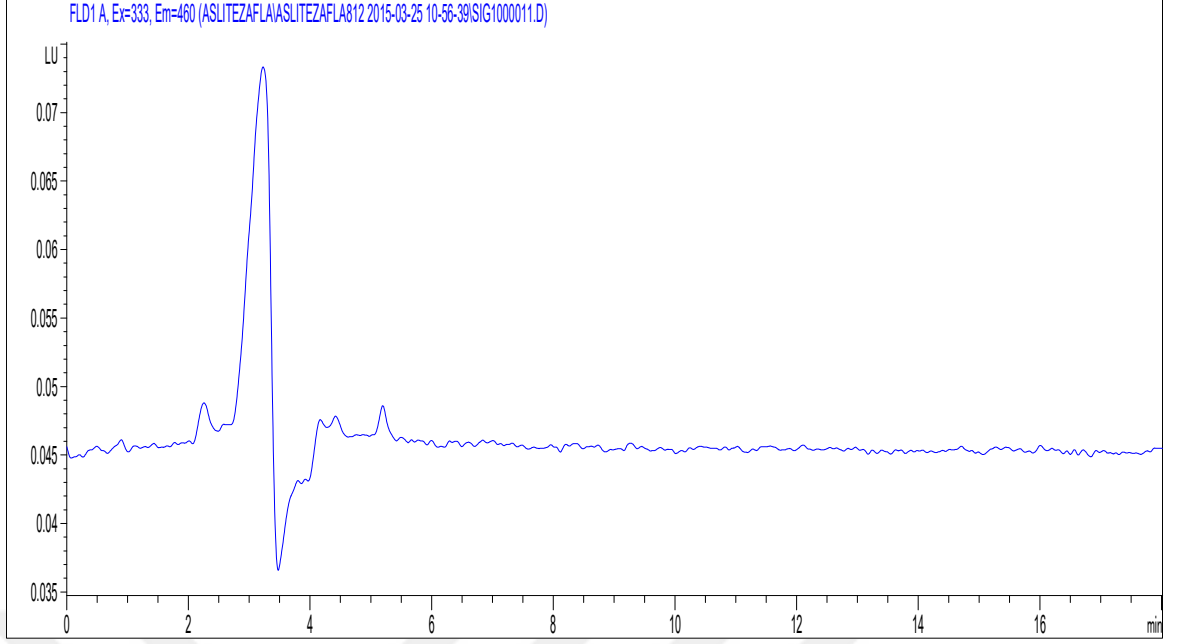
Şekil 4.13. Dut pestiline ait okratoksin A kromatogramı



Şekil 4.14. İncir pestiline ait okratoksin A kromatogramı



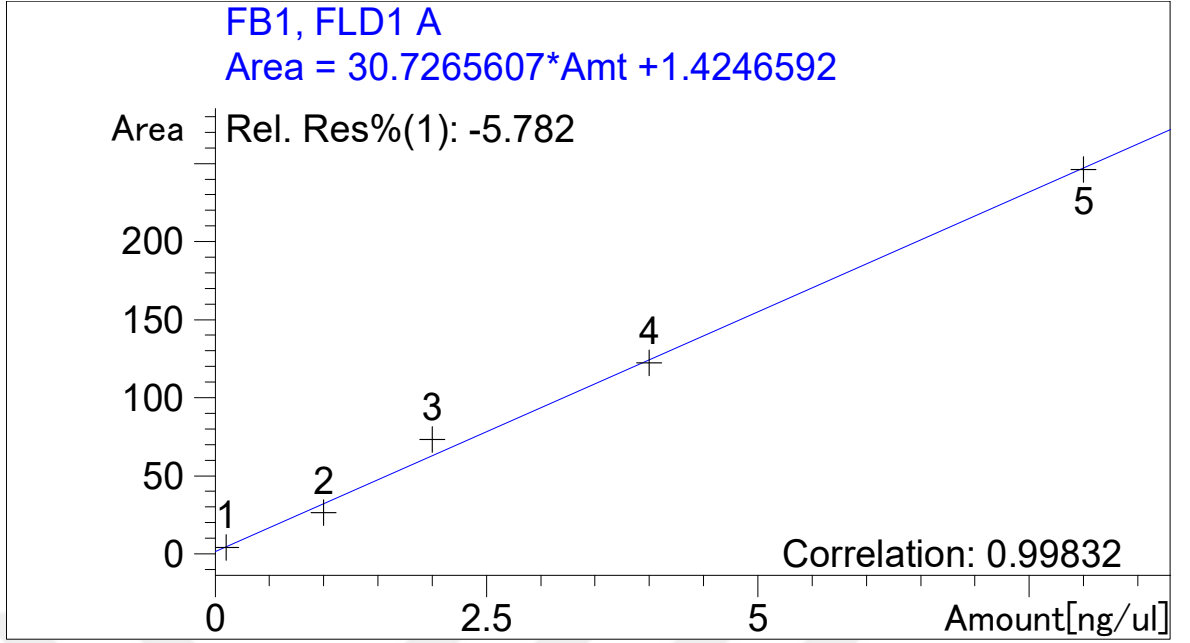
Şekil 4.15. Fındıklı dut pestiline ait fındıklı dut pestiline ait okratoksin A kromatogramı



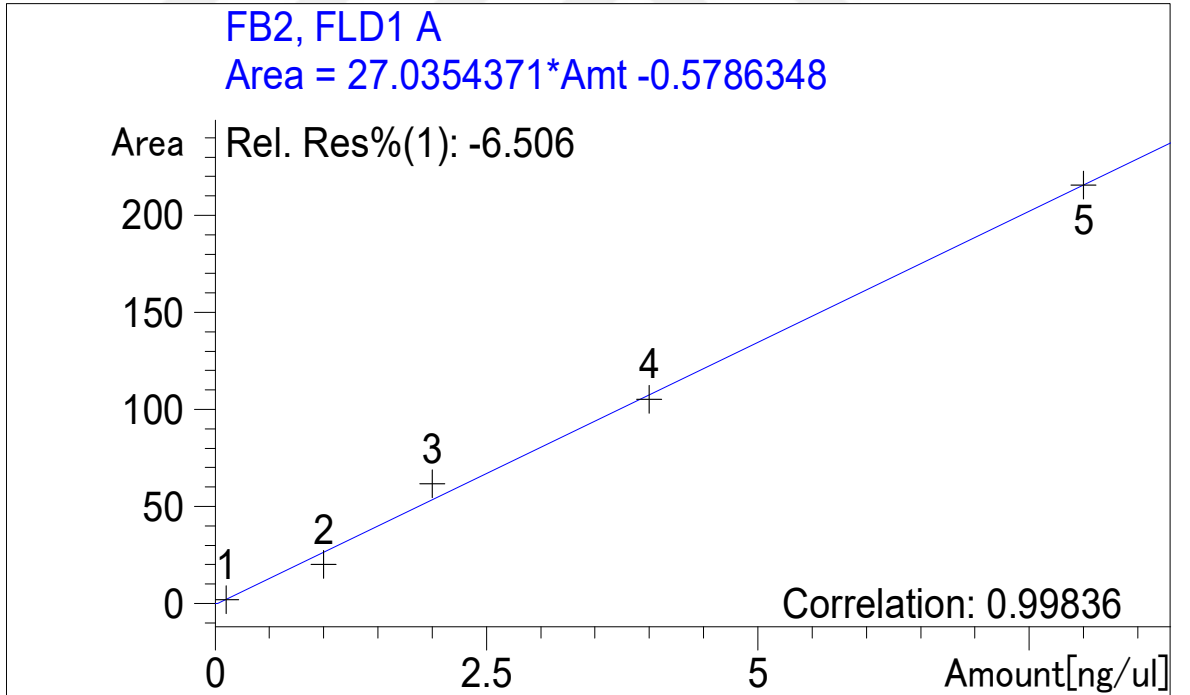
Şekil 4.16. Okratoksin A tespit edilemeyen pestil örneğine ait kromatogram

4.4. Fumonisin B₁ ve B₂

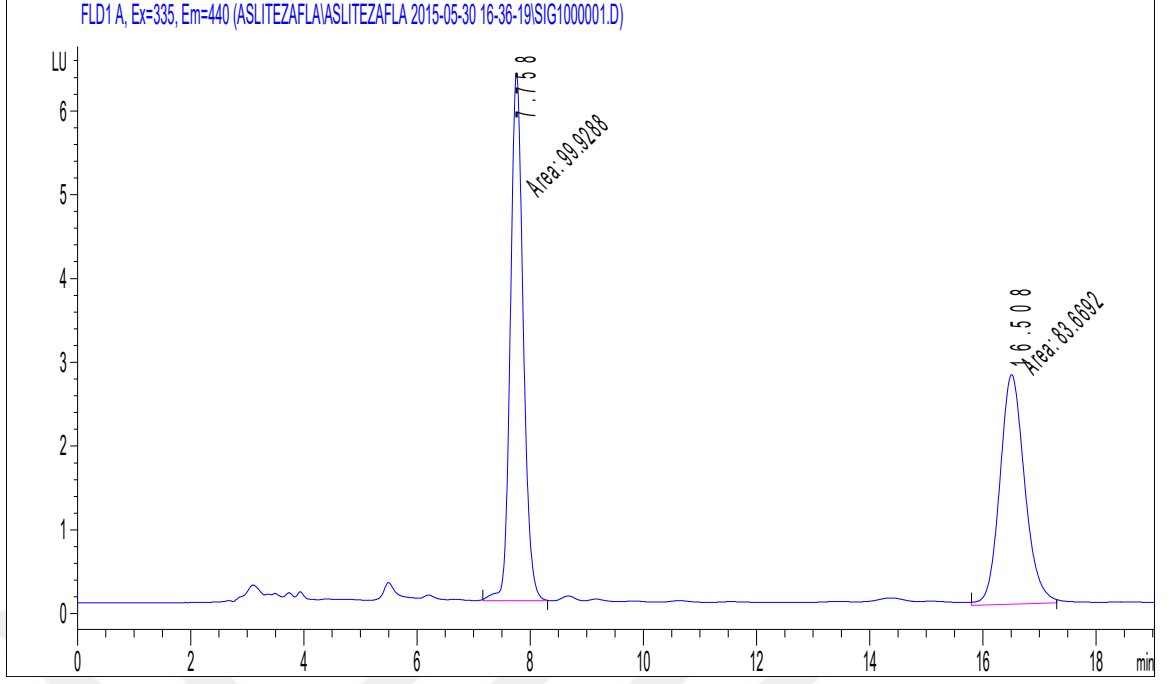
Fumonisin analizlerinde Bölüm 3.2.4.2.3.7',de belirtildiği gibi fumonisin B₁ ve B₂ içeren standartlar kullanılarak hazırlanan standartlar ile 5 noktalı kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Her standart üçer kez okutulmuş ve taradığı alan-konsantrasyon değerlerine göre grafikler çizilmiştir. Fumonisinlere ait kalibrasyon grafikleri Şekil 4.17'de gösterilmektedir. Fumonisin B₁ ve B₂'nin çıkış süreleri Şekil 4.19'da gösterilmektedir. Kolonu ilk FB1 terk etmektedir.



Şekil 4.17. Fumonisin B₁'e ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.18. Fumonisin B₂'ye ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.19. 10000 (FB₁)- 2000 (FB₂) ppb'lik standarda ait kromatogram

Tablo 4.29. Pestil çeşitlerinde tespit edilen fumonisin miktarları

Pestil çeşidi	FB ₁ ng/g		FB ₂ ng/g	
	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum
Sade Dut (14 örnek)	201,29	368,49	260,29	263,27
Fındıklı Dut (8 örnek)	200,46	332,98	203,27	272,93
Cevizli Dut (12 örnek)	202,46	223,74	-	-
Üzüm (10 örnek)	205,45	392,33	259,27	267,54
Erik (8 örnek)	202,02	248,09	-	-
Kayısı (6 örnek)	203,26	447,83	-	274,51
İncir (2 Örnek)	201,05	223,05	-	271,74

Tablo 4.30. Sade dut pestillerine ait fumonisin sonuçları

Pestil Çeşidi	FB₁ ng/g	FB₂ ng/g
Sade Dut 1	215,67	-
Sade Dut 2	218,62	-
Sade Dut 3	209,315	-
Sade Dut 4	208,91	-
Sade Dut 5	201,29	-
Sade Dut 6	215,03	-
Sade Dut 7	202,63	-
Sade Dut 8	368,49	-
Sade Dut 9	202,68	-
Sade Dut 10	209,39	-
Sade Dut 11	266,00	260,29
Sade Dut 12	203,74	263,27
Sade Dut 13	214,78	-
Sade Dut 14	205,86	-

Tablo 4.31. Fındıklı dut pestillerine ait fumonisin sonuçları

Pestil Çeşidi	FB₁ ng/g	FB₂ ng/g
Fındıklı Dut 1	208,09	203,27
Fındıklı Dut 2	222,99	-
Fındıklı Dut 3	214,35	267,03
Fındıklı Dut 4	332,98	272,93
Fındıklı Dut 5	201,18	-
Fındıklı Dut 6	200,46	-
Fındıklı Dut 7	201,04	-
Fındıklı Dut 8	203,27	-

Tablo 4.32. Cevizli dut pestillerine ait fumonisin sonuçları

Pestil Çeşidi	FB₁ ng/g	FB₂ ng/g
Cevizli Dut 1	223,74	-
Cevizli Dut 2	202,85	-
Cevizli Dut 3	221,72	-
Cevizli Dut 4	216,71	-
Cevizli Dut 5	203,53	-
Cevizli Dut 6	215,04	-
Cevizli Dut 7	211,57	-
Cevizli Dut 8	203,83	-
Cevizli Dut 9	214,78	-
Cevizli Dut 10	215,86	-
Cevizli Dut 11	202,46	-
Cevizli Dut 12	209,97	-

Tablo 4.33. Üzüm pestillerine ait fumonisin sonuçları

Pestil Çeşidi	FB₁ ng/g	FB₂ ng/g
Üzüm 1	258,15	259,27
Üzüm 2	209,44	-
Üzüm 3	210,78	-
Üzüm 4	220,51	-
Üzüm 5	220,33	-
Üzüm 6	217,79	262,05
Üzüm 7	392,33	-
Üzüm 8	216,24	-
Üzüm 9	205,54	-
Üzüm10	205,45	267,54

Tablo 4.34. Erik pestillerine ait fumonisin sonuçları

Pestil Çeşidi	FB₁ ng/g	FB₂ ng/g
Erik 1	203,40	-
Erik 2	215,01	-
Erik 3	204,48	-
Erik 4	202,02	-
Erik 5	248,09	-
Erik 6	219,20	-
Erik 7	202,02	-
Erik 8	202,22	-

Tablo 4.35. Kayısı pestillerine ait fumonisin sonuçları

Pestil Çeşidi	FB₁ ng/g	FB₂ ng/g
Kayısı 1	203,26	-
Kayısı 2	219,23	-
Kayısı 3	255,73	274,51
Kayısı 4	222,45	-
Kayısı 5	447,83	-
Kayısı 6	216,24	-

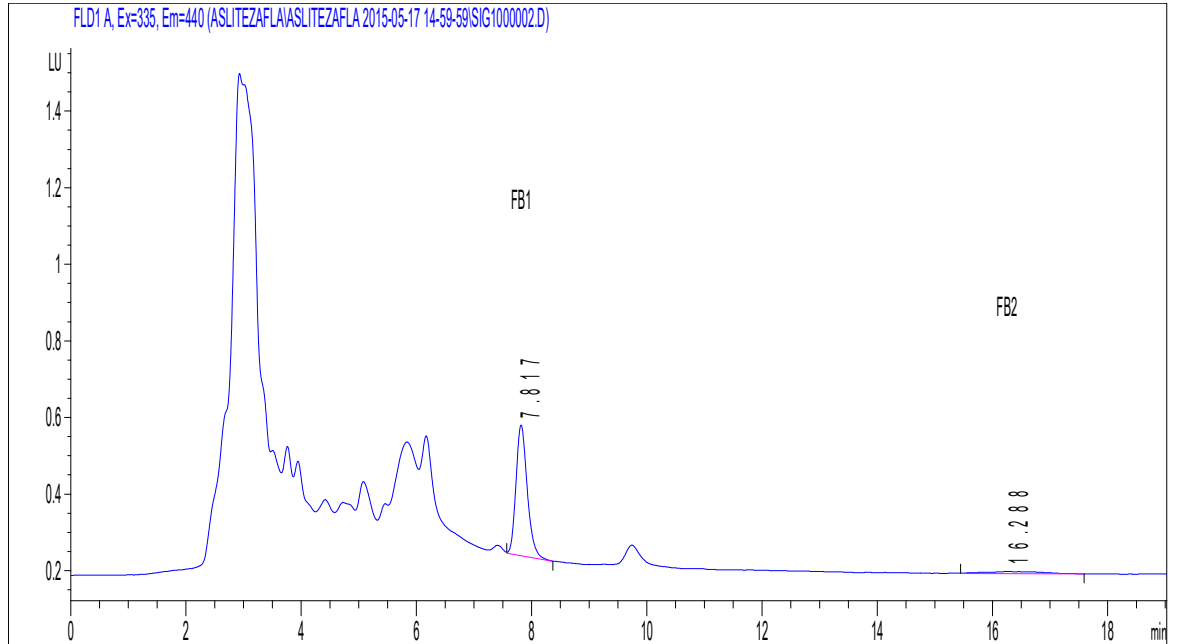
Tablo 4.36. İncir pestillerine ait fumonisin sonuçları

Pestil Çeşidi	FB₁ ng/g	FB₂ ng/g
İncir 1	223,05	271,74
İncir 2	201,05	-

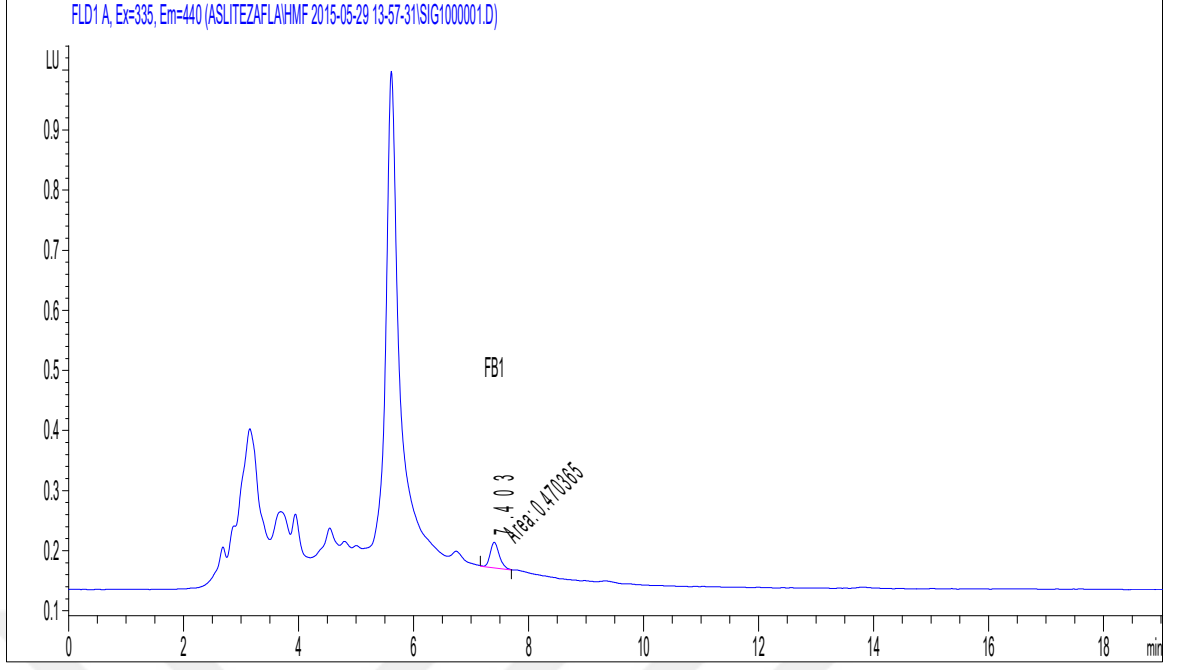
Tablo 4.37. Pestil çeşitlerinde tespit edilen fumonisin % olarak değerlendirilmesi

Pestil çeşidi	FB ₁ (%)	FB ₂ (%)
Sade Dut (14 örnek)	100	14
Fındıklı Dut (8 örnek)	100	37
Cevizli Dut (12 örnek)	100	0
Üzüm (10 örnek)	100	30
Erik (8 örnek)	100	0
Kayısı (6 örnek)	100	17
İncir (2 Örnek)	100	50

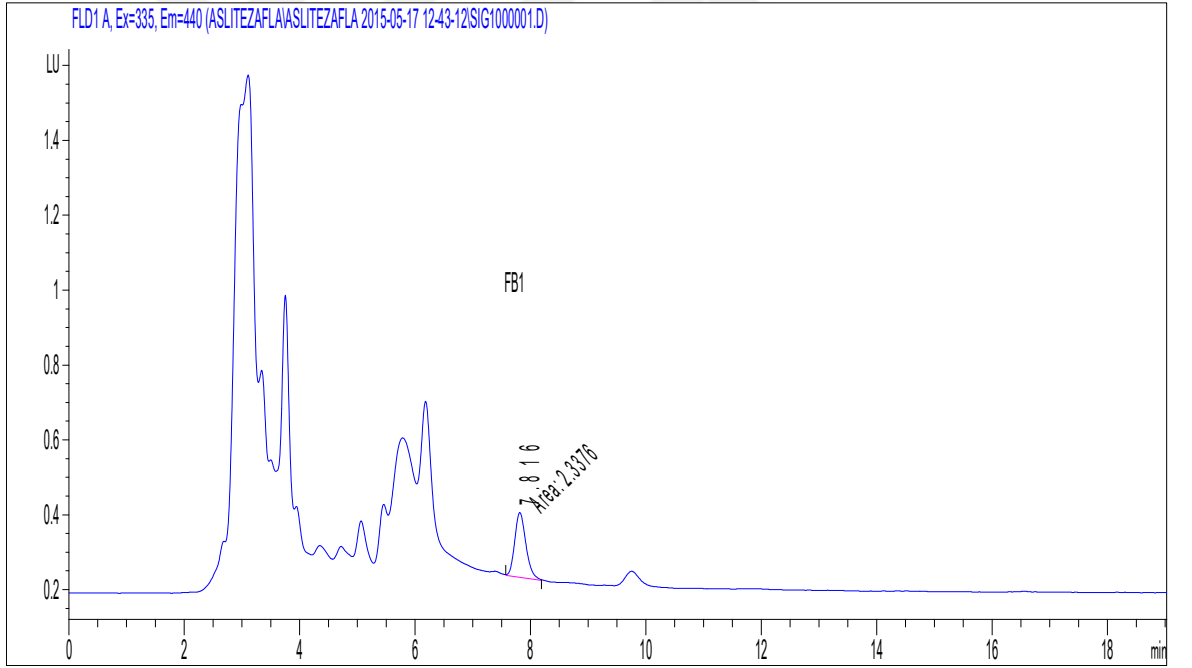
Yapılan analizler neticesinde 60 örnekte fumonisin B₁ (FB₁) tespit edilmiştir. Sade dut örneklerinin ikisinde, fındıklı dut örneklerinin üçünde, üzüm örneklerinin üçünde, kayısı pestilinin birinde, incir pestilinin birinde fumonisin B₂ (FB₂) tespit edilirken. Cevizli dut ve erik pestillerinde fumonisin B₂ (FB₂) tespit edilememiştir.



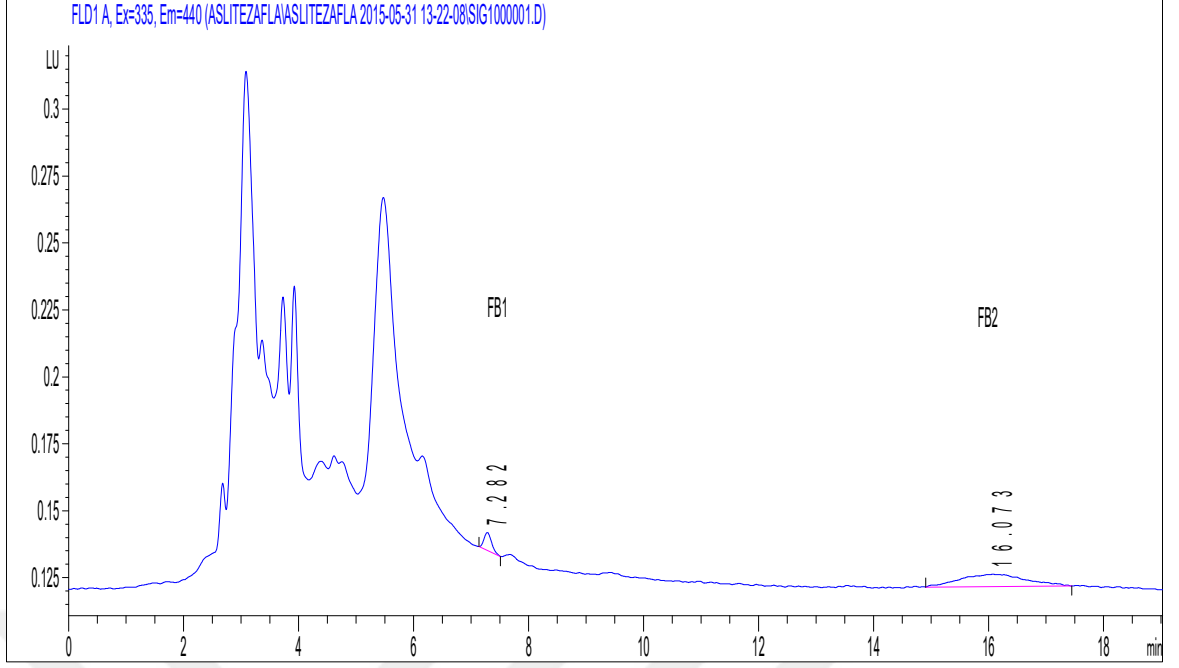
Şekil 4.20. Fındıklı dut pestiline ait fumonisin kromatogramı



Şekil 4.21. Cevizli dut pestiline ait fumonisin kromatogramı



Şekil 4.22. Dut pestiline ait fumonisin kromatogramı



Şekil 4.23. Erik pestiline ait fumonisin kromatogramı

Pestil çoğunlukla üzümde üretilmekle birlikte dut, kayısı, erik gibi meyvelerden de üretilen geleneksel bir üründür. Meyvelerin üretim, hasat, kurutma, taşıma ve depolama işlemleri sırasında yetersiz ve yanlış uygulamalar mikotoksin olarak adlandırılan fungus türleri tarafından sentezlenen metabolizma ürünlerinin oluşumu riskini arttırmaktadır. Ayrıca pestil üretiminde kullanılan ceviz, fındık gibi kuru yemişlerin de mikotoksin yükünü arttırmaları açısından dikkate alınmaları gerekmektedir.

Gıdalarda mikotoksin oluşumunun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Küf kontaminasyonu ve mikotoksin üretimi çevre koşulları ile çok fazla değişkenlik göstermektedir. Bu nedenle geleneksel üretimi yaygın olan pestilin kurutma ve depolama aşamalarında gerekli hassasiyet gösterilmesi insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Mikotoksinlerin en çok üzerinde durulan etkisi kanserojen olmasıdır. Ancak bu etkiyi bir günde yapmaması bir birikimin neticesinde kansere neden olması sebebiyle tüketici bu konuda yeterince bilinçli ve hassas değildir.

Öncelikle yasal mevzuatlar ile tüketiciyi mikotoksinlerden korurken bir yandan bilinçlendirme yoluna giderek tüketicinin kendisini koruması sağlanabilir.

Yapılan literatür taramalarında pestillerde mikotoksin analizlerinin kısıtlı olduğu görülmüştür. Maragos ve ark (2015) elma pestilinde patulin tespitine yönelik çalışması bulunmuştur [34]. Şenyuva ve ark. (2009) baklava, helva gibi şekerli geleneksel ürünlerde aflatoksin analizleri yapmıştır [36]. Ayrıca Erdoğan ve ark. (2003) yapmış oldukları çalışmada Erzurum'da satışa sunulan köme (cevizli pestil sucuğu) ve kuru incirlerin aflatoksin içeriklerini araştırmıştır. Köme pestil ile benzerlik gösteren ancak pestilden farklı olarak ipe dizilmiş cevizlerin dutlu şıraya ard arda birkaç defa daldırılıp çıkarılması sonucu elde edilen bir üründür. Çalışma sonunda 18 köme örneğinin 8'inde aflatoksine rastlanmıştır. Erzurum'dan temin edilen 11 örneğin 4'ünde, Elazığ'dan temin edilen 3 örneğin 2'sinde ve Gümüşhane'den temin edilen 4 örneğin de 2'sinde aflatoksin tespit edilmiştir. Erzurum'dan alınan köme örneklerinde belirlenen toplam aflatoksin miktarları 3,50-12,50 µg/kg, Elazığ'dan alınanlarda 7,60- 13,20 ve Gümüşhane'den alınan köme örneklerinde ise 1,80-10,10 µg/kg arasında bulunmuştur. Analize tabi tutulan köme örneklerinin sağlık açısından çok fazla risk oluşturacak seviyede aflatoksin içermediği tespit edilmiştir [36]. Çalışmamızda ele alınan 60 adet örneğin 2'sinde aflatoksin G₁, 1'inde aflatoksin G₂, 8'inde aflatoksin B₂, 11'inde aflatoksin B₁ bulunmaktadır. Kaymak ve ark. (2019), tarhana örneğinde aflatoksin ve okratoksin A seviyelerinin multi affinite kolon ve floresans dedektör kullanılarak belirlenmesine yönelik bir yöntem çalışması gerçekleştirmişlerdir [37]. Ancak bu çalışma bir yöntem çalışması olup pestillerde toksin miktarını belirlemeye yönelik değildir.

Kalkışım ve ark. (2012), pestil ve kömede küflenme ve aflatoksin oluşumundan bahsetmişlerdir. Çalışmada Gümüşhane pestillerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, kanserojenik özellik taşıyan aflatoksin miktarının yok denecek kadar az seviyelerde çıktığı, toplam aflatoksin miktarı 10 µg/kg'a kadar izin verilirken analizlerde 0,16 µg/kg'ın altında çıktığı ifade edilmiştir [38].

Gölge ve ark. (2016) 112 cevizli sucuk ve Türk Lokumu numunesinde analiz

yapmışlardır. Cevzili sucuk ve Türk lokumunda kullanılan cevizlerin %43,8'inde ve fındıkların %60,90'unda 0,58-15,20 µg/kg ve 0,43-63,40 µg/kg seviyelerinde aflatoksin tespit edilmiştir [31].

Bu çalışmada Ege Bölgesi piyasasından temin edilen dut, fındıklı dut, cevizli dut, kayısı, üzüm, erik ve incir pestillerinin aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, okratoksin A ve fumonisin B₁ ve B₂ içerikleri tespit edilerek literatürdeki bu eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada Ege bölgesi piyasasından farklı markalara ait olmak üzere 60 pestil örneği (14 sade dut, 8 fındıklı dut, 12 cevizli dut, 10 üzüm, 8 erik, 6 kayısı, 2 incir) satın alınmıştır. Küfler belirli nem, sıcaklık ve su aktivitesi üzerinde, pH aralığında çoğalabilir. Bu nedenle çalışmada nem tayini, su aktivitesi tayini, pH tayini ve mikotoksin analizleri yapılmıştır. Aflatoksinler, okratoksin A ve FB₁ ve FB₂; nem, su aktivitesi ve pH analizleri sonuçlarına göre yorumlanmıştır.

Analiz sonuçlarına bakıldığında pestil çeşitleri yüksek nem içeriğinden düşük nem içeriğine doğru sıralandığında, erik ve incir pestillerini kayısı pestilleri takip etmektedir. Kayısı pestilleri % 16,35 – 19,21 nem içerikleri ile orta düzeyde nem içeriğine sahiptir. Sade ve çeşnili dut pestilleri ise erik incir ve kayısı pestillerine göre daha düşük nem içermektedir. Pestil örneklerinin su aktivitesi değerlerine bakıldığında en yüksek su aktivitesi değerleri bazı üzüm ve kayısı pestillerinde saptanmıştır. Dut, cevizli dut ve fındıklı dut pestillerinin ise diğer pestil çeşitleri ile kıyaslandığında orta ve düşük seviyede su aktivitesine sahip olduğu gözlenmektedir. Aflatoksin, okratoksin ve fumonisin yüksek su aktivitesine ihtiyaç duyarlar ancak analizler neticesinde elde edilen veriler bu değerlerden oldukça düşüktür. Bu nedenle pestil su aktivitesi açısından küflerin üremesi için uygun ortam yaratmamaktadır. Sade ve çeşnili dut örneklerinin pH içeriklerinin diğer çeşitlerden yüksek ve nötre yakın olduğu dikkat çekmektedir. Kayısı, üzüm ve incir pestillerinin pH seviyesi 6'nın altında iken, erik pestillerinin pH değerleri 4'ün altında olup en asidik pestiller bu çeşide aittir.

Tez çalışması esnasında elde edilen sonuçlar yasal mevzuata göre yorumlanmıştır ve elde edilen sonuçlar şu şekildedir; 29 Aralık 2011 tarihli Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nin 2.16 ve 2.1.9 maddelerine göre (Tablo 2.2) badem, antepfıstığı, kayısı çekirdeği ve kurutulmuş meyveler için B₁ limiti 8 µg/kg iken toplam aflatoksin (G₂+ G₁+ B₂ +B₁) limiti 10 µg/kg'dır. Analizler neticesinde elde edilen sonuçlar TGK limitlerinin altında kalmaktadır. Literatür incelendiğinde pestil çeşitlerinde mikotoksin varlığının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmaların

sınırlı sayıda olduğu görülmüştür. Kalkışım ve ark. (2012), Gümüşhane pestillerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, kanserojenik özellik taşıyan aflatoksin miktarının yok denecek kadar az seviyelerde çıktığı, toplam aflatoksin miktarı 10 µg/kg'a kadar izin verilirken analizlerde 0,16 µg/kg'ın altında çıktığından bahsedilmiştir [38]. Erdoğan ve ark. (2003) yapmış oldukları çalışmada Erzurum'da satışa sunulan köme (cevizli pestil sucuğu) ve kuru incirlerin aflatoksin içeriklerini araştırmıştır. Çalışma sonunda 18 köme örneğinin 8'inde aflatoksine rastlanmıştır. Erzurum'dan temin edilen 11 örneğin 4'ünde, Elazığ'dan temin edilen 3 örneğin 2'sinde ve Gümüşhane'den temin edilen 4 örneğin de 2'sinde aflatoksin tespit edilmiştir. Erzurum'dan alınan köme örneklerinde belirlenen toplam aflatoksin miktarları 3,50-12,50 µg/kg, Elazığ'dan alınanlarda 7,60- 13,20 ve Gümüşhane'den alınan köme örneklerinde ise 1,80-10,10 µg/kg arasında bulunmuştur. Analize tabi tutulan köme örneklerinin sağlık açısından çok fazla risk oluşturacak seviyede aflatoksin içermediği tespit edilmiştir [36].

29 Aralık 2011 tarihli Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nin 2.2.3 maddesine göre (Tablo 2.2) okratoksin A'nın kurutulmuş asma meyvelerinde (kuş üzümü, kuru üzüm ve çekirdeksiz üzüm dahil) bulunmasına izin verilen maximum limit 10,00 ppb'dir. Analizler neticesinde elde edilen sonuçlar TGK limitlerinin altındadır.

Kuru incir ve meyvelerde FB₁ limitleri ile ilgili herhangi bir yasal mevzuat bulunmamaktadır. Karbancıoğlu Güler ve Heperkan 2003 ve 2004 yılında kurutulmuş incirlerde fumonisin analizleri yapmışlardır ve sonuçları yorumlarken EU'nun işlenmemiş mısır için (2000µg/kg) ve mısır unu gibi işlenmiş ürünler için (1000 µg/kg) belirlediği limitleri baz almışlardır. 2003 yılında kurutulmuş incirlerin %14,1'i 1 µg/g'ın, %5,6'sı 4 µg/g'ın üzerinde, 2004 yılında %2,3'ü 1 µg/g'ın, %2,3'ü 2 µg/g'ın üzerinde kalmıştır [45]. 29 Aralık 2011 tarihli Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nin 2.6.2 maddesi (Tablo 2.2) doğrudan insani tüketime sunulan mısır bazlı ürünler için 1000 µg/kg'ı sınır olarak belirlerken 2.6.5. maddesinde mısır unu gibi işlenmiş ürünlerde 1400 µg/kg'ı sınır olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar 200,46 ng/g – 447,82 ng/g değerleri arasında olup

yasal sınırların altındadır. Ayrıca 60 örneğin (14 sade dut, 8 fındıklı dut, 12 cevizli dut, 10 üzüm, 8 erik, 6 kayısı, 2 incir) 60'ında FB₁ tespit edilirken 10'unda FB₂ tespit edilmiştir. Kösoğlu ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmada örneklerde FB₁'e daha çok rastlamışlardır [33]. Çalışma sonucu elde edilen dağılım önceki çalışmalarla uyum göstermektedir.

Tez çalışması esnasında elde edilen sonuçlar yasal mevzuata göre yorumlanırken Türk Gıda Kodeksinde pestilde mikotoksin limitlerine dair bir düzenleme bulunmadığı görülmüştür, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde yapılacak düzenlemeler ile üretici geleneksel bir ürün olan pestilin üretiminde daha titiz davranmaya ve daha kaliteli hammadde seçmeye sevk edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G and Sanchis V. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 2013 60, 218–237.
2. Karapınar, H.S., Bazı Gıdaların Aflatoksin İçeriğinin HPLC Metodu ile Tayini. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Karaman, 2013, 63 s (Yüksek Lisans Tezi).
3. Tiryaki, O., Seçer, E., Temur, C. Yemlerde Mikotoksin Oluşumu, Toksisiteleri ve Mikotoksin Kalıntı Analizleri. *Anadolu, J. of AARI*. 2011, 21(1), 44-58.
4. Yılmaz, F. M. The Effects of Drying conditions on moisture transfer and quality of pomegranate fruit leather(pestil). 2015, 15(1), 33-40.
5. Ekşi, A., Artık, N. Pestil İşleme Tekniği ve Kimyasal Bileşimi. *Gıda*. 1984. 9(5), 263-266.
6. Cagindi, O., Otles, S. Comparison of some properties on the different types of pestil: a traditional product in turkey. *International Journal of Food and Technology*. 2005, 40, 897-901.
7. Sweeney, J.M., Dobson, A.D.W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*. 1998, 43, 141-158.
8. Farkhondeh Hal, Aref. Erzurum’da Açıkta Satılan Bazı Kurutulmuş Meyveler Üzerinde Gelişen Aflatoksin Üretici Mikrofungusların Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum, 2014, 53 s, (Yüksek Lisans Tezi).
9. Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G. Dünya ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hijyen Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2001, 58(3), 97-118.
10. Whitlow, L.W., Hagler JR, W.M., Diaz, D.E. Mycotoxins in Feeds, Feedstuffs. 2010, 74-84.
11. Rodrigues, P., Venancio, A., Lima, N. Mycobiota and mycotoxins of almonds and chestnuts with special reference to aflatoxins. *Food Research International*. 2012, 48, 76-90.

12. Karbancıoğlu- Güler, F., Heperkan, D. Kuru incirde fumonisin varlığının belirlenmesi. *İtüdergisi*. 2010, 9(4), 45-52.
13. Fernandez-Cruz, M.L., Mansilla, M.L., Tadeo, J.L. Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. 2010, 1, 113-122.
14. Juan, C., Zinedine, A., Molto, J.C., Idrissi, L., Manes, J. Aflatoxins levels in dried fruits and nuts from Rabat-Sale area, Morocco. *Food Control*. 2008, 19, 849-853.
15. Hepsag, F., Golge, O., Kabak, B. Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC- FLD method. *Food Control*. 2014, 38, 75-81.
16. Anon., International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol82/82-04.html> Erişim tarihi: 20.05.2015.
17. Sert, S. Gıda ve Yem maddelerinde Aflatoksinler, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ziraat dergisi, 1983, 14, 3-4.
18. Anon., Fındık ve Aflatoksin, <http://www.fiskobirlik.org.tr/sayfalar/findikta-aflatoksin.html>, 2015, Erişim Tarihi 15.05.2015.
19. Ergun, B., Altıokka, G., Atkoşar, Z. Aflatoksinler: Tayin Yöntemleri Üzerine. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 2006, 7(1), 75-81.
20. Bircan, C. Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*. 2009, 47, 1996-2000.
21. Çiçek, M. Batı Akdeniz Bölgesinde Tüketilen Şaraplarda Okratoksin A Varlığı. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Burdur, 2012, 33s (Yüksek Lisans Tezi).
22. Remiro, R., Irigoyan, A., Gonzales-Penas, E., Lizarraga, E. ve Lopez de Cerain, A. Levels of Ochratoxins in Mediterranean Red Wines. *Food Control*, 2013, 32, 63-68.
23. Esteban, A., Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Cabanes, F.J. Effect of water activity on ochratoxin A production by *Aspergillus niger* aggregate species. *Science direct*. 2006, 108, 188-195.
24. Galvis- Sanches, A.C., Barros, A., Delgadillo, I. Method for analysis dried vine fruits contaminated with ochratoxin A. *Analytical Chimica*, 2008, 617,

59-63.

25. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggar, R., and Kriek, N.P.J. 1988. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54:1806–1811.
26. Anon., International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol82/82-05.html> Erişim tarihi: 22.05.2015.
27. Murphy, P.A., Rice, L.C., and Ross, P.F. Fumonisin B1, B2 and B3 content of Iowa Wisconsin and Illinois corn and corn screening. *J. Agric. Food Chem.*, 1993, 4:263.
28. Guidance for Industry: Fumonisin Levels in Human Foods and Animal Feeds; Final Guidance. <https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm109231.htm>
29. Arranz, I., Baeyens, W.R.G., Weken, G., Saeger, S., Peteghem, C. HPLC Determination of Fumonisin Mycotoxins. 2010, 44(3), 195- 203.
30. Gürses M. Mycoflora and Aflatoxin Content of Hazelnuts, Walnuts, Peanuts, Almonds and Roasted Chickpeas (LEBLEBI) Sold in Turkey. *International Journal of Food Properties*, 2006, 9, 395-399.
31. Golge, O., Hepsag, F., Bulent, K. Determination of aflatoxins in walnut sujuk and Turkish delight by HPLC- FLD method. 2016, 59, 731-736.
32. Mac Donald S, Wilson P, Barnes K, Damant A, Massey R, Mortby E and Shepherd MJ. Ochratoxin A in dried vine fruit: method development and survey. *Food additives & contaminants*, 1999, 16, 253-260.
33. Kosoglu, I., Aksoy., Pehlivan. Fumonisin B1 and B2 occurrence in dried fig fruits (*Ficus carica L.*) under Meander Valley's climatic conditions and relationship with fruit quality. *Food Additived and Contaminants*. 2011, 28(11), 1569-1577.
34. Maragos CM, Busman M, Ma L and Bobell J. Quantification of patulin in fruit leathers by ultra-high-performance liquid chromatography-photodiode array (UPLC-PDA). *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2015, 32(7):1164-74
35. Senyuva, H.Z., Cimen, D., Gilbert, J. Determination of Aflatoxins and

- Ochratoxin A in High- Sugar- Content Traditional Turkish Foods by Affinity Column Cleanup and LC Fluorescence Detection. *Journal of AOAC International*. 2009, 92(4), 1128-1135.
36. Erdoğan, A., Gürses, M., Sert, S. Erzurum'da Satışa Sunulan Köme (Cevizli Pestil Sucuğu) ve Kuru İncirlerin Aflatoksin İçeriklerinin Saptanması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2003, 34(1), 85-88.
37. Kaymak, T., Türker L., Tulay H. Determination of Aflatoxins and Ochratoxin A in Traditional Turkish Concentrated Fruit Juice Products by Multi-Immunoaffinity Column Cleanup and LC Fluorescence Detection: Single-Laboratory Validation, *Journal of AOAC International*, 2018, 101(6), 1839-1849.
38. Kalkışım, Ö. Özdemir, M. Pestil ve Köme Teknolojisi. Gümüşhane Üniversitesi Gümüşhane Meslek Yüksekokulu, Gümüşhane, Türkiye, 2012, 81 s.
39. Anon., Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. 2011, Sayı: 28157
40. Türk Standardı. Kuru Kayısı Standardı, Türk Standartlar Enstitüsü, TS 485, Ankara, 2008.
41. Köseoğlu Vural İ. Sarılop incir (*Ficus carica* L.) çeşidinin kurutulmuş meyvelerinde fumonisin varlığının araştırılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ziraat Mühendisliği Ana Bilim Dalı, İzmir, 2008, Doktora Tezi, 235 s.
42. Anon, AOAC Official Method. Aflatoxin B₁ and Total Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste, and Paprika Powder. 1998-2008. No: 999.07
43. Anon, AOAC Official Method. Fumonisin B₁ and B₂ in Corn and Corn Flakes. 2001. No: 2001.04.
44. Williams, L.D., Meredith, F.I., Riley, R.T. Fumonisin-ortho-phthaladehyde derivative is stabilized at low temperature. *Journal of chromatography B*. 2004, 311-312.
45. Karbancıoğlu-Güler, F., Heperkan, D. Natural occurrence of fumonisin B₁ in dried figs as an unexpected hazard. *Food and chemical toxicology*. 2009, 47, 289-292

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aslı TALAY

Doğum Yeri ve Yılı : Ayvalık, 1985.

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : asli_veyinli@hotmail.com

Eğitim Durumu

Lise : İzmir Özel Türk Koleji Anadolu Lisesi

Lisans : Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Mesleki Deneyim

İzmir Büyükşehir Gıda Kontrol ve Laboratuvar Şube Müdürlüğü 2010-.....

Tezde Yapılan Yayınlar

Çağındı, Ö., Talay, A. Ege Bölgesi'nde Satılan Üzüm, Erik ve Kayısı Pestillerinin Aflatoksinler ve Okratoksin A Düzeylerinin Belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2017, doi:10.13002/jafag4187.